

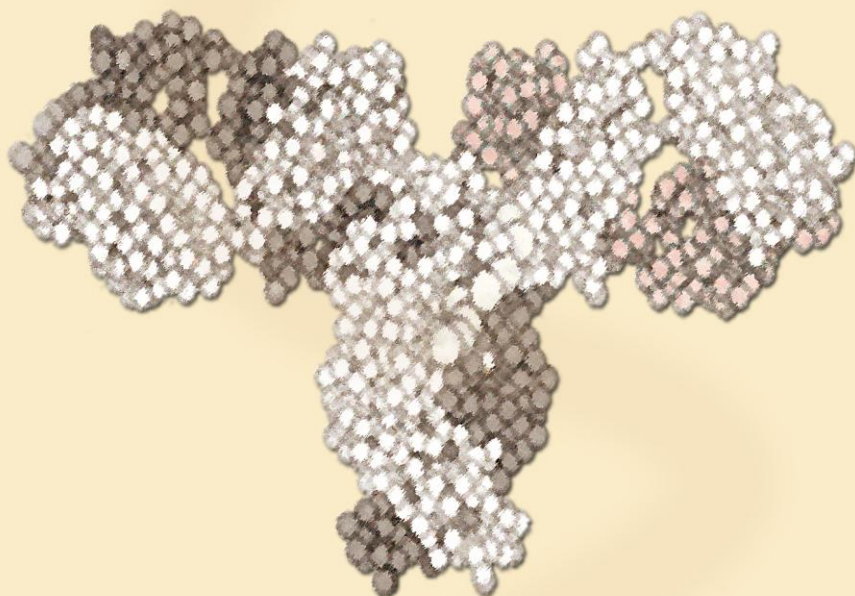
ОРЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

КАФЕДРА ИММУНОЛОГИИ

И.А.СНИМЩИКОВА

**КУРС ЛЕКЦИЙ
ПО
ОБЩЕЙ ИММУНОЛОГИИ**



ОРЕЛ

2015

УДК

Печатается по решению
редакционно – издательского
совета ОГУ

СНИМЩИКОВА ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА, доктор медицинских наук,
профессор, зав. кафедрой иммунологии и специализированных клинических
дисциплин медицинского института ОГУ

Курс лекций по общей иммунологии: пособие для студентов, аспирантов,
преподавателей, врачей, научных сотрудников, занимающихся проблемами
современной иммунологии и других смежных дисциплин

Курс лекций по общей иммунологии. Орел, ОГУ, 2015. - 122 с.

Рецензенты:

Калуцкий П.В. – доктор медицинских наук, профессор,
зав. кафедрой микробиологии Курского государственного
медицинского университета

Оболенская Т.И. – кандидат медицинских наук,
доцент кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин
медицинского института Орловского государственного университета

© Снимщикова И.А., 2015

© Орловский государственный университет,
медицинский институт, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ ИММУНОЛОГИИ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.	6
АНТИГЕНЫ И АНТИТЕЛА	28
Т – СИСТЕМА ИММУНИТЕТА	47
В-СИСТЕМА ИММУНИТЕТА	61
АНТИГЕНПРЕДСТАВЛЯЮЩИЕ И ФАГОЦИТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ	68
ГОРМОНЫ И МЕДИАТОРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ	80
ИММУННЫЙ ОТВЕТ	94
ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ИММУНИТЕТА	102
СИСТЕМА HLA	110

ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ ИММУНОЛОГИИ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.

Иммунология – наиболее перспективное и быстроразвивающееся направление биологии и медицины.

В самостоятельную дисциплину иммунология выделилась в конце 19 в из микробиологии. Однако первые кафедры иммунологии, где эта дисциплина преподавалась как самостоятельный предмет, не только у нас в стране, но и за рубежом, появились в 1969-1970 гг., международное общество иммунологов возникло только в 1971, в 1979 г. в СССР был организован Институт иммунологии.

Однако история иммунологии началась значительно раньше и возникла из практической необходимости борьбы с инфекционными заболеваниями.

ОСНОВНЫЕ ВЕХИ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ИММУНОЛОГИИ

У истоков иммунологии стоял английский врач **Дженнер**, который разработал метод вакцинации против оспы. Однако его исследования носили частный характер и касались только одного заболевания.

Развитие научной иммунологии связывают с именем **Луи Пастера**, который сделал первый шаг к целенаправленному поиску вакцинных препаратов, создающих устойчивый иммунитет к инфекциям: получил и применил на практике вакцины против холеры, сибирской язвы, бешенства, полученные из микробов с ослабленной вирулентностью (аттенуированные).

Основоположником учения о клеточном иммунитете является **И.И.Мечников**, создавший фагоцитарную теорию (1901-1908).

Беринг и Эрлих - заложили основу гуморального иммунитета.

Эмиль фон Беринг – 1 лауреат Нобелевской премии по медицине (1901 г.), награжден за открытие антитоксических антител и разработку противостолбнячной и противодифтерийной сывороток.

Эрлих – основатель теории боковых цепей (ат в виде рецепторов находятся на поверхности клеток, аг специфически отбирает соответствующие

антительные рецепторы, обеспечивает их выход в циркуляцию и компенсаторную гиперпродукцию антител (рецепторов).

Учение об антигенах – **К. Ландштейнер, Ж. Борде**, доказавшие, что аг могут быть не только микробы и вирусы, но любые клетки животного. К. Ландштейнер открытие групп крови. (1930 г.).

Ч. Рише – открытие анафилаксии и аллергии (1913).

Бернет и Медовар (1960 г.) - учение об иммунологической толерантности, показали, что в основе отторжения генетически чужеродных тканей и инфекционного иммунитета лежат одни и те же механизмы. М. Бернет создатель клонально-селекционной теории иммунитета – один клон лимфоцитов способен реагировать только на одну специфическую антигенную детерминанту. И кроме того, Бернет является автором одного из важнейших положений иммунологии – концепции об иммунологическом надзоре за постоянством внутренней среды организма.

В 60-е годы бурно начинает развиваться учение о Т- и В системах иммунитета (**Клэман, Дэвис, Ройт**).

Была предложена теория 3-х - клеточной кооперации иммуноцитов в иммунном ответе (**Петров, Ройт** и др.). Главными участниками предложенной схемы стали Т и В-лимфоциты и макрофаги.

Далее шло активное развитие иммунологии:

- расшифровка структуры Ig - (**Портер, Эйдельман**)
- открытие структур, кодируемых ГКГ – (**Бенацераф, Снелл**)
- генный контроль иммунного ответа, разнообразия антител и значение некоторых генов в предрасположенности к заболеваниям
- получение моноклональных антител и обоснование сетевой регуляции иммуногенеза (**Келер, Милштейн, Ерне**)

В настоящее время отмечается интенсивное развитие клинической иммунологии и широкое внедрение в практическую медицину достижений теоретической иммунологии (расшифровка патогенеза многих заболеваний; создание новых классификаций; классификация болезней иммунной системы;

разработка методов иммунодиагностики (ИФА, РИА, цепная полимеразная реакция и др.), иммунотерапии).

Основные этапы становления и развития иммунологии:

1796 – 1900 гг. – инфекционная иммунология

1900 – 1950 гг. - нормальная иммунология

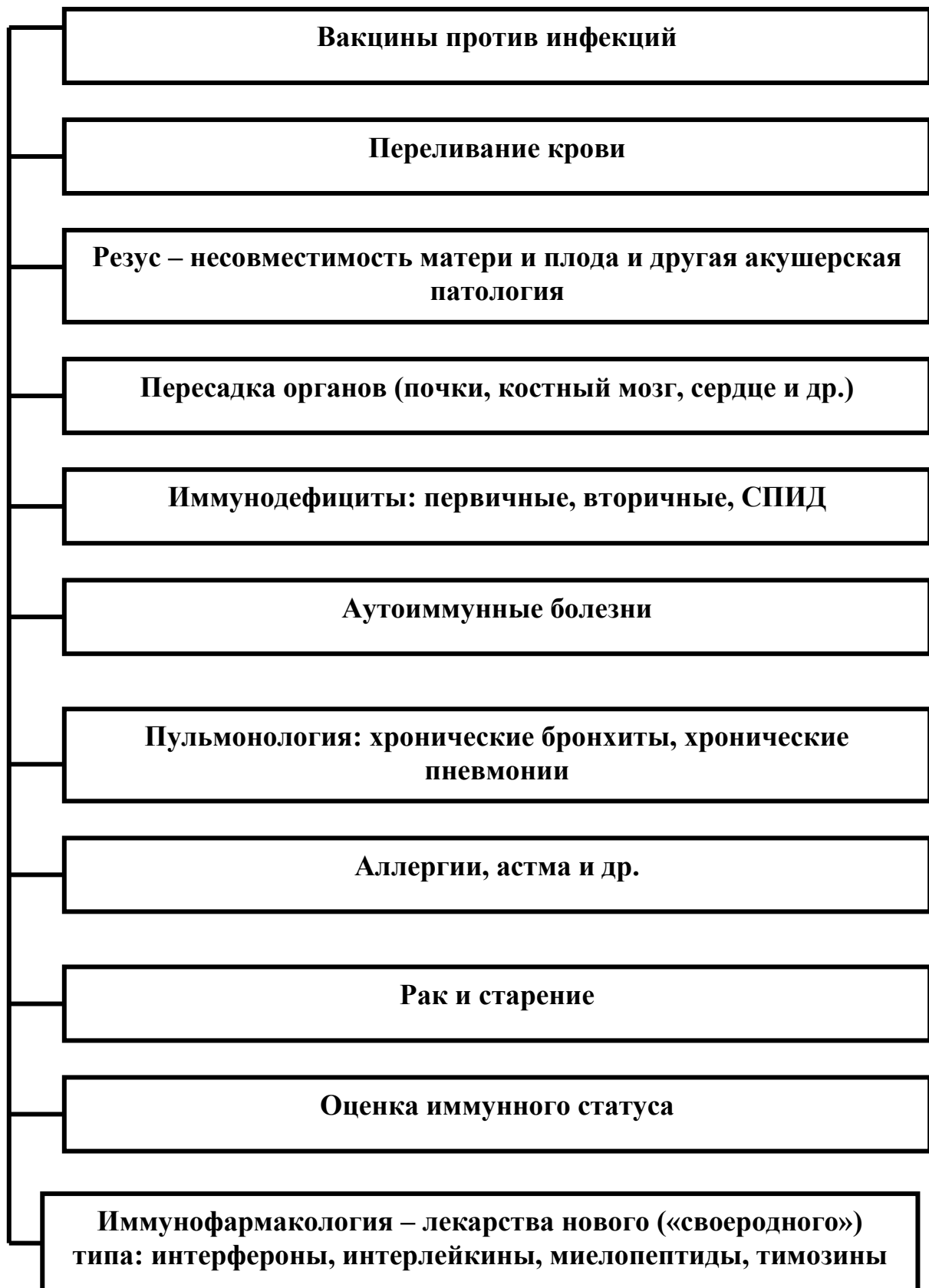
1950 г. и по настоящее время – современный этап

ИММУНОЛОГИЯ - наука об иммунитете, которая изучает генетические, клеточные и молекулярные механизмы реагирования организма на чужеродные субстанции, именуемые антигенами.

ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ:

Факторы врожденного иммунитета			Факторы приобретенного иммунитета	
Гуморальные	Клеточные	PRR рецепторы	Клеточные	Гуморальные
Белки системы комплемента Острофазовые белки Лизоцим Цитокины	Клетки пограничных тканей Клетки крови: нейтрофилы, моноциты, НК-клетки, эритроциты, тромбоциты Тканевые мф Эндотелиальные клетки сосудов Тучные клетки Стромальные клетки органов	Эндоцитозные: Маннозные, Рецепторы-мусорщики Сигнальные: TLR 1-11, NOD1, NOD2	-Т-лимфоциты -В-лимфоциты	Фактор переноса Иммуноглобулины

Иммунология медицины



Иммунная система - это самостоятельная система, филогенетически древняя. У нее 3 особенности:

- генерализована по всему организму;
- ее клетки постоянно ре циркулируют по всему телу через кровотоки;
- специфичность выработки антител и/или сенсibilизированные лимфоциты.

Иммунная система - совокупность лимфоидных органов и тканей, расположенных в различных частях организма, но функционирующих как единое целое, в результате постоянной и интенсивной циркуляции лимфоцитов - центральных элементов иммунной системы.

В настоящее время **иммунная система** рассматривается как система контроля генетического постоянства внутренней среды организма.

Действие иммунной системы основывается на ее способности:

- распознавать чужеродные экзогенные и эндогенные антигены (микробы, чужеродные клетки, ткани, хирургически пересаживаемые органы, мутантные клетки, в т.ч. опухолевые)
- перерабатывать антигены
- элиминировать их
- запоминать информацию о чужеродном антигенном материале

Основные физиологические функции иммунной системы

- ✓ Участие в процессе контроля дифференцировки вновь обновляющихся клеток и тканей;
- ✓ Утилизация и элиминация отживших клеток тканей;
- ✓ Противоинфекционный иммунитет;
- ✓ Иммунологический контроль беременности;
- ✓ Противоопухолевый иммунитет;
- ✓ Трансплантационный иммунитет.

В последние годы накапливается все больше фактов, свидетельствующих о том, что иммунная система оказывает регуляторное влияние на другие системы организма. Оказалось, что растворимые продукты иммунной системы

(иммуноцитокينات) являются мощными регуляторными факторами, действующими на функцию органов кроветворения, на нервную, эндокринную системы и т.д.

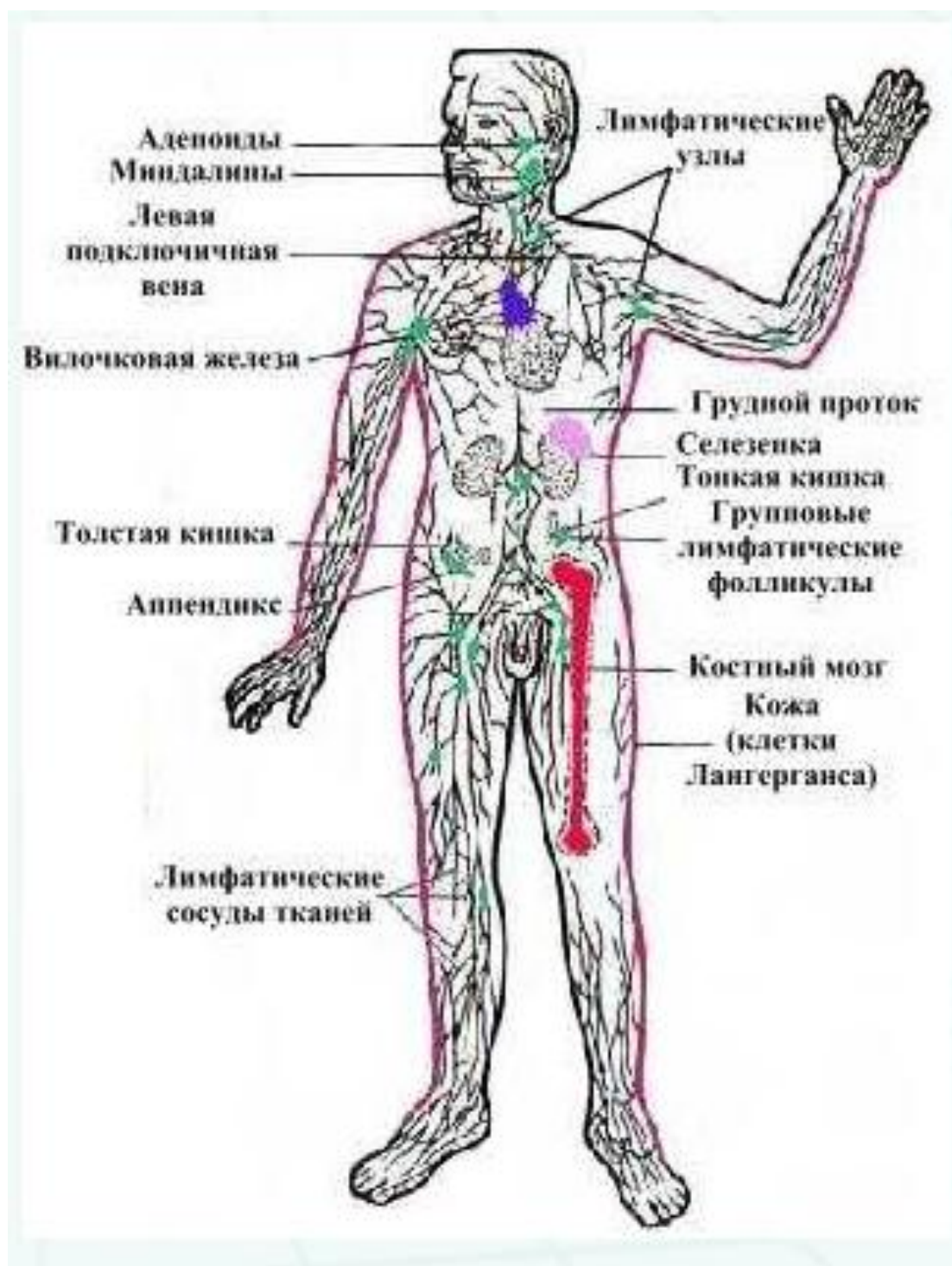
В случаях ослабления или повреждения иммунной системы развиваются инфекционные заболевания, аутоиммунные расстройства, вероятность рака возрастает в сотни и тысячи раз. Следует иметь в виду, что иммунная система выполняет не только защитные функции, но и при определенных ситуациях может вызывать развитие нежелательных последствий иммунного ответа, таких как аутоиммунитет, гиперчувствительность, отторжение трансплантата.

Иммунологические феномены:

- **Иммунитет** – совокупность реакций между системой иммунитета и антигенами, направленных на сохранение иммунологического гомеостаза.
- **Толерантность** – неответственность на антигены собственных тканей.
- **Аутоиммунитет** – это реакции системы иммунитета на неизменные антигены собственных тканей.
- **Гиперчувствительность** – повышенная чувствительность организма к антигенам, в основе которой лежит повреждение тканей.
- **Иммунологическая память** – сохранение Т и В лимфоцитами информации о тех чужеродных антигенах с которыми они встречались и реагировали (повторный контакт происходит быстрее и эффективнее).

СТРОЕНИЕ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Органы		Ткани	Клетки (ИКК)
<i>Центральные</i>	<i>Периферические</i>		
Тимус Костный мозг	Селезенка Лимфоузлы Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми и кожей	Лимфатическая ткань	Т- и В-лимфоциты



Лимфоидные органы - расположены в различных частях организма и анатомически обособлены друг от друга.

В периферических органах под влиянием антигенов и лишь при контакте с антигеном начинается пролиферация и дифференцировка лимфоцитов, т.е. реализация иммунного ответа. Периферические органы иммунной системы заселяются Т- и В-лимфоцитами из центральных органов,

при этом каждая популяция лимфоцитов мигрирует в определенные Т-зав. и В-зав. зоны. Большинство лимфоцитов периферических органов не закрепляются в них постоянно, а после контакта с антигеном включается в рециркуляцию лимфоцитов, вовлекая в иммунный ответ всю лимфоидную систему в целом. Рециркуляция лимфоцитов из периферических органов в кровотоке и обратно называется хомингом. Т-лимфоциты обладают высокой рециркуляторной способностью, способность к рециркуляции В-лимфоцитов слабая.

В последние годы в составе периферических лимфоидных органов принято выделять **третичные** лимфоидные органы. К ним относят лимфоидную ткань, формирующуюся в любом месте организма в результате инфильтрации определенных участков «иммунными» лимфоцитами, которые скапливаются в местах длительной персистенции антигенов, на которые они реагируют (лимфоклеточная инфильтрация щитовидной железы при аутоиммунном тиреоидите). В отличие от вторичных, третичные лимфоидные органы могут утрачиваться при исчезновении провоцирующих антигенов.

Строение и функции органов иммунной системы

Тимус состоит из 2 долей, которые делятся на более мелкие дольки, в каждой из которых различают корковый и мозговой слой. Корковый слой построен из фолликулов Кларка, образованных активно делящимися тимоцитами (именно здесь самый высокий темп митозов – клеточный цикл протекает 3-6 часов), единичными макрофагами и эпителиальными клетками. Кортикальные тимоциты отличаются незрелостью.

Паренхима состоит из эпителиальных клеток (скопления эпителиальных клеток-тельца Гассала), содержащих секреторную гранулу, выделяющую «тимические факторы». В мозговом слое содержатся зрелые тимоциты, которые включаются в рециркуляцию и заселяют периферические органы иммунной системы.

ФУНКЦИИ ТИМУСА



сообщает иммунологическую компетентность клеткам – предшественницам (созревание в зрелые тимоциты);

управляет их деятельностью в других лимфоидных органах посредством тимусных гормонов

Костный мозг – представляет собой тканевое объединение ретикулярной стромы, гемопоэтических и лимфоидных клеток, а также разветвленной сети капилляров.

Основное назначение костного мозга - гемопоэз всех типов клеток.

Периферические органы иммунной системы:

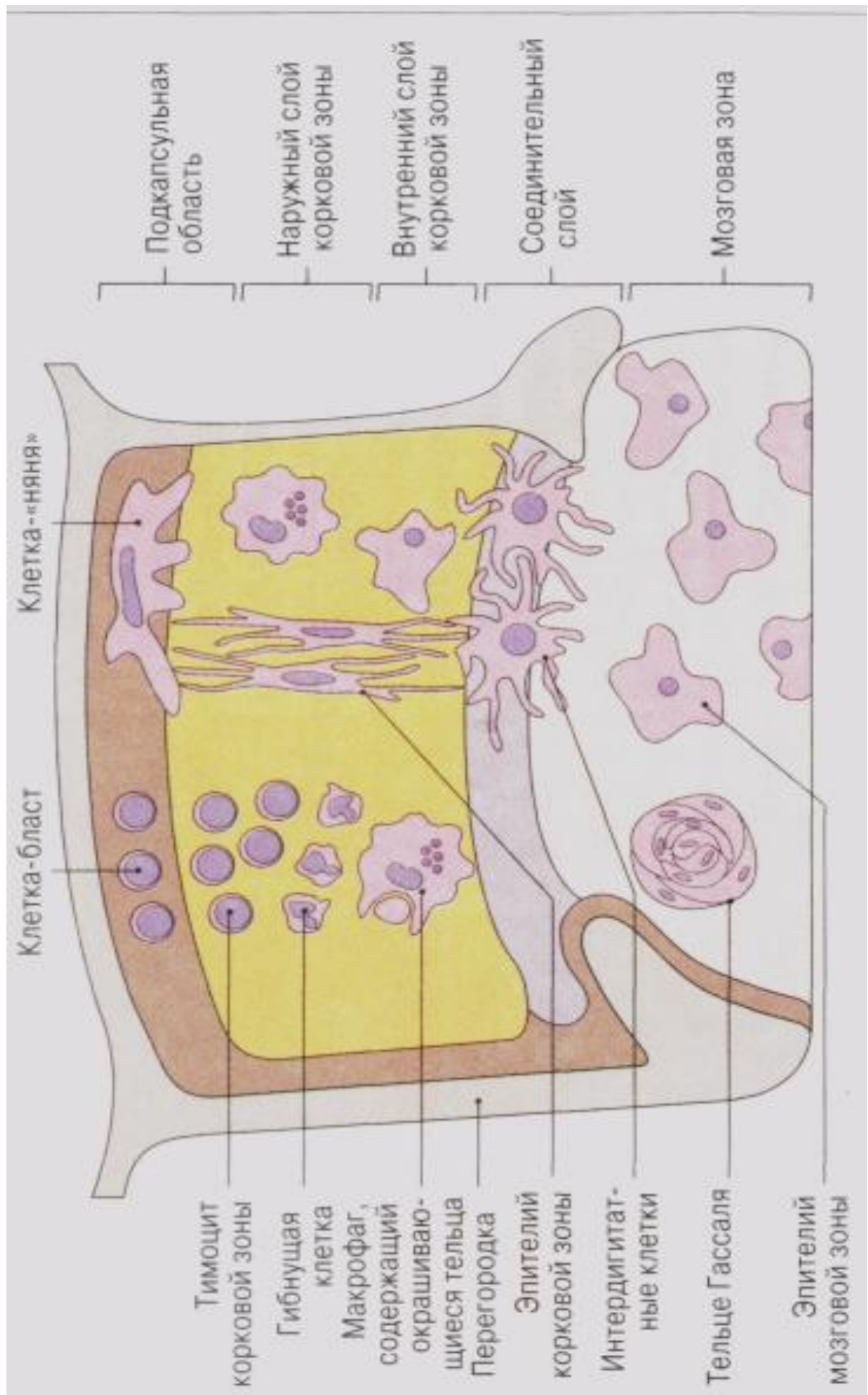
Селезенка – наиболее крупный орган лимфоидной системы, содержит до 25% лимфоцитов. В селезенке различают красную и белую пульпу. В красной преобладают эритроциты, в белой - лимфоциты, (Т-клетки располагаются преимущественно вокруг артериол, В-клетки - в пограничной, маргинальной зоне). С селезенкой связано формирование гуморального иммунного ответа в виде продукции специфических иммуноглобулинов.

Лимфоузлы выполняют в организме 3 главные функции:

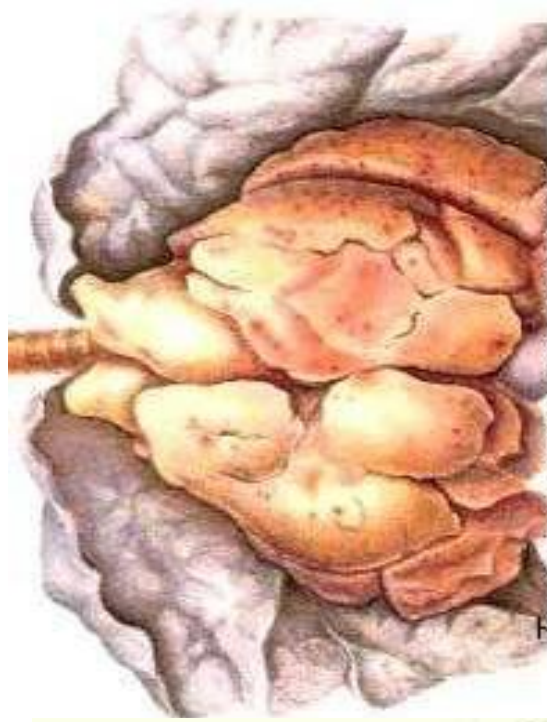
- ✓ Фильтрация лимфы и удаление из нее чужеродных антигенов;
- ✓ Иммуногенез при первичном и вторичном иммунном ответе;
- ✓ Перераспределение лимфоцитов и моноцитов между лимфой и кровью.

В лимфоузле различают корковый слой- место концентрации В-клеток (тимуснезависимая зона) и мозговое вещество, представленное лимфоцитами, макрофагами, плазмочитами и ретикулярными клетками стромы. Область между корой и мозговым веществом – тимусзависимая зона – место концентрации Т-лимфоцитов.

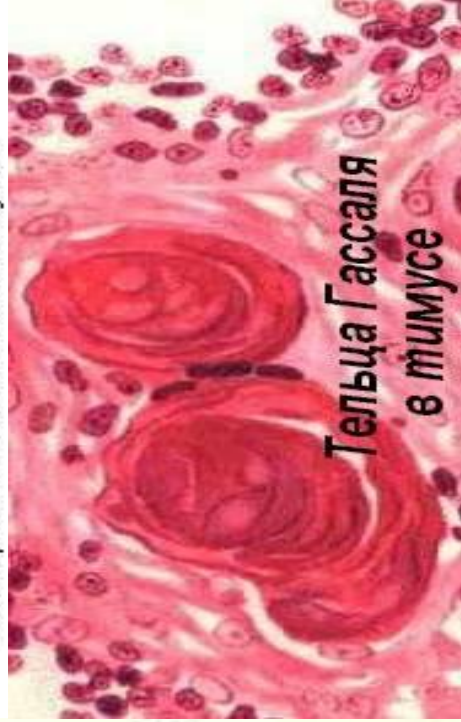
Рис. 2. Строение тимуса



Строение тимуса



Тимомегалия при тимоико-
лимфатическом статусе



Тельца Гассалья
в тимусе

Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми обеспечивает иммунный ответ на антигены, проникающие через слизистые покровы пограничных тканей, и выделение через слизистые антител (секреторных иммуноглобулинов) к этим антигенам. **Кожа** не только служит барьером, но и является иммунокомпетентным органом. Кератиноциты вырабатывают цитокины (ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-7, ГМ-КСФ и др.), особенно после стимуляции и повреждения; в кожу мигрируют Т-лимфоциты (CD4), несущие кожный хоминг-антиген CLA-1 (от англ. *cutaneous lymphocyte antigen 1*). В эпидермисе постоянно присутствуют Т-лимфоциты и дендритные клетки (ДК), связывающие и обрабатывающие антиген.

Лимфоидная ткань - специализированная ткань, физиологической функцией которой является иммунологическая реактивность; кроме того, она концентрирует антиген; обеспечивает контакт с антигеном различных видов клеток; транспортирует гуморальные вещества и клеточные структуры лимфоидной ткани в необходимые участки организма и в конечном итоге элиминирует чужеродные антигены.

Строение: состоит из сети ретикулярных и лимфоидных клеток (лимфоцитов), различают *рыхлую лимфоидную ткань* - в которой доминируют ретикулярные волокна, ретикулярные клетки и фиксированные макрофаги; и *плотную* - лимфоциты, плазматические клетки и свободные макрофаги.

К лимфоидной системе принято относить и лимфатические сосуды. Лимфатические сосуды начинаются в тканях сетью анастомозирующих капилляров, которые в отличие от кровеносных не имеют базальной мембраны, поэтому стенка их проницаема и они могут адсорбировать из тканевой жидкости воспалительные экссудаты, макромолекулы и мелкие корпускулы.

Лимфа образуется из тканевой жидкости, диффундирующей через стенки лимфатических капилляров в лимфатические сосуды. Лимфатические сосуды доставляют лимфу в лимфатические узлы, где в нее поступают лимфатические клетки. Клетки, покидая лимфоидный орган по эфферентным

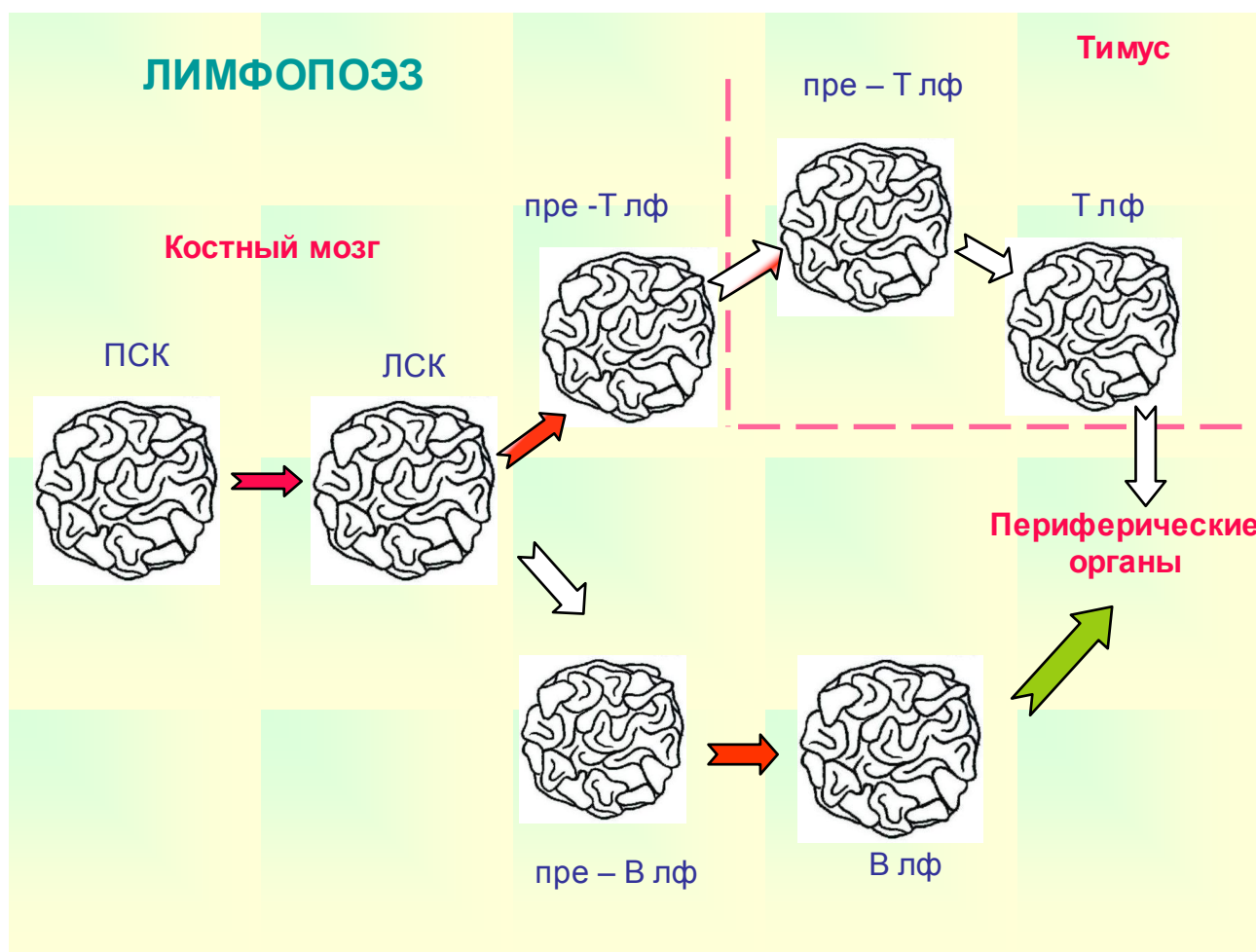
лимфатическим сосудам, оказываются в грудном протоке – главном сосуде лимфоидной системы, из которого они вновь проникают в кровоток через левую подключичную вену. Таким образом, обеспечивается постоянная рециркуляция клеток по всему организму.

Клетки иммунной системы

По происхождению все лимфоциты делят на три группы: лимфоциты костномозговые, тимуса и циркулирующие (Т и В).

Пул циркулирующих лимфоцитов состоит главным образом из Т-клеток, имеющих длительный период жизни (долгоживущие Т-лимфоциты). Рециркулирующий пул лимфоцитов, находящихся в крови, представлен лимфоцитами крови, лимфы и лимфоузлов, которые циркулируют из крови в лимфу и снова в кровь. Долгоживущие лимфоциты (100-120 дней) составляют 90%, 10% - короткоживущие (несколько дней). Долгоживущие лимфоциты в грудном протоке - 90%; лимфоузлах - 75%; селезенке - 25%.

Рис. 3. Схема лимфопоэза.



Маркеры - поверхностные структуры (или внутриклеточные), характеризующие как отдельные типы лимфоцитов, так и определенные этапы их развития. Разновидностью поверхностных маркеров являются кластеры дифференцировки (англ. CD)

Т-система представлена **Т-лимфоцитами** (CD3+ клетки). Мигрирующие из тимуса клетки, еще не встретившие антиген и не вступившие в иммунный ответ, - наивные Т-клетки (T₀).

Традиционно считают, что существуют:

Т хелперы (T_{h0}, T_{h1}, T_{h2}) (CD4+ клетки), которые включают иммуноциты в развитие иммунного ответа.

Цитотоксические лимфоциты (CTL, Т-киллеры) (CD8+ клетки), обеспечивающие лизис клеток-мишеней.

Иммунорегуляторные Т-лимфоциты (Foxp3-клетки), которые подавляют реакции клеток иммунной системы.

Гамма-, дельта (интраэпителиальные) – Т-лимфоциты

Т- клетки памяти

Т-лимфоциты – продуценты цитокинов

Клетки-продуценты	Спектр цитокинов
T_{h0}	ИЛ-2, 3,4,5,6, 10,13; ИФН-γ, ФНО-β
T_{h1}	ИЛ-2, 3, ИФН-γ, ФНО-β
T_{h2}	ИЛ-3,4,5,6, 10,13
T reg	ИЛ – 5, 10, ИФН-γ, ТФР-β
CTL	ИЛ-2,4,5,10, ИФН-γ, ФНО-γ

Популяция **В-лимфоцитов** (CD19+) также гетерогенна. Выделяют В1, В2-лимфоциты; В-клетки памяти. Кроме CD19+, для В-лимфоцитов характерны CD20, CD21, CD22 и др. В-лимфоциты обеспечивают гуморальный иммунитет.

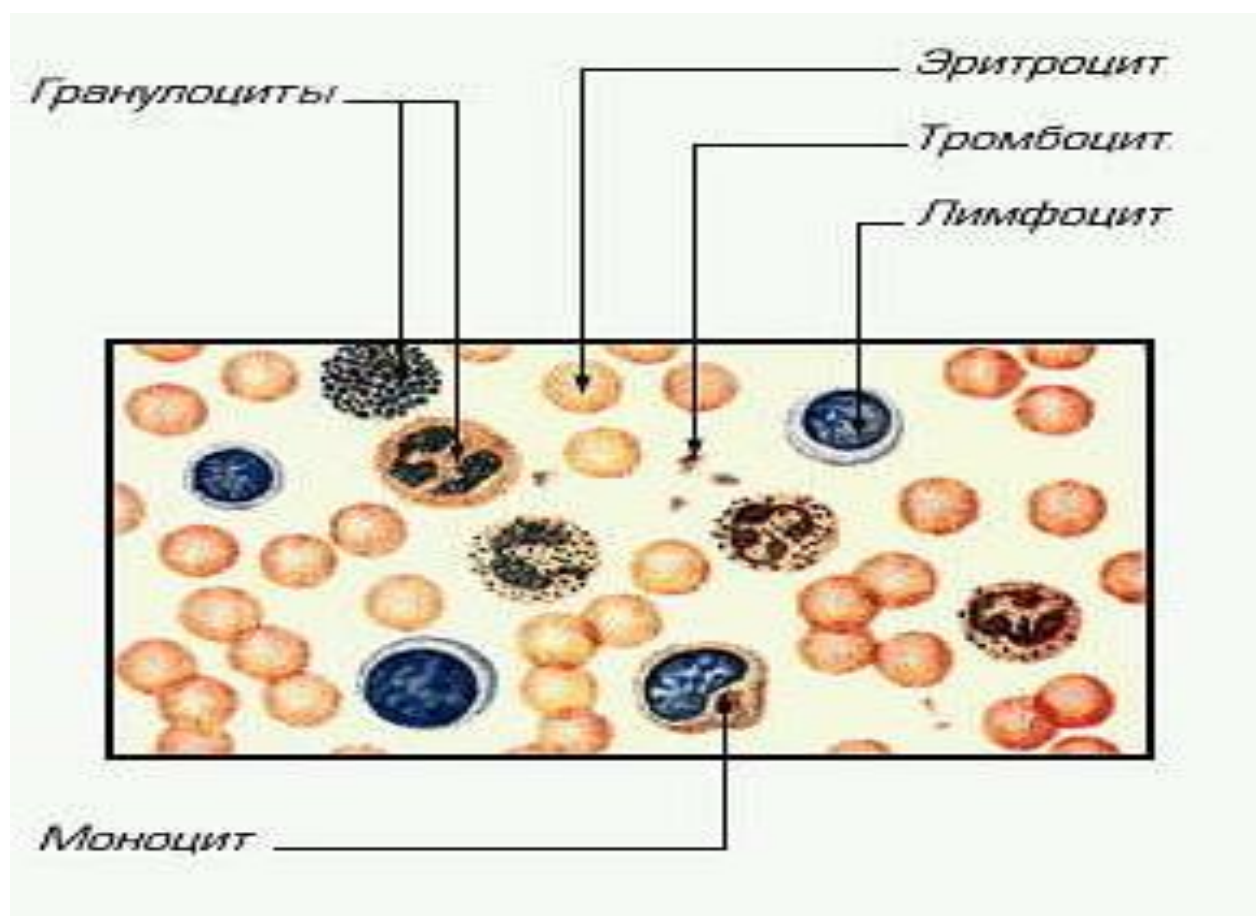
Система **мононуклеарных фагоцитов** включает макрофаги и моноциты. На поверхности моноцитов и фагоцитов обнаружены более 50 антигенов и практически все из них не специфичны только для этих клеток, большинство

из них обнаруживается на Т-, В-лимфоцитов и других клетках. Лишь CD14 (рецептор для ЛПС) в наибольшей степени соответствует моноцитарным клеткам. Кроме того, к основным маркерам моноцитов и макрофагов относят: CD16, CD11b.

Медиаторные клетки (нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, тучные клетки, тромбоциты) и лимфоциты 3-типа (НК, К, О, L – клетки), являются основными компонентами антигеннеспецифической иммунной защиты.

Доказано, что цитотоксическое действие О, L и К-лимфоцитов на чужеродные клетки-мишени осуществляется в присутствии небольших количеств антител. Наибольшую активность НК-клетки проявляют в отношении опухолевых, инфицированных вирусом клеток, они оказывают влияние на кроветворение. Лимфоциты 3-го типа не обладают фагоцитарной активностью, для их цитотоксического эффекта не нужна кооперация с другими клетками.

Рис. 4. Клетки периферической крови.



Таким образом, в настоящее время иммунную систему рассматривают как третью регуляторную систему организма, дополняющую и взаимодействующую с такими регуляторными системами, как нервная и эндокринная. Иммунологическую индивидуальность каждого организма и склонность к определенным заболеваниям кодируют гены иммунного ответа расположенные в пределах ГКГ, локализованного у человека в 6-й хромосоме.

Выделяют **видовой или конституционный иммунитет** (врожденный), который присущ определенному виду (собаки не болеют чумой человека и наоборот). К факторам врожденного иммунитета относятся:

- **клеточные** (макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, NK, тучные и др. клетки);

- **гуморальные** (естественные антитела, комплемент, белки острой фазы, некоторые цитокины, ферменты, лизоцим, антимикробные пептиды и др.).

Факторы врожденного иммунитета не изменяются в процессе жизни организма, контролируются генами зародышевой линии и передаются по наследству. Клетки врожденной иммунной системы не создают клонов себе подобных, не подвергаются негативной и позитивной селекции. Это готовые эффекторные клетки.

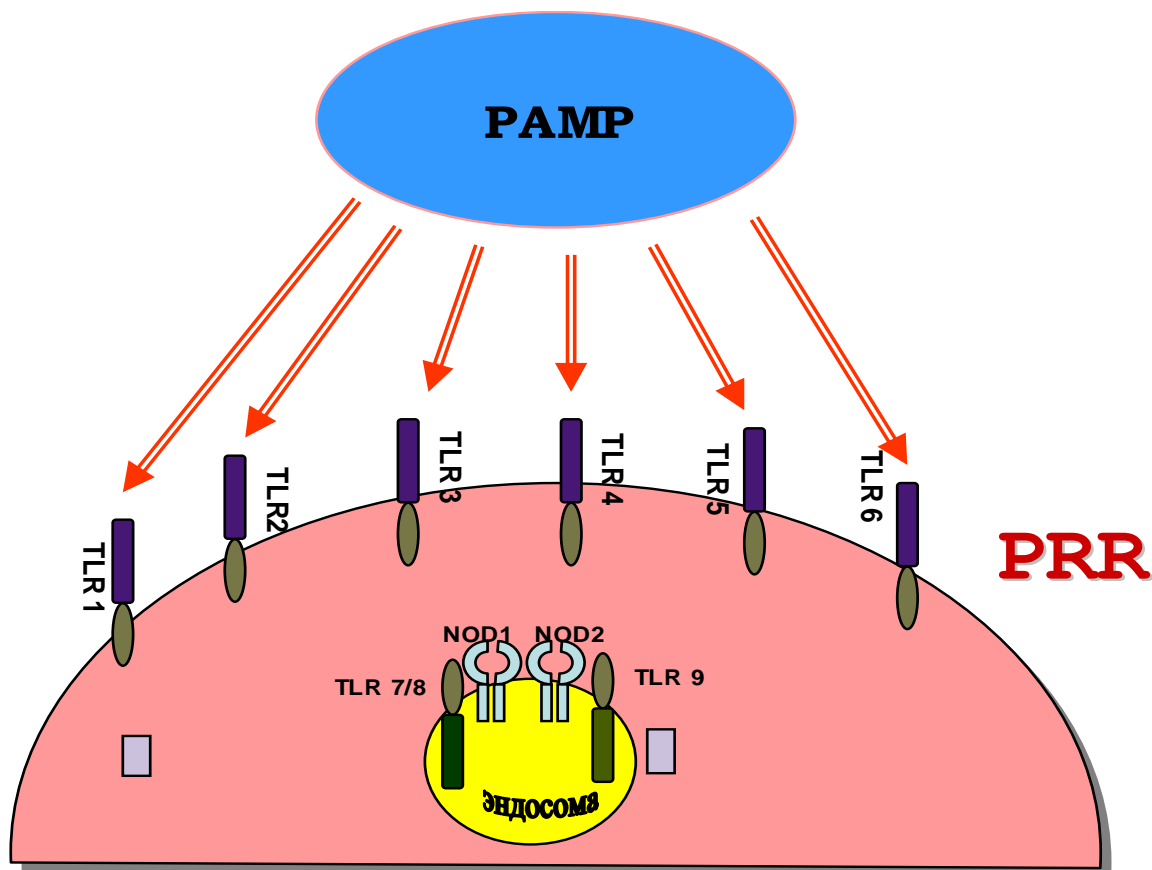
Противомикробные пептиды (ПМП) человека дефенсины и кателицидины являются катионными пептидами, вырабатываются лейкоцитами и нелимфоидными клетками (эпителий слизистых, кератиноциты и др.) оказывают прямое противомикробное действие (действуют как эндогенные природные антибиотики), оказывают иммунорегуляторное действие (участвуют во врожденном и приобретенном иммунном ответе: первая линия противомикробной защиты, «мгновенный “instant” иммунитет»).

- **PRR** (pattern-recognition receptors - паттерн-распознающие рецепторы). Лигандами PRR являются патоген-ассоциированные молекулярные образы (паттерны) - pathogen-associated molecular patterns (PAMP).

РАМР синтезируются только микроорганизмами; их синтез отсутствует в клетках макроорганизма. Распознавание РАМР каким-либо из PRR является сигналом о наличии в организме хозяина инфекции.

Основные РАМР: липополисахарид (грам-отрицательные бактерии); пептидогликан и липотейхоевые кислоты (грам-положительные бактерии); бактериальная ДНК; двуспиральная РНК (вирусы); глюканы (грибы).

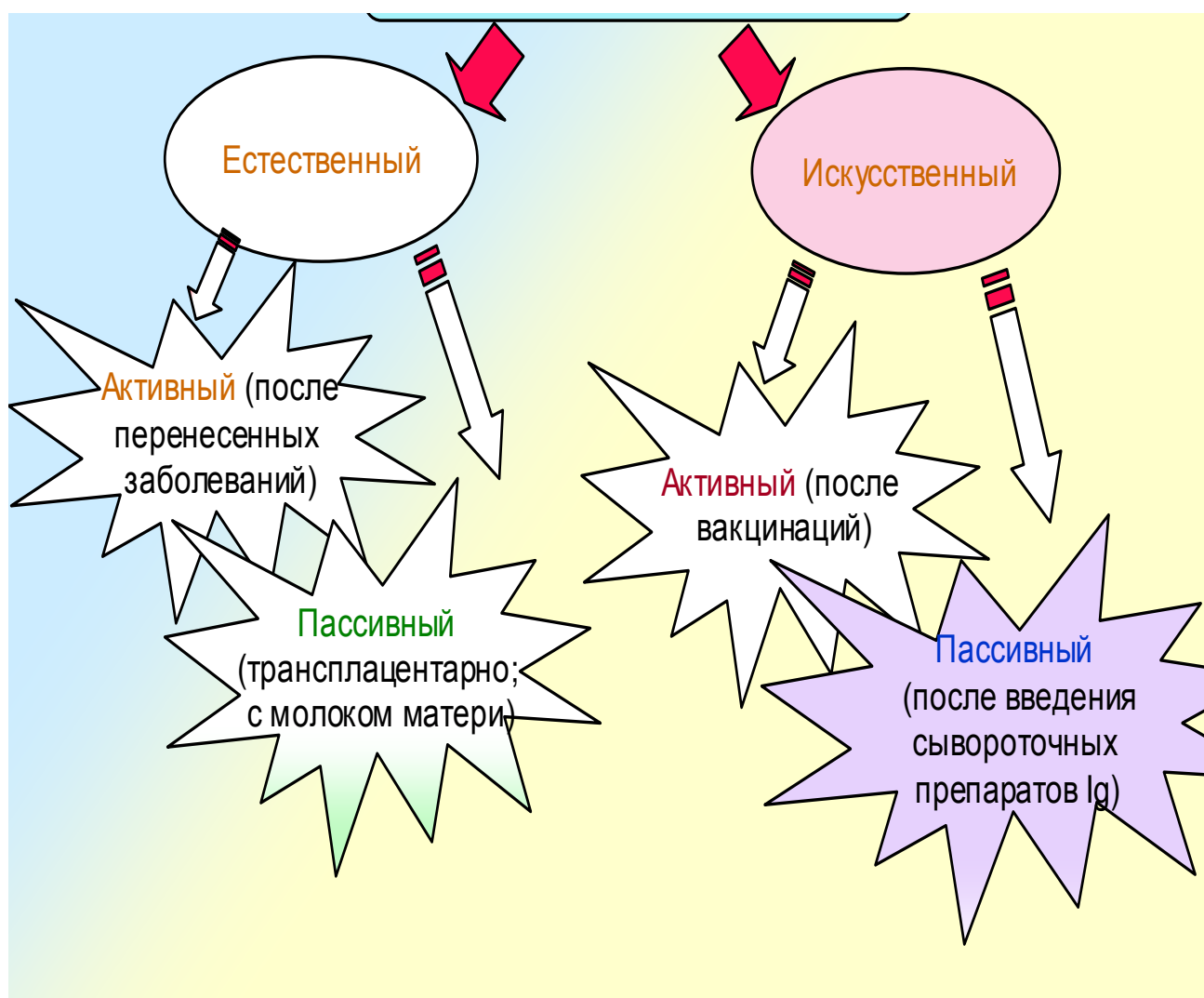
Рис. 5. РАМР- PRR взаимодействия.



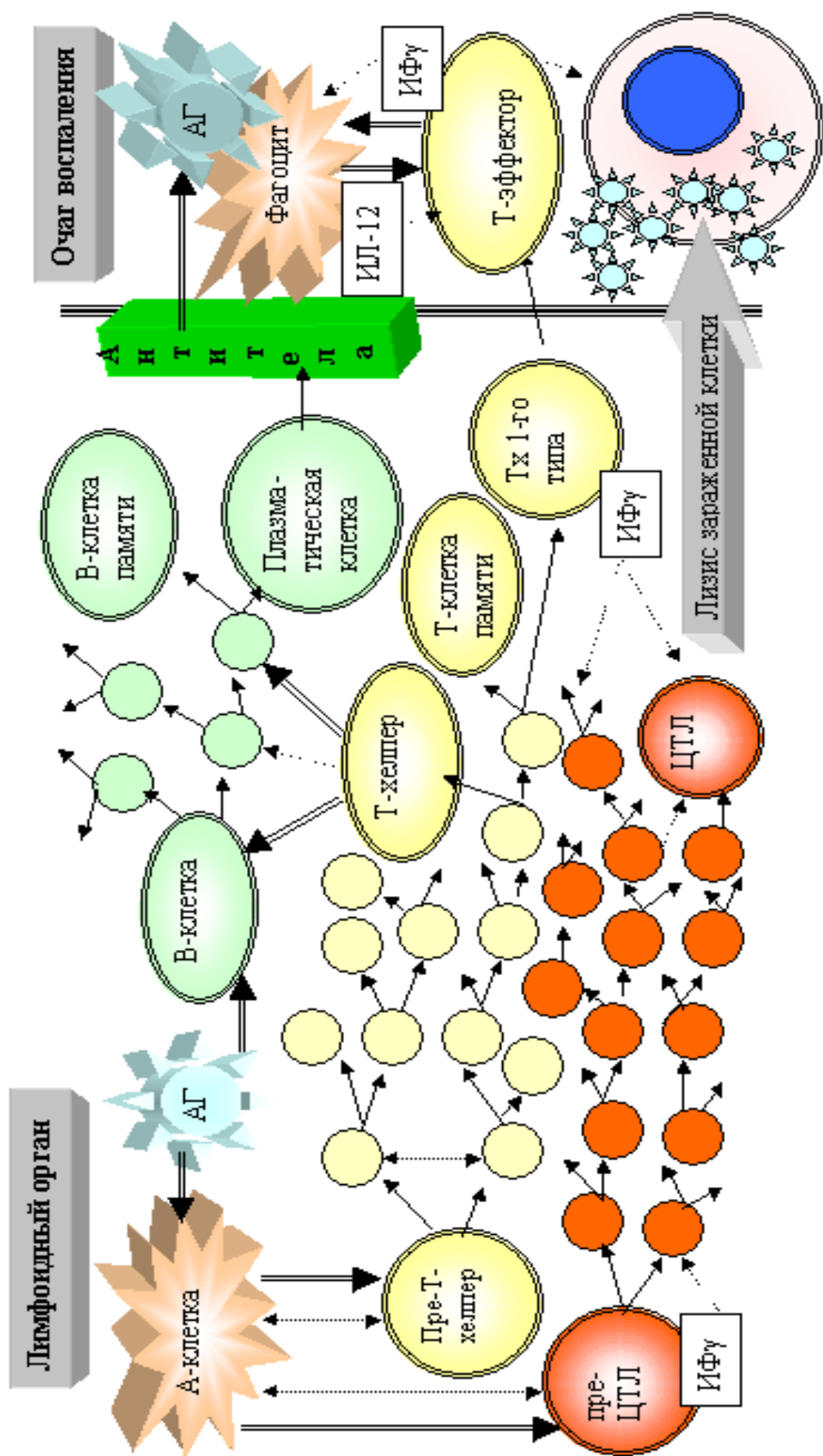
Кроме того, важную роль играют некоторые другие факторы резистентности: механические (барьерная функция кожи, слизистых, секреты слезных, слюнных и др. желез), физиологические (температура и влажность тела, кислая реакция кожи, слизистых, желудочного сока, пота). Благодаря факторам внешней защиты большая часть микроорганизмов так и не попадает в организм. Чужеродные организмы, проникшие в тело, быстро (минуты, часы) уничтожаются механизмами врожденной защиты. В противном случае начинается адаптивный иммунный ответ. Макрофаг поглощает и переваривает

микробы, представляя их антигенные пептиды Т и В клеткам, инициируя тем самым развитие клеточного или гуморального ответа. При этом макрофаг выделяет цитокины, которые активируют факторы неспецифической резистентности (НК, нейтрофилы и др.) и способствуют развитию специфического иммунитета. Специфичность ответа реализуется через синтез антител и формирование клонов лимфоцитов, способных взаимодействовать с чужеродным антигеном.

Рис. 6. Иммунитет антигенспецифический (адаптивный)



Действие факторов иммунного ответа в очаге воспаления





Э. Беринг



Ф. Бернет



И.И. Мечников



П. Эрлих



Ш. Рише



П. Медовар



К. Ландштейнер

**НОБЕЛЕВСКИЕ ЛАУРЕАТЫ
В ОБЛАСТИ ИММУНОЛОГИИ**

Эмиль фон Беринг	Работы по серотерапии дифтерии, 1901 г.
Рональд Росс	Исследование малярии, 1902 г.
Роберт Кох	Открытия в области туберкулеза, 1905 г.
Шарль Лаверан	Работы о роли простейших в развитии болезней, 1907 г.
Илья Ильич Мечников и Пауль Эрлих	Вклад в разработку основ иммунологии, 1908 г.
Алексис Коррель	Работы по пересадке кровеносных сосудов и органов, 1912 г.
Шарль Рише	Работы по анафилаксии, 1913 г.
Юлиус Борде	Открытие системы комплемента, 1919 г.
Юлиус Вагнер - Ярег	Открытие терапевтического эффекта прививок малярии в лечении паралитической деменции, 1927 г.
Карл Ландштейнер	Открытие групп крови человека, 1930 г.
Макс Теллер	Исследование желтой лихорадки и разработка вакцины против нее, 1951 г.
Джон Эндерс Томас Веппер Фредерик Роббинс	Открытие способности полиомиелитного вируса расти в культурах тканей, 1954 г.
Фрэнк Бернет и Питер Медовар	Открытие приобретенной толерантности, 1960 г.
Джеральд Эдельман и Родни Портер	Открытие химической структуры антител, 1972 г.
Барух Блюмберг и Карлтон Гайдусек	Новые механизмы возникновения и распространения инфекционных заболеваний, 1976 г.
Розалин Йаллоу	Разработка радиоиммунного анализа, 1977 г.
Барух Бенецераф Жан Дассе Джордж Снелл	Открытие генетически детерминированных структур клеточных мембран, регулирующих иммунологические реакции, 1980 г.
Нильс Эрне Джордж Кёлер Цезарь Мильштейн	Теория специфичности в развитии и регуляции иммунной системы и открытие принципа продукции моноклональных антител, 1984 г.
Сусуми Тонегаве	Открытие генетических основ разнообразия антител, 1987 г.
Питер Догерти и Рольф Цинкернагель	Открытие клеточно – опосредованного компонента иммунного ответа, 1996 г.

Завещание Альфреда Нобеля

Я, нижеподписавшийся, Альфред Бернхард Нобель, обдумав и решив, настоящим объявляю мое завещание по поводу имущества, нажитого мною к моменту смерти.

Все оставшееся после меня реализуемое имущество необходимо распределить следующим образом: капитал мои душеприказчики должны перевести в ценные бумаги, создав фонд, проценты с которого будут выдаваться в виде премии тем, кто в течение предшествующего года принес наибольшую пользу человечеству. Указанные проценты следует разделить на пять равных частей, которые предназначаются: *первая часть* тому, кто сделал наиболее важное открытие или изобретение в области физики, *вторая* - тому, кто совершил крупное открытие или усовершенствование в области химии, *третья* — тому, кто добился выдающихся успехов в области физиологии или медицины, *четвертая* — создавшему наиболее значительное литературное произведение, отражающее человеческие идеалы, *пятая* - тому, кто внесет весомый вклад в сплочение народов, уничтожение рабства, снижение численности существующих армий и содействие мирной договоренности. Премии в области физики и химии должны присуждаться Шведской королевской академией наук, по физиологии и медицине - Королевским Каролинским институтом в Стокгольме, по литературе - Шведской академией в Стокгольме, премия мира - комитетом из пяти человек, избираемым норвежским стортингом. Мое особое желание заключается в том чтобы на присуждение премий не влияла национальность кандидата, чтобы премию получали наиболее достойные, независимо от того, скандинавы они или нет.

Сие завещание является последним и окончательным, оно имеет законную силу и отменяет все мои предыдущие завещания, если таковые обнаружатся после моей смерти.

Наконец, мое последнее обязательное требование состоит в том, чтобы после моей кончины компетентный врач однозначно установил факт смерти, и лишь после этого мое тело следует придать сожжению.

Альфред Бернхард Нобель Париж, 27 ноября 1895 года

АНТИГЕНЫ И АНТИТЕЛА

Антигены - это вещества, которые индуцируют иммунный ответ и взаимодействуют с продуктами иммунной системы.

Основные характеристики антигенов:

- **Антигенная специфичность** – способность антигена к специфическому взаимодействию с антителами и клеточными рецепторами.
- **Иммуногенность** – способность аг вызывать в организме иммунный ответ.
- **Антигенность** — мера, по которой определяют качество АГ. На введение различных АГ один и тот же организм вырабатывает разное количество антител (АТ). Чем больше выработка АТ, тем выше антигенность АГ.

Искусственная иммунологическая толерантность - устойчивая неответственность на данный антиген (индуцируется введением высоких доз белковых полисахаридов).

Классификация антигенов

1. **полные антигены** (в основном сложные органические вещества микробного, растительного и животного происхождения), обладающие антигенной специфичностью и иммуногенностью.

2. **неполные антигены (гаптены)** – это химические вещества, преимущественно с малой молекулярной массой, которые самостоятельно не вызывают иммунный ответ, но приобретают эту способность при конъюгации с высокомолекулярными белками (гаптены в отличие от полноценных аг обладают антигенной специфичностью, но не обладают иммуногенностью)

Иммуногенность антигена определяется следующими свойствами:

- чужеродностью для организма
- молекулярным весом
- химическим строением
- доступностью антигена для ферментативных систем антигенпредставляющих клеток (макрофагов, дендритных клеток, В-лимфоцитов)

Процессинг аг, т.е. его переработка в фаголизосомах до высокоиммуногенной формы и последующая презентация (представление) на клеточной мембране создает условия для запуска иммунного ответа.

Требования к организму:

способность иммунной системы организма к реализации адекватного ответа на антиген (наличие соответствующих генов иммунного ответа: Ir-генов; отсутствие врожденных или приобретенных патологических состояний иммунной системы и др.)

ЧУЖЕРОДНОСТЬ

Степень чужеродности является важным фактором иммуногенности антигена.

Во всех случаях, за исключением аутоиммунных нарушений, антиген должен восприниматься организмом как «не свой».

1. Чужеродность веществ зависит от видовой принадлежности животных: чем дальше в филогенетическом отношении отстоят животные, тем более чужеродными друг для друга являются их ткани, и тем более они иммуногенны (бычий сывороточный альбумин является более чужеродным для кролика, чем для козы).

2. Белки, имеющие сходное строение и выполняющие одинаковые функции в организме разных животных, обладают относительно низкой степенью чужеродности и иммуногенности (так, гемоглобин млекопитающих обычно не вызывает образования антител у человека).

Химическая природа антигенов

Антигенами являются органические вещества различного происхождения.

По химической природе антигены - белки, полисахариды, липиды, и их соединения.

Вещества с более сложной химической структурой обладают более высокой иммуногенностью.

Наиболее выраженными иммуногенными свойствами обладают белки. Одно и то же химическое вещество может быть высокоиммуногенным для одних видов животных и неиммуногенным для других. Например, стрептококк I типа вызывает синтез антител у мышей, кошек, собак, человека, но не вызывает образование антител у крыс, морских свинок, кроликов

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТИМУСЗАВИСИМЫХ И ТИМУСНЕЗАВИСИМЫХ АНТИГЕНОВ

Тимусзависимые аг	Тимуснезависимые аг
<ul style="list-style-type: none"> • Меньшая мм. • Мало эпитопов на 1 молекулу • Персистируют короткий период • Индуцируют митотическую активность Т-клеток • Вызывают ГЗТ • Индуцируют синтез ат всех классов • Иммунный ответ контролируется генами, сцепленными с ГКГ • Индуцируют оптимальный иммунный ответ В-кл. с участием Тх. Для иммунного ответа, кроме Тх требуется кооперационное участие макрофагов 	<ul style="list-style-type: none"> • Большая мм. • Много эпитопов на 1 молекулу • Длительно персистируют • Не индуцируют митотическую активность Т-клеток • Не вызывают ГЗТ • Индуцируют синтез IgM • Иммунный ответ контролируется чаще аутосомными генами • Индуцируют оптимальный иммунный ответ В-кл. без участия Тх и макрофагов

Ксеноантигены – аг тканей и клеток, отличающиеся от реципиента на видовом уровне.

Аллоантигены - аг тканей и клеток, отличающиеся на внутривидовом (индивидуальном) уровне.

Аутоантигены – аг собственных клеток, полимерных молекул.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА АНТИГЕНОВ

Химические соединения	Происхождение
1. Белки	сыворотки крови, ферменты, микробные токсины
2. Липопротеины	липопротеины клеточной мембраны
3. Полисахариды	клеточной стенки бактерий, капсульные субстанции
4. Липополисахариды	эндотоксины гр. – бактерий
5. Гликопротеины	групповые субстанции крови Н, А, В
6. Полипептиды	гормоны, синтетические полипептиды клеточной стенки и цитомембраны бактерий
7. Нуклеиновые кислоты	однонитчатые ДНК, денатурированные ДНК, ДНК комплексе с белками, рибосомальные РНК

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА

Антигены - высокомолекулярные соединения. Белковые вещества проявляют иммуногенные свойства при мм выше 10000 Д и по мере увеличения мм иммуногенность их повышается. В порядке исключения известны антигены с небольшой мм и обладающие иммуногенностью (при мм - 2000 - 4000).

Низкомолекулярные антигены: вазопрессин - 1000 мм, ангиотензин - 1000 мм, глюкагон - 3500 мм, АКТГ - 3900 мм, инсулин - 6000 мм, гаптоглобин - 9 000 мм.

В прямой зависимости от мм находится его валентность.

Валентность антигена - это количество антигенных детерминант (эпитопов), с которыми реагируют специфические антитела.

Чем больше эпитопов, тем выше иммуногенность антигена.

Эпитоп – участок связывания антитела или антигенраспознающего рецептора.

Специфичность антигенов

Определяется химическим составом и структурными особенностями их молекул.

Виды специфичности антигенов:

1) видовая (у животных данного вида);

2) групповая специфичность (среди животных одного и того же вида имеются группы, отличающиеся специфическими антигенами. Например, изо-антигены эритроцитов, HLA-системы, групповые антигены микробов. Так сальмонеллы по общим соматическим O-антигенам объединяются в серологические группы.

3) органная специфичность (ткани каждого органа имеют специфическую химическую структуру, поэтому при иммунизации ими, они индуцируют синтез специфических антител (они выявлены в легких, почках, щитовидной железе, нервной ткани);

4) тканевая специфичность - ткани хрусталика (антигены образуются только в данном виде тканей);

5) органоидная специфичность (органоиды клеток имеют специфические антигены);

6) дифференцированные антигены - новые антигены, которые появляются на ЦПМ клетки в процессе их морфологической дифференцировки. По таким антигенам дифференцируют субпопуляции лимфоцитов.

Строение антигена

В структурном отношении антиген состоит из 2-х частей - высокомолекулярного носителя и низкомолекулярной **антигенной детерминанты (эпитопа)**.

Носителем является белок или полисахарид, а детерминантами специфичности - различные простые соединения, кислотные радикалы, концевые моносахариды и др. (важная роль принадлежит группировкам - -COOH, -OH).

Роль носителя состоит в стабилизации стереохимической структуры детерминанта в положении наиболее выгодном для соединения с рецепторной группой антитела (**паратопом**).

СТРОЕНИЕ АНТИГЕНА

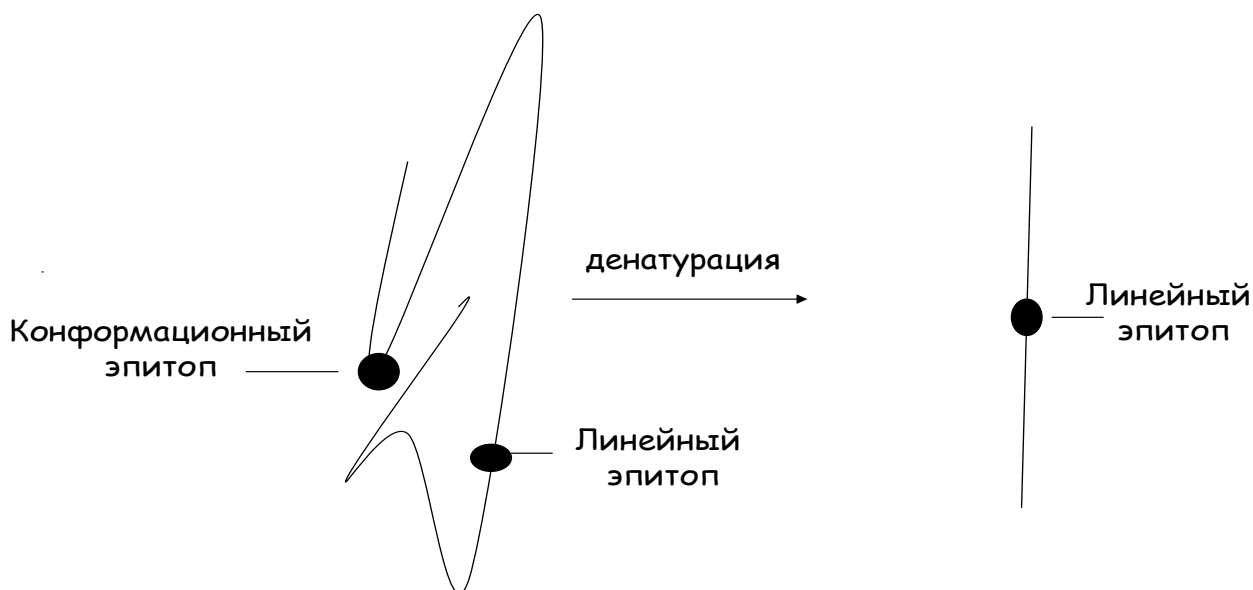


Рис. 7. Строение антигена

Локализация и изменения антигенов в тканях.

В организм антигены могут поступать через межклеточные пространства, слизистые, кожу, через поврежденный эпителий.

Персистенция антигенов - белковые антигены постепенно уменьшаясь в количестве, сохраняются в крови в течение 2-3 недель, в тканях и внутренних органах - от нескольких месяцев до 2-3 лет. Сохранность антигенов в организме зависит от его мм, действующих на него ферментов, состояние макроорганизма. Персистенция антигенов в течение длительного времени обусловлена соединением их в тканях с веществами, имеющими период полужизни до нескольких лет (коллаген соединительной ткани).

Локализация антигенов при в/в введении в легкие, затем в сердце и разносится по всему организму, больше всего его накапливается в печени, почках, т.к. здесь больше макрофагов. При п/кож. введении - в лимфатических узлах.

В удалении антигенов из организма выделяют 3 фазы:

- 1-я – поступление аг: растворимые антигены (белки) распределяются между сосудистым и межтканевым пространством - выработка антител – формирование Иммуных Комплексов - поглощение мф. Корпускулярные антигены в ткани не диффундируют, а поглощаются фагоцитами. Растворимые антигены вызывают менее интенсивный иммунный ответ, чем корпускулярные.
- 2-я - катаболизм антигенов продолжается несколько дней, это зависит от ферментных систем организма хозяина.
- 3-я - иммунная элиминация (образование а/т -ИК, фагоцитоз ИК).

Перечисленные выше свойства антигенов не всегда являются гарантом развития полноценного иммунного ответа, в формировании которого важную роль играет генотип организма и, в частности, гены иммунного ответа, расположенные в пределах ГКГС, локализованного у человека в 6-й хромосоме.

АНТИТЕЛА

При электрофорезе сыворотки крови белки разделяются на две фракции: альбумины и глобулины, в свою очередь последние - на альфа, бета и гамма фракции.

Совокупность сывороточных белков, обладающих преимущественно гамма - электрофоретической подвижностью и проявляющих активность антител, называется **иммуноглобулинами**.

Содержание глобулинов в сыворотке крови составляет в среднем 35-45 %, гамма-фракции – 12-18%.

Антитела – это иммуноглобулины, способные специфически соединяться с антигеном.

Кроме антител к иммуноглобулинам относят: иммуноглобулиновые рецепторы лимфоцитов, молекулы ГКГС 1 и 2 классов, адгезивные белки, а также белки, сходные с антителами по химической структуре и антигенной специфичности - миеломные белки, белки Бенс - Джонса и субъединицы Ig.

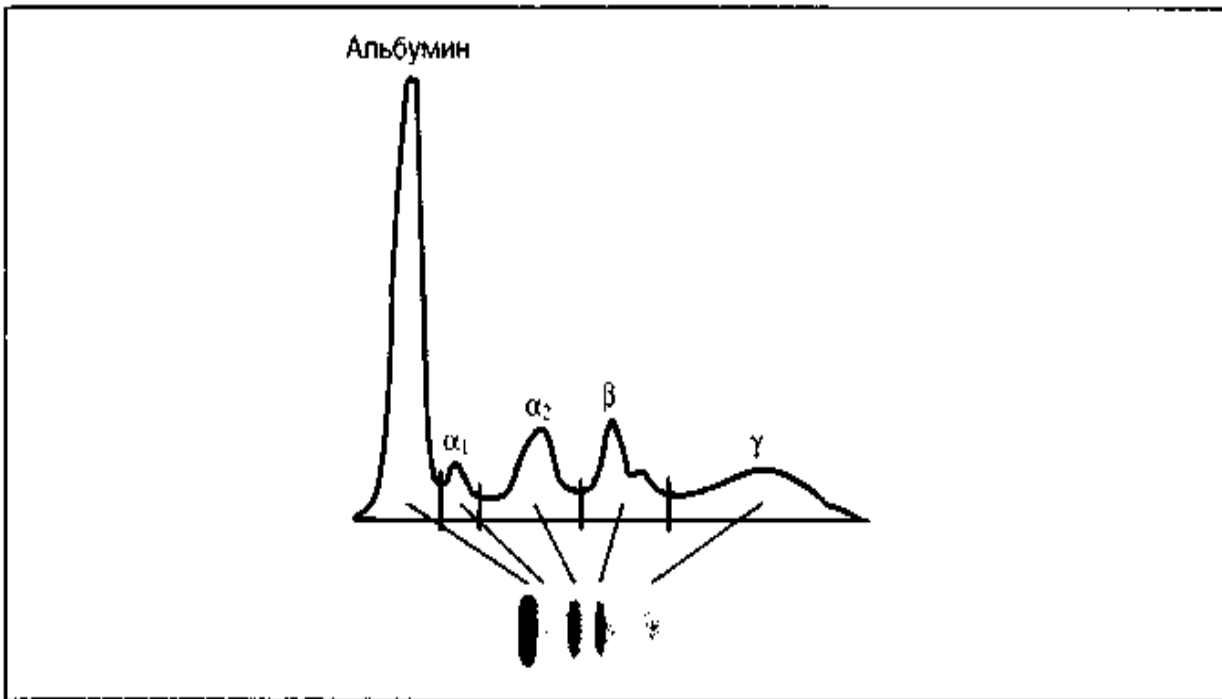


Рис. 8. Зональный электрофорез нормальной сыворотки. На электрофореграмме и денситограмме нормальной сыворотки видны пять основных полос, которые соответствуют альбумину, α_1 , α_2 , β - и γ – глобулинам

Биологические функции антител - направлены на элиминацию чужеродного антигена из организма. Антитела:

- распознают и связывают антиген;
- представляют его мф и лф;
- оказывают цитотоксическое действие в отношении чужеродных клеток
- опсонизирующее влияние;
- активирует систему комплемента.

Для понимания биологического действия антител необходимо различать следующие понятия:

- **специфичность антител** - способность Ig реагировать только с определенными антигеном.
- **валентность** - это количество антидетерминант (паратопов) в молекуле антитела; как правило они бивалентны, хотя существуют 5- и 10-валентные антитела.

- **аффинность** - прочность связи между детерминантами антигена и антидетерминантами антитела (эпитопа и паратопа).
- **авидность** характеризует прочность связи антигена с антителом в реакции антиген-антитело (определяется аффинностью и валентностью антигена).

Общий план строения иммуноглобулинов:

На примере иммуноглобулина G можно видеть, что молекула Ig содержит 2 тяжелые и 2 легкие цепи, которые соединены дисульфидными связями. Каждая цепь содержит переменную и константную область, составляющие **Fab** (антигенсвязывающий фрагмент) и **Fc**- константный фрагмент. Гомологичные структурные участки легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов, образуемые дисульфидными связями, называются **доменами**. Домены имеют одинаковые последовательности аминокислот. Каждый домен включает приблизительно 100-110 аминокислотных остатков.

Различают домены константных участков:

C1, CH1, CH2, CH3.

C1, CH1 домены – обеспечивают нековалентное связывание легких и тяжелых цепей и аллоантигенные различия антител.

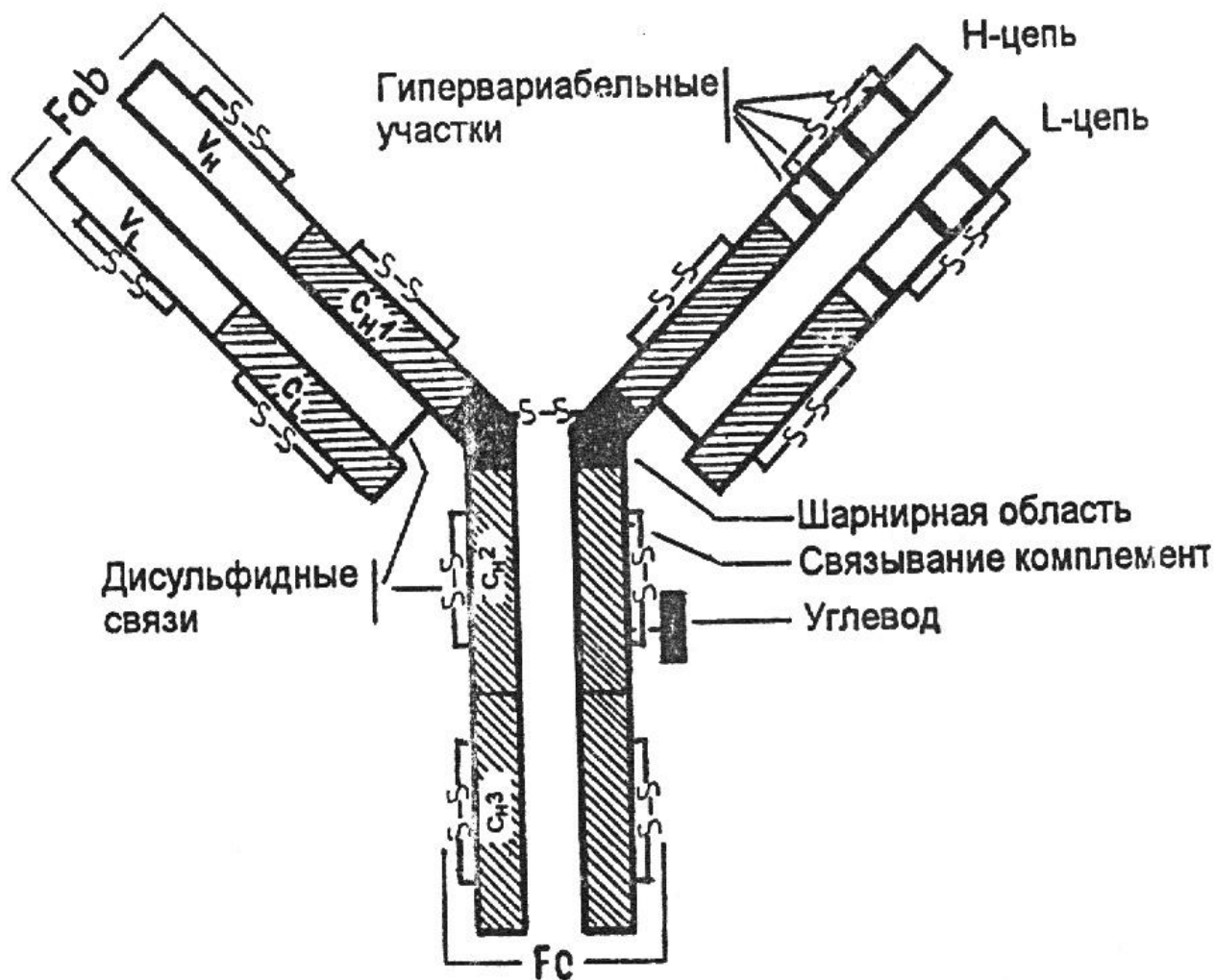
CH2 – место присоединения углеводов и связывания комплемента.

CH3 – участок взаимодействует с Fc –рецептором на поверхности клеток, принимающих участие в иммунных реакциях.

При взаимодействии переменных **Vl** и **Vh**-доменов формируется антигенсвязывающий участок ат (активный центр). Изменения последовательности аминокислотных остатков этих доменов от белка к белку определяют меняющуюся специфичность антител.

Между **CH1** и **CH2** доменами находится шарнирная область, обеспечивающая подвижность Fab-фрагмента.

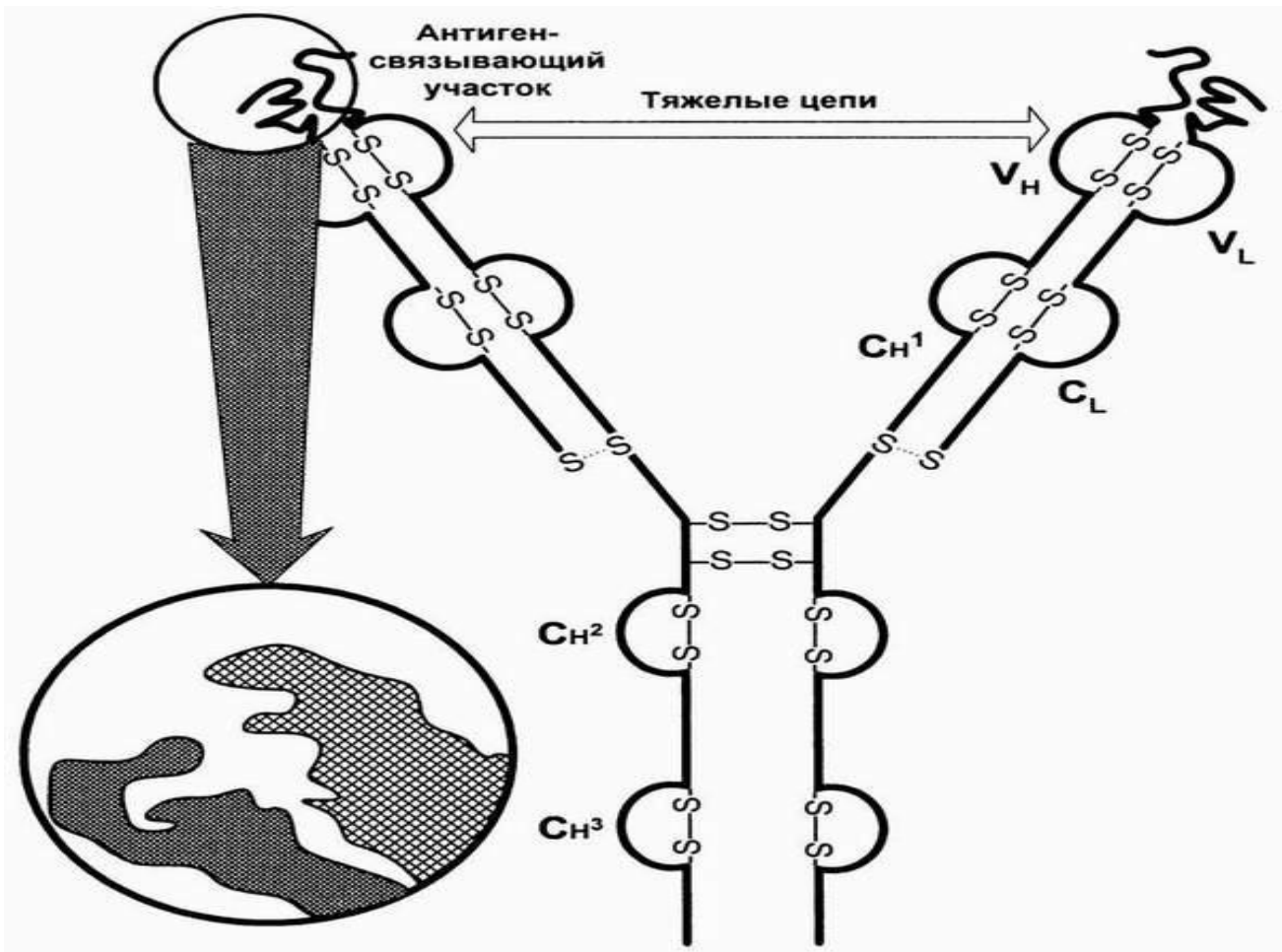
Рис. 9. Строение иммуноглобулина G



В основе реакции антиген – антитело лежит взаимодействие между эпитопами антигена и паратопами антитела, основанное на их пространственном соответствии (комплементарности).

Эти связи обусловлены следующими типами межмолекулярных сил:

- Электростатическими (ионными, полярными)
- Водородными
- Гидрофобными
- Силами Ван – дер – Вальса



РЕАКЦИИ АНТИГЕН - АНТИТЕЛО

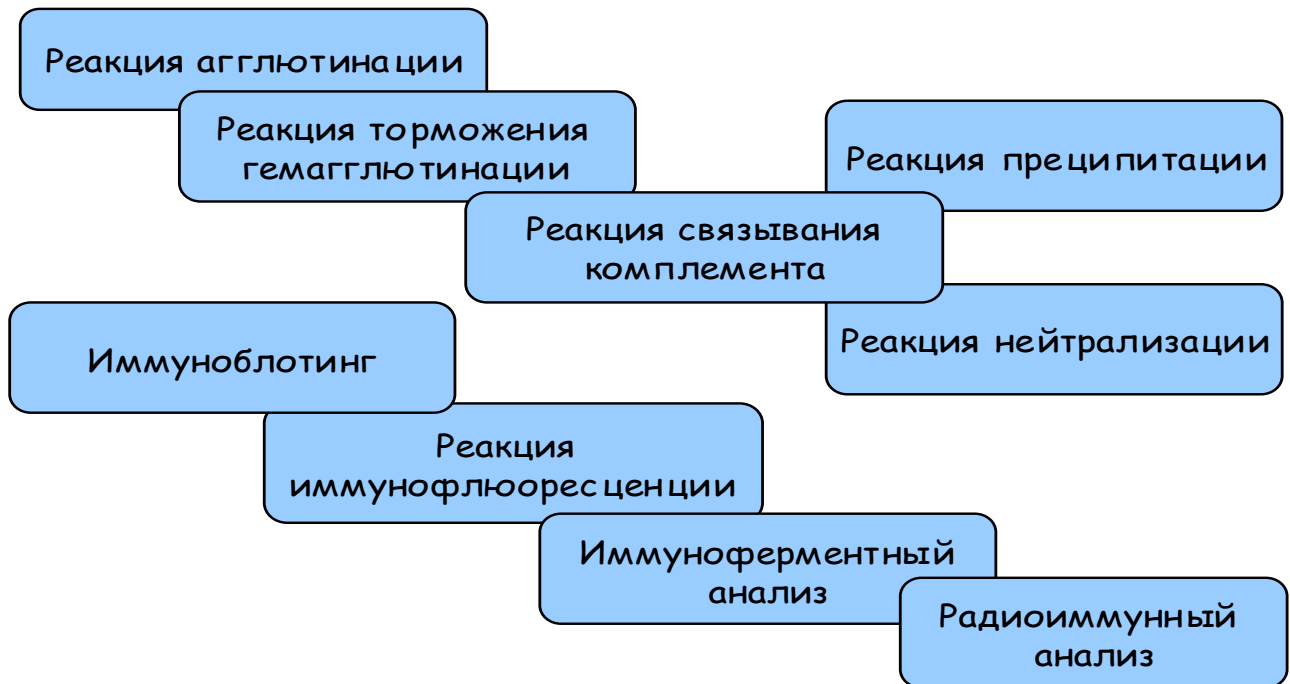


Рис. 10. Гетерогенность иммуноглобулинов.

Принадлежность иммуноглобулина к тому или иному классу или подклассу зависит от характерных особенностей строения тяжелых цепей (количества и последовательности аминокислотных остатков, молекулярной массы, количества доменов и др.). Тяжелые цепи бывают 5 типов (α , γ , δ , ϵ , μ). Легкие – только двух разновидностей – каппа и лямбда. Тяжелые цепи независимо от принадлежности к тому или иному классу или подклассу образуют комплекс либо с каппа, либо с лямбда типом. В зависимости от строения константных областей тяжелых цепей (F_c) иммуноглобулины разделены на 5 классов (IgA, IgM, IgG, IgD, IgE).

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Классы и подклассы	Типы цепей	
	H	L
IgG1	γ	к, λ
IgG2	γ	к, λ
IgG3	γ	к, λ
IgG4	γ	к, λ
IgA1	α	к, λ
IgA2	α	к, λ
IgD	δ	к, λ
IgE	ϵ	к, λ
IgM	μ	к, λ

Характеристика классов иммуноглобулинов

Иммуноглобулины, в зависимости от особенностей строения константных областей тяжелых цепей, подразделяются на 5 основных классов: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. Каждый класс иммуноглобулинов характеризуется определенными свойствами и функциями. **Иммуноглобулин G** (молекулярный вес 160 000) составляет около 80% всех иммуноглобулинов человека и животных. Он содержится не только во внутрисосудистом русле,

но легко проникает с экстравакулярные пространства, где осуществляет важнейшую защитную функцию, благодаря токсиннейтрализующей, вируснейтрализующей, опсонизирующей и бактерицидной активности связанных с ним антител.

Особенно важное значение IgG у детей первых недель жизни, когда АТ этого класса являются основными защитными факторами. В это время способность IgG проходить через клеточные мембраны обеспечивает проникновение IgG-антител матери через плацентарный барьер, а при грудном вскармливании — проникновение IgG-антител молока через слизистую оболочку кишечника новорожденного.

Иммуноглобулин А (молекулярный вес 170 000) — составляет около 16% сывороточных иммуноглобулинов и встречается в виде мономера (80%), димера (9S), три-мера (1 IS) и более крупных полимеров.

Сывороточный IgA у человека составляет менее 50% всего пула IgA. Кроме сыворотки крови он содержится в секретах кишечного и респираторного тракта, слезной жидкости, молока. Антитела этого класса осуществляют защиту слизистых оболочек от различных патогенных микроорганизмов, аллергенов и аутоантигенов.

Установлено, что IgA в основном функционирует на поверхности слизистых оболочек, непрерывно контактирующих с разнообразными антигенами. Это свойство IgA-антител тормозит развитие хронических местных воспалительных процессов. Связываясь с антигенами, IgA-антитела задерживают их прилипание к поверхности клеток эпителия и препятствуют их проникновению во внутреннюю среду организма. В отличие от IgG- и IgM-антител, IgA-антитела не способны активировать комплемент по классическому пути и не вызывают выделения медиаторов воспаления при реакции с АГ.

Иммуноглобулин М (молекулярный вес 950 000) составляет 5-10% от общего количества иммуноглобулинов, а его концентрация в сыворотке приближается к 1 г/л.

На сегодняшний день идентифицировано 2 субкласса IgM, три четверти которого присутствует в сосудистом русле. Будучи пентавалентным, IgM прежде всего реагирует с нерастворимыми антигенами (агглютинация). При этом активация комплемента способствует проявлению цитотоксических эффектов.

К IgM-антителам относятся, например, изогемагглютинины, классический ревматоидный фактор, антитела, выявляемые в реакции Вассермана, большинство естественных антител, особенно против грамотрицательных бактерий.

IgM называют и макроглобулином, так как он является полимером и состоит из пяти четырехцепочных субъединиц (рис. 2).

IgM-антитела появляются на первом этапе иммунного ответа и находятся в основном в сосудистом русле. Поэтому им отведена важная защитная роль при бактериемии, на ранних стадиях различных инфекционных процессов.

Иммуноглобулин D (молекулярный вес 160 000) составляет всего 0,2% сывороточных иммуноглобулинов. IgD был обнаружен как парапротеин у больного миело-мой. Основная функция, очевидно, заключается в том, что на определенной стадии IgD выполняет роль антигенного рецептора В-лимфоцита. Во время беременности и при приеме пероральных противозачаточных средств концентрация IgD в сыворотке крови может возрасти почти вдвое. Также установлено, что с IgD могут быть связаны антитела против пенициллина, противоинсулиновые антитела у больных сахарным диабетом, некоторые другие аутоантитела.

Иммуноглобулин E (молекулярный вес 190 000) присутствует в сыворотке в самой низкой концентрации (0,00002-0,0002 г/л). Однако IgE обладает высокой биологической активностью, цитофильностью, то есть способностью присоединяться к клеткам (тучным клеткам и базофилам), что приводит к их дегрануляции, выделению иазоактивных аминов, которые ответственны за проявление бронхиальной астмы, сенной лихорадки и

других аллергических заболеваний. Уровень IgE существенно возрастает при некоторых инфекциях, особенно при глистных инвазиях. В настоящее время выделяют два вида IgE (общий и специфический).

К IgE относятся антитела типа реагинов. IgE не проходят через плаценту, не фиксируют комплемент, не переносят пассивную анафилаксию.

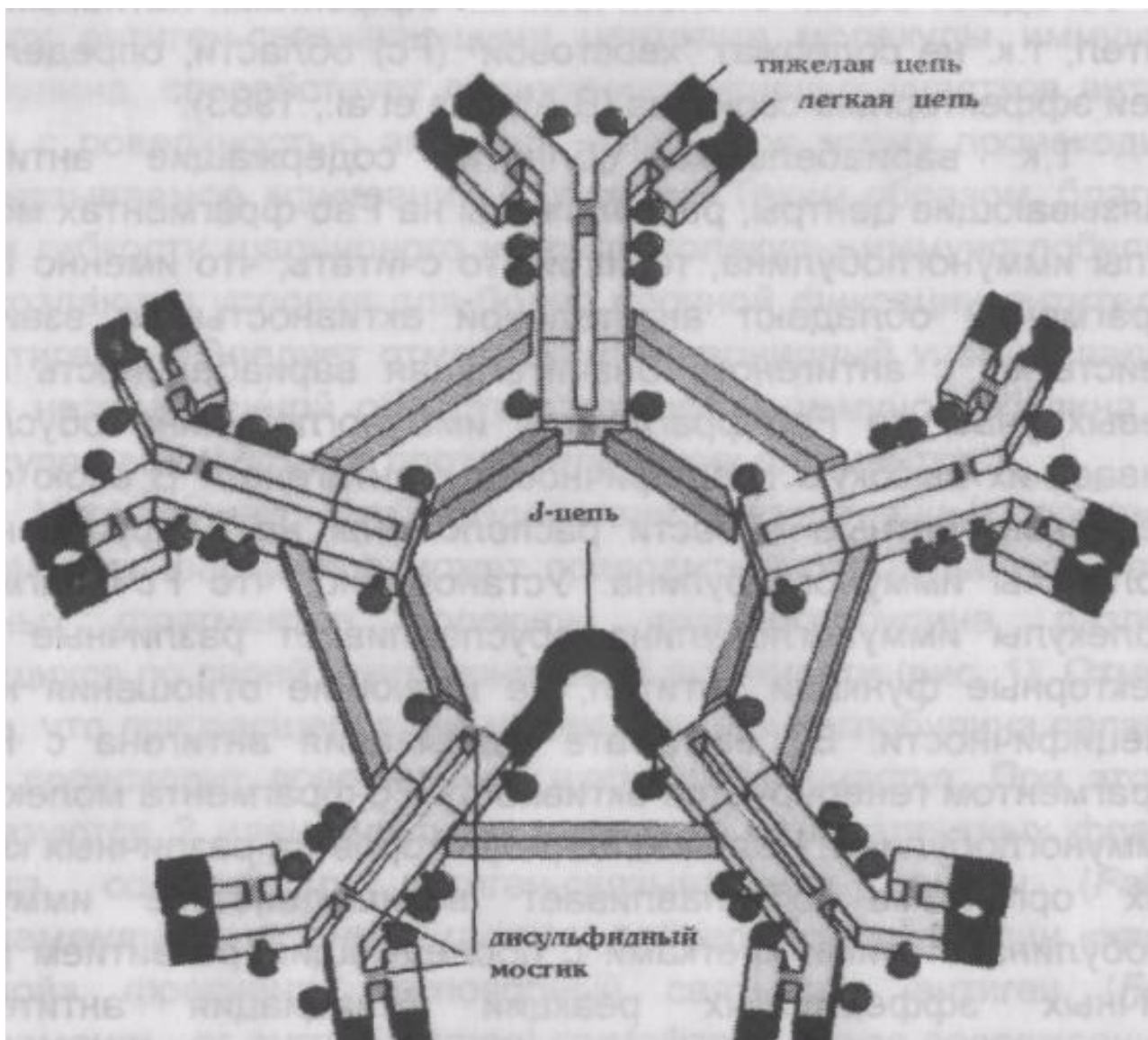


Рис. 11. Структура молекулы IgM

Антигенные свойства Ig.

Существует три типа антигенных детерминант иммуноглобулинов:

- **Изотипы** – антигенные детерминанты, имеющиеся у всех особей данного вида, локализованы на константных участках тяжелых и легких цепей.

Выделяют 5 изотипов : иммуноглобулины 5 известных классов.

- **Аллотипы** – это детерминанты внутривидовые (у одних особей есть, у других нет), локализованы в константной области тяжелых цепей, кодируются аллельными генами и отражают внутривидовой полиморфизм.

- **Идиотипы** – антигенные детерминанты, присущие иммуноглобулину данной специфичности, т. е. Это антигенная характеристика вариабельной, антигенсвязывающей области.

Каждый изотип иммуноглобулинов обладает специализированными свойствами.

ДИНАМИКА ВЫРАБОТКИ АНТИТЕЛ

Динамика накопления в крови и исчезновение из нее антител зависят от того, первично или вторично контактирует организм с данным антигеном.

Соответственно этому различают первичный и вторичный иммунный ответ.

Выделяют 3 фазы образования антител:

латентная – до первого появления антител в организме 72-96 часов.

фаза роста титра ат – пик 2-7 дней.

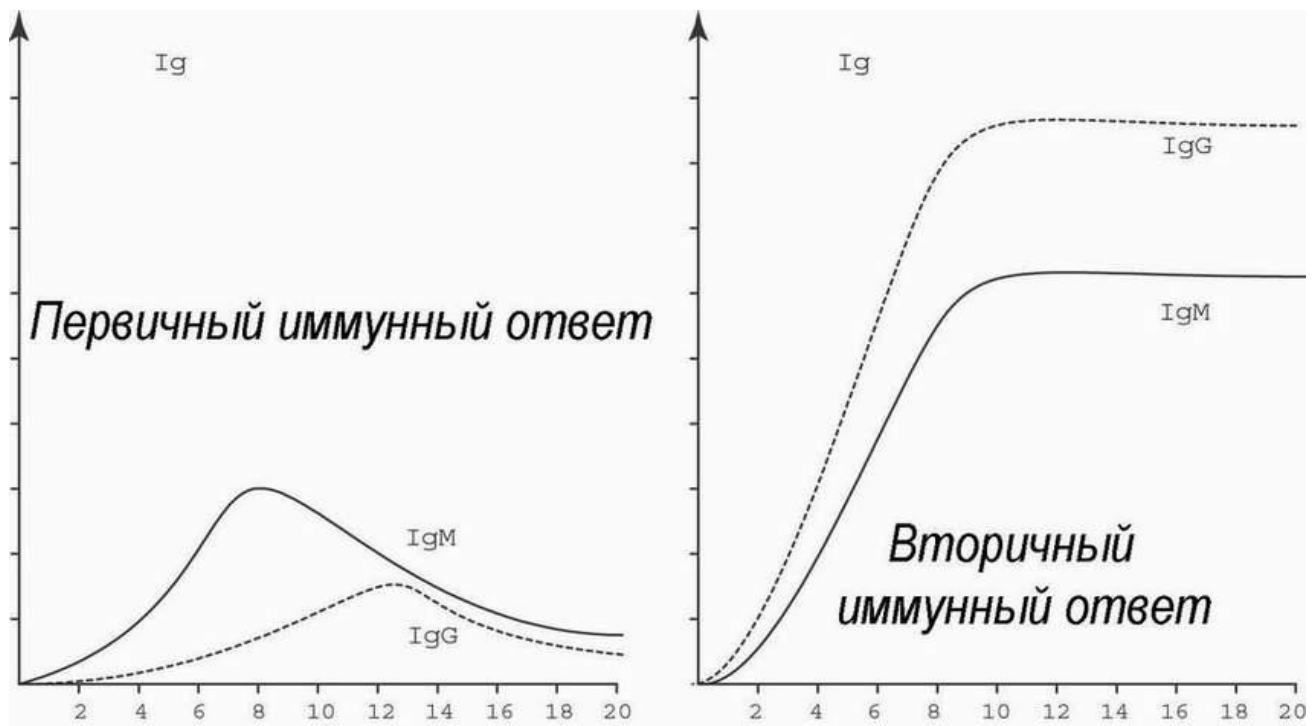
фаза снижения продукции ат

При первичном и.о. латентная фаза более длинная (до 1 нед.), первыми синтезируются IgM, через несколько дней происходит переключение синтеза на IgG. При вторичном ответе сразу синтезируются антитела класса G, латентный период более короткий, более быстрый рост и большие значения титра антител.

Регуляция иммунного ответа: вначале образуются низкоаффинные ат, стимулирующие продукцию ат, при достижении определенного титра ат начинают синтезироваться высокоаффинные ат, которые подавляют продукцию

ат. Кроме того, роль регуляторов продукции ат выполняют иммунорегуляторные клетки.

Рис. 12. Динамика продукции антител при первичном и вторичном иммунном ответе



Участие антител в иммунном ответе проявляется в трех основных формах:

- **Нейтрализация** – ат препятствуют проникновению патогена в клетку, блокируя антигены, которые взаимодействуют с рецепторами клеток-хозяина.
- **Опсонизация** – макрофаги несут на своей поверхности рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов. Ат взаимодействуют с антигенами патогена, опсонизируют последний и обеспечивают более быстрый захват его мф.
- **Активация комплемента** – ат, вступившие в реакцию с аг, активируют белки системы комплемента, которые вызывают лизис клеток-мишеней, а также опсонизацию патогена.

ФЕНОМЕНЫ, ОПОСРЕДОВАННЫЕ АНТИТЕЛАМИ

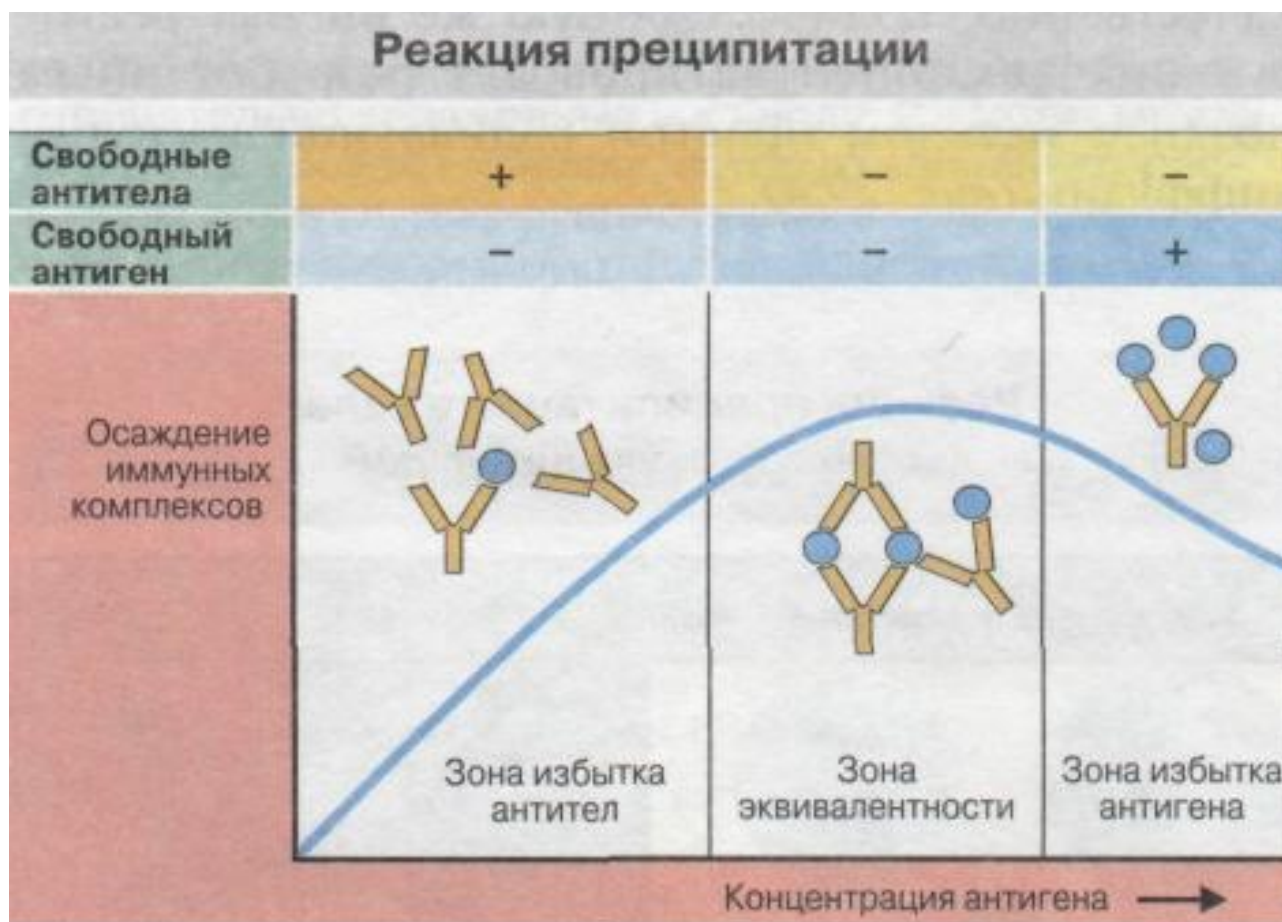
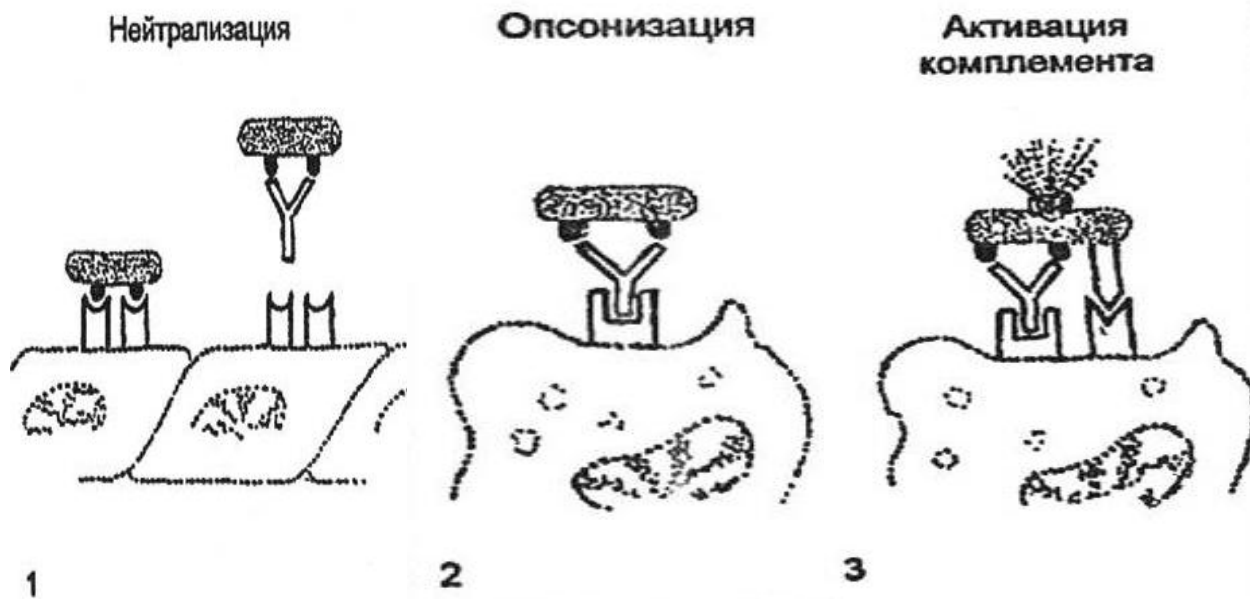
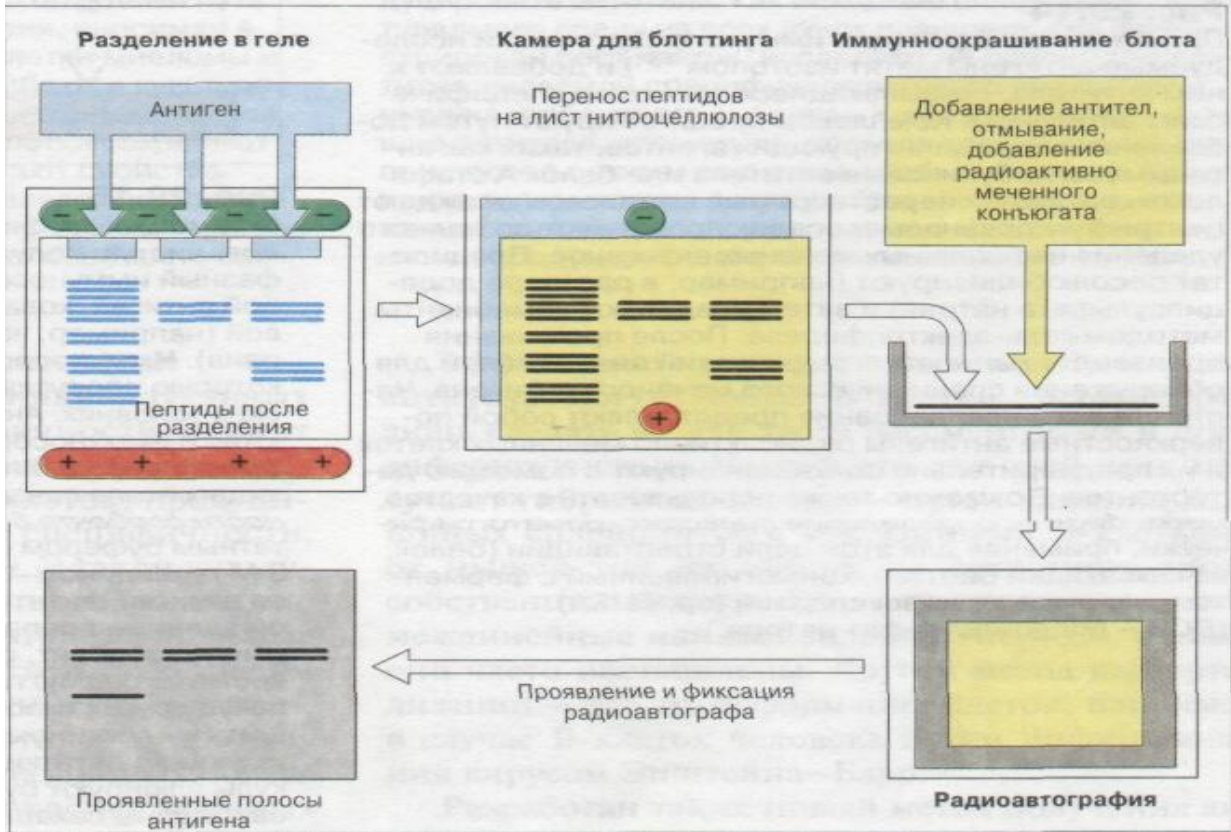


Рис. 13. Реакции взаимодействия антиген-антитело.

Иммуноблоттинг



Простая радиальная иммунодиффузия

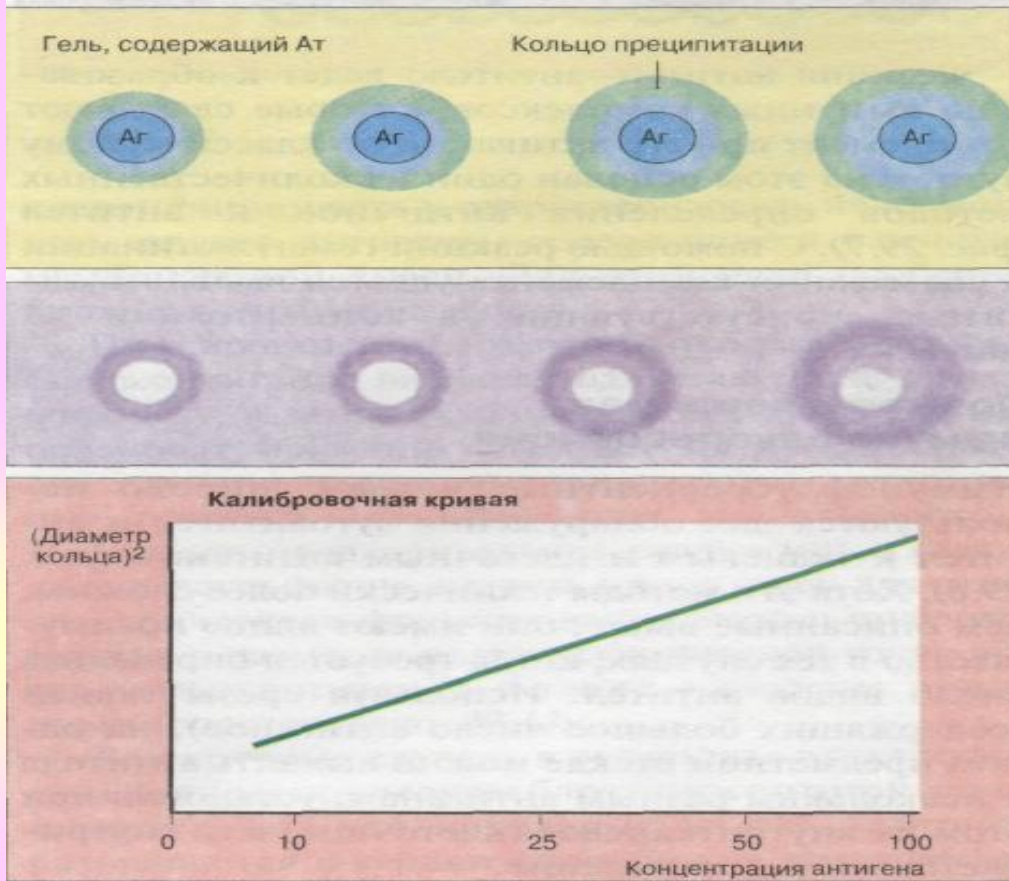
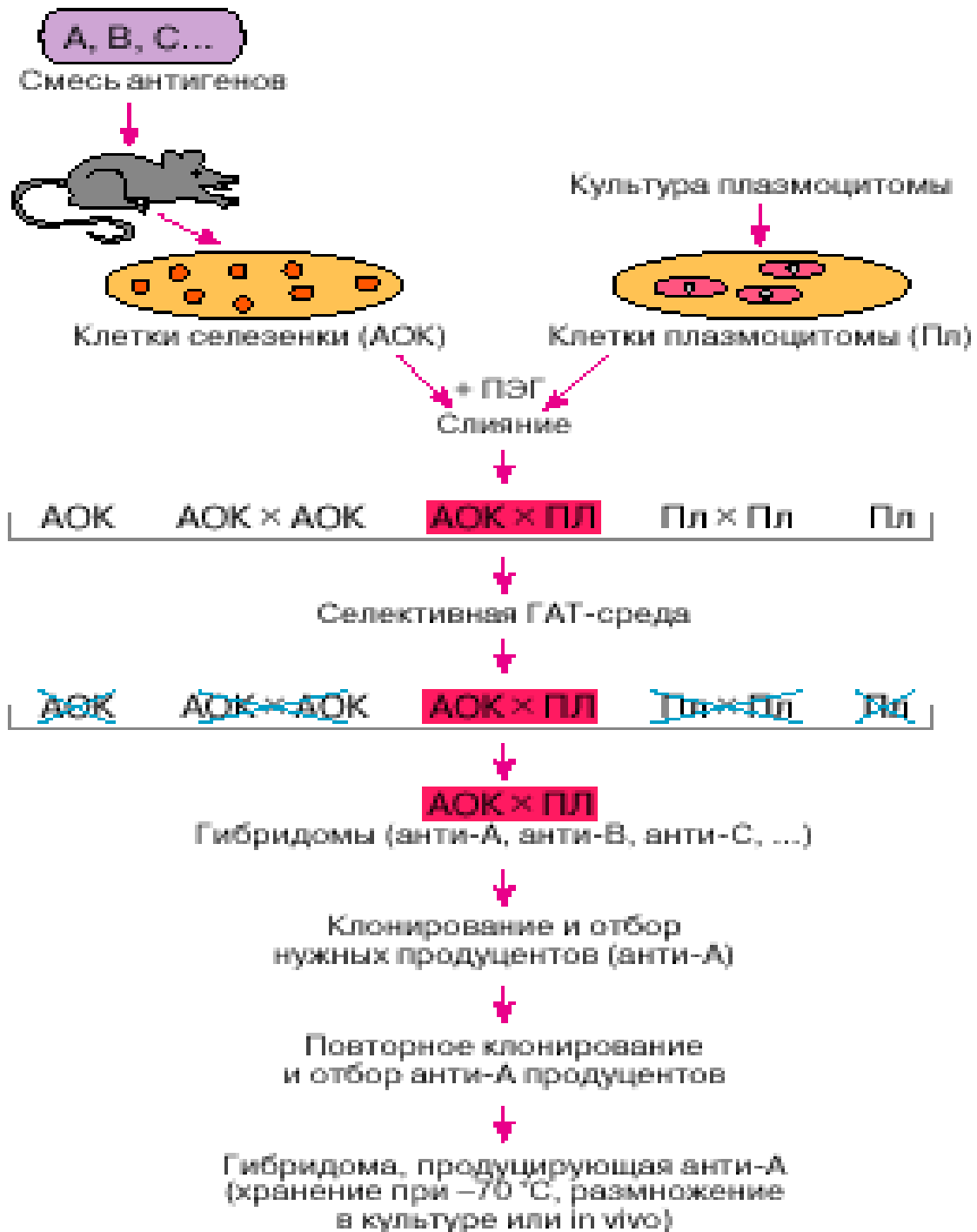


Рис. 14. Получение моноклональных антител



Т – СИСТЕМА ИММУНИТЕТА

Т – система иммунитета - это система органов, клеток, эффекторных и регуляторных молекул, обеспечивающих клеточную форму иммунного реагирования.

Включает: тимус, различные субпопуляции Т-лимфоцитов, эффекторные, антигенраспознающие рецепторы и группу цитокинов, продуцируемых Т – клетками.

Среди клеточных элементов иммунной системы лидерство как по количественным, так и по функциональным параметрам принадлежит Т-лимфоцитам, количество которых составляет в периферической крови от 60 до 80% общей численности лимфоидных клеток.

Зрелые Т-лимфоциты диаметром около 6,5 мкм, ядро плотное, интенсивно окрашенное, занимает всю клетку, эксцентрически располагается почти отсутствующая цитоплазма. Исследование в сканирующем микроскопе показало, что Т-лимфоциты имеют почти гладкую поверхность, располагают большим набором поверхностных антигенов, чем В-лимфоциты, но в 100-1000 раз меньшим количеством поверхностных Ig-рецепторов.

В-клетки больших размеров до 9.5 мкм, ядро менее интенсивно окрашено, не содержит ядрышка, цитоплазма больших размеров, базофильна. В-лимфоциты имеют отростчатую поверхность за счет большой плотности Ig-рецепторов.

ФУНКЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

- 1 Эффекторная (ГЗТ, реакции противоопухолевого, противовирусного, трансплантационного иммунитета и др.)
- 2 Иммунорегуляторная (регуляция функциональной активности МФ, В-лф, НК и др.)
- 3 Распознавание аг на поверхности апк и запуск иммунного ответа
- 4 Синтез и продукция цитокинов

Выполняя эффекторную функцию, Т-лимфоциты определяют практически полный спектр клеточных реакций иммунитета

- ✓ реакции гиперчувствительности замедленного типа,
- ✓ реакции противоопухолевого иммунитета
- ✓ реакции трансплантационного иммунитета
- ✓ обеспечивают резистентность против некоторых бактериальных инфекций (туберкулез, лепра, малярия и др., связанных с внутриклеточным паразитированием возбудителя)
- ✓ противовирусный иммунитет

Помимо эффекторной функции у Т-лимфоцитов высоко развита иммунорегуляторная активность: они принимают участие в регуляции функциональной активности кроветворных стволовых клеток, макрофагов, В-лимфоцитов и др. клеток (так например, В-лимфоциты на тимусзависимые антигены не могут развивать полноценный иммунный ответ без помощи Т-хелперов.)

Кроме того, Т-лимфоциты осуществляют распознавание антигена на поверхности антигенпредставляющих клеток и запуск иммунного ответа.

Одной из важнейших функций Т-лимфоцитов является и способность синтезировать продуцировать цитокины, регулирующие не только межсистемные взаимодействия, но и многие жизненно важные процессы в организме (например Т-лимфоциты через продукцию ИЛ-3 воздействуют на самые ранние процессы гемопоэза). Обнаружена способность Т-лимфоцитов продуцировать гормоноподобные субстанции, например типа АКТГ.

Наиболее демонстративно значение Т-лимфоцитов в обеспечении жизненно важных функций организма видно при СПИДе: «выключение» этих лимфоцитов ВИЧ ведет к полной беззащитности организма перед возбудителями различных инфекций, злокачественными новообразованиями.

Одной из особенностей Т-лимфоцитов является их гетерогенность.

СУБПОПУЛЯЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

- 1. Т-хелперы (Тх0, Тх1, Тх2)**
- 2. Т-регуляторные (Foxp3-клетки)**
- 3. ЦТЛ**

4. Гамма-, дельта (интраэпителиальные) – Т-лимфоциты

5. Т- клетки памяти

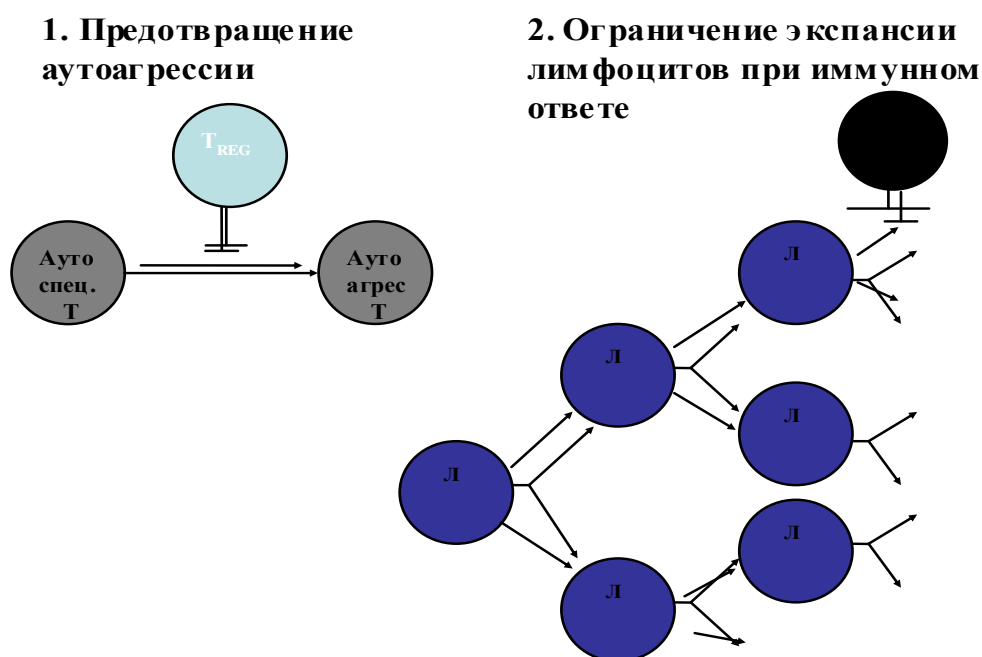
Субпопуляции Т-лимфоцитов

Т - хелперы, которые подразделяются на Тх0, Тх1, Тх2 (среди общего числа Т-лф составляют 50-60%, они находятся в периферической крови, тимусе, лимфатических узлах, лимфоидных скоплениях, меньше в селезенке).

Иммунорегуляторные (Foxp3-клетки). Ген Foxp3 локализуется в X-хромосоме (p11.23-q13.3). Относится к семейству генов FOX, которые кодируют транскрипционные факторы, содержащие ДНК-связывающий домен Forkhead box, или winged helix. Продукт – консервативный белок скурфин. Мутация гена Foxp3 приводит к развитию IPEX синдрома (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome). Гиперэкспрессия гена Foxp3 и гиперпродукция скурфина нарушает функции CD4+ Т-клеток – снижает их способность к пролиферации и выработке цитокинов в ответ на стимуляцию.

Рис. 15. Супрессорные Т-клетки при иммунном ответе

НАЗНАЧЕНИЕ СУПРЕССОРНЫХ Т-КЛЕТОК ПРИ ИММУННЫХ ПРОЦЕССАХ



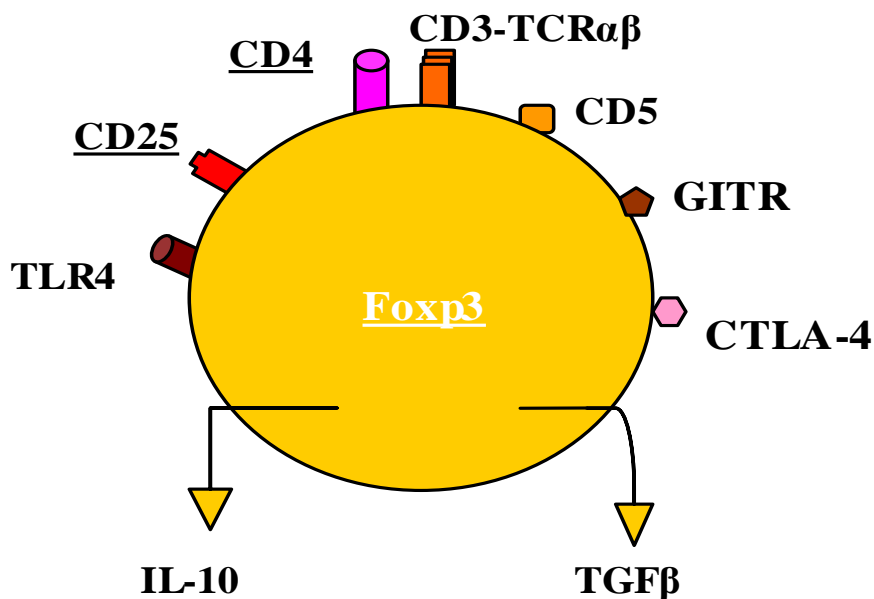


Рис. 16. Маркеры регуляторных Т-клеток

Развитие и функции естественных регуляторных Т-клеток нарушается при дефектах генов: Foxp3, CTLA4, CD40, IL-2, CD25, CD122. Естественные регуляторные Т-клетки обладают более высокой по сравнению с другими Т-клетками чувствительностью к: ионизирующей радиации, циклоспорину А, глюкокортикоидам, химиотерапевтическим препаратам.

Они высоко чувствительны к инфицированию ВИЧ-1, вирусом краснухи, Т-лимфотропными вирусами.

Кроме Foxp3 клеток к Treg. относятся **Tx3, Tr1:**

1. Дифференцируются в тимусе
2. Составляют 5-10% МНК (мононуклеарных клеток) периферической крови
3. Это CD4+CD25+ - лимфоциты
4. Выполняют супрессорную функцию
5. Продуцируют ИЛ – 10, ТФР-β, ИФН-γ, ИЛ – 5.

Т-х 1 – (их еще называют клетками гиперчувствительности замедленного типа, воспалительными Т-клетками) оказывают помощь Т-клеткам, НК-клеткам в приобретении цитотоксической активности, вызывают активацию

инфицированных макрофагов, продуцируют ИЛ-2, 3, гамма-ИФН, ФНО-альфа, бета, среди которых дискриминантным цитокином является гамма-ИФН.

T-x2 – лимфоциты, оказывающие помощь В-клеткам в антителопродукции, секретируют набор цитокинов, необходимый для гуморального иммунного ответа: ИЛ-3, 4, 5, 6, 10, 13, ФНО-альфа, дискриминантным является ИЛ-4. Кроме того, T-x2 подавляют функцию Tх-1.

T-x2 - клетки стабильнее, чем Tх-1, которые могут передифференцироваться в T-x2 в присутствии ИЛ-4, что обусловлено отсутствием ответа T-x2 на ИЛ-12, при сохранении реакции Tх-1 на ИЛ-4. Следует отметить, что Tх-1 более чувствительны к Fas- опосредованному апоптозу, чем T-x2.

T-x0 - клетки мигрирующие в периферические органы иммунной системы из тимуса и еще не встретившие антиген и не вступившие в иммунный ответ. Активация наивных T-клеток при первичной встрече с антигеном получила название примирование. Установлено, что если наивная клетка распознает антиген презентируемый макрофагом, то она трансформируется в Tх1-клетку. Распознавание антигена на поверхности В-лимфоцита является сигналом к трансформации в T-x2. Tх0 секретируют цитокины, продуцируемые Tх1 и 2: ИЛ-2, 4, γ -ИФН и др.

Среди наивных T-лимфоцитов, находящихся в T-зонах периферических органов только 1 из 100 000 способен к специфическому распознаванию антигена, невостребованные клетки покидают орган по эфферентному лимфатическому сосуду и включаются в рециркуляцию.

Гамма, дельта – T- лимфоциты – 10 % в периферической крови (TCR комплекс имеет γ , δ цепи: γ -, δ -T лимфоциты).

- 1 Обнаруживаются в основном в эпителиальной ткани (обеспечивают естественную резистентность).
- 2 В покое состоянии не имеют CD4 или CD8, после активации трансформируются в CD4+ (T-хелперы) или CD8+ (T-киллеры).
- 3 Антиген распознают без участия молекул МНС, в распознавании

участвуют белки теплового шока

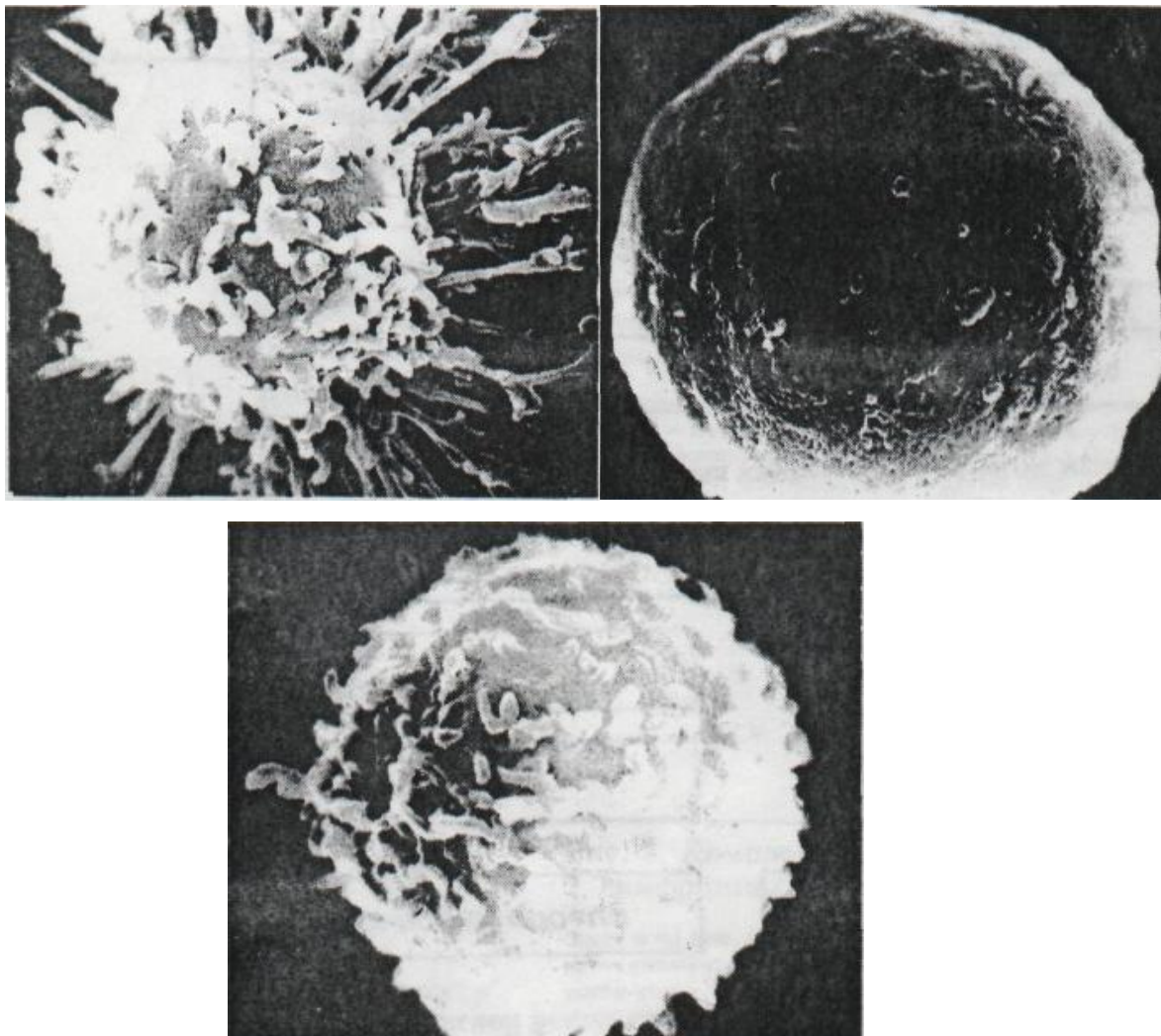
Цитотоксические Т-лимфоциты (киллеры). Находятся в основном в периферических органах и тканях, не типичны для тимуса и костного мозга.

Т-клетки памяти рециркулирующие неделящиеся малые лимфоциты, которые практически мгновенно начинают пролиферировать и превращаться в специфические цитотоксические Т-клетки после повторной встречи с антигеном, вызвавшим их образование. Место генерации Т-клеток памяти в организме до сих пор не известно.

Маркеры Т-лимфоцитов

Маркеры - поверхностные структуры (или внутриклеточные), характеризующие как отдельные типы лимфоцитов, так и определенные этапы их развития.

Рис. 17. Различные типы поверхностной структуры Т - лимфоцитов



Варианты маркеров:

1)поверхностные антигены, в т.ч. дифференцировочные, появляющиеся и исчезающие в зависимости от стадии развития клетки или сохраняющиеся на всех стадиях клеточного цикла;

2)поверхностные рецепторы (распознающие структуры), с помощью которых клетки узнают антиген и воспринимают другие стимулы, необходимые для их жизнедеятельности.

Важнейшими маркерами Т-лимфоцитов служат рецепторы, которые отличаются по строению, функциональному назначению и разделены на 3 группы:

1)антиген распознающие рецепторы на Тлф - (TCR), на Влф - рецепторы Ig природы; позволяют специфически распознавать антиген;

2)рецепторы для иммунологически значимых продуктов иммунной системы (рецепторы к FcIg, C1-C9, лимфокинов и др.) - необходимы для реализации различных функций иммунной системы;

3)рецепторы для продуктов неиммунного происхождения (гормонов, нейропептидов и др.),

4)рецепторы адгезии.

АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЙ КОМПЛЕКС Т-ЛИМФОЦИТА

- TCR
- CD3-рецептор
- CD4 или CD8 – рецептор
- Димер из двух ζ - цепей

Т-лимфопоэз в тимусе.

Предшественники Т-лимфоцитов, покидая костный мозг, через кровь мигрируют в тимус, которого достигают не более 5% клеток. Часть "затерявшихся клеток", попадая в селезенку, может дифференцироваться в НК-клетки. Миграция предшественников Т-лимфоцитов в тимус осуществляется благодаря их высокой подвижности, наличию на поверхности клеток рецепторов хоминга (**CD44 - проводник клеток в тимус**), а также действию

хемокинов. Развитие Т-лимфоцитов в тимусе обеспечивается взаимодействием с тимическими эпителиальными клетками (ТЭК).

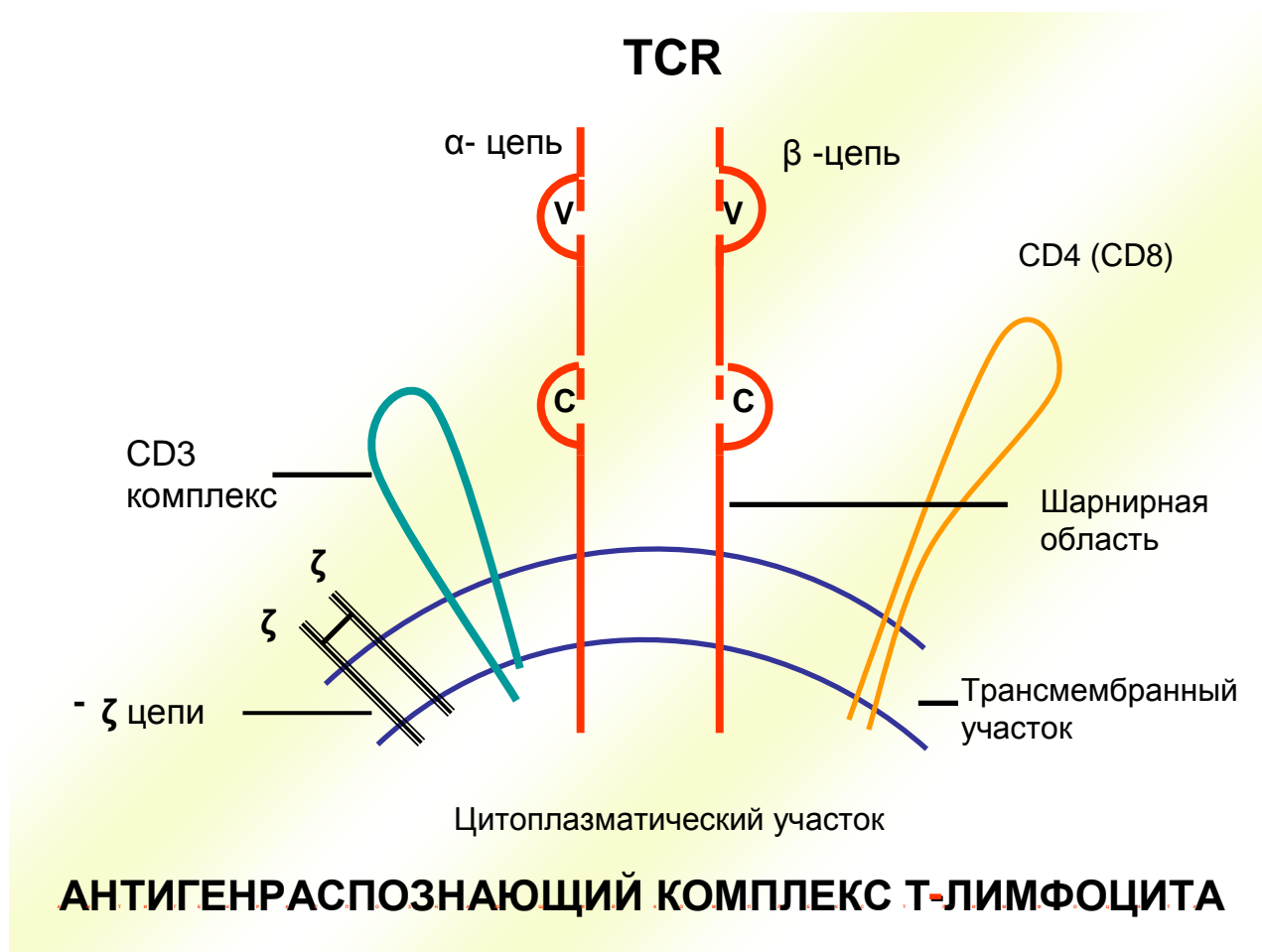


Рис. 18. Антигенраспознающий комплекс Т-лимфоцита

ТЭК синтезируют гормоны тимуса (тимулин, тимозины, тимопоэтин, сывороточный фактор тимуса), которые стимулируют дифференцировку и функциональную активность Т-лимфоцитов. Стромальные клетки тимуса продуцируют и секретируют целый ряд ростовых факторов и других цитокинов: ИЛ-1, 6, 7, 11, 12, ФНО-α, ТФР-β, GM-CSF и др. Важнейшим для интратимической дифференцировки Т-лимфоцитов является **ИЛ-7**. В процессе ИЛ-7-опосредованной пролиферации в субкортикальной зоне формируются незрелые Т-клетки, экспрессирующие **CD25**. Клетки с фенотипом **CD44+CD25+** обозначаются как **проТ**, на этой стадии начинается реаранжировка рецепторных генов. В субкортикальном слое начинает экспрессироваться CD3 рецептор, состоящий из γ, β и ε цепей, и обеспечивающий передачу от сигнала **TCR** в цитоплазму клетки.

Кроме того, ранние предшественники Т-лимфоцитов несут на своей поверхности **CD34**, **CD38** (маркер стадии синтеза), **CD7**, **TdT** (терминальная дезоксирибонуклеотидил трансфераза - исчезает по мере созревания клеток; необходима для встраивания дополнительных нуклеотидных последовательностей в ДНК клетки, что увеличивает структурное разнообразие рецепторов).

На начальном периоде пребывания в тимусе клетки способны дифференцироваться в направлении Т- лимфоцитов, В-, НК - , дендритных клеток. Эта способность утрачивается после потери **CD44**.

На стадии пре-Т -клеток (**CD44-CD25-**) завершается реаранжировка рецепторных генов. На этой стадии происходит выбор в пользу формирования рецепторов α/β или γ/δ . Одновременно с этим (кортикальный слой) усиливается экспрессия **CD4+** (обеспечивает распознавание аг ГКГС 2 класса) и **CD8+** (обеспечивает распознавание аг ГКГС 1 класса) (**CD4+CD8+** - дубль-положительные клетки). Для незрелых (кортикальных) тимоцитов также характерны **CD1 (a, b, c)**, **CD95** (проводник в клетку сигнала апоптоза). Кортикальные тимоциты очень чувствительны к действию индукторов апоптоза. Зрелые медуллярные тимоциты экспрессируют **CD28+** (на 60-70% **CD8+**, на всех **CD4+** - корецептор межклеточного взаимодействия, предохраняет клетки от апоптоза), **CD45** (участвует в запуске активационных сигналов).

В процессе созревания тимоцитов изменяется их фенотип, свойства, происходит селекция Т-лимфоцитов, основные процессы осуществляются на границе коркового и мозгового слоев.

Этапы селекции Т – лимфоцитов

1. Образование дубль положительных клеток.
2. Отбор клонов клеток, способных распознавать собственные молекулы ГКГС 1 или 2 класса, экспрессированные на ТЭК (timoциты, не способные распознать собственные антигены ГКГС гибнут путем апоптоза).
3. Клетки, распознавшие молекулу ГКГС 1 класса теряют **CD4**, сохраняют

CD8; клетки, распознавшие молекулу ГКГС 2 класса теряют CD8, сохраняют CD4 (положительная селекция).

4. Отрицательная селекция: из популяции тимоцитов через процесс апоптоза удаляются клетки, способные реагировать с аутоантигенами на поверхности АПК.
5. Оставшиеся от исходной популяции клеток 2-5% покидают тимус и заселяют периферические лимфоидные органы и ткани.

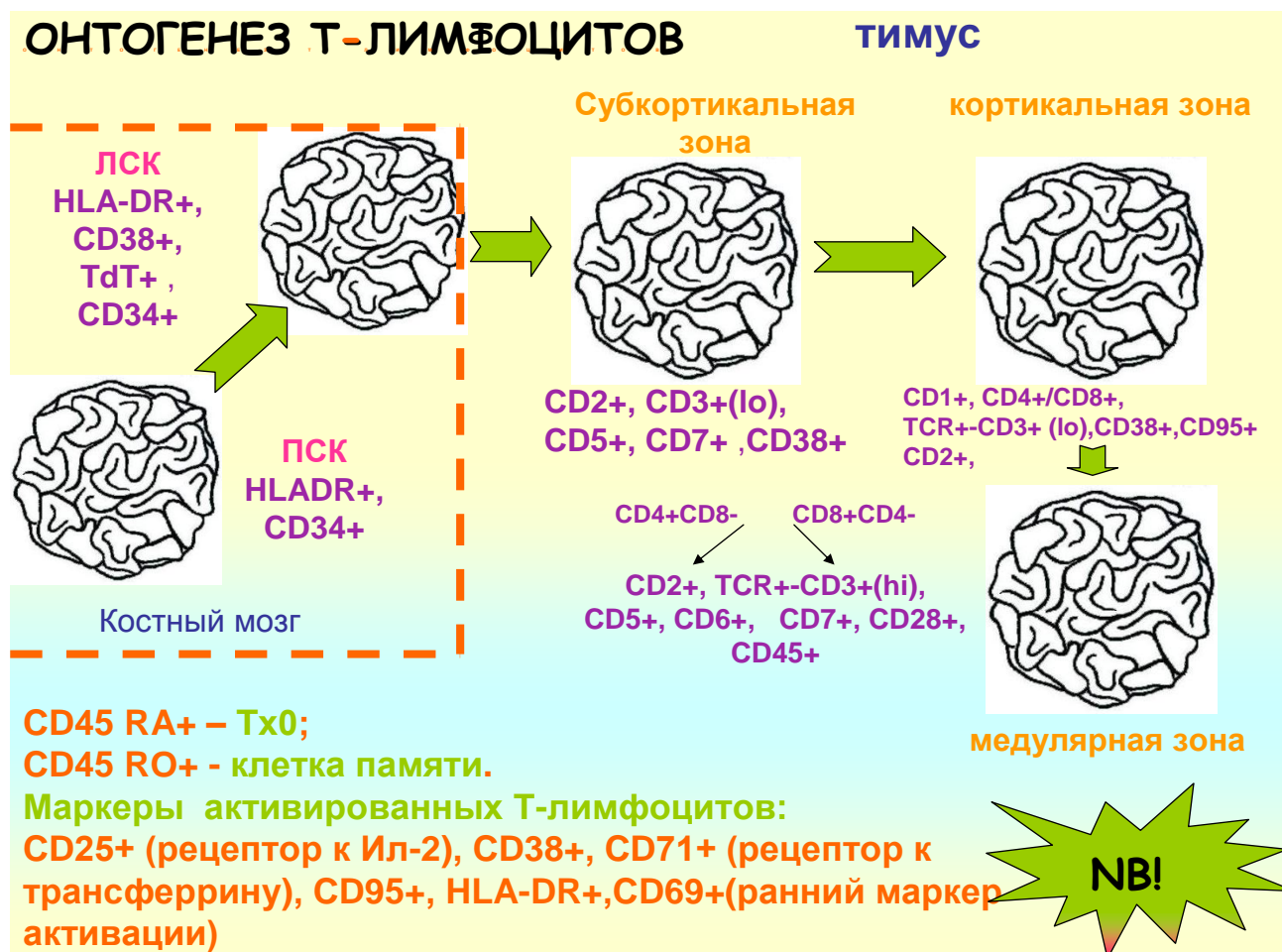


Рис. 19. Онтогенез Т-лимфоцитов

Т-лимфоциты – продуценты цитокинов

Клетки-продуценты	Спектр цитокинов
Тх0	ИЛ-2, 3,4,5,6, 10,13; ИФН-γ, ФНО-β
Тх1	ИЛ-2, 3, ИФН-γ, ФНО-β
Тх2	ИЛ-3,4,5,6, 10,13
Т reg	ИЛ – 5, 10, ИФН-γ, ТФР-β
ЦТЛ	ИЛ-2,4,5,10, ИФН-γ, ФНО-γ

НОРМАТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЯ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Популяция клеток	CD-маркер	Абсолютное количество в 1 мм ³	Процентное содержание
Т-лф	CD3	800-2200	60-80
Т-хелперы	CD4	500-1200	30-50
ЦТЛ	CD8	300-600	20-25
В-лф	CD19	150-600	10-20
мон/мф	CD14	80-200	6-15
НК	CD16	100-600	8-20

Методы идентификации Т-клеток

1. Метод розеткообразования – рутинный метод. Может использоваться только как тест оценки адгезивной способности Т-лимфоцитов (CD2-зависимой адгезии).

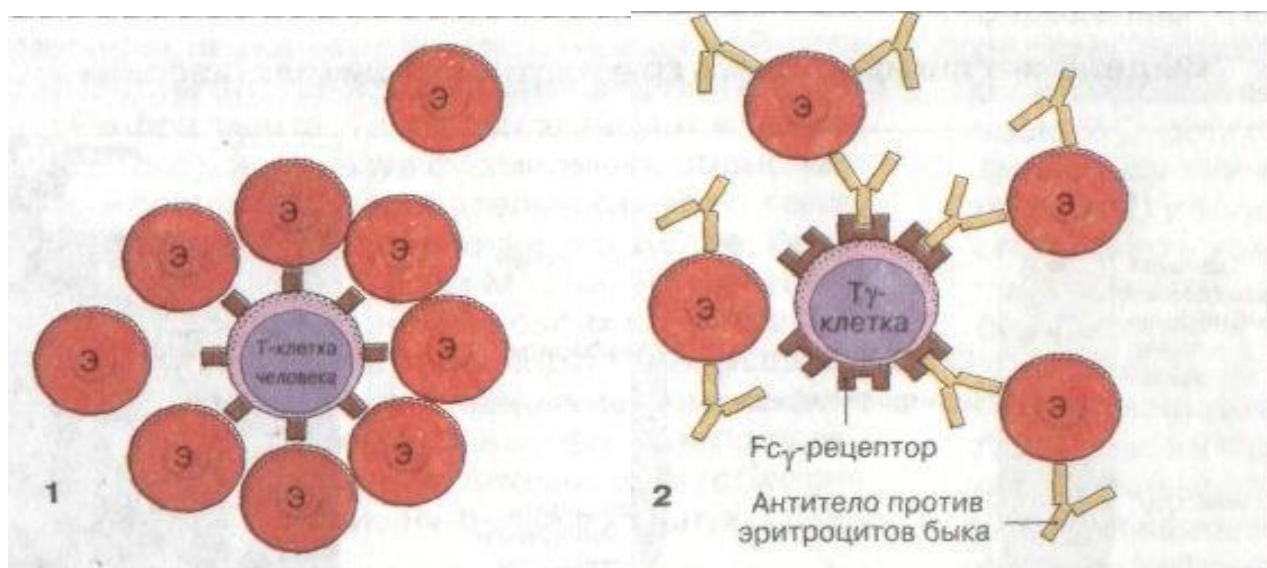


Рис. 20. Реакция розеткообразования

2. Методы с использованием МКА (иммунофлюоресценции, иммунопероксидазный, проточной цитофлуорометрии). CD3- маркер позволяет подсчитать общее количество Т-лимфоцитов. Количество Т-хелперов определяют по числу CD4⁺-клеток, ЦТЛ– по CD8⁺-клеток.

3. Функциональной пробой является постановка реакции бласттрансформации с использованием митогенов ФГА, КонА. Этот тест дает возможность при ненарушенном количестве CD3-лимфоцитов выявить

функциональный дефект Т-клеток.

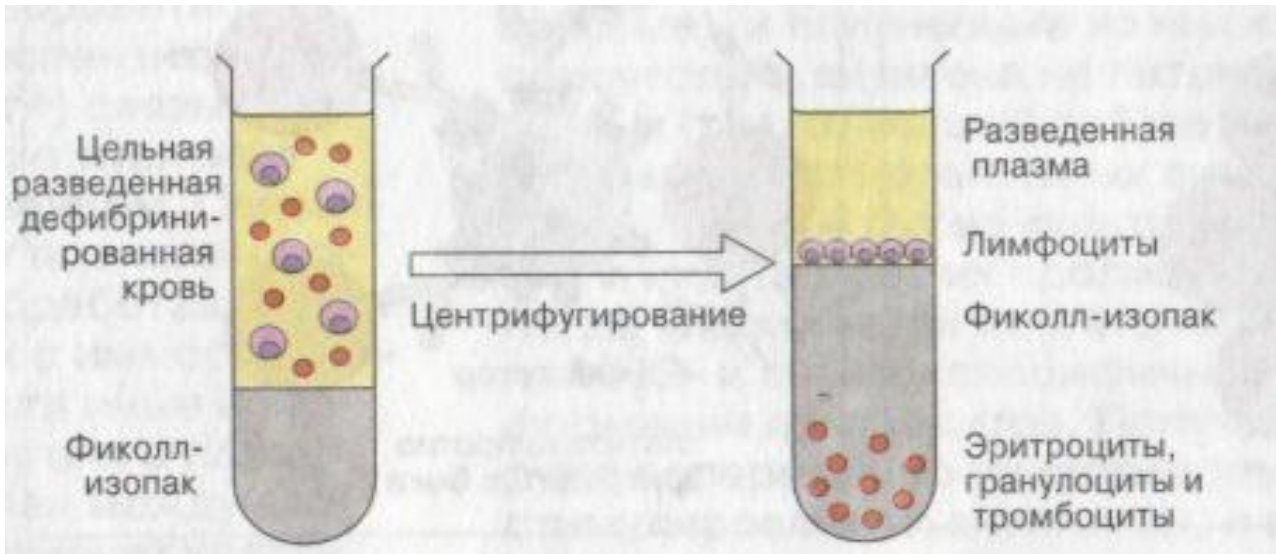


Рис. 21. Выделение лимфоцитов в плотности фиколл - верографина

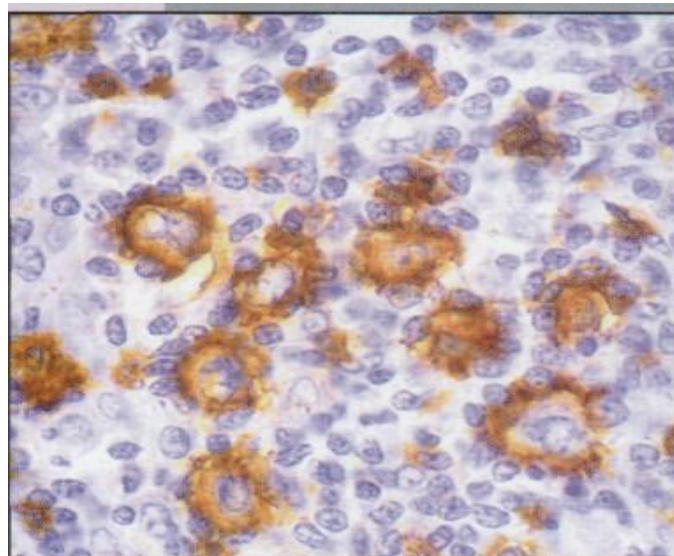


Рис. 22. CD3+ Т – лимфоциты, окрашенные анти-CD3 МКА

4. Функциональное состояние CD4-лимфоцитов тестируют по цитокиновому профилю: X1 – по секреции гамма-ИФН, X2 – ИЛ-4.
5. Для определения функциональной активности CD8-лимфоцитов проводят тест цитотоксичности. Клетки-мишени метят радиоактивным изотопом и по количеству высвобождаемого изотопа судят о величине цитотоксической активности CD8-лимфоцитов.

Патология в системе Т-клеточного иммунитета

врожденная недостаточность Т-лимфоцитов (первичный ИД - ТКИН, синдром Ди-Джорджи, синдром атаксии-телеангиоэктазии и др);

инфицирование Тлф вирусом ВИЧ, острого лимфолейкоза взрослых;
Т-клеточные иммунопролиферативные заболевания (варианты острого лимфолейкоза, Т-клеточные лимфомы и др.).
врожденные и приобретенные дефекты Т-клеточного антигенраспознающего рецепторного комплекса или его отдельных субъединиц, адгезивных молекул, дефектность механизмов “обучения” Т-лф в тимусе (блок позитивной и/или негативной селекции тимических лф);
нарушение соотношения регуляторных Т-лимфоцитов (CD4 и CD8), субпопуляций с превышением функции хелперно-индуцирующих клеток - аутоиммунная и аллергическая направленность или иммунодефицитная направленность иммунопатологии;
приобретенные тимусзависимые ИДС (удаление тимуса, поражение Т-клеток физическими, фармакологическими и другими методами, опухоли, нарушение питания, инфекции, возрастные изменения и др.);
преактивация Т-лимфоцитов *in vivo* (факторы микроорганизмов, аутоантитела против структур Т-клеток, фармакологические средства и др.) с развитием аутоиммунных процессов, повышенной продукцией ЦК, актив. мф - усиление воспалительных, деструктивных процессов).

IPEX-синдром (Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome) – синдром дисрегуляции иммунитета, полиэндокринопатии, энтеропатии, сцепленный с X-хромосомой. Рецессивное заболевание, вызванное мутациями гена FOXP3 (миссенс-мутации, мутации стоп-кодона). Заболевание начинается в раннем возрасте и характеризуется полиорганной аутоиммунной патологией (сахарный диабет I типа, аутоиммунный тиреоидит, тяжелая энтеропатия), кахексией, низкорослостью, аллергическими проявлениями (экзема, пищевая аллергия, эозинофилия, увеличение уровня IgE), гематологическими нарушениями (гемолитическая анемия, тромбоцитопения) с высоким уровнем аутоантител и массивной Т-клеточной инфильтрацией кожи и пищеварительного тракта. Больные дети (мальчики) гибнут в течение 1-го года жизни от инфекционных заболеваний.

В-СИСТЕМА ИММУНИТЕТА

В-система иммунитета – это система органов, клеток и эффекторных молекул, осуществляющих гуморальную форму иммунного реагирования.

Центральным органом этой системы является костный мозг – основное место генерации В-лимфоцитов.

Клеточный состав представлен В-клетками различной степени зрелости, включая плазмоциты.

Иммуноглобулины А, М, G, Е, D являются эффекторными молекулами В-системы.

В-лимфоциты - это клетки иммунной системы, представляющие собой основной структурный компонент гуморального иммунного ответа, заключающегося в выработке специфических антител. Количество В-лимфоцитов в периферической крови составляет 10-20%. В-лимфоциты имеют в диаметре 9,5мкм, ворсинчатую поверхность за счет Ig-рецепторов, которые погружены в липидный слой мембраны В-лимфоцитов и свободно перемещаются по мембране. Число таких Ig рецепторов может достигать 400 000. Наличие на поверхности В-лимфоцитов иммуноглобулиновых молекул для распознавания антигена (рецептора BCR) является их основной характеристикой.



Рис. 23. Поверхностная структура В - лимфоцита

Ig-рецепторы В-лимфоцитов имеют следующие особенности:

1. Рецепторы равномерно распределяются на поверхности В-лимфоцитов;
2. Рецепторы обладают подвижностью и могут перемещаться по поверхности В-лимфоцита
3. Один клон В-лимфоцитов несёт иммуноглобулиновый рецептор, способный реагировать только с одной антигенной детерминантой;
4. Присоединение антигена ведёт к концентрированию комплексов рецептор-антиген на одном из полюсов клетки в виде «шапочки» (кэпа) с последующим поглощением её клеткой;
5. Синтез иммуноглобулиновых рецепторов происходит в В-лимфоцитах постоянно (50% рецепторных молекул обновляется в течение 4-6 часов).

Строение антигенраспознающего комплекса

В-лимфоцитов.

В состав комплекса входят:

I. BCR

1. Мембранный иммуноглобулин. Преобладающим классом мембранных иммуноглобулинов является мономерный IgM, который присутствует на поверхности всех зрелых В-клеток, не контактировавших с антигеном. Однако значительная часть зрелых В-лимфоцитов, созревание которых в костном мозге уже завершилось, содержат на поверхности BCR, основой которого, наряду с IgM, является поверхностный IgD. В процессе иммунного ответа происходит смена изотипа рецептора на IgG, IgE IgA.

2. CD79a и CD79b – участвуют в передаче сигнала о связывании антигена

II. Корцептор, представляющий собой комплекс дополнительных молекул, обладающих сигнальной функцией и способствующих повышению аффинности антигенраспознающего комплекса к распознаваемым структурам. Включает CD19, CD20, CD21(рецептор для комплемента, вируса Эпштейна-Барр), CD81, лектин Leu13(белок, способный связываться с углеводной группой), на некоторых В-лимфоцитов присутствует CD22 (рецептор адгезии).

Зрелые В-лимфоциты располагают необходимыми мембранными молекулами, чтобы не только распознать антиген, но и эффективно взаимодействовать с другими клетками иммунной системы, например Т-лимфоцитами (CD40, CD72-общие маркеры В-лф), а также межклеточным матриксом (интегрины), молекулами иммуноглобулинов, компонентами комплемента, цитокинами (рецепторы к ИЛ-1,4, гамма ИФН). Экспрессируемые на поверхности В-лимфоцитов антигены ГКГС I и II классов, позволяют им выполнять функцию антигенпредставляющих клеток.

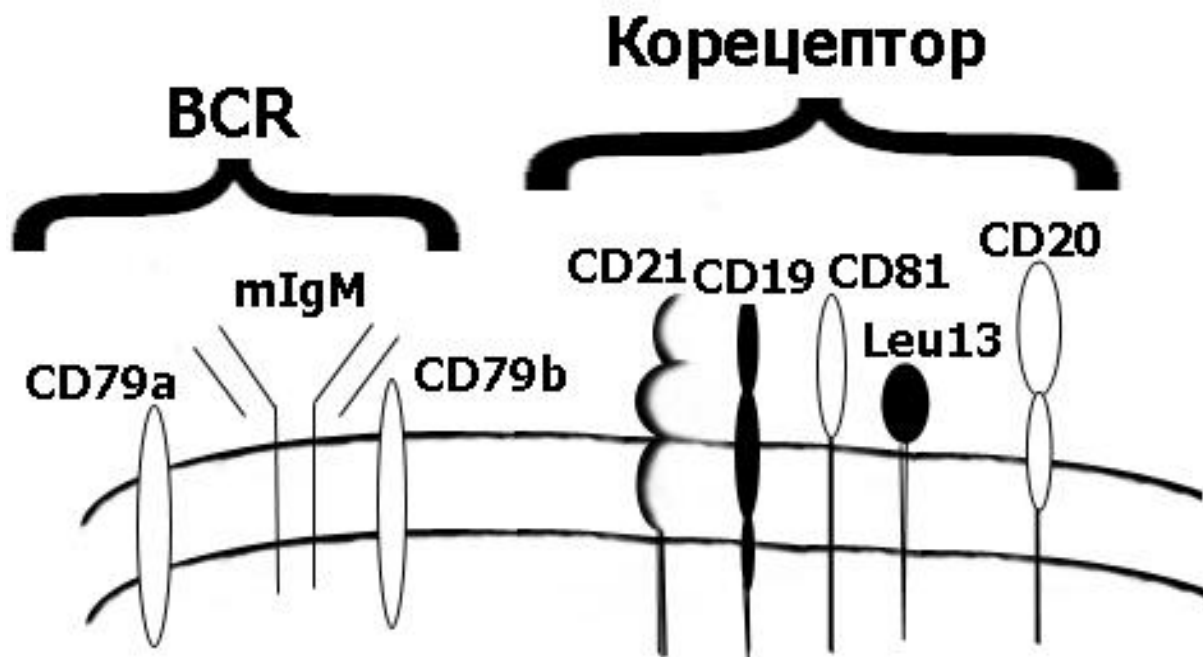


Рис. 24. Строение антигенраспознающего комплекса.

Субпопуляции В-лимфоцитов

В зависимости от способности В-лимфоцитов экспрессировать Т-клеточный маркер-CD5, их делят на 2 субпопуляции В-1 и В-2. Большинство В-лимфоцитов не несут данный антиген – это В-2 лимфоциты или «обычные». На долю В-1 клеток, экспрессирующих CD5, приходится 20% от числа В-лимфоцитов.

Выделяют:

1. В1 и В2-лимфоциты;
2. В-клетки памяти

В - клетки памяти: некоторые активированные В-лимфоциты не

дифференцируются в плазматические клетки-антителопродуценты, а сохраняются как клетки-памяти, ускоренная пролиферация которых и быстрое реагирование формируют высокоэффективный вторичный ответ. В-клетки памяти сохраняют ту же специфичность к антигену. Генерация этих клеток требует присутствия Т-клеток, так как Т-независимый иммунный ответ не оставляет иммунологической памяти. В-клетки памяти рециркулируют, имеют большую, плотность рецепторов Ig на поверхности, что обеспечивает им возможность реагировать на малые дозы антигенов.

В последние годы описаны клетки, составляющие первую линию защиты от инфекционных возбудителей, локализующиеся в маргинальной зоне селезенки (наличием именно этих клеток обусловлена важная роль селезенки в антибактериальном иммунитете), и подразделяющиеся на В-клетки маргинальные и В-клетки фолликулярные. Как и В-1 лимфоциты они участвуют в иммунном ответе на Т-независимые антигены.

В1 и В2-лимфоциты

Свойство	В1-лимфоциты	В2-лимфоциты
Происхождение	Брюшная полость	Костный мозг
Появление в эмбриогенезе	Рано	Поздно
Локализация	Преобладают в брюшной полости, миндалинах	До 75% в лимфатических узлах
Селекция клонов	Нет селекции клонов	Есть селекция клонов
Продукция антител	На тимуснезависимые АГ: IgM, IgA Низкоаффинные АТ Синтез аутоантител	На тимусзависимые АГ: IgM, затем IgG и другие классы Аффинитет повышается в процессе иммунного ответа

Онтогенез В-лимфоцитов

Предшественники В-лимфоцитов обнаружены в островках гемопоэтической ткани эмбриональной печени на 8-9-й неделе беременности. Затем образование В-клеток в ней прекращается и далее происходит в костном мозге.

Различают антигеннезависимую дифференцировку В-лимфоцитов (костный мозг) и антигензависимую дифференцировку В-лимфоцитов (периферические органы иммунной системы)

Важную роль в контроле развития В-клеток костно-мозговое микроокружение – клетки стромы и молекулы межклеточного матрикса, а также вырабатываемые ими гуморальные факторы и в первую очередь ИЛ-7, миелопептиды, ИЛ-3.

Стадии дифференцировки В-лимфоцитов

1	ПСК	HLA-DR+
2	ЛСК	HLA-DR+, CD38+
3	Про-В	HLA-DR+, CD19+, CD79a,b
4	Пре-В1	Начало реорганизации генов, контролирующих тяжёлые и лёгкие цепи IgM
5	Пре-В2	Появление μ -цепи IgM, лёгкие цепи отсутствуют; CD20+, CD21+, CD72+
6	Незрелые В-клетки	Экспрессия лёгких цепей IgM (sIgM); BCR+, CD38-
7	Зрелые В-клетки	BCR+ (sIgM, sIgD); CD19+, CD20+, CD21+, CD22+, CD40+, CD72+, CD80+, CD86+, MHC I и II, рецепторы адгезии, для цитокинов, иммуноглобулинов, компонентов комплемента
8	Активированные В-клетки	Отсутствует sIgD, ориентация клеток на синтез Ig определённого класса; CD25+, CD69+, CD71+, CD95+, MHC II+
9	Плазмоцит	Отсутствие sIg, наличие cIg одного из классов; CD38+

Плазматические клетки

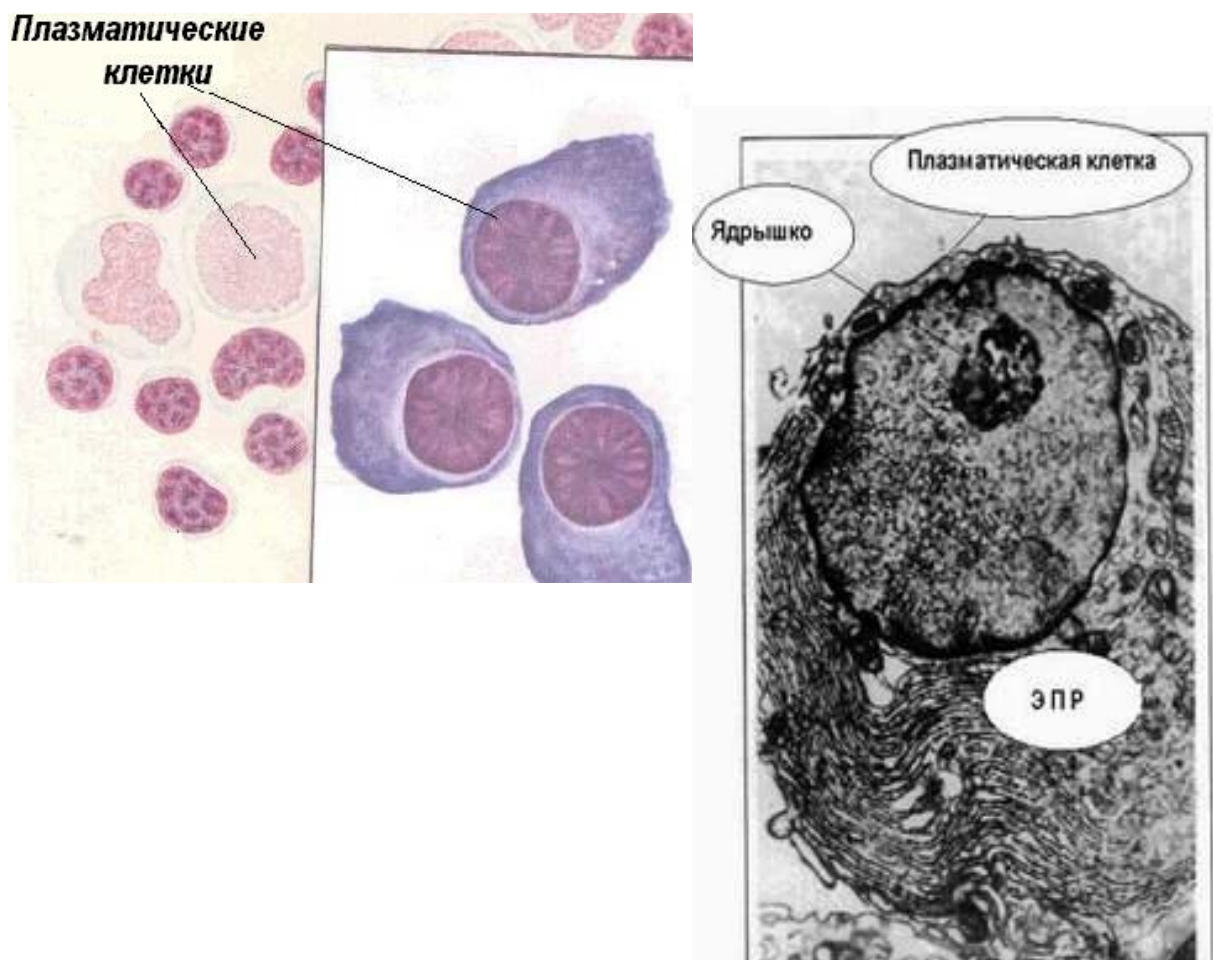
Предполагается, что для превращения В-клетки в плазматическую клетку, секретирующую Ig требуется три сигнала: сигнал активации (антиген, ЛПС, ИЛ-4); сигнал пролиферации (ИЛ-5) и сигнал дифференцировки (ИЛ-6).

Это трехсигнальная схема формирования АОК.

Плазматические клетки (“фабрика антител”) в нормальных условиях почти отсутствуют в кровотоке. Основные зоны их локализации - мозговые тяжи лимфатических узлов, красная пульпа селезенки, лимфоидные образования в слизистых оболочках ЖКТ, респираторного тракта.

У плазматических клеток в отличие от В-клеток хорошо развит секреторный аппарат, что позволяет им синтезировать и секретировать несколько тысяч молекул Ig в секунду. Такая продуктивность сочетается с короткой продолжительностью жизни: плазматические клетки существуют в среднем 2-3 дня.

Рис. 25. Плазматические клетки.



Каждый лимфоцит генетически запрограммирован синтезировать только один вид антител, представленных рецепторами для антигена на поверхностной мембране лимфоцита. Присоединение антигена к рецепторам активирует лимфоцит к пролиферации и дифференцировке, в результате чего возникает клон плазматических клеток, синтезирующих антитела к данному антигену.

Патология в системе В-лимфоцитов

1. Врожденная недостаточность В-лимфоцитов (синдром Брутона, селективный дефицит IgA, гипогаммаглобулинемия и др.).
2. Злокачественная трансформация и неконтролируемая пролиферация В-клеток с возникновением лейкозов, лимфом, миеломатозов (пролиферация клона плазматических клеток в костном мозге, секреция моноклональных Ig).
3. Инфицирование В-клеток (вирус Эпштейна-Барра, инфекционный моноцитоз, СПИД).
4. Активация В-лимфоцитов (аутоиммунные заболевания).
5. Активация IgE синтезирующих клонов В-лимфоцитов (аллергические заболевания).
6. Вторичные иммунодефициты гуморального звена.

Методы идентификации В-лимфоцитов

Количественные

1. Розеткообразования с эритроцитами мыши.
2. Методы с использованием моноклональных антител: рекомендуется общее количество популяции В-лф оценивать по числу CD19+-клеток

Функциональные

1. Постановка реакции бласттрансформации с использованием В-клеточных митогенов (ЛПС)
2. Определение концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови и других биологических жидкостях (смывах, секретах). С этой целью используется метод радиальной иммунодиффузии по Манчини, ИФА.
3. Определение уровня ЦИК, продукции аутоантител (антитела к ДНК и др.).

АНТИГЕНПРЕДСТАВЛЯЮЩИЕ И ФАГОЦИТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ

В настоящее время полностью сформировано представление об основных клеточных элементах иммунной системы. Наряду с ее главными структурными единицами (Т-, В - лимфоцитами) большое значение имеют клетки макрофагально – фагоцитарной системы. Эти клетки отличаются от лимфоцитов как по морфологическим, так и по функциональным свойствам. Система мононуклеарных фагоцитов включает циркулирующие моноциты и макрофаги, локализующиеся в различных органах и тканях. При этом следует отметить, что макрофаги, наряду с В-лимфоцитами и дендритными клетками, входят в систему антигенпредставляющих клеток, способных поглощать и перерабатывать антиген, а также представлять его в высокоиммуногенной форме Т- хелперам.

К фагоцитам, помимо макрофагов, относят микрофаги: нейтрофилы и эозинофилы.

Система фагоцитирующих клеток

1. Мононуклеарные фагоциты:

- циркулирующие моноциты
- макрофаги, локализующиеся в различных органах и тканях (резидентные): клетки Купфера, альвеолярные макрофаги, мезангиальные клетки, перитонеальные макрофаги, клетки микроглии, остеокласты и т.д.
- гигантские, эпителиоидные клетки, образуемые в результате слияния мононуклеарных фагоцитов

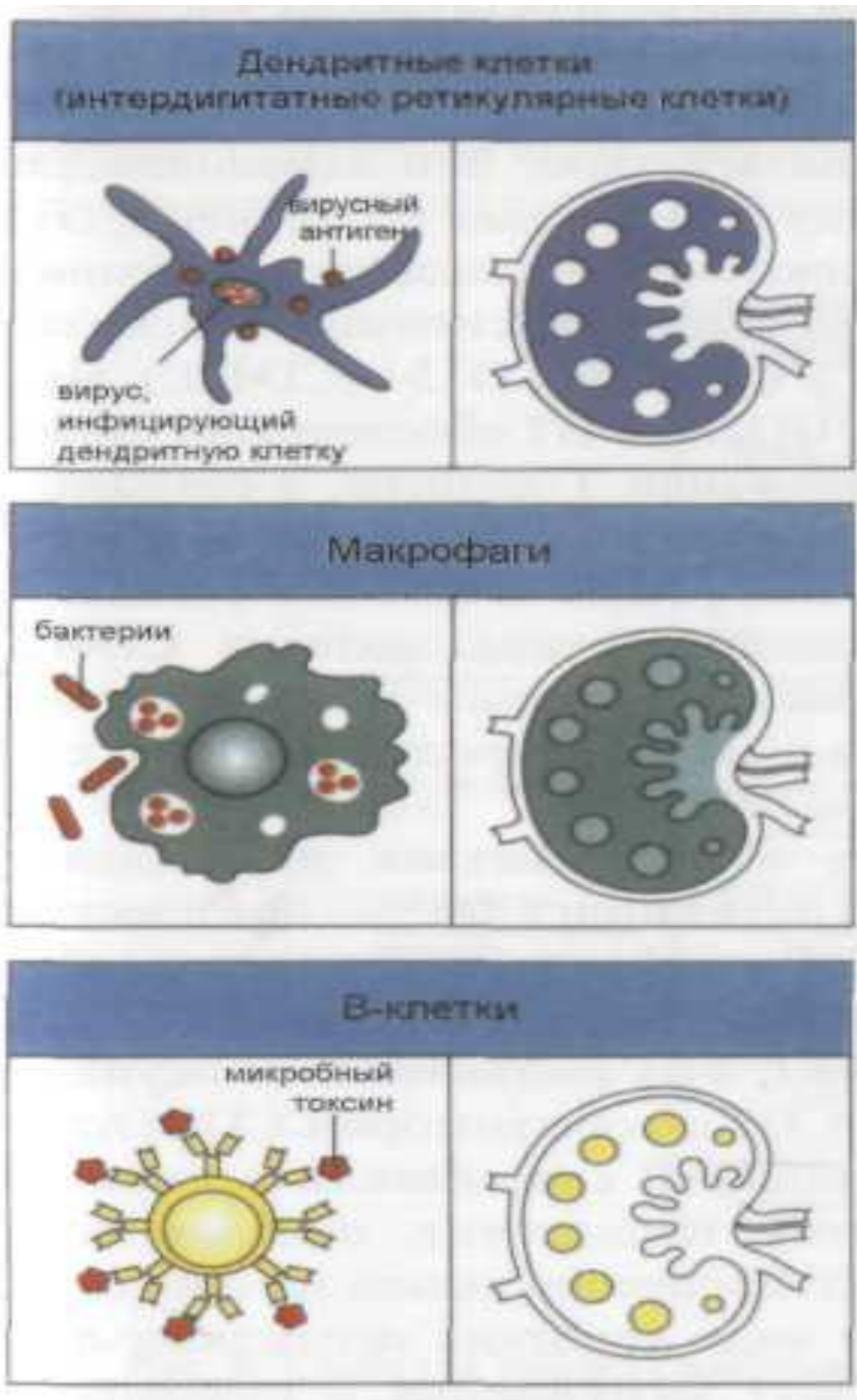
2. Гранулоциты

- нейтрофилы
- эозинофилы
- базофилы

Функции «профессиональных» антигенпрезентирующих клеток. Дендритные (или интердигитатные ретикулярные) клетки локализуются в корковой зоне лимфоузлов, макрофаги рассеяны по всему лимфоузлу, а В-клетки обнару-

живаются в основном в фолликулах. Видимо, перечисленные типы антиген-презентирующих клеток представляют различные виды или фракции антигенов

Рис. 26. Антигенпредставляющие клетки



Моноциты и макрофаги.

У здорового человека моноциты составляют от 5 до 10% среди лейкоцитов периферической крови. Макрофагальные клетки широко распространены в органах и тканях и оценить их точное содержание пока не удается.

Моноциты и макрофаги хорошо охарактеризованы морфологически. Это крупные клетки диаметром 15-25 мкм, имеющие компактное ядро округлой формы (в отличие от гранулоцитарных фагоцитов, имеющих полиморфноядерную структуру). Макрофаги крупнее моноцитов, имеют неправильные очертания и достаточно полиморфны.

Резидентные макрофаги – это постоянно присутствующие в определенных тканях, покоящиеся клетки. Им отводится важная роль в обеспечении реакций спонтанной клеточной цитотоксичности. Резидентные макрофаги в ряде случаев имеют специальные названия: в печени – клетки Купфера,

в легких – альвеолярные макрофаги,

в почках – мезангиальные клетки,

в серозных полостях – перитонеальные макрофаги,

макрофаги нервной ткани – клетки микроглии, костной ткани – остеокласты и т.д.

Активированные, подвижные макрофаги, мобилизуемые в очаг воспаления. К МФС относятся гигантские, эпителиоидные клетки, которые образуются в результате слияния мононуклеарных фагоцитов. Эти клетки обычно обнаруживают в очагах хронического воспаления, соединяются в твердую массу или гранулему, которую, кроме клеток образуют токсические вещества и непереваренные частицы. Уровень гигантских клеток изменяется при различных патологических состояниях, в частности, у больных СПИДом, число их значительно возрастает в ЦНС.

Отличительным признаком клеток системы мононуклеарных фагоцитов является наличие в их цитоплазме фермента неспецифической эстеразы, который отсутствует в цитоплазме лимфоцитов.

ОСНОВНЫЕ МАРКЕРЫ МОНОЦИТОВ И МАКРОФАГОВ

Моноцитарно-макрофагальные клетки имеют широкий набор ассоциированных с мембраной поверхностных структур, через которые реализуются их функции. На поверхности моноцитов и фагоцитов обнаружены более 50 антигенов и практически все из них не специфичны только для этих клеток, большинство из них обнаруживается на Т-, В-лимфоцитов и других клетках. Лишь CD14 (рецептор для ЛПС) в наибольшей степени соответствует моноцитарным клеткам.

Кроме того, к основным маркерам моноцитов и макрофагов относят:

1. РЕЦЕПТОРЫ ДЛЯ Fc-фрагментов иммуноглобулинов: высокоаффинный для IgG-CD64, низкоаффинный-CD16, для IgE-CD23.
2. рецепторы для компонентов комплемента - C3a, C5a, C3b (CD11b)
3. рецепторы для ЦК - ИФН; ИЛ-1, 6; ФНО, ФИМ (фактора, ингибирующего миграцию) и др.
4. адгезивные молекулы и рецепторы, которые обеспечивают одно из важных свойств этих клеток - адгезивность - CD18 и др.
5. лектины - углеводные компоненты; простые сахара.
6. рецепторы для других биологически активных субстанций: гормонов, нейромедиаторов, гистамина.
7. антигены ГКГ (HLA) - антигены I класса и II (HLA-DR) –на активированных клетках.
8. CD14 (рецептор для ЛПС); CD80 и 86

ОНТОГЕНЕЗ МОНОЦИТОВ/МАКРОФАГОВ

Родоначальников моноцитов/макрофагов является миелоидная стволовая клетка костного мозга, которая трансформируется в монобласт, затем проходит стадию промоноцита и, дозревая до моноцита, поступает в кровоток. Моноциты циркулируют в кровотоке от 1 до 3 дней, а затем мигрируют в различные

органы и ткани, где становятся макрофагами. Средняя продолжительность жизни моноцитов/макрофагов составляет от 20 суток до 7 месяцев.

Таким образом развитие моноцитов/макрофагов проходит в 3 стадии: костный мозг - кровь - ткани.

Развитие клеток моноцитарного ряда в костном мозге поддерживается факторами микроокружения и гуморальными, среди которых важное значение имеют ГМ-КСФ, моноцитарно-макрофагальный КСФ, ИЛ-3. Стимулирующее действие на развитие моноцитов и макрофагов оказывают и другие цитокины, например ИЛ-6, в тоже время ряд факторов ингибирует их развитие (ТФР-бетта).

Процесс трансформации моноцитов в макрофаги сопровождается морфологическими, биохимическими и функциональными изменениями. Они увеличиваются в размерах, усложняется организация внутриклеточных органелл; увеличивается количество лизосомальных ферментов. Как и нейтрофилы, макрофаги не возвращаются в циркуляцию, а элиминируются через слизистые оболочки кишечного тракта, верхние дыхательные пути.

ФУНКЦИИ МАКРОФАГОВ

Основными биологическими функциями являются:

1. Фагоцитоз (поглощение и переваривание чужеродных частиц: микроорганизмов, опухолевых клеток, погибших собственных клеток);
2. Образование факторов иммунной защиты: синтез и секреция биологически активных веществ: цитокинов, компонентов комплемента, ферментов и др.;
3. Обработка антигена: процессинг и презентация антигенного материала;
4. Внеклеточный цитоллиз: макрофаги оказывают повреждающее действие на клетки-мишени с помощью секретируемых продуктов и при контакте (СКЦ, АЗКЦ);
5. Регуляция иммунного ответа путем выработки цитокинов, простагландинов и др. пептидных факторов;

6. Презентация антигенного материала Т-хелперам.

Макрофаги могут находиться в спокойном или активированном состоянии. **Активирующими стимулами** макрофагов являются:

- бактериальные продукты, в частности ЛПС
- компоненты комплемента
- цитокины (наиболее активен гамма-ИФН)
- ИК
- прилипание к различным поверхностям и др. стимулы.

Активированные макрофаги отличаются от неактивированных по морфологическим признакам и функциональным свойствам.

Активированные макрофаги имеют:

1. большие размеры;
2. возрастает их способность к адгезии, в процессе которой растет активность клеток;
3. фагоцитозу, деградации захваченных частиц;
4. они более активно синтезируют и секретируют лизосомальные ферменты, монокины;
5. активация сопровождается «кислородным взрывом», с образованием продуктов частичного восстановления кислорода, свободных радикалов, перекисей и др. продуктов;
6. более активно экспрессируют различные рецепторы (аг. ГКГ Пкл.), в том числе рецепторы к цитокинам ИЛ-1,2,6, ФНО, трансферрину;
7. повышается способность обрабатывать аг и представлять его Т-клеткам;
8. возрастает цитотоксическая активность;

Одной из основных функций мононуклеарных фагоцитов является способность к фагоцитозу, который может протекать в различных вариантах и сочетаться с другими проявлениями функциональной активности.

Секреторная активность макрофагов

ГРУППЫ ФАКТОРОВ	ФАКТОРЫ	ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ
Компоненты комплемента	C1-9, C3a, 3b, 5a, Bb и др.	Эффекторные реакции, бактериолиз, цитолиз
Факторы свертывания крови	У, УІІ, ІХ, Х и др.	Свертывание крови
Белки матрикса, интегрин	Фибронектин, протеогликаны и др.	Формирование межклеточного матрикса, межклеточные контакты
Транспортные белки, ингибиторы	Трансферрин, ингибиторы протеиназ и др.	Регуляция транспорта и метаболизма белков, развитие воспаления
Метаболиты арахидоновой кислоты	Простагландин Е2, лейкотриены и др.	Регуляция воспаления, иммунного ответа и др.
Продукты «кислородного взрыва»	O ₂ , H ₂ O ₂ , OH и др.	Бактерицидное, туморицидное, цитотоксическое
Ферменты, ингибиторы их	Кислые гидролазы, лизоцим и др.	Бактерицидное, туморицидное
Цитокины	ИЛ-1, 6, 8, ИФН альфа и бета, ФНО альфа и др.	Обеспечение воспалительной и иммунной реакций, пролиферации, гемопоеза, межсистемных связей, туморицидность
Гормоны, регуляторные пептиды	СТГ, АКТГ и др.	Регуляция активации и функционирования клеток, развития воспаления

Стадии фагоцитоза

1. Хемотаксис – сближение фагоцита и объекта, определяемое градиентом химических факторов, хемотаксинов (бактериальные агенты, компоненты комплемента), хемокинов (например –ИЛ-8). При появлении хемотаксинов в

кровоотоке в большом количестве или при их внутривенном введении происходит активация моноцитов, в результате чего возникает опасность развития шока (внутрисосудистое диссеминированное свертывание) или симптомов “шокового легкого” .

2. Прилипание, т.е. установление контакта, обеспечивается опсонинами, молекулами адгезии.

Опсонизация - адсорбция опсонин на поверхности бактериальных клеток и корпускулярных антигенов, облегчающая фагоцитирование этих объектов. Опсонины - факторы сыворотки крови, способствующие прилипанию бактерий и корпускулярных антигенов к фагоцитам и стимулирующих фагоцитоз - это компоненты комплемента, иммуноглобулины, фибронектин.

Опсонизация иммунная - обусловленная преимущественно антителами.

3. Активация мембраны, активация клетки и подготовка к погружению объекта фагоцитоза.

4. Погружение

5. Формирование фагосомы – замыкание мембраны и погружение объекта

6. Формирование фаголизосомы – слияние фагосомы и лизосом, считается, что этому процессу способствует локальное закисление в фаголизосоме.

В фаголизосоме одновременно может функционировать несколько бактерицидных систем:

А) Кислород зависящая бактерицидность. Для проявления этого вида бактерицидности нужны метаболические изменения в клетке. Если поглощенные бактерии не изменяют метаболизма фагоцитов, то бактерицидность слабая. Усиление же метаболизма усиливает окисление глюкозы, что сопровождается образованием веществ, обладающих бактерицидной активностью – H_2O_2 , высокоактивных гидроксильных радикалов (ОН-) и супероксидных анионов (O_2^-), оказывающих бактерицидное действие в отношении многих микробов («респираторный взрыв»).

Стадии фагоцитоза

Хемотаксис	Сближение фагоцита и объекта
Прилипание	Установление контакта
Активация мембраны	Подготовка объекта к погружению
Погружение	Обволакивание объекта
Формирование фагосомы	Замыкание мембраны и погружение объекта
Формирование фаголизосомы	Слияние фагосом и лизосом
Киллинг и переваривание	Гибель объекта фагоцитоза, его переваривание
Выброс продуктов деградации	Выброс содержимого фаголизосомы из клетки

Бактерицидность этих факторов усиливается под влиянием галогенов, которые вовлекаются в процесс бактериолиза посредством миелопероксидазы, которая катализирует образование синглетного кислорода и др. соединений, обладающих высоким деструктивным потенциалом.

Б) Кислороднезависимая бактерицидность – осуществляется продуктами азотного метаболизма – окисью азота, NO-радикалом (им отводится важная роль при разрушении микобактерий), а также протеазами, липазами, ферментами и др., активность которых оптимальна при кислых значениях pH: это катионные белки, лизоцим, лактоферрин и др.

7. Киллинг и переваривание – гибель объекта фагоцитоза, его переваривание
8. Выброс продуктов деградации, т.е. выброс содержимого фаголизосомы из клетки

Особое место среди антигенпредставляющих отводится дендритным клеткам, которые находятся в крови и лимфоидных органах. Количество их в периферической крови 0,1-0,5%. По морфологическим признакам - это клетки с

отросчатыми образованиями, хорошо развитой цитоплазмой. Особый вид дендритных клеток, названных вуалевидными, обнаружен в лимфе и пара кортикальной зоне лимфоузлов. К дендритным клеткам относят клетки Лангерганса, которые выполняют вспомогательные АПФ при иммунных реакциях, развивающихся в коже и слизистых.

Дендритные клетки не фагоцитируют, но обладают высокой способностью представлять антиген Т-лф. Для них характерна высокая поверхностная экспрессия антигенов ГКГ II кл., наличие фермента АТФазы. Эта популяция клеток рассматривается как основная среди АПК.

Дендритные клетки и их функции.

Вид клеток	Локализация	Происхождение	Функция
Клетки Лангерганса	Эпидермис	Костный мозг	Связывание и процессинг антигена
Вуалевые клетки	Лимфа	Эпидермис	Доставка антигена в лимфатические узлы
ДК слизистых	Слизистые оболочки	Костный мозг	Связывание, процессинг и презентация антигена
Интердигитальные клетки (тимуса, лимфоузлов)	Тимус, тимусзависимые зоны	Костный мозг	Отрицательная селекция и дифференцировка тимоцитов; Презентация антигена Т-х

Полиморфно-ядерные фагоциты.

Моноциты и макрофаги вместе с ПЯЛ относят в группу “профессиональных фагоцитов”. Несмотря на происхождение из одной родоначальной клетки (общая миелоидная стволовая клетка), эти клетки в процессе развития приобретают совершенно различные свойства, хотя сохраняется их общая способность к фагоцитозу.

Нейтрофилы - представляет собой короткоживущую (до 1-2 суток), высокоподвижную клеточную популяцию, способную к хемотаксису, фагоцитозу, секреции биологически активных субстанций.

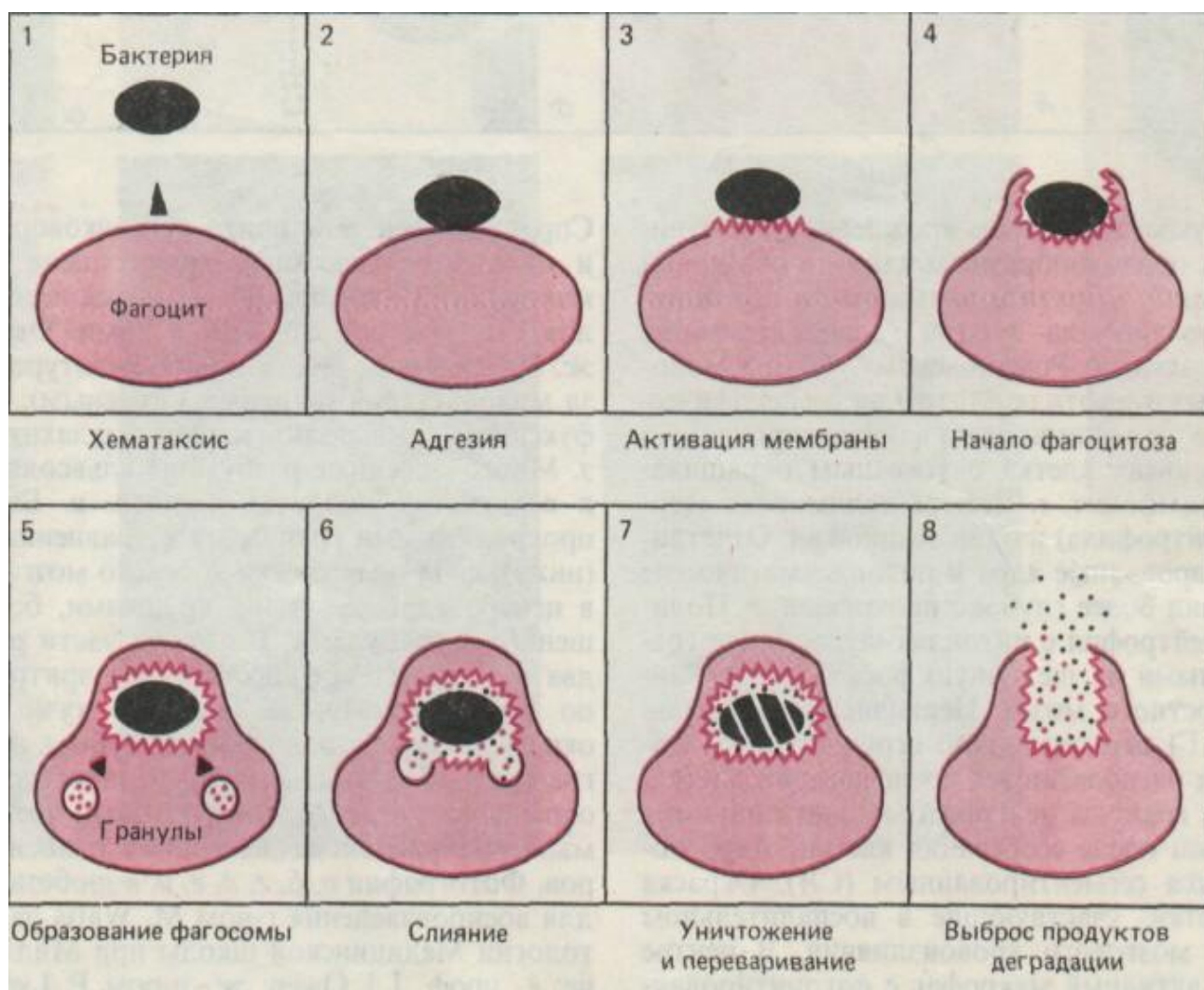


Рис. 27. Стадии фагоцитоза (по А. Ройту)

Продукция секреторных компонентов происходит у них в результате дегрануляции богатых ферментами гранул, а не за счет активного белкового синтеза, что характерно для мононуклеарных фагоцитов. Выделяют первичные (азурофильные гранулы, содержащие кислые гидролазы, фосфатазы, катионные белки, миелопероксидазу, лизоцим) и вторичные (специфические, содержащие щелочную фосфатазу, лактоферрин, лизоцим), после опорожнения гранул их содержимое не восстанавливается, регенерация мембраны в отличие от макрофагов отсутствует.

Нейтрофилы - первые клеточные элементы, обнаруженные в очаге острого воспаления, где в результате стимуляции очень быстро (в течение нескольких секунд) происходит дыхательный взрыв и накапливается большое количество метаболитов и гидролитических продуктов, направленных на

уничтожение микроорганизмов. При этом возможно повреждение здоровых тканей продуктами метаболизма нейтрофилов. Опсонизируются нейтрофилы в основном антителами класса G, а также компонентами комплемента. Нейтрофилы вырабатывают не только ферменты, достаточные для деградации большинства микроорганизмов, но и основные метаболиты арахидоновой кислоты (лейкотриены, простагландины), хотя делают это менее активно, чем макрофаги.

На поверхности зрелых нейтрофилов присутствуют антигены ГКГС 1 класса, CD14, рецепторы для компонентов комплемента, хемокинов (ИЛ-8 и др.), цитокинов (ИЛ-1).

Нарушение функциональной активности нейтрофилов и макрофагов или снижение их числа ведет к развитию тяжелых заболеваний, и в первую очередь местных и системных гнойно-воспалительных процессов.

Эозинофилы – в отличие от нейтрофилов обладают слабой фагоцитарной способностью, содержат высокий уровень гранул, основным компонентом которых является главный щелочной белок, продуцируют метаболиты арахидоновой кислоты.

Основная функция – цитотоксическая, которая осуществляется за счет бактерицидности и способности к внеклеточному цитолизу.

Уровень этих клеток возрастает при паразитарных и глистных инвазиях, аллергических реакциях.

Методы идентификации фагоцитов

- 1. Количественные (общий анализ крови, число CD14+ клеток)
- 2. Функциональные
 - ✓ фагоцитарное число;
 - ✓ фагоцитарный индекс;
 - ✓ индекс завершенности фагоцитоза;
 - ✓ продукция ферментов, цитокинов и др. БАВ;
 - ✓ НСТ-тест

ГОРМОНЫ И МЕДИАТОРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Иммунная система обладает высокой степенью автономности в распознавании и элиминации генетически чужеродных клеток и субстанций. Вместе с тем, она находится под сложным влиянием нервных, эндокринных и медиаторных воздействий, что обеспечивает гармоничное функционирование всего организма.

Проблема гормональной регуляции иммунного ответа может быть разделена на 2 больших раздела. 1-й касается механизмов действия гормонов эндокринной системы на иммунитет. 2-й касается роли гормонов и медиаторов, вырабатываемых самой иммунной системой.

Известно, что ГКС при физиологическом повышении их уровня, в первую очередь действуют на высокочувствительные к ним T_s , что обуславливает ингибицию их активности и стимуляцию иммунологических процессов. При применении больших доз ГКС - подавляет активность НК, осуществляющих срочную защиту против опухолей. По данным ВОЗ у больных, длительно получавших ГКС после пересадки органов опасность развития опухолей возрастает на 300%.

Дефицит гормонов паращитовидных желез (паратормона) ингибирует иммунные реакции, вызывая гипоплазию костного мозга, инволюцию тимуса и понижение переваривающей способности макрофагов.

Известно, что инсулин необходим для реализации фагоцитарной и антителообразующей функций.

Нейрогипофизарные гормоны - вазопрессин и окситоцин способны активировать макрофаги и синтез антител.

Таким образом, многие эффекторные и вспомогательные функции клеток иммунной системы осуществляются при участии внутрисистемных гормонов и медиаторов. Основными из них являются гормоны тимуса. В отличие от других гуморальных факторов, выделяемых Т-лимфоцитами под влиянием антигенов или митогенов, гуморальные факторы тимуса и костного мозга вырабатываются в центральных органах иммунной системы, не требуя

антигенной или митогенной стимуляции. Как мы уже говорили, они определяют активность Т- и В-лимфоцитов и перспективны в отношении клинического применения при ИДС.

Основные тимические гормоны.

Гормон	Биологическая активность
Тимозин – альфа, бета	Индукцирует дифференцировку Т-клеток, повышает количество Тх и иммунорегуляторных клеток
Тимопоэтин I и II	Индукцирует превращение клеток костного мозга в тимоциты
Тимический гуморальный фактор	Ускоряет размножение стимулированных лимфоцитов, индуцирует появление Т-маркеров
Тимостимулин	Индукцирует экспрессию Т-маркеров, стимулирует угнетенные функции Т-лф (в т.ч. противоопухолевый эффект)
Тимулин	Стимулирует созревание Т-лф.

Важную роль в функционировании клеток иммунной системы играют регуляторные пептиды костномозгового происхождения (миелопептиды), обнаруженные впервые Российскими учеными Петровым Р.В., Михайловой А.А. Миелопептиды стимулируют антителолиз, восстанавливают дисбаланс в Т-системе, в МФС.

Регуляция гормонами и медиаторами иммунных реакций осуществляется на всех этапах: активации, пролиферации, дифференцировки и созревания.

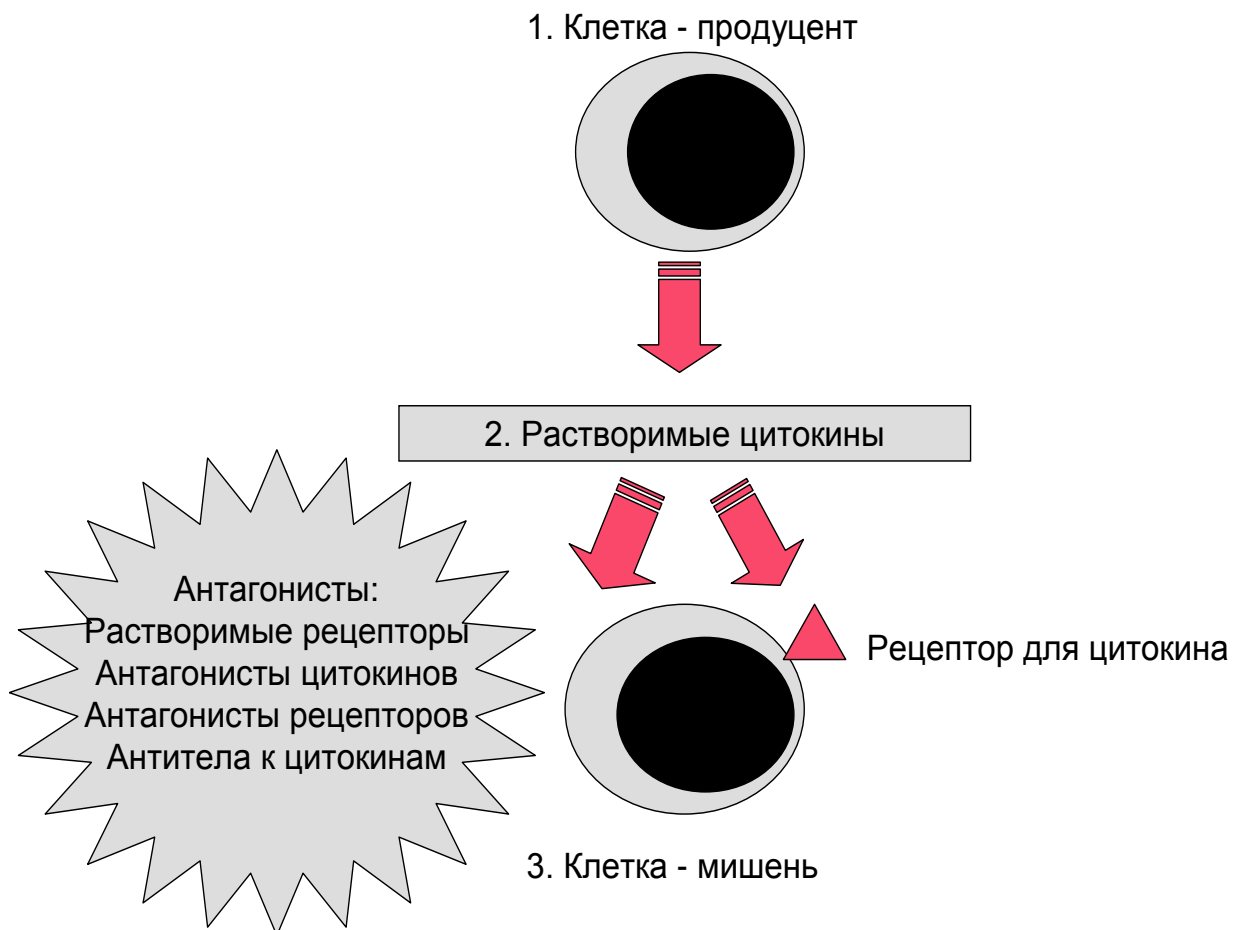
Гормоны и медиаторы иммунной системы являются не только регуляторами иммунных реакций, но и ключевыми факторами, инициирующими и ингибирующими воспалительную реакцию и остро фазовый ответ организма, участвующими в элиминации опухолевых клеток, модифицирующими состояние нервной и эндокринной систем.

В настоящее сформулировано представление о системе **цитокинов** – группе растворимых пептидных медиаторов, продуцируемых разными клетками организма и играющих важную роль в обеспечении физиологических процессов в норме и при патологии.

Система цитокинов включает:

1. клетки-продуценты
2. цитокины
3. клетки-мишени с рецепторами, специфичными для конкретных цитокинов
4. в ряде случаев антагонисты цитокинов или их рецепторов

Рис. 28. Система цитокинов



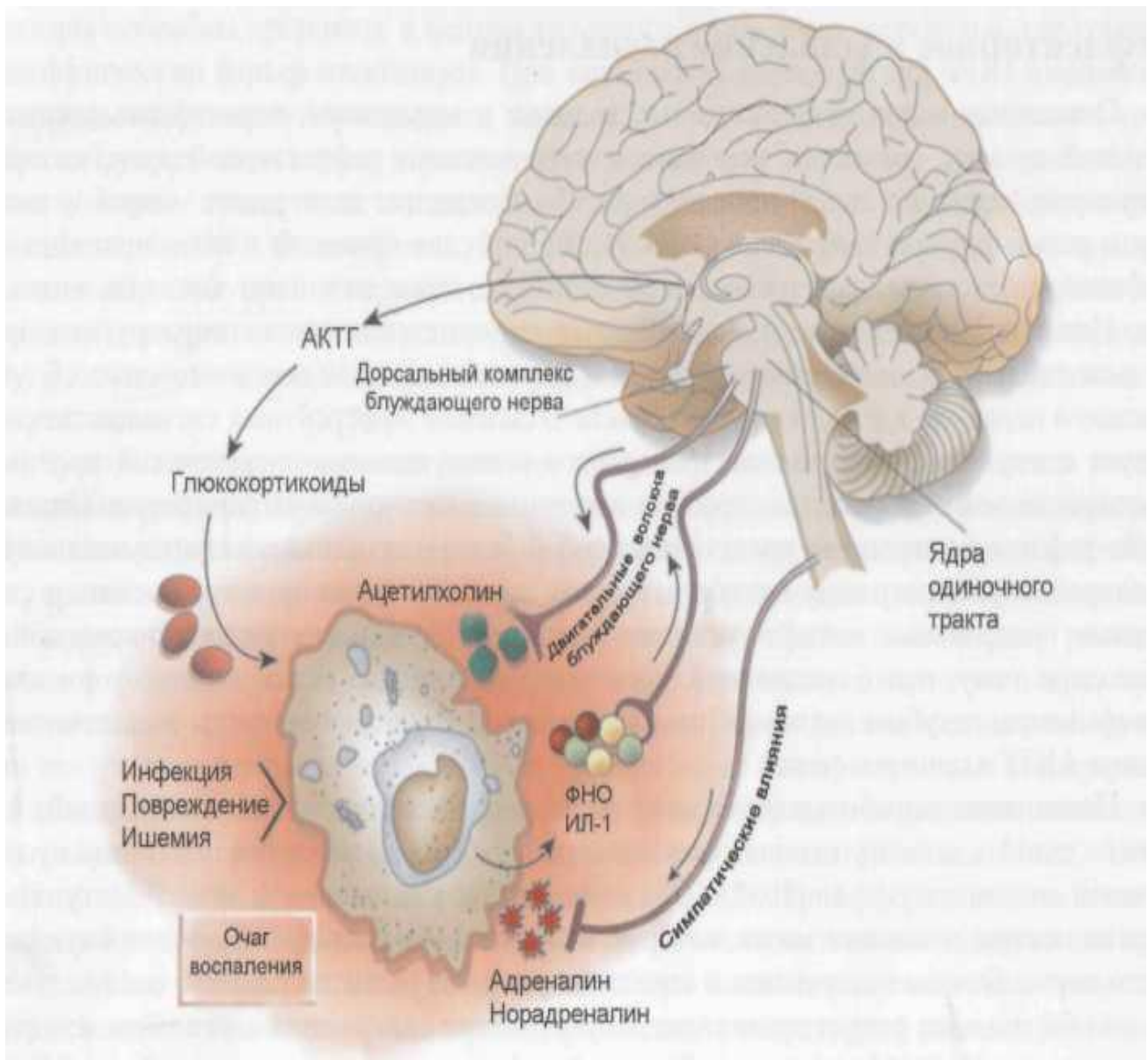


Рис. 29. Схематическое изображение нейрогуморальных сетей, управляющих процессом воспаления. Флогены, вырабатываемые поврежденными тканями, раздражают афферентные нервные окончания, и генерируемые импульсы поступают в ядра одиночного тракта; последующая стимуляция эфферентных волокон блуждающего нерва активизирует холинергическую противовоспалительную систему и подавляет продукцию цитокинов («рефлекс воспаления»). Кроме того, сигналы могут передаваться в гипоталамус и дорсальный комплекс блуждающего нерва, что способствует высвобождению АКТГ и запуску гуморальных антифлогогенных реакций. Усиление симпатических влияний приводит к местному повышению концентрации адреналина и норадреналина, которые еще больше подавляют воспалительный процесс.

Классификация цитокинов:

- 1. Интерлейкины (ИЛ-1 – ИЛ-23)** – регуляторные пептиды, обеспечивающие медиаторные взаимодействия в иммунной системе и ее связь с другими системами организма.
- 2. Интерфероны (ИФН альфа, бета, гамма)** противовирусные агенты с выраженным иммунорегуляторным действием.
- 3. Факторы некроза опухоли (альфа, бета)** - цитокины с цитотоксическим и регуляторным действиями.
- 4. Колонистимулирующие факторы (КСФ)** – стимуляторы роста и дифференцировки гемопоэтических клеток (ГМ-КСФ, Г-КСФ, М-КСФ)
- 5. Хемокины** – цитокины, обеспечивающие направленное движение лейкоцитов.
- 6. Факторы роста** – регуляторы роста, дифференцировки и функциональной активности различных клеток (фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелиальных клеток, фактор роста эпидермиса) и трансформирующий фактор роста.

СВОЙСТВА ЦИТОКИНОВ

Цитокины различаются по строению, биологической активности и другим свойствам. Однако все цитокины обладают общими свойствами. В основном они низкомолекулярны (средняя Мм менее 30 кД):

1. вырабатываются клетками в низкой концентрации (пг/мл), непостоянно, а в ответ на активирующий стимул
2. участвуют в иммунных и воспалительных реакциях, регулируя их продолжительность и силу.
3. одни и те же цитокины вырабатываются различными клетками (это свойство называется избыточностью)
4. одни и те же цитокины могут действовать на различные клетки-мишени, регулируя их функции (плейотропность)

5. цитокины оказывают свое действие через рецепторы на поверхности клеток-мишеней (связывание цитокина с рецептором к активации клетки, ее пролиферации, дифференцировки или гибели)

6. цитокины работают по принципу сети: индуцируют секрецию друг друга (каскадность действия), действуют как синергисты (примером может служить стимуляция воспалительных реакций ИЛ-1, 6 и ФНО) или антагонисты (гамма- ИФН тормозит выработку IgE В-лф.)

7. цитокины действуют как паракринные, аутокринные или эндокринные факторы регуляции функций клеток-мишеней

Основную группу клеток-продуцентов цитокинов составляют лимфоциты, кроме того цитокины синтезируют и секретируют клетки фагоцитарного ряда и антигенпредставляющие клетки, клетки соединительной ткани, эндотелия, эпителия.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ.

ИЛ-1 – (альфа и бета, продукты двух различных генов, ведущий бета).

Клетки-продуценты: практически все клетки, наибольшие титры получены из макрофагов, эндотелиоцитов.

Индукторы продукции ИЛ-1:

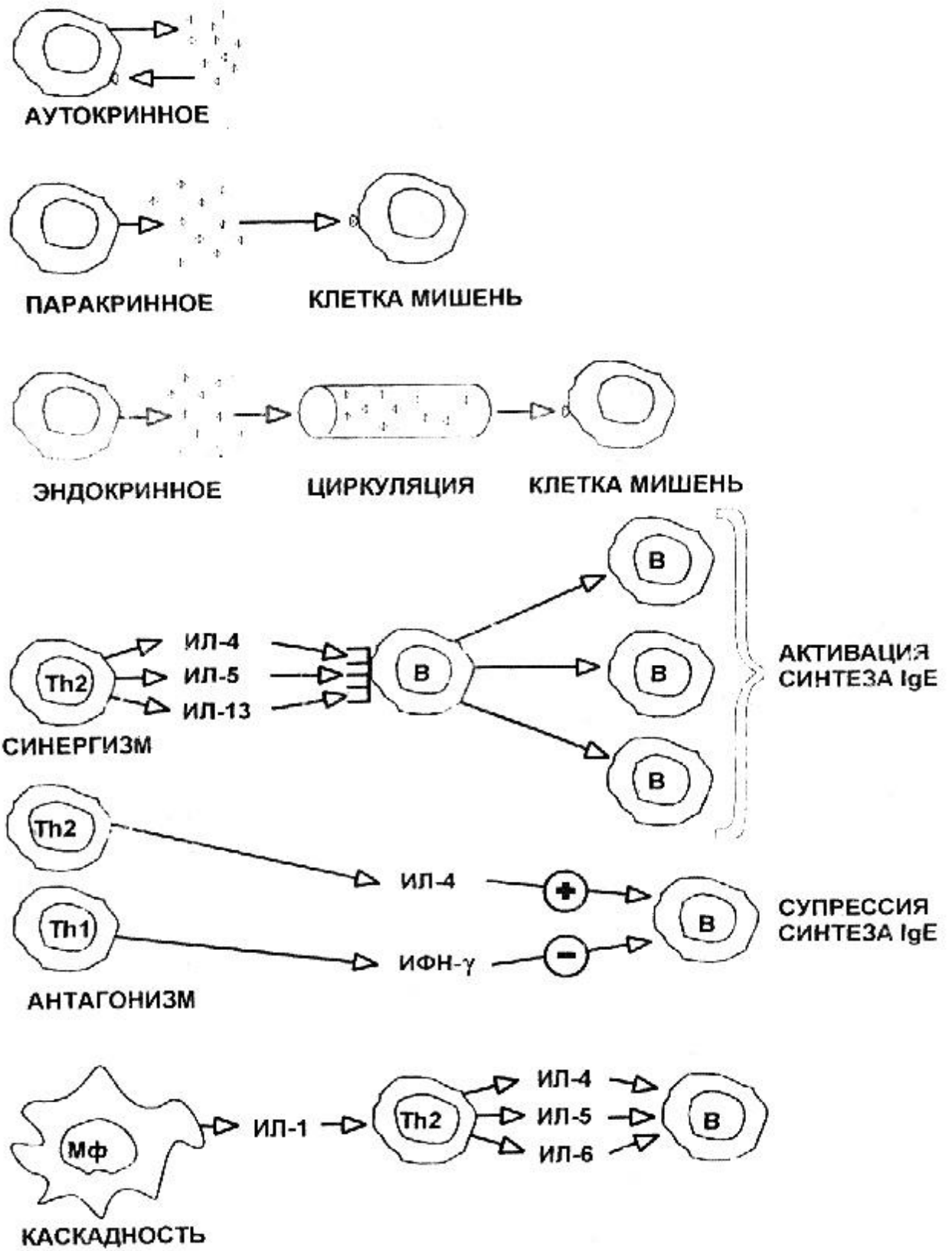
Бактериальные продукты (ЛПС, мурамилдипептид, белок А), ИК, компоненты комплемента, цитокины (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО) и др.

Эндогенные ингибиторы продукции ИЛ-1: (ПГЕ2, ГКС, липокортин, гистамин, НПВП - аспирин).

Биологическое действие ИЛ-1:

1. Активация Т-лимфоцитов, усиление экспрессии рец. ИЛ-2.
2. Стимулирует продукцию ФНО, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ПГЕ2, гистамина и др
3. Стимуляция фагоцитоза, адгезии, хемотаксиса, цитотоксичности фагоцитов, НК-клеток.

Рис. 30. Свойства цитокинов



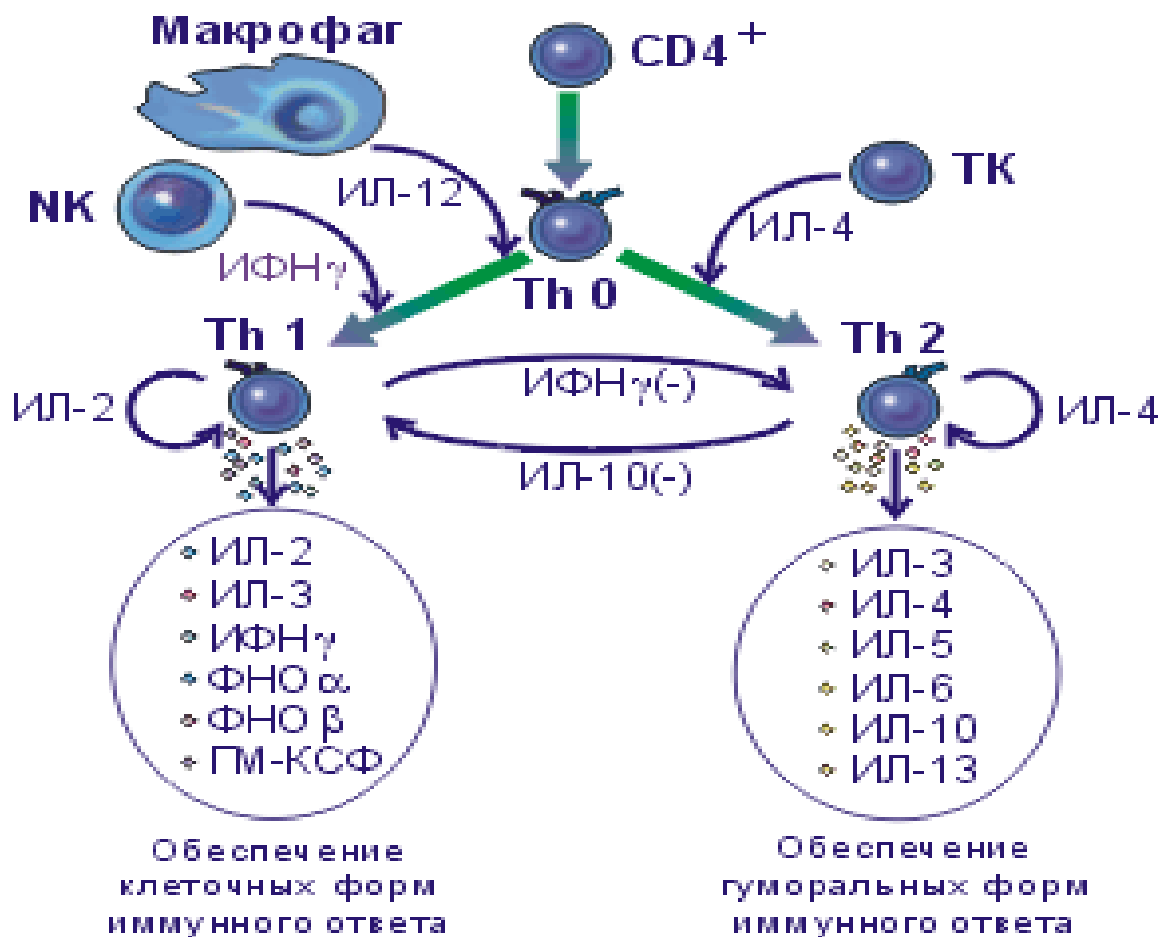


Рис. 31. Цитокиновый профиль Т-лимфоцитов.

При повышении концентрации в крови, ИЛ-1

1. взаимодействует с клетками гипоталамуса и вызывает повышение температуры тела (усиление продукции ПГЕ2, АКТГ, усиление метаболизма гликогена в печени – выброс тепла), сонливость, снижение аппетита,
2. стимулирует клетки печени к продукции белков острой фазы (С-реактивного белка и др.)
3. нейтрофилез периферической крови, снижение уровней Fe, Zn, Cu
4. вызывает резорбцию хрящевой и костной ткани
5. вызывает протеолиз мышц
6. токсичен для клеток островков Лангерганса поджелудочной железы.
7. токсичен для опухолевых клеток

При острых инфекциях септический процесс сопровождается повышением ИЛ-1, что коррелирует с увеличением температуры.

ИЛ-2

Это продукт активированных Т-клеток и его основное действие направлено на Т-лимфоциты.

Важным активатором продукции являются гормоны тимуса.

Биологическое действие ИЛ-2.

1. ИЛ-2- ключевой фактор развития иммунного ответа и основной ростовой фактор Т-лф. (Антигенная активация Т-лимфоцитов ведет к экспрессии рецепторов ИЛ-2 его к продукции и, ИЛ-2 необходим для активации других клеток и дальнейшего и.о.)

2. ИЛ-2 стимулирует синтез и выработку других цитокинов (гамма-ИФН, ФНО-бета)

3. активирует CD8+ лимфоциты

4. стимулирует пролиферацию НК – клеток и их трансформацию в ЛАК-клетки.

5. стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-лф в плазматические клетки.

6. ИЛ-2 является макрофагаактивирующим фактором (восстанавливает способность макрофагов представлять антиген, увеличивает продукцию метаболитов кислородного взрыва, усиливает цитотоксичность).

ИЛ-3

Основным источником ИЛ-3 является активированные Т-лимфоциты.

Биологическая активность ИЛ-3.

1. стимулятор гемопоэза; действует в синергизме с эритропоэтином и КСФ
2. обладает радиопротективным действием (предотвращает гибель животных от радиации)
3. усиливает цитотоксическую активность макрофагов.

ИЛ-4

Основные продуценты: Т-х₂, для которых ИЛ-4 служит аутокринным фактором роста.

Биологические эффекты.

1. Активация пролиферации В-лф., действует в синергизме с ИЛ-5,6, стимулирует продукцию IgE (при аллергии повышение уровня ИЛ-4).
2. является противовоспалительным цитокином: ингибирует продукцию ИЛ-1, ПГ макрофагами, ИЛ-2-зависимую пролиферацию Т-лф. и др.
3. усиливает экспрессию молекул адгезии, ГКГС на поверхности клеток
4. способствует развитию Тх₀ в Тх₂
5. тормозит образование ЛАК-клеток

ИЛ-5

ИЛ-5 – вырабатывается активированными Тх₂ и тучными клетками.

Биологические эффекты.

1. ИЛ-5 - фактор пролиферации и созревания В-лимфоцитов в антителопродуцирующие клетки.
2. ИЛ-5 - усиливает активацию, пролиферацию и созревание эозинофилов (ИЛ-5 вызывает эозинофилию при гельминтозах.)

ИЛ-6

ИЛ-6 относится к провоспалительным цитокинам, усиливающим воспалительные реакции.

Основной источник ИЛ-6: Тх₂, макрофаги, нейтрофилы, фибробласты, эндотелиальные клетки.

Биологическое действие ИЛ-6

1. Стимуляция продукции антител
2. индукция продукции белков острой фазы воспаления гепатоцитами;
3. индуцирует лихорадку.

4. оказывает стимулирующее влияние на пролиферацию стволовых клеток костного мозга

ИЛ-7 продуцируется клетками стромы костного мозга и является ростовым фактором для пре-В и пре-Т лимфоцитов.

ИЛ-8 является в основном продуктом активированных макрофагов и относится к медиаторам-хемокинам.

ИЛ-9 – Т-клеточный фактор роста, поддерживающий рост клонов Т-лимфоцитов.

ИЛ-10 – вырабатывается Тх2, основная функция – угнетение выработки цитокинов Тх1(ФНО, гамма-интерферона) и макрофагов (ФНО, ИЛ-1).

ИЛ-11 – цитокин, стимулирующий образование тромбоцитов.

ИЛ-12 – продуцируется различными клетками в т.ч. В-лф. и макрофагами.

- активирует НК.
- стимулирует продукцию гамма-ИНФ
- усиливает цитотоксичность CD8+-клеток
- дифференцировку Тх0 в Тх1

ИЛ-13 – продукт Тх2, ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов, АЗКЦ.

ИЛ-14 – В-клеточный фактор роста.

ИЛ-15 – ИЛ-2-подобный цитокин.

Факторы некроза опухоли

Различают ФНО-альфа и ФНО-бета или лимфотаксин. ФНО-альфа синтезируется в основном макрофагами, ФНО-бета – Тх и НК-клетками.

В норме продукция ФНО находится на низком уровне. Однако количество его резко изменяется при попадании в организм микробных антигенов (в основном грам-отрицательных бактерий, например ЛПС). За несколько минут и часов содержание ФНО в биологических жидкостях

организма может возрастать в сотни и тысячи раз. Многие эффекты ФНО усиливаются под действием гамма-ИФН и других цитокинов.

Биологические эффекты ФНО делят на системные и локальные.

Локальное действие ФНО:

1. расширение сосудов, отек, гиперемия
2. усиление адгезии нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов к эндотелию сосудов
3. активация фагоцитов, Т, В-лф., НК-клеток
4. стимуляция продукции ИЛ-1,6,ФНО

При значительном локальном повышении уровня ФНО, повышается его концентрация в крови, где он оказывает системное действие.

Системные эффекты ФНО:

1. пирогенное действие (аналогично ИЛ-1)
2. индукция синтеза острофазовых белков
3. активация системы свертывания крови
4. повышение в крови уровней ИЛ-1,6
5. нейтрофилез
6. угнетение гемопоэза
7. резорбция кости и хряща
8. противоопухолевый эффект
9. развитие кахексии.

Кахексия – истощение мышц и жировых клеток. (ФНО блокируя фермент липопротеинлипазу (ЛПЛ) препятствует усвоению жирных кислот и накоплению липидов в адипоцитах).

ФНО, ИЛ-1 и ИЛ-6 - медиаторы септического шока действуют как синергисты. При шоке отмечается массовая продукция ФНО. ФНО и ИЛ-1 участвуют в воспалительной реакции и вызывает нарушения в тканях - увеличении адгезивности эндотелия капилляров, привлечение ПЯН - скопление их внутри сосудов, частичный тромбоз, увеличение свертываемости

крови, активация целого ряда воспалительных медиаторов (ПГЕ2, ФАТ, белки острой фазы, протеолитические ферменты, активные формы O₂).

Интерфероны

Известно 3 типа интерферонов: ИФН-альфа (лейкоцитарный), ИФН-бета (фибробластный), ИФН-гамма (лимфоцитарный или иммунный).

ИФН-альфа и ИФН-бета ингибируют пролиферацию клеток, обладают противовирусной активностью, усиливают цитотоксичность НК-клеток и ЦТЛ, усиливают экспрессию молекул ГКГС 1 и 2 классов на поверхности инфицированных клеток.

ИФН-гамма обладает иммунорегуляторным, противовирусным и антипролиферативным действием:

- активирует фагоциты, НК-клетки
- ингибирует пролиферацию Тх2, продукцию IgE.
- вызывает дифференцировку Тх0 в Тх1
- усиливает экспрессию молекул ГКГС 1 и 2 классов на поверхности

различных клеток.

Области применения цитокинов как лекарственных средств:

- Патология системы крови
- Онкология
- Иммунопатология
- Воспалительные процессы
- Инфекционные заболевания

Методы выявления цитокинов в биологических жидкостях

1. Биологическое тестирование
2. ИФА
3. ПЦР для выявления генов продукции цитокинов
4. Проточная цитометрия с применением МКА, позволяющая выявлять цитокины внутри клетки
5. Определение цитокинов, секретиремого единичной клеткой - ELISPOT

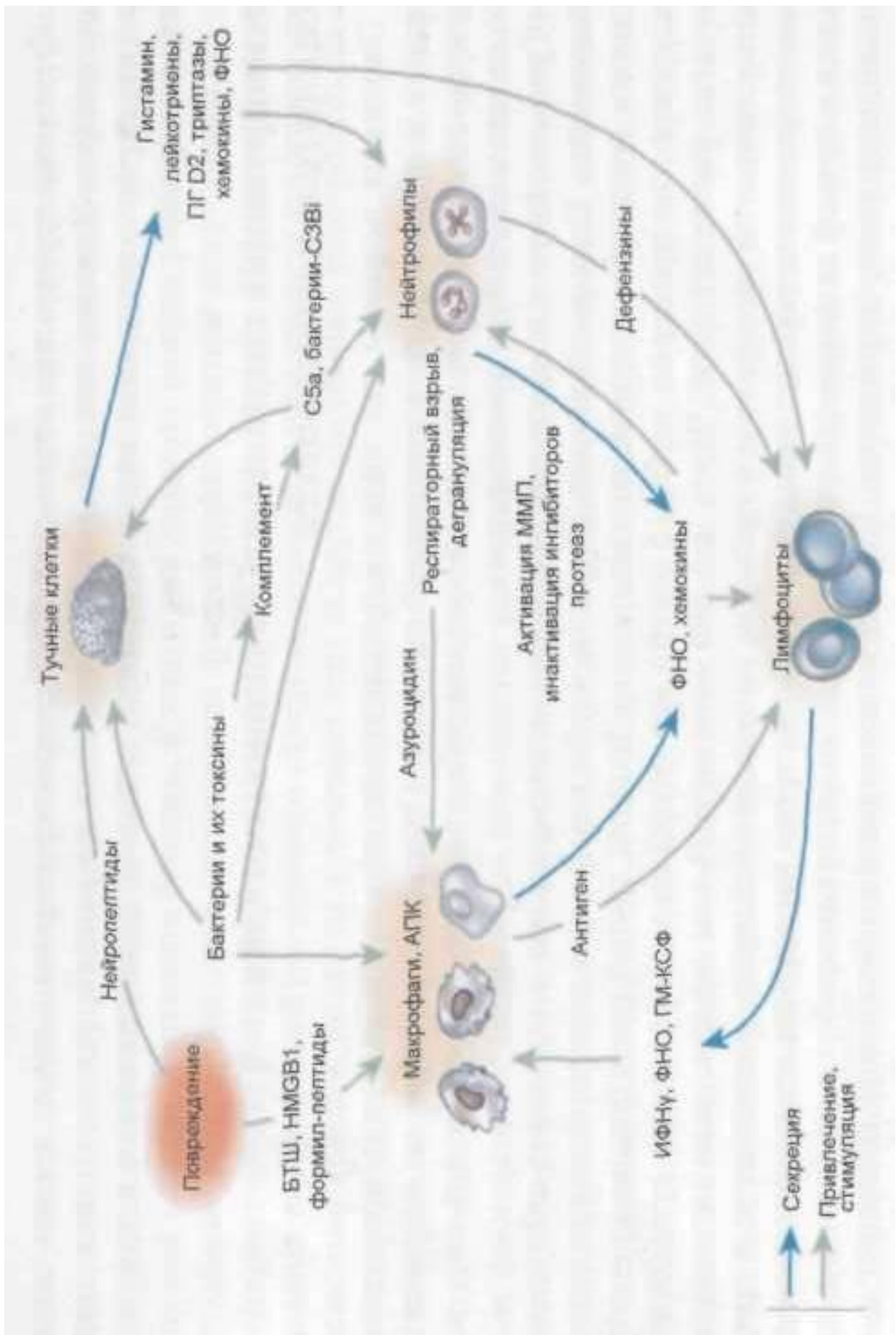


Рис. 32. Участие питокинов в воспалении (по Р.И. Сепиашвили)

ИММУННЫЙ ОТВЕТ

В настоящее время известны две формы специфического иммунного реагирования: клеточный тип иммунного ответа, осуществляемый Т-системой иммунитета, и гуморальный тип иммунного ответа, который обеспечивается В-системой иммунитета.

При этом следует разделить гуморальный иммунный ответ, развивающийся на тимусзависимые антигены (или тимусзависимый гуморальный иммунный ответ) и гуморальный иммунный ответ, развивающийся на тимуснезависимые антигены (или тимуснезависимый гуморальный иммунный ответ).

Клеточный иммунный ответ включает следующие основные реакции:

1. Гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).
2. Реакции цитотоксических Т-лимфоцитов (или цитотоксический ответ)
3. Реакции трансплантационного иммунитета (отторжения трансплантата, хозяин против трансплантата, трансплантат против хозяина)

Запуск специфического иммунного ответа осуществляется антигеном, который, чаще всего поступая в организм через барьерные ткани, контактирующие с внешней средой (слизистые оболочки, дыхательного, урогенитального, пищеварительного трактов, кожу), не уничтожается факторами неспецифической резистентности.

Клетки, циркулирующие в крови, способны к активной миграции в ткани, и в зону поступления антигена, посредством хемокинов, устремляется целый поток нейтрофилов, моноцитов, здесь же накапливаются макрофаги (важную роль играет фактор, ингибирующий миграцию макрофагов). Фагоцитоз аг осуществляется преимущественно клетками-«мусорщиками» (имеют рецептор-«мусорщик»), которые не обладают специфичностью к объекту фагоцитоза. Особо стоит отметить, что макрофаги, фагоцитирующие аг в месте его проникновения, не играют важной роли в первичной обработке антигена и последующем включении Т-лимфоцитов в иммунный ответ, т.к. с одной

стороны они не мигрируют в лимфоидные органы, с другой – они расщепляют аг до слишком мелких фрагментов.

Антиген с током крови, лимфы или тканевой жидкости от места проникновения в организм заносится в региональный лимфоидный орган. Антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, В-лимфоциты, дендритные клетки) захватывают, перерабатывают и представляют антигенные пептиды (т.е. осуществляют обработку аг) в комплексе с молекулами 1 или 2 класса ГКГС на своей поверхности. Макрофаги способны в основном осуществлять процессинг и презентацию корпускулярных антигенов.

В-лф посредством антигенраспознающего комплекса, включающего BCR-рецептор, способны связывать и представлять растворимые молекулы.

Эффективность процессинга и презентации аг АПК находится под контролем ряда цитокинов, среди основных выделяют: ИЛ-1, ФНО-альфа, ИЛ-6, ГМ-КСФ, самым мощным стимулятором макрофагов является гамма-ИФН, который усиливает экспрессию аг ГКГС 1 и 2 класса на поверхности АПК.

Следующим важным этапом в развитии иммунного ответа является взаимодействие АПК с Т-лимфоцитом и распознавание антигена, что приводит в конечном итоге к активации клеток, пролиферации и дифференцировке лимфоцитов.

После проникновения аг в лимфатический узел, очень быстро (в течение нескольких часов) происходит улавливание лимфоцитов, способных специфически реагировать с данным аг. Этому способствует с одной стороны усиление интенсивности кровотока через лимфатический узел и рециркуляции через него лимфоцитов, с другой – прекращение оттока из органа лимфоцитов, несущих специфические рецепторы для данного антигена.

Контакт между взаимодействующими клетками осуществляется при активном участии адгезивных молекул.

Решающим моментом в реализации специфического иммунного ответа является выбор пути дифференцировки CD4+-клеток в направлении Th1 или Th2, т.е. выбор между гуморальным и клеточным ответом.

Природа антигена и определенный набор цитокинов регулируют направление дифференцировки наивных Т-х₀. Этапы активации, пролиферации и дифференцировки клеток тесно взаимосвязаны.

Для активации Тх₀ нужно 3 сигнала:

1 сигнал: аг процессированный и презентируемый на поверхности АПК в комплексе с молекулами ГКГС 2 класса.

CD4⁺ клетки осуществляют двойное распознавание аг: TCR в комплексе с CD3 распознает сам антиген, а CD4- аг ГКГС 2 класса.

Однако полноценная активация Т-х наблюдается только при взаимодействии CD28 Т-лимфоцита и CD80/86 АПК, обеспечивающим синтез ИЛ-2 (2 сигнал).

Для включения третьего сигнала активации Т-х, необходима дополнительная активация АПК, которая происходит при взаимодействии CD40-рецептора АПК и CD40L CD4⁺-клетки.

В результате активации макрофагов возрастает выработка ИЛ-1,6,10,12, ФНО, хемокинов, активных форм кислорода. При этом следует отметить, что вирусы, внутриклеточные паразиты активируют макрофаги к выработке ИЛ-12, а аллергены, внеклеточные паразиты, некоторые бактерии активируют в макрофаге синтез ИЛ-1.

В В-лимфоцитах связывание молекул CD40 и CD40L вызывает переключение изотопов иммуноглобулинов в ответ на тимусзависимые антигены.

Третьим сигналом для активации Тх₀ служит ИЛ-1 или ИЛ-12, вырабатываемые АПК (в основном речь идет об активированных макрофагах, хотя В-лимфоциты способны синтезировать и секретировать ИЛ-1,12). Продукция цитокина ИЛ-12 индуцирует синтез гамма-интерферона Тх₀ и дифференцировку их в Тх₁, которые начинают секретировать цитокины (ИЛ-2,3,гамма-ИФН, ФНО-β), регулирующие развитие ГЗТ и различных цитотоксических реакций.

В противоположность этому синтез ИЛ-1 индуцирует продукцию ИЛ-4, который обеспечивает дифференцировку Тх0 в Тх2. Активированные Тх2 вырабатывают цитокины (ИЛ-4,5,6,13 и др.), определяющие пролиферацию В-лимфоцитов и их дальнейшую дифференцировку. ИФН- γ негативно регулирует функцию Тх2 и, наоборот, ИЛ-4,10, секретируемые Тх2, угнетают функцию Тх1.

Таким образом, результатом кооперации Тх - АПК, является взаимная активация этих клеток и выработка ими цитокинов, определяющих дальнейшее развитие иммунного ответа, а именно, пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов.

Особая роль в этом процессе принадлежит ИЛ-2. Т-лимфоциты начинают синтезировать ИЛ-2 и одновременно экспрессировать на клеточной поверхности его рецепторы. Это обеспечивает быстрое размножение и дифференцировку антиген-специфических клонов Т-лимфоцитов.

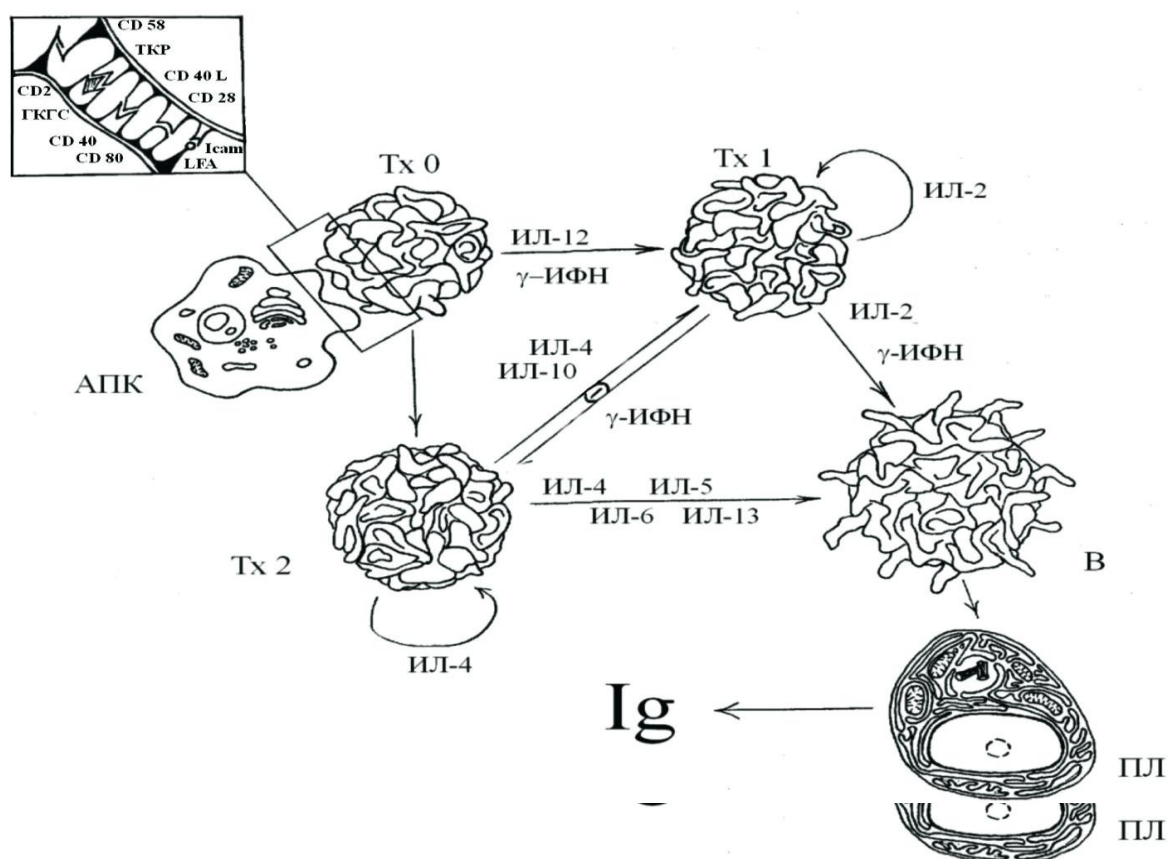


Рис. 33. Схема гуморального иммунного ответа на тимусзависимый антиген.

В настоящее время общепризнанной считается система трехкомпонентной кооперации иммуноцитов в иммунном ответе.

Это касается в первую очередь гуморального иммунного ответа на тимусзависимые антигены, который обеспечивается макрофагами, Тх и В-лимфоцитами.

Гуморальный иммунный ответ может развиваться и на тимуснезависимые антигены. Чаще всего эти антигены в своей структуре имеют повторяющиеся гомологичные эпитопы, которые образуют перекрестные сшивки с поверхностными иммуноглобулинами В-лимфоцитов и включают В-лимфоциты в процесс пролиферации и дифференцировки до зрелых антителопродуцентов.

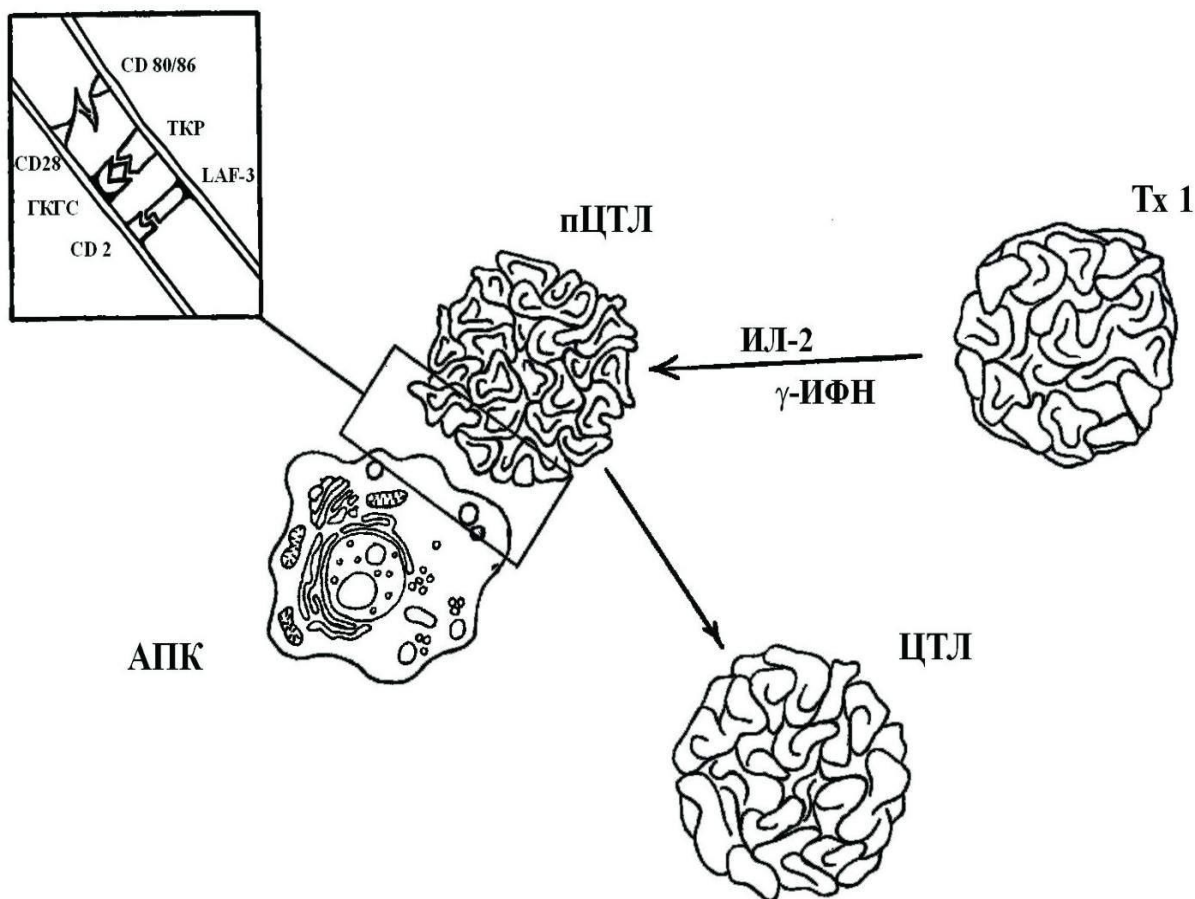


Рис. 34. Схема формирования ЦТЛ

Реакции цитотоксических Т-лимфоцитов или цитотоксический ответ.

При вирусной инфекции, опухолевом росте, отторжении трансплантата основными эффекторными клетками являются цитотоксические Т-лимфоциты (CD8+-клетки). Этапы их функционирования включают активацию, пролиферацию и дифференцировку их предшественников до зрелых эффекторов.

Процесс образования ЦТЛ из наивных предшественников, покинувших тимус, осуществляется под действием двух сигналов.

1 сигнал - аг, представленный на поверхности АПК или клетках-мишенях, который пЦТЛ распознает в комплексе с антигенами ГКГС 1 класса (эффект двойного распознавания). При этом происходит экспрессия костимулирующей молекулы CD28 на ЦТЛ и активация синтеза ИЛ-2, который служит 2 сигналом активации пЦТЛ и стимулирует их пролиферацию.

В ряде случаев для дифференцировки ЦТЛ требуются дополнительные цитокиновые сигналы от Тх1 (ИЛ-2, γ -ИФН) и от других клеток (ИЛ-4,6 и др.), которые обеспечивают полноценную активацию, пролиферацию и дифференцировку пЦТЛ до зрелых ЦТЛ.

Стадии иммунного ответа

Стадии иммунного ответа	Клетки, участвующие в развитии стадии	Иммунологические процессы
Стадия индукции (афферентная)	МФ, дендритные клетки, В лимфоциты	Процессинг и презентация антигена
Иммунорегуляторная стадия	АПК, Т-лф	Активация и взаимодействие иммунорегуляторных клеток, пролиферация и дифференцировка Тх0 в Тх1,2
Эффекторная стадия	ЦТЛ, Т-эффекторы ГЗТ, плазматические клетки	Развитие эффекторных реакций клеточного иммунитета Антителообразование
Иммунологическая память	Т и В-клетки памяти	Накопление клеток памяти

Зрелые ЦТЛ осуществляют цитотоксическое действие на клетки-мишени двумя способами, вызывая либо некроз, либо апоптоз.

Следующей формой клеточного иммунного ответа является реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Это самая медленная форма клеточного иммунного ответа развивается на антигены, обладающие слабыми иммуногенными свойствами. Известным проявлением ГЗТ служит туберкулезная реакция – ответ сенсибилизированного организма на локальное введение туберкулина. Реакция локального воспаления развивается не только на бациллы туберкулеза, но и на широкий набор бактерий, вирусов, грибков, которые локализуются в фаголизосомах макрофагов, где они недоступны для действия как антител, так и ЦТЛ. Процессы сенсибилизации при первичном введении антигена в интактный организм осуществляются обычным путем, в результате чего формируются Тх1 (Тгзт) – сенсибилизированные лимфоциты. При повторной встрече с тем же антигеном зрелые Тх1 вступают в реакцию распознавания данного антигена, причем реакция развивается не сразу, а через 24-48 часов (отсюда ее название). Результатом распознавания является активная продукция Тх1 хемотаксических факторов, привлекающих в зону проникновения антигена макрофаги и другие клетки воспаления из кровотока. Тх1 выделяют полный коктейль цитокинов, причем для реализации ГЗТ наиболее важен гамма-ИФН, лимфотаксин, МИФ – фактор ингибирующий миграцию макрофагов, благодаря которому происходит аккумуляция макрофагов в зоне воспаления. Кооперация цитокинов вызывает сильную активацию макрофагов и стимулирует их способность убивать внутриклеточные микроорганизмы.

Данный тип реакции лежит в основе многих аллергических, инфекционных, аутоиммунных заболеваний.

Нарушения межклеточных взаимодействий и патология иммунной системы.

Обычной причиной нарушений молекулярных взаимодействий, лежащих в основе кооперации клеток иммунной системы, являются генетические

дефекты. Например, отсутствие CD28 приводит к нарушению продукции ИЛ-2. Синдром нарушенной адгезии лейкоцитов клинически проявляется частыми инфекциями, нарушением заживления ран, лабораторно – ослаблением подвижности, хемотаксиса, адгезии лейкоцитов.

Перспективы изучения кооперации клеток в иммунном ответе.

Для оценки распознавательной функции иммунной системы используется только СКЛ, позволяющая исследовать CD8+лимфоциты.

Тесты, позволяющие судить о состоянии активации иммуноцитов, включают:

1. Определение маркеров активации (HLA-DR, CD25, CD71).
2. Измерение цАМФ и других внутриклеточных мессенджеров

Намного проще обстоит дело с тестами, способными дать информацию о пролиферативной активности ИКК.

1. РБТЛ с митогенами (неспецифическими стимуляторами)
2. пролиферативный ответ лимфоцитов на специфические аг (туберкулин и др.).

Оценить способность иммуноцитов к дифференцировке можно по следующим тестам:

1. цитотоксические тесты
2. оценка продукции иммуноглобулинов
3. оценка продукции цитокинов и способности клеток к ответной реакции на них.

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ИММУНИТЕТА

Цитотоксические реакции иммунитета играют важную роль в патогенезе целого ряда заболеваний:

- Аутоиммунных
- Аллергических
- Онкологических
- Инфекционных, вызываемых вирусами, грибами, некоторыми бактериями, паразитами
- При трансплантации органов и тканей

Цитотоксические реакции можно разделить на антигенспецифические и антигеннеспецифические, среди которых выделяют клеточно-опосредованные реакции (цитоллиз) и гуморальный цитоллиз (антителозависимый и комплементзависимый). В клеточно-опосредованных цитотоксических реакциях ведущую роль играют ЦТЛ, макрофаги, НК-клетки, а также нейтрофилы, эозинофилы.

Механизмы цитотоксического действия этих клеток различны, однако уничтожение агрессивных объектов может быть реализовано в форме внеклеточного, внутриклеточного и контактного цитолиза.

Внеклеточный цитоллиз осуществляется секретируемыми бактерицидными продуктами. Внутриклеточный – обеспечивается фагоцитозом и зависит от его эффективности (завершенный, незавершенный). Контактный цитоллиз основан на индукции апоптоза или некроза клеток-мишеней.

В последние годы установлено, что в основе цитотоксического действия большинства эффекторных клеток лежит сочетание различных механизмов цитолиза.

Цитолитическое действие ЦТЛ

Зрелые ЦТЛ осуществляют цитотоксическое действие на клетки-мишени двумя способами, вызывая их гибель путем некроза или апоптоза.

Первый связан с нарушениями в мембране или цитоплазме клетки и существенно не затрагивает клеточного ядра.

Цитолитическое действие осуществляется в 3 этапа:

✓ специфическое связывание ЦТЛ с клеткой-мишенью. Механическое разобщение взаимодействующих клеток спасает клетку-мишень от лизиса.

✓ летальный удар, который предопределяет гибель клетки-мишени; на этом этапе Т-киллеры путем экзоцитоза выделяют содержащиеся в гранулях перфорин и гранзимы

Перфорин образует поры в мембране клетки-мишени, через которые поступают гранзимы (фрагментины), это приводит к повышению проницаемости мембраны, нарушению баланса натрий калиевого насоса и осмотического давления. Это Ca^{2+} -зависимый этап.

✓ третий этап характеризуется увеличением клетки-мишени в объеме, за счет поступления H_2O через поврежденную мембрану, это приводит к разрыву мембраны и гибели клетки путем некроза. Кроме того, следует подчеркнуть, что в цитолизе клеток-мишеней сочетаются проявления некроза и апоптоза.

В реализации апоптоза важную роль играет ФНО, секретлируемый ЦТЛ. Первичные изменения при апоптозе связаны с фрагментацией ДНК, разрушением ядра и изменением морфологии клетки, в процессе апоптоза мембрана клетки не повреждается, а клетка превращается в апоптотическое тело, которое затем фагоцитируется.

Процесс апоптоза индуцируется эффекторными молекулами:

гранзимами, которые в свою очередь запускают в клетке-мишени цепочку активации: гранзимы – каспазы – Ca , Mg -зависимые эндонуклеазы – апоптоз.

Взаимодействие ФНО с рецептором на клетке-мишени инициирует механизмы апоптоза. После выполнения своей эффекторной функции клетка сохраняется и способна к дальнейшему цитолитическому действию.

Для оценки функциональной активности ЦТЛ используют цитотоксический тест (см. лекция Т-лимфоциты), а также СКЛ.

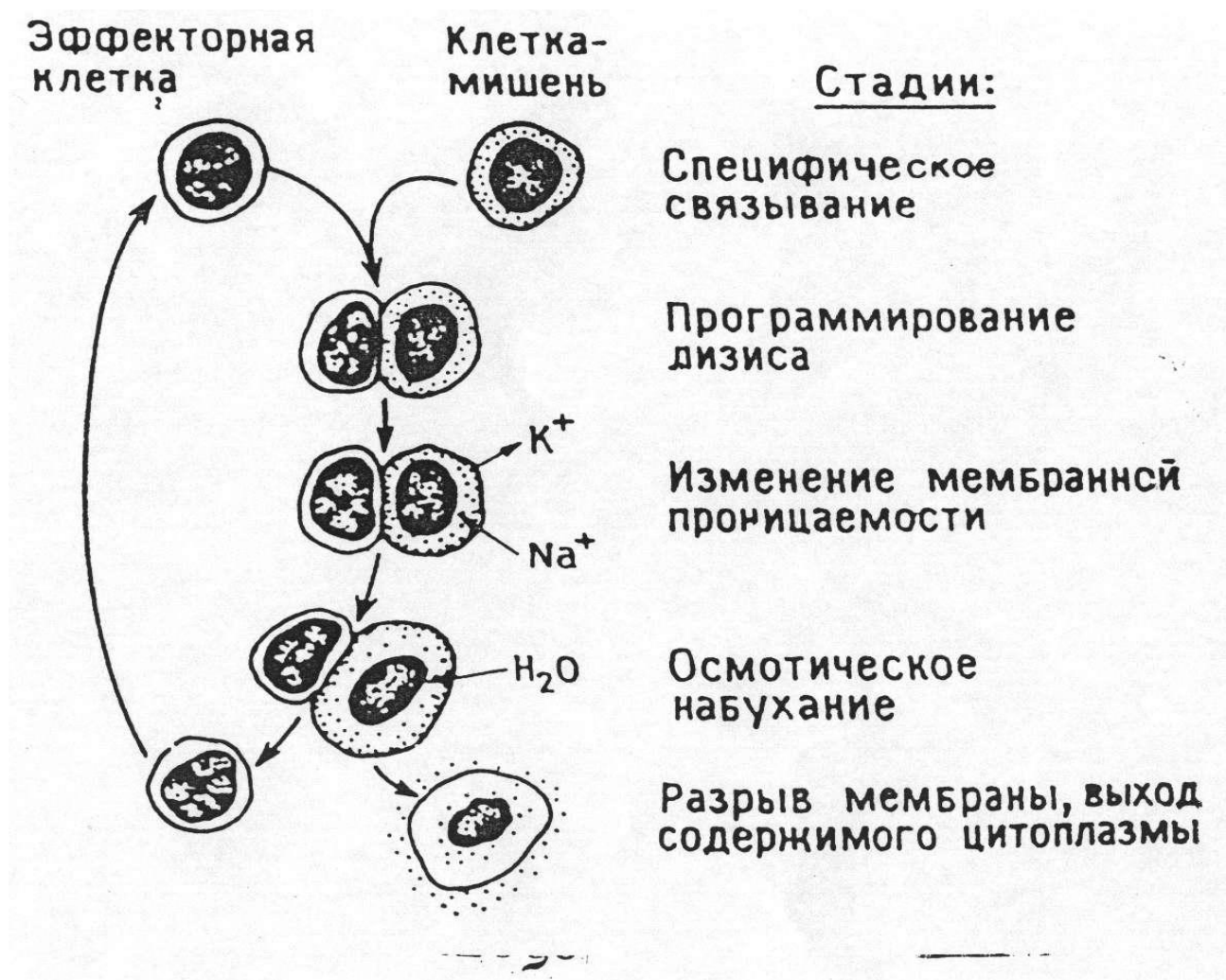


Рис. 35. Стадии литического цикла

Цитолитическое действие НК-клеток.

НК-клетки осуществляют контактный цитоллиз пораженных вирусом клеток, опухолевых клеток, а также других чужеродных клеток, попавших в организм при переливании крови, трансплантации органов. Уникальность НК-клеток состоит в том, что их литическая активность против клеток-мишеней проявляется при первичном контакте без предварительной сенсibilизации,

которая требуется ЦТЛ. В настоящее время установлено, что мишенями НК-клеток являются клетки, утратившие молекулы ГКГС 1 класса.

НК распознают на поверхности мишеней углеводные компоненты – сахара, которые на обычных клетках связаны сиаловыми кислотами. Контакт с клеткой-мишенью приводит к включению программированного лизиса.

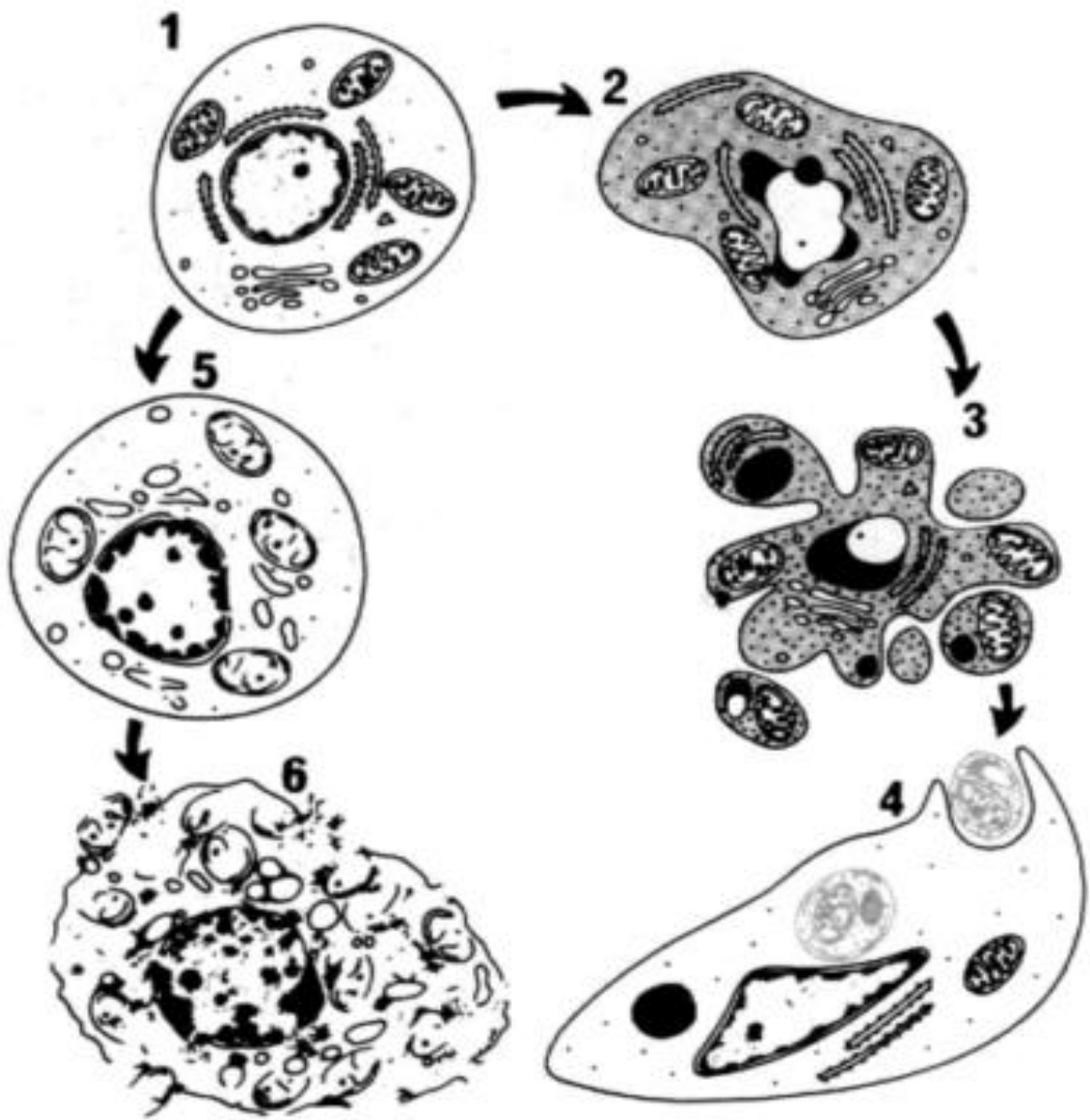


Рис. 36. Последовательность ультраструктурных изменений при апоптозе (справа) и некрозе (слева) (Новиков В.С., 1996).

1 – нормальная клетка; 2 – начало апоптоза; 3 – фрагментация апоптотической клетки; 4 – фагоцитоз апоптотических телец окружающими клетками; 5 – гибель внутриклеточных структур при некрозе; 6 – разрушение клеточной мембраны.

Наличие цитокинов, продуцируемых НК-клетками и Т-лимфоцитами (ИЛ-1, 2, 12, ИФН, ФНО и др.) приводит к усилению цитотоксического действия натуральных киллеров. Так, например ИЛ-2, активированные НК-клетки – ЛАК-клетки, обладают более выраженным цитотоксическим действием и способны вызывать лизис опухолевых клеток, на поверхности которых присутствуют аг 1 класса МНС.

Для выявления и подсчета НК-клеток используют МКА анти CD16, CD56.

Функциональную активность НК-клеток обычно определяют в цитотоксическом тесте с использованием специальных клеток-мишеней, чувствительных к литическому действию НК-клеток (например клетки опухолевой линии К-562).

Цитолитическое действие макрофагов

Макрофаги могут вызывать гибель клеток-мишеней путем некроза или апоптоза посредством внеклеточного, внутриклеточного или контактного цитолиза.

Внутриклеточный цитолиз – обеспечивается фагоцитозом и зависит от эффективности работы систем бактерицидности, а также от активирующих макрофаг сигналов, в первую очередь цитокиновых.

Возбудители некоторых инфекций (туберкулеза, лепры, чумы) используют макрофаги как «среду обитания». Локализуясь в фоголизосомах, они недоступны для антител и ЦТЛ.

Единственный способ борьбы с внутриклеточными патогенами – усиление лизосомальной активности самих макрофагов. Помощь в стимуляции такой активности исходит от Тх1 в реакциях ГЗТ, когда они после взаимодействия с макрофагами начинают активно секретировать гамма-ИФН и ФНО-альфа.

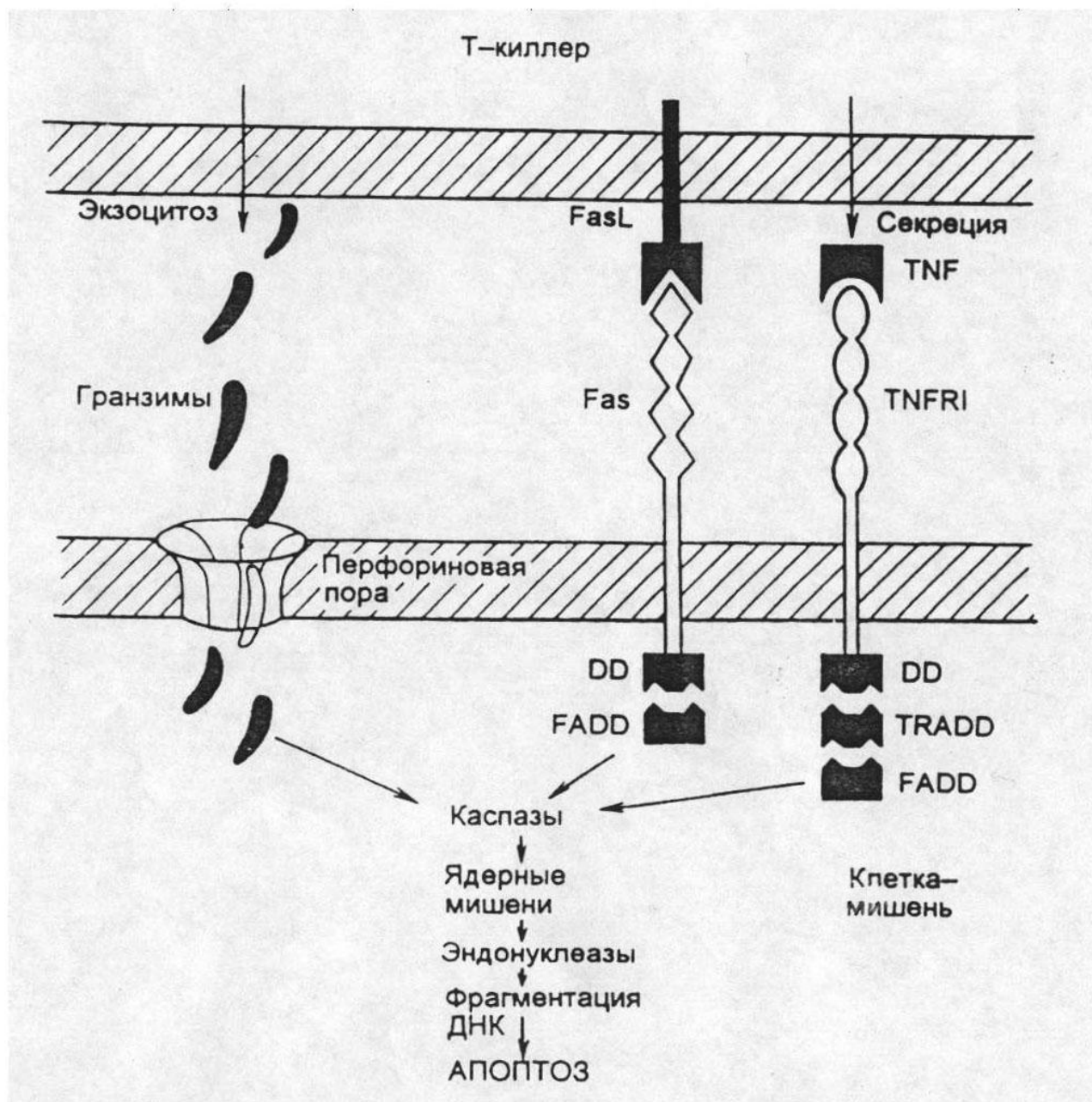


Рис. 37. Механизм цитотоксического действия ЦТЛ (А.А. Ярилин, 1999 г.).

Внеклеточный цитолиз осуществляется секретируемыми макрофагами бактерицидными продуктами (цитокинами, активными метаболитами кислорода, лизосомальными ферментами и др.) и при контакте с клетками-мишенями, связанными с опсонинами, компонентами комплемента.

Одним из ведущих механизмов удаления из организма внеклеточных патогенов является фагоцитоз. Макрофаги – главные участники внутриклеточного разрушения патогена, имеют на своей поверхности рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов. Патоген, связавшийся со специфическим антителом, оказывается более доступным для фагоцитирующих

клеток, вследствие взаимодействия Fc-фрагмента иммуноглобулина с Fc-рецептором на поверхности фагоцита. Процесс усиления фагоцитоза гуморальными факторами-опсонинами, называется опсонизацией.

Комплементопосредованный цитолиз.

Антитела (IgM, IgG), вступившие в контакт с бактериальной клеткой или другим антигеном, активируют белки системы комплемента. В результате активации системы комплемента по классическому или альтернативному пути образуется так называемый мембранатакующий комплекс C5-C9, который приводит к образованию гидрофильного канала в билипидном слое мембраны клетки-мишени, через который начинает проходить вода и соли. С другой стороны белки системы комплемента могут выступать в качестве опсонинов, способствуя вместе с антителами более эффективному захвату патогена макрофагами.

Киллерной активностью обладают и гранулоциты.

Эозинофилы обеспечивают защиту от большинства паразитов, посредством внеклеточного цитолиза (при этом основную роль играет главный щелочной белок, содержащийся в гранулах). Цитолитическая активность эозинофилов возрастает под действием ИЛ-5.

Цитотоксическая активность нейтрофилов может быть обусловлена следующими механизмами: контактной индукцией апоптоза, токсичностью секретируемых продуктов (лизосомальных ферментов, метаболитов кислородного взрыва, цитокинов и др.), антителозависимой и комплементзависимой цитотоксичностью.

Антителозависимая клеточная цитотоксичность.

Основная роль в данном типе цитотоксических реакций принадлежит К-клеткам, хотя описано участие и других клеток (нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов).

В антителозависимой клеточной цитотоксичности участвуют 3 компонента: эффекторная К-клетка, клетка-мишень, антитела со специфичностью к антигенам клетки-мишени.

В роли клетки-мишени чаще всего выступают собственные клетки организма, измененные в антигенном отношении. Причины приобретения клетками аутоантигенных свойств могут быть различны:

действие вирусов, различных химических веществ, лекарств, ферментов, бактериальных токсинов. Они могут изменять антигенную структуру клеточных мембран за счет:

- конформационных изменений, присущих клетке антигенов
- повреждения мембраны и появления новых антигенов
- образования комплексных антигенов с мембраной, в которых химическое вещество выступает в роли гаптена.

После того как клетка приобретает новые антигенные свойства, начинается образование аутоантител класса G или M. Поэтому многие паразитарные, бактериальные и вирусные заболевания сопровождаются образованием аутоантител к различным клеткам тканей и развитием гемолитической анемии, тромбоцитопении и др.

Образовавшиеся антитела соединяются своим Fab-фрагментом с соответствующими антигенами клеток, а Fc-фрагментом с Fc-рецептором К-клетки, которая обеспечивает лизис клетки-мишени, посредством механизмов, аналогичных для НК-клеток.

В последние годы показана важная роль К-клеток в развитии аутоиммунных, онкологических заболеваний, при отторжении трансплантата.

СИСТЕМА HLA

Система HLA открыта более, чем 40 лет назад, однако до сих пор остается одной из самых сложных, наиболее хорошо изученных и, вместе с тем, загадочных генетических структур в геноме человека

Иммуногенетику можно считать самостоятельной наукой с момента открытия комплекса тканевой гистосовместимости у мышей (H-2) (Доссе 1954-60 гг.). Понятие о главном комплексе гистосовместимости МНС (Major Histocompatibility Complex) сформировалось на основе открытия аналогичных систем у животных и человека. У человека МНС получил название HLA (Human Leucocyti Antigens).

Учение о системе генов, контролирующей синтез антигенов гистосовместимости, за последние десятилетия вышло за рамки трансплантационной иммунологии.

Иммуногенетика – раздел иммунологии, посвященный изучению четырех основных проблем:

- генетики гистосовместимости
- генетического контроля структуры Ig, цитокинов и др. молекул
- генетического контроля силы иммунного ответа
- генетики антигенов

HLA – система – это система генов и кодируемых ими антигенов, участвующая в ряде важнейших биологических процессов:

- распознавание «своего» и «чужого» (обеспечение противоопухолевого, противои инфекционного, трансплантационного иммунитета и др.)
- обеспечение межклеточных взаимодействий
- генетический контроль иммунного ответа
- генетический контроль активности системы комплемента и др.
- обеспечение предрасположенности к различным заболеваниям (онкологическим, аутоиммунным, аллергическим и др.)

Установлено, что HLA-система участвуют в таких физиологических феноменах, как продукция гормонов, миграция клеток, процессы старения.

Эти важнейшие функции обеспечиваются, в первую очередь, двумя особенностями HLA-системы:

крайне выраженным полиморфизмом, проявляющимся в том, что она имеет около 700 аллельных вариантов и тем, что HLA-антигены, кодируемые этими аллелями обеспечивают взаимодействие всех клеток организма, включая клетки иммунной системы.

Отдельно взятая молекула антигена гистосовместимости способна связывать ограниченный круг пептидов. Чтобы чужеродные белки не могли избежать иммунологического распознавания, необходимо присутствие на клеточной мембране целого набора антигенов гистосовместимости, включающих в гетерозиготном состоянии по 2 антигена каждого из локусов системы HLA. Полиморфизм классических генов MHC (I и II классов) означает наличие в популяции множества аллелей – вариантов одноименного гена у разных особей.

Конкретные варианты MHC закрепляются в эволюции естественным отбором (в отличие от TCR и Ig) и каждая отдельная особь оказывается приспособленной к регионарным видам и штаммам инфекционных микроорганизмов, на защиту от которых шел отбор MHC у предков.

Нарушение или полное отсутствие какой-либо из функций HLA лежит в основе аутоиммунных, онкологических, иммунодефицитных заболеваний

Гомозиготы по антигенам HLA являются чрезвычайно невыгодным для организма с физиологической точки зрения.

СТРОЕНИЕ СИСТЕМЫ HLA.

HLA локализуется на коротком плече VI хромосомы справа от центромеры, между генами, кодирующими гипоксалазу (GLO) и мочевой пепсиноген 5 (Pg5) и занимает расстояние около 2 сантиморган.

Все гены HLA разделяются на три группы, экспрессирующие охарактеризованные гены, псевдогены и гены с неустановленной функцией.

На сегодняшний день расстояние между условными границами HLA расширено более чем в 2 раза (в 1987 году оценивалось в 2000kb), причем

протяженность отдельных его элементов – генных кластеров – колеблется в широких пределах в зависимости от HLA-гаплотипа.

Генный комплекс расширился за счет дубликации, что в свою очередь давало определенные преимущества организмам с более полиморфной системой HLA в процессе эволюции.

Какие причины привели к подавлению экспрессии ранее функционировавших генов в составе МНС, остается открытым.

Благодаря развитию молекулярной генетики и молекулярной иммунологии, появилась возможность не только проводить тонкий анализ антигенов HLA, но и изучать сами гены HLA. Особенный прогресс произошел после открытия и внедрения метода ПЦР, позволяющего анализировать ДНК и молекулярный полиморфизм системы в целом.

При этом были открыты многие новые аллели классов I, II и III, а общее количество только известных специфичностей HLA классов I и II увеличилось более чем в 10 раз.

Для идентификации аллельных вариантов генов HLA Номенклатурный комитет ВОЗ ввел новую официальную номенклатуру, отличную от таковой, ранее существовавшей для идентификации антигенов HLA. Естественно, что количество аллельных вариантов генов HLA значительно превосходит количество ранее известных соответствующих антигенов HLA.

В пределах системы HLA могут разместиться около 105- 106 генов. Гены, кодирующие антигены системы HLA, принято делить на 4 класса:

1 класс - Первоначально были подразделены на 3 локуса, называемые А, В и С. Однако, кроме генов этих локусов в класс I системы HLA включаются еще 18 генов, 11 из которых являются псевдогенами, а 7-ассоциированы с продуктами транскрипции. Здесь существуют также гены Е, F, G, H, функция которых не установлена).

2 класс - структуры D области, в которых выделяют сублокусы:

HLA- DR, DQ, DP. В этой же зоне находятся и другие гены: например, DN, DO, продукты которых пока не известны.

3 класс - в состав входят гены, С2, С4, пропердиновый фактор ВF, кодирующие компоненты комплемента и участвующие в активации С3. В этой же области находятся гены, кодирующие синтез цитокинов ФНО→ и ФНО←, ферментов, участвующих в образовании гормонов.

4 класс - условно отнесены гены, связь которых с системой HLA еще нуждается в доказательствах.

Гены 1 класса отличаются очень высоким полиморфизмом:

Так для гена А известно 60, для В – 136, а для гена С – 38 аллельных вариантов. Они ответственны за образование тяжелой цепи (α) антигенов 1 класса.

Антигены гистосовместимости I класса HLA-A,B,C присутствуют практически на всех клетках организма, за исключением ранних эмбриональных клеток - нормальных и злокачественных, нет их на эритроцитах и клетках ворсинчатого трофобласта.

В этом заключается высокая биологическая целесообразность: эритроциты – безъядерные клетки и не могут быть инфицированы вирусом, а молекулы 1 класса играют важную роль в распознавании вирусных антигенов. Практически полное отсутствие молекул ГКГС 1 класса на клетках трофобласта предотвращает отторжение плода, несущего чужеродные для матери антигены МНС отца. В наибольшем количестве антигены 1 класса представлены на лимфоцитах, клетках эпителия и эндотелия. На поверхности лимфоцитов их плотность максимальна – примерно 7000 молекул на клетку, что составляет около 1% клеточной поверхности. Экспрессия молекул МНС 1 класса усиливается под влиянием ряда цитокинов, например ИФН.

К первому классу относятся также гены HLA-E, -F, -G. Антигены, кодируемые генами локуса E экспрессируются на покоящихся (зрелых) периферических Т-лимфоцитах и клетках карциномы человека.

Антигены кодируемые локусом HLA -G, экспрессированы на клетках линии хориокарциномы, при хроническом цитотрофобластозе. Их

физиологическая функция связана с репродукцией. Известно 14 аллельных вариантов HLA –G. Они относятся к псевдогенам.

Продукты локуса HLA-G, а также локуса HLA-E участвуют в регуляции активности ЕКК, которые являются одним из важнейших участников перестройки иммунной системы при беременности и определяют ее течение – физиологическое или патологическое.

При нормально протекающей беременности на клетках трофобласта экспрессируются антигены HLA-G (отсутствуют в организме вне беременности), подавляющие активности ЕКК.

Недостаточность экспрессии HLA-G на трофобласте является пусковым механизмом для развития патологических состояний. Иммунизация лимфоцитарной взвесью приводит к повышению экспрессии на трофобласте антигенов HLA-G и обеспечивает благоприятный терапевтический эффект. Антигены HLA-G контролируют процесс васкуляризации плаценты и оказывают прямое супрессивное действие на функциональную активность Т-лимфоцитов CD4 и CD8. Активность HLA-E направлена на регуляцию цитотоксичности не ЕКК, а Т-лимфоцитов. ,

В биохимическом отношении HLA-антигены 1-го класса представляют собой димер, образованный α и β - цепями. Цепь α - продукт генов А, В или С состоит из трех внеклеточных доменов α_1 , α_2 , α_3 , трансмембранного и цитоплазматического участков. С доменом α_3 нековалентно связана β -цепь, представленная β_2 – микроглобулином, который не кодируется ГКГС. Полиморфизм связан с α -цепями.

Биологическая функция генов и антигенов 1-го класса заключается в том, что они обеспечивают взаимодействие всех клеток организма, а не только иммунной системы:

■ аг МНС 1 класса являются маркерами «своего», т.е. клетки, несущие эти молекулы, в норме не лизируются собственными ЦТЛ, т.к. в процессе эмбриогенеза аутореактивные Т-киллеры, способные распознавать аг 1 класса на собственных клетках, гибнут или супрессируются.

- антигены МНС 1 класса могут выступать в качестве рецепторов для чужеродных антигенов (важно в аспекте эффекта двойного распознавания аг).

- в процессе иммунного ответа антигенам 1-го класса принадлежит ведущая роль во взаимодействии между клеткой-эффектором (Т киллеры) и клеткой-«мишенью»

Генам 2 -го КЛАССА по последним данным также присущ высокий полиморфизм. Показано, что гены МНС 2 класса ответственны за синтез α и β - цепей антигенов данного класса, причем высокий полиморфизм последних обеспечивается именно β - цепями. К примеру ген β - цепи HLA-DR существует в 137 аллельных формах, а ген α - цепи – в 2.

Помимо хорошо изученных генов HLA класса II, в регионе HLA-D обнаружены новые гены HLA, среди них в первую очередь необходимо остановиться на генах HLA-DOB, HLA-DNA и, особенно HLA-DM (-DMA и -DMB), -LMP и -TAP. Три последних локуса обеспечивают такую важнейшую функцию, как процессинг и экспрессию антигенов HLA на поверхности клеток. Продукты локуса LMP (гены – LMP2, - LMP7), активируемые ИНФ γ , включаются первыми в систему процессинга антигенов эндогенного происхождения (собственные измененные и даже неизмененные антигены). Аббревиатура LMP происходит от Larg Multifunctional Protease.

TAP1и TAP 2 участвуют в окончательной сборке молекул антигенов класса I и в представлении эндогенных пептидов. С нарушением антигенпредставляющей функции антигенов TAP связана предрасположенность к развитию ИЗСД.

При синдроме Луи-Бар нарушение экспрессии антигенов HLA класса I, связано с гомозиготным состоянием аллелей гена – TAP2.

С нарушениями функций LMP, TAP может быть связано развитие онкологических заболеваний.

Гены HLA класса III располагаются между генами HLA классов I и II. До последнего времени этот регион, по сравнению с генами класса I и II, был изучен сравнительно мало. Значительная физиологическая роль генов HLA

класса III определяется целым рядом выполняемых ими важнейших биологических функций.

Ген CYP21. Основная его функция – контроль активности фермента цитохрома P450. «Нормально» функцию ферментов кодирует ген CYP21, в то время как CYP21A является псевдогеном.

Гены локуса C4 (C4A и C4B) кодируют 4 компонента комплемента. Продукт этого локуса – сывороточный белок C4. Наличие «нулевого аллеля» в гаплотипе ассоциировано с предрасположенностью к системной красной волчанке и другим аутоиммунным патологиям. Непосредственно к гену C4B примыкает блок генов G1-13. Ген Bf, продукт которого фактор В является компонентом альтернативного пути активации комплемента. Ген В (Bf) функционирует совместно с геном C2 и участвуют в «запуске» активации каскада комплемента. Дефицит компонента C2 является наиболее частой формой недостаточности системы комплемента у человека (частота отсутствия компонента C2 в гомозиготе составляет 1:10000). Следует отметить, что дефицит фактора C2 обнаружен у 40% больных SLE. Отсутствие компонента C2 связано не с делецией участка ДНК, а с нарушением транскрипции мРНК. Локус генов теплового шока кодирует идентичные белковые продукты, которые экспрессируются в клетках при тепловом шоке - при температуре 42°C.

Геном HLA класса III является локус TNF. TNF α и TNF β .

В состав системы HLA включены два новых неклассических HLA гена, кодирующих молекулы CD1a, CD1b и CD1c, участвующих в регуляции врожденного иммунитета.

Генетический контроль качества иммунного ответа – эта функция является «вторичной» и реализуется только в том случае, если организм человека генетически способен отвечать на данный агент.

На формирование HLA профиля европеоидной популяции оказали влияние имевшие место в средние века эпидемии таких заболеваний как чума, оспа, холера и т.д. В результате этого среди выживших оказался значительный

процент людей с определенными HLA-генотипами, в первую очередь, с генотипом HLA-A1, -B8, -DR3

Этот генотип, обеспечивающий более высокую резистентность к инфекционным заболеваниям, является на сегодняшний день генетическим маркером европеоидной популяции. Предположение было подтверждено на примере недавних вспышек брюшного тифа в Суринаме, когда среди выживших европеоидов значительный процент составили лица с гаплотипом HLA-A1, -B8, -DR3.

Экстремальный аллельный полиморфизм системы HLA является мощным механизмом варибельности и естественного отбора человека как вида и позволяет ему противостоять постоянно эволюционирующему множеству патогенов.

Доказательством этому в историческом плане может служить почти полное вымирание целых народов (в первую очередь, американских индейцев в период открытия Америки), обладающих – как мы точно теперь знаем – весьма низким по сравнению с другими этническими группами полиморфизмом системы HLA.

Одной из важнейших физиологических функций системы HLA является участие этой системы в процессе репродукции человека. Репродуктивный этап жизнедеятельности млекопитающих, в том числе человека, является одним из наиболее ярких примеров того, как главный комплекс гистосовместимости обеспечивает генетическое разнообразие животного мира. Мыши, крысы и ряд других животных распознают своих сексуальных партнеров из сородичей и «осуществляют» выбор между ними с помощью молекул класса I, которые переносят пахучие вещества (одоранты) в мочу животных. Улавливание молекул, аналогичных собственным антигенам HLA служит табу для сексуального контакта между животными. Инбридинг резко возрастает в «замкнутых» популяциях, какими до последнего времени являлись малые этнические группы населения, проживающие в труднодоступных районах. Благодаря накоплению генов и появлению их в гомозиготном состоянии среди

представителей различных королевских домов зачастую отмечалось увеличение числа наследственных заболеваний и уродств.

Мнение о том, что, обоняние человека не дает возможность оценить совместимость по HLA с предполагаемым партнером по браку была пересмотрена, но в определенных случаях браки заключаются между мужчиной и женщиной частично, а иногда и полностью HLA-идентичными.

При заключении брака партнерами принимаются во внимание многие социальные, материальные и психологические факторы, комплекс которых может иметь для будущей семьи решающее значение.

На следующем уровне преимущество имеют сперматозоиды, несущие иной HLA-генотип, нежели яйцеклетка.

Следующий уровень – повторные выкидыши у HLA-совместимых пар. В этих же случаях наступают токсикозы во второй половине беременности. И не реализуются иммунологические механизмы, участвующие в физиологическом родоразрешении.

Этот процесс эффективно реализуется только в животном мире.

Современная иммунология научилась решать эти проблемы в репродукции.

Однако ценой этого решения является появление HLA-гомозиготного потомства.

Полная HLA совместимость супругов теоретически ничтожна, из-за крайне высокой степени полиморфизма системы HLA, средняя вероятность полной HLA идентичности двух произвольно взятых людей приближается к 1:1000000.

Однако, на практике вероятность негативного проявления HLA совместимости значительно выше.

Имеет значение не только полная совместимость, но и частичная, наибольшую отрицательную роль может играть совместимость по специфичностям гена HLA-DRB1. В большинстве популяций мира

совместимость по специфичностям гена HLA-DRB1 встречается приблизительно на 2 порядка чаще, чем полная HLA совместимость.

Даже в больших популяционных группах имеется значительное количество людей, в генотипе которых отдельные или группы генов HLA находятся в гомозиготном состоянии. В популяции русских, проживающих в г. Москве, количество гомозигот по специфичностям HLA-DRB1 класса II составляет более 15%. В данной ситуации достаточно, чтобы в HLA-генотипе гетерозиготного партнера присутствовал один из HLA антигенов, находящихся в гомозиготном состоянии у другого.

Для человека, в отличие от животных, вероятность идентичности супругов хотя бы по части HLA антигенов достаточно высока. Следствием этого является HLA-совместимость супругов в репродукции.

Неблагоприятная роль совместимости матери и плода по антигенам HLA проявляется при привычном невынашивании беременности, перенесенной беременности. Многие из женщин в новых браках имеют нормальную беременность.

При физиологически протекающей беременности более чем в половине случаев муж и жена были полностью HLA-несовместимыми. Процент HLA совместимых пар по антигенам класса I - около 2% при полном отсутствии совместимых пар по антигенам HLA класса II.

В группе женщин с привычной невынашиваемостью только в 26% муж и жена оказались несовместимыми по антигенам HLA класса I, в то время как в более чем половине случаев они оказались совместимы по антигенам HLA класса II. Антигены ГКГС 2 класса определяют в основном на поверхности АПК (дендритных, макрофагах, В-лимфоцитах), а также на активированных Т-лимфоцитах, эндотелиальных, эпителиальных, тучных и др. клетках. Экспрессия молекул МНС 2 класса усиливается под действием гамма-ИФН и подавляется ПГЕ₂.

Строение молекул ГКГС 2 класса сходно со строением молекул 1 класса.

Молекула 2 класса представляет собой гетеродимер, состоящий из двух нековалентно связанных цепей α и β , каждая из которых включает 2 домена α_1 и α_2 и β_1 и β_2 . Обе цепи, как уже говорилось, кодируются разными генами. В каждой цепи различают внеклеточную часть, трансмембранную и цитоплазматическую. Эти черты строения сходны со структурными особенностями Ig, что дает основание говорить об общности эволюционного генеза Ig и антигенов HLA, при этом распознавательная функция антигенов HLA, считается эволюционно более древней, чем распознавание с помощью антител.

Основная **биологическая функция** генов и антигенов 2-го класса заключается в том, что они обеспечивают взаимодействие ИКК:

- опосредуют кооперацию Т- и В-лимфоцитов и макрофагов в процессе синтеза антител. Однако, в иммунном ответе прослеживается тесная взаимосвязь антигенов 1-го и 2-го классов.

- имеют решающее значение в реакциях трансплантационного иммунитета.

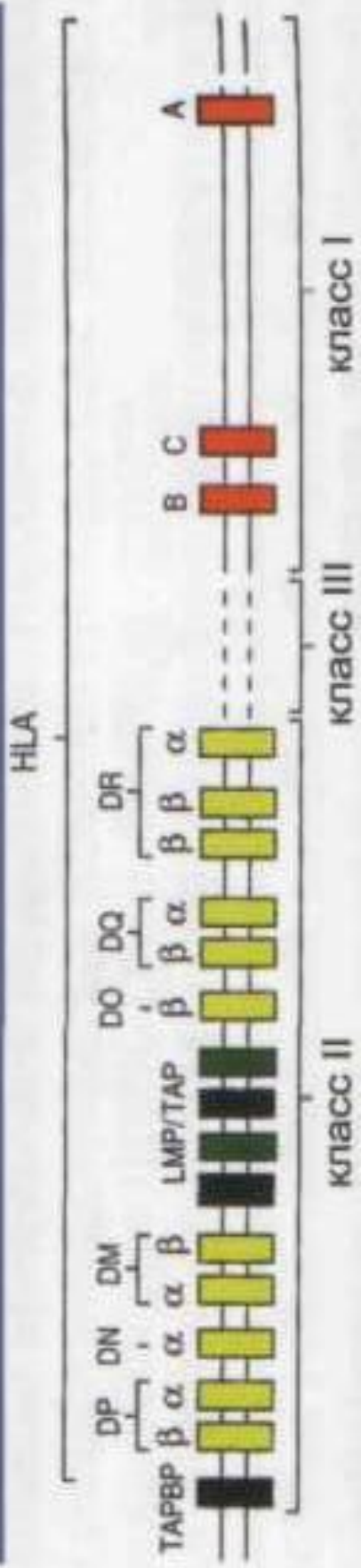
- с ними связана супрессия гуморального и клеточного иммунитета

- с антигенами 2 класса связаны гены, контролирующие силу иммунного ответа Ir (Immune response).

Именно сцеплением генов Ir и HLA обусловлены многие случаи ассоциации разнообразных проявлений иммунопатологии с определенными HLA – гаплотипами (набор сцепленных генов 1 гаплоидной хромосомы).

Известны многочисленные примеры связи заболеваний с различными HLA-аллелями или их комбинациями – гаплотипами. «HLA и заболевания» - это один из важнейших разделов иммуногенетики. Наиболее сильные связи приведены на слайде. Уникальным в этом отношении оказался анкилозирующий спондилит (болезнь Бехтерева), связанный с HLA-B27. Его показатель относительного риска - около 100.

Структура генов ГКГ человека



Структура генов ГКГ мыши

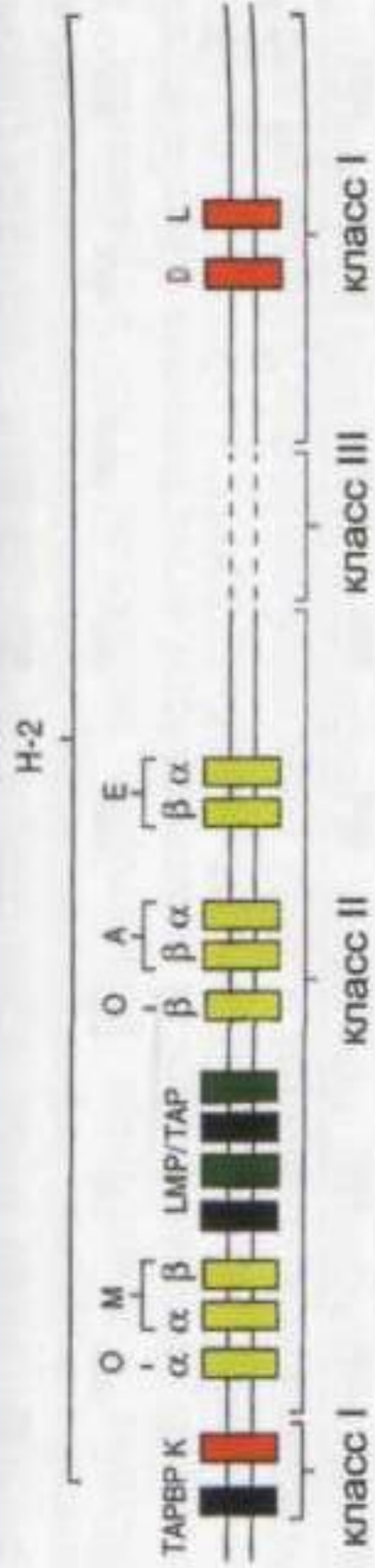
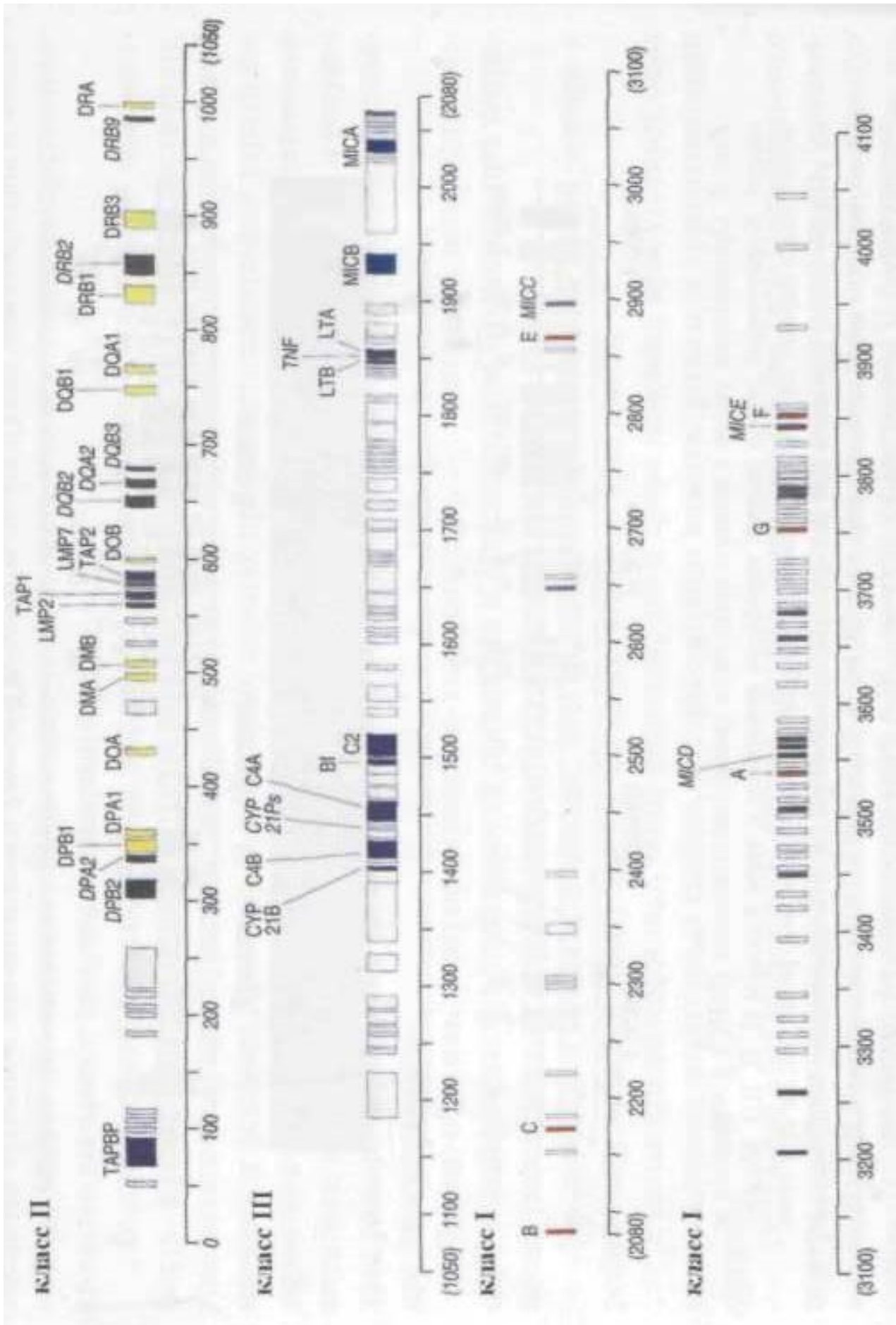


Рис. 38. Развернутая схема организации HLA человека.



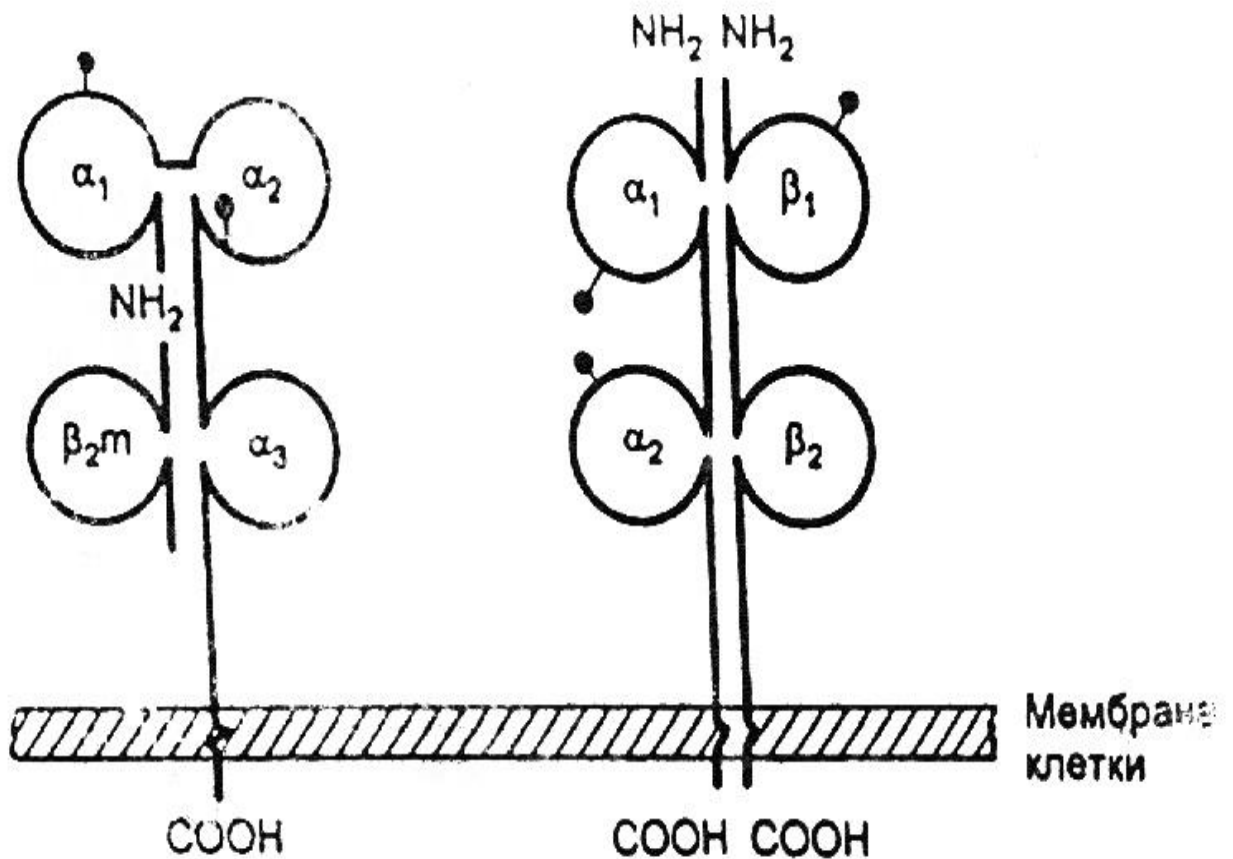


Рис. 39. Строение МНС I и II классов

ГИПОТЕЗЫ СВЯЗИ HLA И ЗАБОЛЕВАНИЙ

■ Рецепторная предлагает рассматривать HLA-антигены как рецепторы, к которым прикрепляются вирусы, что облегчает проникновение последних в клетку и инициацию патологического процесса.

■ Гипотеза молекулярной мимикрии основана на структурном сходстве HLA-антигенов и антигенов некоторых вирусов, бактерий. Вследствие этого организм, воспринимая такие антигены как свои, остается толерантным к ним.

■ Гипотеза модификаций HLA-антигенов исходит из того, что вирус, или другой инфекционный или неинфекционный агент может изменять структуру своих антигенов, после чего они распознаются в организме как чужеродные и индуцируют аутоиммунный процесс.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ HLA.

Антигены гистосовместимости 1 класса определяют цитотоксическим тестом. Для этого суспензию лимфоцитов смешивают с сывороткой, содержащей антитела к определенному антигену HLA, добавляют комплемент, краситель (трипановый синий или эозин). В случае присутствия антигена на мембране лимфоцитов, комплементарных антителам сыворотки, в присутствии комплемента происходит реакция повреждения мембран лимфоцитов, которые в свою очередь окрашиваются красителем в синий или красный цвет.

Антигены гистосовместимости 2 класса тестируют в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ). Смесь аллогенных лимфоцитов культивируют *in vitro* 3-6 дней, при этом происходит трансформация около 30% лимфоцитов в лимфобласты. Реакцию учитывают по включению HЗ тимидина в ДНК лимфобластов или под микроскопом. Считают, что реакция СКЛ — результат стимуляции лимфоцитов HLA. Сила реакции зависит от степени генетической несовместимости донора и реципиента.

Реакция СКЛ отвечает фазе иммунного распознавания лимфоцитов. Она проявляется также пролиферацией и образованием ЦТЛ, оказывающих киллерный эффект (отторжение). Это используется в тесте лимфоцитотоксичности *in vitro* в реакции СКЛ. Лимфоциты-мишени инкубируют с митогеном +Cr51и стимулированными киллерами-лимфоцитами. Киллерный эффект учитывается по освобождению CR51.

В последние годы для HLA-типирования используется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)