

**Министерство образования и науки Украины  
Харьковский национальный педагогический университет  
имени Г.С. Сковороды**

Ионов И.А., Комисова Т.Е., Сукач А.Н., Шаповалов С.О.



# **СОВРЕМЕННАЯ ИММУНОЛОГИЯ**



**Харьков - 2017**

**Министерство образования и науки Украины  
Харьковский национальный педагогический университет  
имени Г.С. Сковороды**

Ионов И.А., Комисова Т.Е., Сукач А.Н., Шаповалов С.О.



# **СОВРЕМЕННАЯ ИММУНОЛОГИЯ**

**КУРС ЛЕКЦИЙ**  
**для студентов высших учебных заведений**  
**(для иностранных студентов)**

Утверждено редакционно-  
издательским советом  
Харьковского национального  
педагогического университета  
имени Г.С. Сковороды  
Протокол № 5 от 01.11.2016 г.

**Харьков – 2017**

УДК 612.82  
ББК

*Утверждено редакционно-издательским советом Харьковского  
национального педагогического университета имени Г.С. Сковороды  
Протокол № 5 от 01.11.2016*

**Составители:**

Ионов И.А. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор

Комисова Т.Е. – кандидат биологических наук, доцент

Сукач А.Н. – доктор биологических наук, ст. н. сотрудник

Шаповалов С.О. – доктор биологических наук, ст. н. сотрудник

**Рецензенты:**

**Бондаренко Валерий Антонович** – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина

**Маракушин Дмитрий Игоревич** – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой физиологии Харьковского национального медицинского университета

**Ионов И.А. Современная иммунология (курс лекций) / И.А. Ионов, Т.Е. Комисова, Сукач А.Н., С.О. Шаповалов – Х.: ЧП Петров В.В., 2017. – 123 с.**

Курс лекций подготовлен в соответствии с учебной программой дисциплины «Современная иммунология» для студентов биологических специальностей педагогических ВУЗов, а также для магистрантов и аспирантов.

Основными задачами изучения дисциплины «Современная иммунология» является формирование у студентов полного и стройного представления об иммунологии как о науке в целом, представление об иммунной системе как одной из важных систем организма человека; знаний о структуре и функции иммунной системы человека, ее возрастных особенностях, клеточно-молекулярные механизмы развития и функционирования иммунной системы, методах иммунодиагностики; формирование знаний о первичных иммунодефицитах, ВИЧ-инфекции, СПИДа и других вторичных иммунодефицитных состояниях; предоставление современных теорий о причинах развития и патогенеза болезней иммунной системы, ознакомление с основными методами исследования в иммунологии.

Изучение современной иммунологии характеризуется тесными междисциплинарными связями с физиологией кровеносной, нервной системы, эволюцией и анатомии кроветворных органов, основами здоровья.

Каждая лекция включает теоретические сведения по теме с рисунками и схемами.

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
<b>ЛЕКЦИЯ 1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ИММУНОЛОГИИ</b>	6
1. Вступление и краткая история	6
2. Функции иммунной системы	13
<b>ЛЕКЦИЯ 2. ОРГАНЫ И КОМПОНЕНТЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ</b>	14
1. Первичные органы иммунной системы (тимус, красный костный мозг)	14
2. Вторичные органы иммунной системы	16
2.1. Лимфоузлы	16
2.2. Селезенка	16
2.3. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками	16
2.4. Кожа и эпителиальные ткани	17
3. Характеристика клеток иммунной системы	18
3.1. Лимфоциты	19
3.2. Нормальные (естественные) киллеры	20
3.3. Гранулоциты	21
4. Вещества с защитными комплексами (иммуноглобулины)	23
<b>ЛЕКЦИЯ 3-4. ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ, ФУНКЦИИ И КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИТЕЛ</b>	23
1. Химическое строение молекул иммуноглобулинов	24
2. Функции отдельных участков (доменов) молекулы иммуноглобулинов	28
3. Классификация и функции отдельных классов иммуноглобулинов	31
3.1. Иммуноглобулины класса G (IgG)	31
3.2. Иммуноглобулины класса A (IgA)	32
3.3. Иммуноглобулины класса M (IgM)	33
3.4. Иммуноглобулины класса E (IgE)	34
3.5. Иммуноглобулины класса D (IgD)	35
<b>ЛЕКЦИЯ 5-6. НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ (ВРОЖДЕННЫЙ) И СПЕЦИФИЧЕСКИЙ (ПРИБРЕТЕННЫЙ) ИММУНИТЕТ</b>	36
1. Неспецифический (врожденный) иммунитет, его компоненты и их функции	37
2. Понятие о специфическом (гуморальном, лимфоидном) иммунитете	38
3. Механизмы неспецифического (врожденного) иммунитета	40
3.1. Фагоцитоз и его фазы	40
3.2. Внеклеточное уничтожение (цитотоксичность) – макрофаги и нормальные киллеры (НК)	43
3.3. Система комплемента и ее активация:	44
а) Альтернативный путь активации комплемента	45

б) Классический путь активации комплемента	48
в) Белки острой фазы	55
г) Интерфероны	55
д) Лизоцим	56
е) Фибронектин	57
ж) Катионные белки	57
<b>ЛЕКЦИЯ 7-8. МЕХАНИЗМЫ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА</b>	57
1. Характеристика клеток, участвующих в реакциях специфического иммунитета	58
2. Механизмы реакции антиген-антитело	59
2.1. Понятие термина антиген, его общее строение. Имуногенность липидов, углеводов, нуклеиновых кислот и белков	60
2.2. Классификация антигенов	63
2.3. Механизмы реакции антиген-антитело	63
3. Характеристика иммунных реакций	66
<b>ЛЕКЦИЯ 9. ИММУНИТЕТ К ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ</b>	69
1. Понятие врожденного и приобретенного иммунитета	69
2. Понятие естественного и искусственного иммунитета. Виды вакцин и вакцинных препаратов	70
3. Пути получения трансгенных организмов для производства вакцинных препаратов	73
<b>ЛЕКЦИЯ 10. ИММУННЫЙ СТАТУС. ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ</b>	75
1. Общие закономерности функционирования иммунной системы	76
2. Понятие иммунного статуса и его основные характеристики	76
3. Иммунодефициты	79
3.1. Врожденные иммунодефициты	79
3.2. Приобретенные иммунодефициты	80
3.3. Аутоиммунные заболевания	81
3.4. СПИД	82
<b>ЛЕКЦИЯ 11-12. АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ</b>	84
1. Понятие об аллергии, механизм развития аллергических реакций, причины увеличения аллергических реакций	84
2. Общая этиология аллергических заболеваний. Классификация аллергенов и их характеристика	88
2.1. Бытовые аллергены	90
2.2. Инсектные аллергены	90
2.3. Эпидермальные аллергены	90
2.4. Лекарственные аллергены	90
2.5. Пыльцевые аллергены	91

2.6. Пищевые аллергены	91
2.7. Промышленные аллергены	91
2.8. Аллергены инфекционного происхождения	91
3. Патогенез аллергических процессов. Классификация аллергических реакций	92
4. Анафилактический шок	96
<b>ЛЕКЦИЯ 13. ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ</b>	97
1. Пути укрепления иммунитета. Профилактическая иммунизация (вакцинация и ревакцинация)	98
2. Принципы постановки иммунологических реакций <i>in vitro</i>	100
2.1. Общий принцип получения антител. Понятие адъюванта	101
2.2. Получение поликлональных антител и пути улучшения их качества	102
2.3. Технология получения моноклональных антител	104
<b>ЛЕКЦИЯ 14. РЕАКЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ ИЛИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ</b>	107
1. Реакции агглютинации	108
2. Реакции преципитации	110
3. Реакции гемагглютинации	111
4. Реакции с участием компонента	112
5. Реакции нейтрализации	112
6. Реакции иммунофлюоресценции (РИФ)	113
7. Радиоиммунологический анализ (РИА)	115
8. Иммуноферментный анализ (ИФА)	117
9. Иммуноблоттинг	119
<b>ЛИТЕРАТУРА</b>	121

## ЛЕКЦИЯ 1

### ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ИММУНОЛОГИИ

1. Вступление и краткая история.
2. Функции иммунной системы.

#### 1. Вступление и краткая история

Наш организм постоянно подвергается воздействию различных болезнетворных факторов окружающей среды. В то же время многие люди сохраняют здоровье. Почему же человек может противостоять вредным воздействиям окружающей среды? Что помогает организму в борьбе с ними? В процессе биологической эволюции человека сформировались системы и механизмы, защищающие его как целостность в случаях, когда физические, химические или биологические факторы среды могут при взаимодействии организма с ними привести к повреждению каких-либо его структур, что в свою очередь вызывает их патологии. Как известно, при многих заболеваниях человек выздоравливает без вмешательства медицины, а поврежденные ткани восстанавливаются сами по себе. Следовательно, человеческий организм способен защищаться от повреждений, бороться с патологией самостоятельно.

В наиболее общей форме можно выделить следующие типы защитно-приспособительных механизмов:

##### 1) морфологические:

- барьерные мембраны, ограждающие защищаемые клетки, ткани или органы;
- пролиферация (восстановление) клеток пораженной ткани;
- гиперплазия, т. е. количественное увеличение клетки или ткани против нормы;

2) физиологические: активация обменных процессов, образование новых медиаторов, ферментов или обменных циклов и дезактивация существующих;

3) иммунологические системы, направленные на защиту организма от воздействия других биосистем.

Из всех этих типов защитно-приспособительных механизмов наиболее важным является иммунная система. От того, насколько она мощная, зависит, будет человек болеть или нет. Хорошо работающая иммунная система является самым лучшим гарантом крепкого здоровья. Хороший иммунитет – это основной показатель здоровья, жизненной силы любого живого организма.

Давно было подмечено, что человек, перенесший опасную инфекционную болезнь, второй раз обычно ей не заболевает. В древнем Китае (около 590 года до нашей эры), а также в античные времена в Индии был изобретен метод борьбы с тяжелыми случаями оспы. Сущность этого метода заключалась в том, что оспенные корочки перетирали в порошок и

вносили в нос здоровому человеку. Это делалось для того, чтобы вызвать мягкую форму оспы.

В Европе практику такой защиты от оспы относят к времени правления короля Англии Георга I, когда жена британского посла в Константинополе привезла с Востока метод введения заразного материала с помощью большой иглы из оспин болеющих в вену реципиентов. Процедура была небезопасной, поскольку часто приводила не только к тяжелому заболеванию оспой, но и к развитию других тяжелых заболеваний, в частности сифилисом и лепрой. Тем не менее, король Георг I воспринял это восточное новшество благосклонно и даже дал указание проделать подобную процедуру с двумя своими внуками, что способствовало распространению этого приема защиты от оспы на Британских островах. Несмотря на существенный риск, люди соглашались на данную процедуру, поскольку во времена Георга I из 100 человек 60 заболевали оспой и половина из заболевших умирали от болезни.

В 1738 году врач из Эдинбурга **Френсис Хоум** применил такой же принцип для защиты от кори: он переносил с помощью ватных тампонов материал с пораженных коревой сыпью участков кожи больных на царапины на теле прививаемых. 7 из 15 подвергнутых такому воздействию пациентов переболели корью в наименее выраженной форме, получив иммунитет к этому заболеванию на все время дальнейшей жизни.

Следующим шагом в этом направлении стали эксперименты **Эдварда Дженнера** (1749-1823). В 1776-1778 годах Э. Дженнер провел направленное заражение нескольких своих пациентов материалом из оспенных пустул на вымени коров и убедился, что пациенты действительно приобрели иммунитет против натуральной оспы. Результаты своих исследований по вакцинации (название было дано от латинского наименования коров — *vacca*) он представил в Королевское научное общество (1778). Сначала исследования Э. Дженнера были подвергнуты критике, но затем в 1782 году он даже получил парламентские субсидии для развития оспопрививания и организовал специальный институт в Лондоне, после чего оно стало распространяться по разным странам. Так, французский император Наполеон приказал провести прививки личному составу своей армии, а первый получивший прививку в России крестьянский мальчик получил в честь этого знаменательного события фамилию Вакцинов.

Становилось очевидным, что в результате контакта с возбудителем в макроорганизме появляются какие-то отсутствующие до этого защитные факторы. Направленный поиск таких факторов стал основной задачей, и в 1890 году в институте Роберта Коха в Берлине **Эмиль фон Беринг** продемонстрировал присутствие в крови иммунизируемых столбнячными или дифтерийными бактериями животных специфических белков, названных им антитоксинами. Введение сывороток крови таких животных интактным, никогда не контактировавшим с возбудителями столбняка или дифтерии организмам, приводило к появлению у последних выраженной устойчивости к данным заболеваниям. Это было первым научным, экспериментально



полученным доказательством выработки организмом специфических веществ в ответ на присутствие болезнетворных микроорганизмов, поэтому ряд авторов предлагают считать 1890 год годом основания иммунологии как науки о защитных силах организма.

В дальнейшем детальным изучением защитных веществ плазмы крови начал активно заниматься немецкий ученый **Пауль Эрлих** (1854-1915). Подробно исследуя лечебные свойства сывороток иммунных животных, он показал, что антитела (так стали называть открытые Берингом антитоксины) относятся к глобулиновой фракции белков плазмы крови. Также он показал, что они способны передаваться через плаценту из организма матери в организм развивающегося плода, что выработка антител происходит не только при контакте с болезнетворными микроорганизмами или их токсинами, но и при введении в кровь других органических веществ. Из исследований Эрлиха вытекало, что основу защиты организма от чужеродных агентов определяют растворенные в плазме крови вещества и подобного рода воззрения к концу XIX века получили название **гуморальной теории иммунитета**.

Однако не все исследователи придерживались мнения, что защита макроорганизма от инфекции определяется только гуморальными факторами. Начатые в 1882 году исследования **Ильи Мечникова** (1845-1916) указывали на то, что лейкоциты крови млекопитающих способны активно поглощать и уничтожать болезнетворные микроорганизмы в ходе процесса, названного фагоцитозом. Возглавив по предложению Луи Пастера специально созданную для изучения фагоцитоза лабораторию в Пастеровском институте в Париже, Мечников к началу XX века стал основоположником фагоцитарной теории, или **теории клеточного иммунитета**.

Дальнейшие исследования, проводимые приверженцами этих теорий, привели к слиянию формировавшихся направлений, что и нашло отражение в присуждении Нобелевской премии по физиологии и медицине 1908 года совместно И.И. Мечникову и Паулю Эрлиху. Фактически именно эта премия стала признанием иммунологии как особой отрасли знаний, поскольку Нобелевская премия 1901 года, присужденная Эмилю фон Берингу, все-таки была премией медицинской - «... за работы по серотерапии, и прежде всего за ее использование в борьбе с дифтерией».

Параллельно с развитием основной на тот период ветви иммунологии, непосредственно связанной с инфекционными болезнями, в конце XIX века были заложены основы двух новых направлений, условно относящихся к так называемой неинфекционной иммунологии.

Французский исследователь **Шарль Рише** (1850-1935), изучая влияние токсических веществ морских беспозвоночных на собак, установил, что организм последних способен отвечать на повторное введение небольших доз токсина чрезвычайно бурной, не наблюдавшейся при первоначальном введении препарата реакцией. Он назвал это явление **анафилаксией** (т.е. «обратной профилактикой»). В ходе изучения выяснилось, что случаи нежелательных реакций организмов людей и животных на профилактическое

и терапевтическое введение сывороток, а также аллергические реакции на различные вещества фактически являются проявлениями анафилаксии. Эта работа была удостоена Нобелевской премии 1913 года.

Еще одна ветвь иммунологии зародилась в ходе исследований, имевших непосредственное отношение к защите от инфекционных заболеваний. Изучая в конце XIX века в лаборатории И.Мечникова в Пастеровском институте механизмы лизиса бактерий под влиянием белков плазмы крови, **Жюль Борде** (1870-1961) не только открыл (совместно с Пфейффером) систему комплемента, но и обнаружил, что иммунная система способна реагировать на чужие клетки крови так же, как и на болезнетворные микроорганизмы. И хотя сам Борде получил Нобелевскую премию 1919 года за исследования комплемента, в сущности, продолжая его исследования по иммунному отторжению эритроцитов, **Карл Ландштейнер** (1868-1943) открыл группы крови человека, за что в 1930 году был также удостоен Нобелевской премии.

Помимо огромного медицинского значения, заключавшегося в разработке безопасной системы переливания крови, эта ветвь иммунологии дала доказательства существования различий конкретных индивидуумов на клеточном уровне и реагирования на эти различия иммунной системы, что во многом определило развитие иммунологии в XX веке. Фактически проблема отторжения пересаживаемых тканей и органов становилась проблемой иммунологической и занимавшийся изначально пересадками кожи **Питер Брайн Медавара** (1915-1987) получил широкую известность именно как иммунолог. Работы Медавара и сотрудников стали экспериментальным подтверждением опубликованной в 1949 году общей теории иммунитета **Фрэнка Макфарлейна Бёрнета** (1899-1985), согласно которой иммунная система формируется в процессе эмбрионального развития и именно в этот период организм приобретает иммунную нечувствительность (толерантность) к собственным молекулам и клеткам. За исследование приобретенной иммунологической толерантности оба эти исследователя получили Нобелевскую премию 1960 года.

Продолжением исследований в этом направлении стали работы **Джорджа Снелла** (1903-1996). В руководимых им исследованиях было установлено, что у мышей имеется 14 систем генов, определяющих реакции отторжения при пересадках тканей. Одна из таких групп генов, названная H2-система (от англ. *hystocompatibility* - тканевая совместимость), оказалась причастной и к развитию других иммунных реакций. Жан Доссе (1916), исследуя антигенные свойства лейкоцитов, обнаружил существование подобных систем генов у человека и назвал их HLA (от англ. *Human Leucocytes Antigens* - человеческие лейкоцитарные антигены). Проведенные в различных лабораториях мира исследования показали аналогичность H2-системы мышей и HLA-системы человека, и утвердилось представление о существовании у всех высших животных подобных генетических систем, получивших общее название «главный комплекс гистосовместимости» или сокращенно МНС (от англ. *Major Hystocompatibility Complex*). Исследуя роль

входящих в комплекс генов, **Барух Бенасерраф** (1920) и его коллеги сумели установить причастность продуктов этих генов - специфических поверхностных молекул клеток высших организмов не только к отторжению пересаженных тканей, но и к развитию любых иммунных реакций, в том числе и приводящих к продукции антител. Так утвердилось новое направление в иммунологии, получившее название иммуногенетика, а его основатели Дж.Снелл, Ж.Доссе и Б.Бенасерраф стали лауреатами Нобелевской премии 1980 года.

Тогда же, в 60-х годах XX века, в основном благодаря работам **Родни Портера** (1917-1985) и **Джеральда Эдельмана** (1929) удалось расшифровать молекулярную структуру антител и их антигенсвязывающих центров, за что эти исследователи получили Нобелевскую премию 1972 года.

Установленная еще в самом начале развития иммунологии высочайшая специфичность связывания антител с вызывающими их продукцию антигенами, с одной стороны, в XX веке получила широкое применение для очистки и идентификации органических молекул. С другой стороны, стимулировала исследования, направленные на выяснение причин столь огромного разнообразия антител и распознающих антигены клеточных рецепторов. Две Нобелевские премии 80-х годов как раз и отражают эти два направления в развитии иммунологии в середине второй половины XX века.

Обладателями Нобелевской премии 1984 года стали **Нильс Эрне** (1911-1994), **Георг Кёллер** (1946-1995) и **Цезарь Мильштейн** (1927-2002). Удостоенным столь высокой награды достижением этих исследователей было создание метода, позволяющего получать суспензии абсолютно одинаковых по специфичности, так называемых **моноклональных**, антител, применение которых в биологических и медицинских исследованиях оказалось очень высокоэффективным. В то же время прогресс молекулярной биологии позволил **Сусуму Тонегава** (1936) показать, как генетические перестройки в хромосомах лейкоцитов обеспечивают фантастически богатое многообразие антител и антигенрасознающих рецепторов, что также было удостоено в 1987 году Нобелевской премии.

Одна из последних Нобелевских премий XX века за исследования в области иммунологии является своеобразным отражением слияния инфекционной и неинфекционной иммунологии, поскольку присуждена за исследования, описывающие роль конкретных молекул во взаимодействиях клеток иммунной системы в период развития иммунных ответов на антиген. Ее обладателями в 1996 году стали **Питер Догерти** (1940) и **Рольф Цинкернагель** (1944), которые доказали участие белков главного комплекса гистосовместимости в представлении чужеродных антигенов иммунокомпетентным клеткам.

### Вехи истории

1798 — **Эдуард Дж Jenner** (Великобритания) сделал сообщение о возможности предупреждения заболевания натуральной оспой путем прививки людям оспенного материала от больных коров.

1883 — **И.И. Мечников** (Россия) создал первую экспериментально обоснованную фагоцитарную теорию иммунитета.

1890 — **Эмиль фон Беринг** (Германия) предложил способ иммунизации антитоксическими сыворотками; в 1901 г. присуждена первая Нобелевская премия по физиологии или медицине за работы по сывороточной терапии при лечении дифтерии.

1908 — **Илья Мечников** (Россия) и **Пауль Эрлих** (Германия) - Нобелевская премия за создание клеточной теории иммунитета.

1913 — **Шарль Рише** (Франция) — Нобелевская премия за открытие анафилаксии (1902).

1919 — **Жюль Борде** (Бельгия) — Нобелевская премия за открытие антигенной специфичности.

1960 — **Френк М. Бёрнет** (Австралия) и **Питер Медавар** (Великобритания) — Нобелевская премия за открытие искусственной иммунной толерантности.

1972 — **Дж. Эдельман** (США) и **Р. Портер** (Великобритания) — Нобелевская премия за установление химического строения антител.

1980 — **Барух Бенаセラф** (США), **Жан Доссе** (Франция) и **Джордж Снелл** (США) — Нобелевская премия за открытие способа заменять дефектные гены и создавать новые популяции иммунных клеток.

1984 — **Н. Эрне** (Дания) — Нобелевская премия за создание новаторской теории «сетей» в иммунологии.

1984 — **Георг Кёллер** (ФРГ) и **Цезарь Мильштейн** (Великобритания-Аргентина) — Нобелевская премия за открытие и разработку принципов выработки моноклональных антител с помощью гибридов.

1987 — **Сусуму Тонегава** (Япония) — Нобелевская премия за открытие принципа образования антител (открытие генов рецепторов Т-лимфоцитов).

1990 — **Дж. Марри** и **Э. Томас** (США) — Нобелевская премия за открытие в области трансплантации органов и клеток при лечении заболеваний человека.

1996 — **Питер Догерти** (США) и **Рольф Цинкернагель** (Швейцария) — Нобелевская премия за открытие специфичности клеточно-опосредованной иммунной защиты.

1997 — **С. Прузинер** (США) — Нобелевская премия за открытие прионов — новых биологических принципов инфекций.

Прионы (англ. prion от *protein* — «белок» и *infection* — «инфекция», термин предложен в 1982 году Стенли Прузинером, особый класс инфекционных агентов, представленных белками с аномальной третичной структурой и не содержащих нуклеиновых кислот.

Прионы способны увеличивать свою численность, используя функции живых клеток (в этом отношении прионы схожи с вирусами). Прион — это белок с аномальной трёхмерной (третичной) структурой, способный катализировать конформационное превращение гомологичного ему нормального клеточного белка в себе подобный (прион). Как правило, при переходе белка в прионное состояние его  $\alpha$ -спирали превращаются в  $\beta$ -слои.

Появившиеся в результате такого перехода прионы могут, в свою очередь, перестраивать новые молекулы белка; таким образом, запускается цепная реакция, в ходе которой образуется огромное количество неправильно свёрнутых молекул. Прионы — единственные известные инфекционные агенты, размножение которых происходит без участия нуклеиновых кислот. Вопрос о том, считать ли прионы формой жизни, в настоящий момент является открытым.

Все известные прионы вызывают формирование амилоидов — белковых агрегатов, включающих плотно упакованные  $\beta$ -слои. Амилоиды представляют собой фибриллы, растущие на концах, а разлом фибриллы приводит к появлению четырёх растущих концов. Для размножения приона необходимо исходное наличие нормально уложенного клеточного прионного белка; организмы, у которых отсутствует нормальная форма прионного белка, не страдают прионными заболеваниями.

Прионная форма белка чрезвычайно стабильна и накапливается в пораженной ткани, вызывая её повреждение и, в конечном счёте, отмирание. Стабильность прионной формы означает, что прионы устойчивы к денатурации под действием химических и физических агентов, поэтому уничтожить эти частицы или сдержать их рост тяжело. Прионы существуют в нескольких формах — штаммах, каждый со слегка отличной структурой.

Прионы вызывают заболевания — трансмиссивные губчатые энцефалопатии (ТГЭ) - у различных млекопитающих, в том числе губчатую энцефалопатию крупного рогатого скота («коровье бешенство»). У человека прионы вызывают болезнь Крейтцфельда — Якоба, синдром Герстмана — Штраусслера — Шейнкера, фатальную семейную бессонницу. Все известные прионные заболевания поражают головной мозг и другие нервные ткани, в настоящее время неизлечимы и в конечном итоге смертельны.

**Иммунитет** (от лат. *immunitas* – «избавление», «освобождение от чего-либо») – это невосприимчивость организма к различным инфекционным агентам, а также продуктам их жизнедеятельности, веществам и тканям, которые обладают чужеродными антигенными свойствами (например, ядам животного и растительного происхождения). Однажды переболев, наш организм запоминает возбудителя болезни, поэтому в следующий раз заболевание протекает быстрее и без осложнений. Но часто после длительных заболеваний, оперативных вмешательств, при неблагоприятной экологической обстановке и в состоянии стресса иммунная система может давать сбой.

Традиционно под понятием иммунитета понимали невосприимчивость многоклеточного организма к инфекционным заболеваниям. Это свойство обеспечивается многими системами живого организма. Например, кожа, эпителий дыхательных путей, слизистая оболочка пищеварительного канала благодаря их механической целостности является непроницаемыми для микроорганизмов. Защитную функцию выполняют также химически активные среды - соляная кислота желудочного сока, нормальная

микрофлора кишок. Однако главную роль в защите макроорганизма от инфекции играет система крови. Еще в прошлом веке было открыто явление фагоцитоза и создана клеточная теория иммунитета (И. Мечников). Тогда же были обнаружены противомикробные свойства плазмы крови, что дало начало гуморальной теории иммунитета (П. Эрлих). Современная иммунология признает равноправное существование обоих механизмов иммунитета. Каждый из них может быть как специфическим, так и неспецифическим.

Все сказанное выше об иммунитете и его механизмы привело к пересмотру вопроса о роли иммунитета в организме. Защитная роль иммунитета в отношении патогенных микроорганизмов и их токсинов является несомненной. Однако как объяснить отторжение пересаженных гомологичных органов или эритроцитов несовместимой группы крови того же вида? Ведь эти органы и клетки не содержат токсинов, не несут угрозы макроорганизму, наоборот, они спасают этот организм от гибели. Ответ на эти вопросы дает современная иммунология, которая за последние десятилетия радикально изменила свое содержание и расширила сферу интересов. В настоящее время понятие иммунитета означает способность организма распознавать и уничтожать чужое. При этом под чужим понимают не только патогенные микроорганизмы, токсины, перелитая кровь или трансплантат, но и мутантные клетки своего же организма. Как бы редко не попадались спонтанные мутации, макроорганизм, которые состоят из  $10^{13}$  клеток, значительная часть которых постоянно делится, может иметь около 10 млн мутантных клеток с измененным геномом. Некоторые из них оказываются жизнеспособными и в процессе дальнейшего деления образуют ткань с измененной, не свойственной организму функцией, что может привести к гибели макроорганизма.

Таким образом, иммунитет - это система защитных реакций организма, направленных на поддержание генетического постоянства индивидуума. Что касается трансплантационного иммунитета, то он является обратным и крайне нежелательным аспектом этого процесса, с которым приходится бороться ради спасения жизни человека.

## 2. Функции иммунной системы

Иммунная система, наряду с другими регуляторными системами - нервной и эндокринной, играет важную роль в поддержании постоянства внутренней среды организма и обеспечении его адаптации к изменяющимся условиям внешней среды. В отличие от нервной и эндокринной систем, контролирующей количественный гомеостаз, иммунная система охраняет качественное постоянство клеточного и гуморального состава организма.

### Иммунная система обеспечивает:

1. Защиту организма от внедрения чужеродных клеток и от возникших в организме модифицированных клеток (например, злокачественных).

2. Уничтожение старых, дефектных и поврежденных собственных клеток, а также клеточных элементов, не характерных для данной фазы развития организма.

3. Нейтрализацию с последующим удалением всех генетически чужеродных для данного организма высокомолекулярных веществ биологического происхождения (белков, полисахаридов, липополисахаридов и т.д.).

4. Продукцию разнообразных биологически активных молекул, от простейших до весьма сложных, обладающих широким спектром эффектов и, в отличие от гормонов, поддерживающих не гомеостаз а сложную ответную реакцию всего организма на внедрение чужеродных клеток, вирусов, иммунное повреждение, а также воспаление, репарацию и регенерацию (цитокинов, ростовых факторов, медиаторов воспаления и т.д.).

5. Вовлечение для оптимизации реализуемых ею защитных реакций нервной и эндокринной систем.

Иммунокомпетентные клетки и продуцируемые ими факторы, помимо защитной, могут выполнять в организме другие функции. Известно, что лимфоциты принимают участие *в кишечном пищеварении* за счет большого запаса содержащейся в них липазы, участвуют *в образовании белков плазмы крови, осуществляют транспорт ДНК* к тканям.

## ЛЕКЦИЯ 2

### ОРГАНЫ И КОМПОНЕНТЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

1. Первичные органы иммунной системы (тимус, красный костный мозг).
2. Вторичные органы иммунной системы.
  - 2.1. Лимфоузлы.
  - 2.2. Селезенка.
  - 2.3. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками.
  - 2.4. Кожа и эпителиальные ткани.
3. Характеристика клеток иммунной системы.
  - 3.1. Лимфоциты.
  - 3.2. Нормальные (естественные) киллеры.
  - 3.3. Гранулоциты.
4. Вещества с защитными комплексами (иммуноглобулины).

#### 1. Первичные органы иммунной системы (тимус, красный костный мозг)

Существует своеобразная иерархия органов иммунной системы. Они делятся на *первичные* (где лимфоциты образуются) и *вторичные* (где они функционируют). Все эти органы связаны между собой и с другими тканями организма с помощью лимфатических сосудов, по которым передвигаются лейкоциты.

Первичными органами являются **тимус** (вилочковая железа) и **бурса** (у птиц), а также **красный костный мозг** (возможно, и **аппендикс**) у человека: отсюда Т- и В-лимфоциты соответственно. «Обучение» направлено на приобретение способности дифференцировать свое от чужого (распознавать антигены). Чтобы быть узванными, клетки организма синтезируют специальные белки.

Ко вторичным лимфоидным органам относятся **селезенка, лимфатические узлы, аденоиды, миндалины, аппендикс, периферические лимфатические фолликулы**. Во вторичных лимфоидных органах и происходит развитие иммунной реакции на антиген. Примером может служить резкое увеличение лимфатических узлов около пораженного органа при воспалительных заболеваниях. Лимфоидные органы на первый взгляд кажутся небольшой системой организма, но было подсчитано, что в сумме их масса составляет более 2,5 кг (что, например, больше массы печени).

В костном мозге из стволовой клетки-предшественницы (родоначальницы всех клеток крови) образуются клетки иммунной системы. Там же проходят дифференцировку В-лимфоциты. Превращение стволовой клетки в В-лимфоцит происходит в костном мозге. Костный мозг представляет собой одно из основных мест синтеза антител. Например, у взрослой мыши в костном мозге находится до 80 % клеток, синтезирующих иммуноглобулины. Восстановить иммунную систему у смертельно облученных животных можно с помощью внутривенного введения клеток костного мозга.

### **Тимус (вилочковая железа)**

Тимус располагается непосредственно за грудиной. Он формируется раньше других органов иммунной системы (уже на 6-й неделе беременности), но уже к 15 годам он претерпевает обратное развитие. У взрослых происходит почти полное замещение его жировой клетчаткой. Проникая из костного мозга в тимус, стволовая клетка под влиянием гормонов превращается сначала в так называемый **тимоцит** (клетку – предшественницу Т-лимфоцита), а затем, проникая в селезенку или лимфатические узлы, превращается в зрелый, иммунологически активный Т-лимфоцит. Большая часть Т-лимфоцитов становится так называемыми **Т-киллерами (убийцами)**. Меньшая часть выполняет регуляторную функцию: **Т-хелперы (помощники)** усиливают иммунологическую реактивность, **Т-супрессоры (подавители)**, напротив, снижают ее. В отличие от В-лимфоцитов Т-лимфоциты (в основном Т-хелперы) при помощи своих рецепторов способны распознавать не просто чужое, но и измененное свое. В вилочковой железе наряду с образованием Т-лимфоцитов продуцируются **тимозин и тимопозтин** – гормоны, обеспечивающие дифференцировку Т-лимфоцитов и играющие определенную роль в клеточных иммунных реакциях.



## 2. Вторичные органы иммунной системы

### 2.1. Лимфоузлы

Лимфоузлы – это периферические органы иммунной системы, которые расположены по ходу лимфатических сосудов. Основные функции – это задержание и предотвращение распространения антигенов, что осуществляется за счет Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов. Лимфоузлы являются своеобразным фильтром для микроорганизмов, переносимых лимфой. Микроорганизмы проходят через кожу или слизистые оболочки, попадают в лимфатические сосуды. По ним они проникают в лимфатические узлы, где задерживаются и уничтожаются. Функции лимфатических узлов:

1) **барьерная** и **фильтрационная** – они первыми реагируют на контакт с повреждающим агентом, в них осуществляется задержка проникающих с током лимфы микробов, инородных частиц, опухолевых клеток;

3) **иммунная** – связана с выработкой в лимфатических узлах иммуноглобулинов и лимфоцитов;

4) **синтетическая** – синтез специального лейкоцитарного фактора, который стимулирует размножение клеток крови;

5) **обменная** – лимфатические узлы принимают участие в обмене жиров, белков, углеводов и витаминов.

### 2.2. Селезенка

Селезенка имеет строение, близкое к строению вилочковой железы. В селезенке образуются гормоноподобные вещества, участвующие в регуляции деятельности макрофагов, осуществляется синтез иммуноглобулинов классов М и J. Кроме того, здесь происходит фагоцитоз поврежденных и старых эритроцитов, чужеродных для организма веществ, поврежденных клеток крови, красящих соединений и чужеродных белков.

### 2.3. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками

Данный вид лимфоидной ткани располагается под слизистой оболочкой. Сюда относятся **аппендикс, лимфоидное кольцо, лимфатические фолликулы кишечника, а также аденоиды**. Скопления лимфоидной ткани в кишечнике – пейеровы бляшки. Этот вид лимфоидной ткани является барьером на пути проникновения микробов через слизистые оболочки.

Зачем же нужны эти скопления лимфоидных клеток? Человек получает через пищу и воду наряду с необходимыми веществами и массу балластных веществ, а также микроорганизмов. Наша еда и питье никогда не бывают стерильными. Некоторые виды микробов организм убивает с помощью антител, но этот долгий процесс не всегда заканчивается в пользу организма.

Организм имеет страховочный вариант защиты. Если этих антигенов поступает много или они по своим свойствам очень агрессивные, то 2-х недельный срок, необходимый для «созревания» антител-киллеров, бывает недостаточным. В этом случае человек заболевает. Так вот, в Пейеровых бляшках кишечника происходит встреча антигенов с так называемыми иммуноглобулинами А (**IgA**), которые не убивают микроб, а только скапливаются на его поверхности, не давая осесть и прикрепиться к стенке

кишки, а главное, проникнуть в кровеносный капилляр. В таком «почетном» сопровождении незнакомый и потенциально опасный микроб «выпроваживается» из кишечника естественным путем.

Представим, что будет, если возникнут нарушения в строении и работе слизистых оболочек подвздошной кишки. Все предшествующие воспалительные процессы ЖКТ: отравления, контакты с лекарствами, тем более антибиотиками, преобладание гнилостной микрофлоры, грибов, кишечных паразитов, и т.п., вызывают атрофию слизистых оболочек. Пейеровы бляшки в этом случае уже не могут полноценно выполнять свои обязанности, пропуская в кровь и лимфу токсичные вещества и микроорганизмы.

#### 2.4. Кожа и эпителиальные ткани

Совокупность микроорганизмов, которые населяют кожу и слизистые оболочки здорового человека, является нормальной микрофлорой. Эти микробы обладают способностью противостоять защитным механизмам самого организма, но они не способны проникать в ткани. Большое влияние на интенсивность иммунного ответа в органах пищеварения оказывает нормальная микрофлора кишечника, которая подавляет развитие болезнетворной. Например, у женщины нормальная микрофлора влагалища представлена молочнокислыми бактериями, которые в процессе жизнедеятельности создают кислую среду, препятствующую развитию патогенной микрофлоры.

Внутренняя среда нашего организма отграничена от внешнего мира кожей и слизистыми оболочками. Непосредственное участие в иммунной защите принимают также клетки кожного и слизистого покровов, создающие механический барьер на пути чужеродного антигена. В качестве механических факторов неспецифических защитных механизмов можно рассматривать сдвигание клеток поверхностных слоев многослойных эпителиев, выработку слизи, покрывающей слизистые оболочки, биение ресничек, осуществляющее транспорт слизи по поверхности эпителия (в респираторном тракте). Микробы удаляются с поверхности эпителиев также током слюны, слез, мочи и других жидкостей.

В эпителиальной ткани (она находится в коже и слизистых оболочках) клетки очень прочно связаны между собой межклеточными контактами. Это препятствие преодолеть нелегко. Мерцательный эпителий дыхательных путей удаляет бактерии и частицы пыли благодаря колебанию ресничек. В коже также есть сальные и потовые железы. В состав самого пота входят молочная и жирная кислоты, которые понижают pH кожи, что обеспечивает их антимикробное действие. Тормозят размножение бактерий и перекись водорода, аммиак, мочевины, желчные пигменты, также содержащиеся в поте. Слезная, слюнная, желудочные, кишечные и прочие железы, чьи секреты выделяются на поверхность слизистых оболочек, способствуют интенсивной борьбе с микробами. **Во-первых**, они просто их смывают. **Во-вторых**, некоторые жидкости, секретлируемые внутренними железами, имеют

такой уровень pH, который повреждает или разрушает бактерии (например, желудочный сок). ***В-третьих***, в слюнной и слезной жидкостях содержится фермент лизоцим, который непосредственно и разрушает бактерии.

В осуществлении защиты организма от внедрения чужеродных клеток участвуют **клетки, синтезирующие разнообразные иммунологически активные вещества**. Во многих секретах, продуцируемых клетками организма, содержатся бактерицидные компоненты, такие как **соляная кислота** в желудочном соке, **спермин и цинк** в сперме, **лактопероксидаза** в молоке, **лизоцим** в слезах, носовых выделениях и слюне. Известен также **механизм микробного антагонизма**, сущность которого состоит в том, что нормальная бактериальная флора человека может угнетать рост многих потенциально патогенных микроорганизмов и грибов вследствие конкуренции за необходимые питательные вещества.

### 3. Характеристика клеток иммунной системы

А теперь остановимся подробнее на рассмотрении клеток, обеспечивающих слаженную работу иммунитета. Непосредственными исполнителями иммунных реакций являются лейкоциты или иммунокомпетентные клетки. Их назначение – распознавать чужеродные вещества и микроорганизмы, осуществлять борьбу с ними, а также фиксировать информацию о них.

Зрелые лейкоциты объединяют ***пять популяций клеток*** (рис. 1):

- 1) лимфоциты (Т-киллеры, Т-хелперы, Т-супрессоры, В-лимфоциты);
- 2) моноциты;
- 3) нейтрофилы (палочкоядерные и сегментоядерные);
- 3) эозинофилы;
- 4) базофилы.

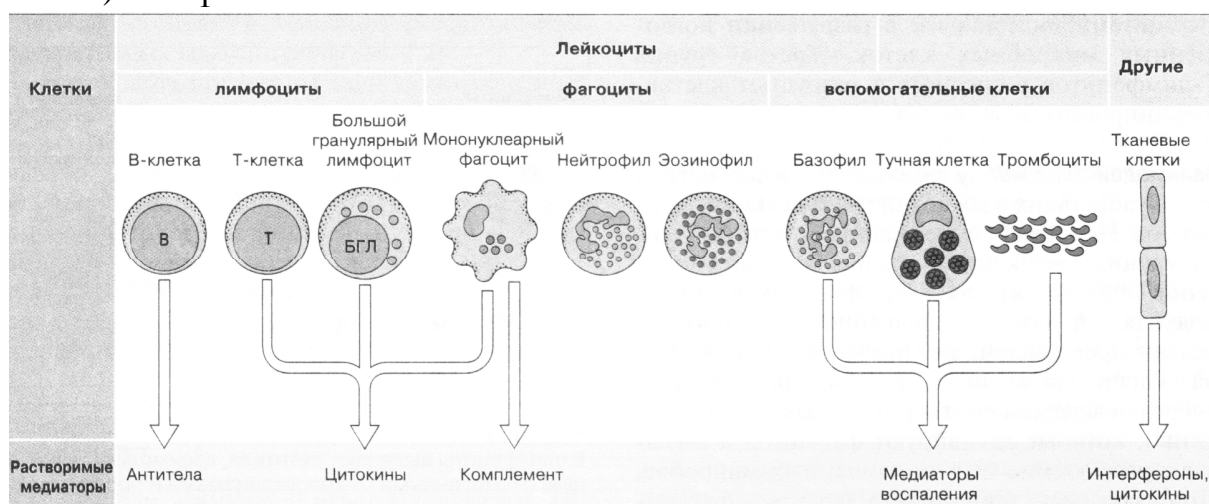


Рис. 1. Основные элементы иммунной системы

Иммунокомпетентные клетки можно обнаружить практически в любой части организма, однако сконцентрированы они преимущественно в местах своего образования — первичных и вторичных лимфоидных органах.

Первичным местом образования всех этих клеток является орган кроветворения — **красный костный мозг**, где образуются и проходят полный цикл дифференцировки моноциты и все гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы). Здесь же начинается дифференцировка лимфоцитов. Все лейкоциты происходят от единой костномозговой полипотентной стволовой кроветворной клетки.

**3.1. Лимфоциты** – главные фигуры в иммунологическом надзоре. В костном мозге предшественники лимфоцитов делятся на две крупные ветви. Одна из них (у млекопитающих) заканчивает свое развитие в костном мозге, а у птиц – в специализированном лимфоидном органе – бурсе (сумке) (рис. 2). Это В-лимфоциты. После того как В-лимфоциты покидают костный мозг, они короткое время циркулируют в кровяном русле, а затем происходит внедрение их в периферические органы. Они как бы торопятся осуществить свое предназначение, поскольку срок жизни этих лимфоцитов невелик – всего 7-10 дней. Разнообразие В-лимфоцитов формируется уже во время внутриутробного развития, причем каждый из них направлен против определенного антигена.

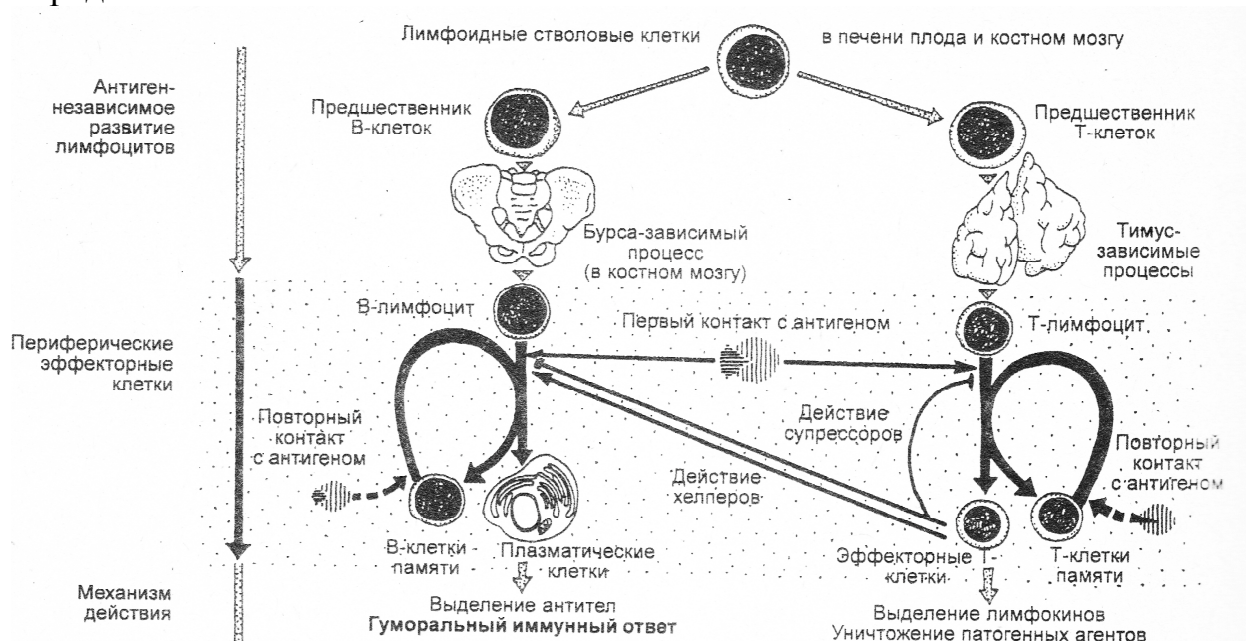


Рис. 2. Схема образования Т- и В-лимфоцитов и их участие в клеточном и гуморальном иммунитете

Другая часть лимфоцитов из костного мозга переселяется в тимус, центральный орган иммунной системы. Эта ветвь – Т-лимфоциты. После завершения развития в тимусе часть зрелых Т-лимфоцитов продолжает находиться в мозговом слое, а часть покидает его. Значительная часть Т-лимфоцитов становится Т-киллерами, меньшая часть выполняет регуляторную функцию: Т-хелперы усиливают иммунологическую реактивность, а Т-супрессоры, напротив, ослабляют ее. Хелперы способны узнавать антиген и активизировать соответствующий В-лимфоцит (непосредственно при контакте или на расстоянии с помощью специальных

веществ – *лимфокинов*). Наиболее известным лимфокином является интерферон, который применяется в медицине при лечении вирусных болезней (например, гриппа), но он эффективен только на начальном этапе возникновения заболевания.

Супрессоры обладают способностью выключать иммунный ответ, что очень важно: если иммунная система не будет подавлена после обезвреживания антигена, составные части иммунитета будут истреблять собственные здоровые клетки организма, что приведет к развитию аутоиммунных заболеваний. Киллеры являются главным звеном клеточного иммунитета, так как они распознают антигены и эффективно их поражают. Киллеры выступают против клеток, которые поражены вирусными инфекциями, а также опухолевых, мутированных, стареющих клеток организма.

Т- и В-лимфоциты различаются не только по происхождению и свойствам, но и по механизму действия. Так, рецепторы Т-лимфоцитов отличают «свое» от «чужого» или измененного «своего» благодаря наличию на поверхности клеток антигенов гистосовместимости и специфично реагируют на определенный антиген, но осуществляют иммунную реакцию с помощью неспецифического фактора перфорины или иных протеаз. Что касается В-лимфоцитов, то размещённые на их мембране рецепторы и является антителами, которые продуцируются В-лимфоцитами при иммунной реакции и непосредственно вступают в специфическую реакцию с соответствующим антигеном за пределами лимфоцита.

Обе группы лимфоцитов достаточно тесно взаимодействуют между собой. В частности, Т-лимфоциты-хелперы могут активизировать синтез антител В-лимфоцитами, а Т-супрессоры, напротив, подавляют гуморальные реакции антиген-антитело, обусловленные В-лимфоцитами. Существует также четкое взаимодействие между системами, обеспечивающими специфический и неспецифический иммунитет. Так, неспецифический фактор - комплемент - при наличии специфических антител вызывает лизис бактерий. Макрофаги передают антигенную информацию о переваренные ними микроорганизмы Т-лимфоцитам-киллерам.

**3.2.** Принципиально отличается от них особая субпопуляция лимфоцитов — *нормальные (естественные) киллеры (НК)*. НК являются цитотоксическими клетками, осуществляющими разрушение клеток-мишеней (главным образом, опухолевых клеток и клеток, зараженных вирусами) без предварительной иммунизации, т.е. в отсутствие антител. К-клетки способны разрушать клетки-мишени, покрытые небольшим количеством антител.

После созревания иммунокомпетентные клетки выходят в кровоток, по которому моноциты и гранулоциты мигрируют в ткани, а лимфоциты направляются во вторичные лимфоидные органы, где происходит антигензависимая фаза их дифференцировки. Кровеносная система — основная магистраль транспорта и рециркуляции иммунных компонентов, в

том числе иммунокомпетентных клеток. В крови, как правило, не происходит никаких иммунологических реакций, кровотоком только доставляет клетки к месту их функционирования.

**3.3. Гранулоциты** (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) после созревания в костном мозге выполняют лишь эффекторную, т.е. рабочую, функцию, после однократного выполнения которой они гибнут.

Ядра зрелых нейтрофилов сегментированы, т.е. имеют перетяжки (поэтому их называют сегментоядерными), ядра незрелых клеток называют палочкоядерными. Одно из названий нейтрофилов (микрофагоциты) указывает на их возможность фагоцитировать микроорганизмы, но в меньших количествах, чем это делают макрофаги. Нейтрофилы защищают от проникновения в организм бактерий, грибов и простейших. Эти клетки ликвидируют погибшие клетки тканей, удаляют старые эритроциты и очищают раневую поверхность. При оценке развернутого анализа крови признаком воспалительного процесса является сдвиг лейкоцитарной формулы влево с увеличением числа нейтрофилов.

**Нейтрофилы.** Главный барьер против микробных инфекций представляют нейтрофилы — популяция лейкоцитов, иначе, называемая *микрофагами*, или микрофагоцитами. В крови человека нейтрофилы доминируют среди остальных лейкоцитов. Примерно 70% нейтрофилов не циркулируют в крови, а прикреплены к стенкам сосудов. Главный резервуар пристеночных нейтрофилов — микрососуды легких: число депонированных здесь клеток в несколько раз превосходит количество циркулирующие нейтрофилов. Срок пребывания нейтрофилов в кровотоке составляет около 6,5 ч.

Основной функцией нейтрофилов является уничтожение чужеродных клеток или веществ путем фагоцитоза. Эту функцию нейтрофилы осуществляют только после выхода их из сосудистого пула. Процесс фагоцитоза, осуществляемого нейтрофилами, состоит из тех же самых этапов, которые выше описаны для макрофагов. В отличие от макрофагов, нейтрофилы могут фагоцитировать чужеродную клетку или частицу только один раз, после чего они гибнут.

**Эозинофилы.** Полиморфноядерные «двоюродные братья» нейтрофилов — эозинофилы — содержат в отличие от последних гранулы, интенсивно окрашивающиеся кислыми красителями (например, эозином). Эозинофилы обладают цитотоксическим действием на многие паразитические формы, в том числе на крупных паразитических червей типа гельминтов, которые не могут быть фагоцитированы.

Эозинофилы человека содержат примерно 200 гранул на клетку. На поверхности эозинофилов имеются рецепторы к некоторым антителам, особенно иммуноглобулинов IgG и IgE классов. Активация этих рецепторов приводит к мощному усилению дыхания, сопровождающемуся выработкой значительных количеств токсических метаболитов кислорода. Эозинофилы продуцируют довольно много перекиси водорода. Прикрепляясь к паразиту, эозинофилы локально освобождают содержимое гранул и даже вводят его

непосредственно в цитоплазму клеток. В случае гельминтозов токсический эффект наблюдается через 6-18 ч после фиксации эозинофилов на паразитическом черве. Помимо активных метаболитов кислорода важную роль в осуществлении цитотоксического действия эозинофилов, вероятно, играют катионные белки, которые «протыкают» мембрану клетки-мишени подобно перфोरину НК.

**Моноциты (макрофаги).** Основой всей *моноцитарно-фагоцитарной системы* (МФС) является популяция иммунокомпетентных клеток — моноцитов. В периферической крови человека в нормальных условиях содержится обычно  $0,2-0,8 \times 10^9$  этих клеток в 1 л. После недолгого пребывания в крови моноциты мигрируют в ткани, где формируют МФС. Моноциты присутствуют повсюду - в соединительной ткани, вокруг мембран мелких кровеносных сосудов, высокое содержание их обнаруживается в легких (альвеолярные макрофаги) и печени (клетки Купфера). Макрофаги выстилают слизистую селезенки и лимфатических узлов.

В случае появления клеток, несущих чужеродную информацию, возникает хемотаксический сигнал, направляющий и ускоряющий движение моноцитов из кровотока и окружающих тканей. Макрофаги и некоторые другие клетки МФС живут около 2 месяцев, а некоторые субпопуляции — многие годы. Полагают, что именно этими долгоживущими клетками определяется пожизненная фиксация татуировки и «черное легкое» курильщиков.

Во вторичных лимфоидных органах лимфоциты, где основной их функцией является размножение в ответ на антигенный стимул с появлением короткоживущих специфических эффекторных клеток и долгоживущих клеток памяти. **Иммунологическая память** — способность организма отвечать на повторное введение антигена иммунной реакцией, характеризующейся большей силой и более быстрым ответом, чем на первую иммунизацию.

Во вторичных лимфоидных органах Т- и В-лимфоциты впервые контактируют с чужеродными для организма антигенами. Такой контакт осуществляется преимущественно в лимфоидной ткани, по месту поступления антигена. После контакта происходит размножение клонов (*от греческого – росток, отпрыск*) Т- и В-клеток, специфичных к данному антигену, и дифференцировка их в конечные эффекторные короткоживущие (Т-эффекторы из Т-лимфоцитов и плазматические клетки из В-лимфоцитов). Часть Т- и В-лимфоцитов превращается в клетки иммунологической памяти. Последние частично мигрируют в другие вторичные лимфоидные органы, в результате чего в них возникает повышенный уровень лимфоцитов, специфичных к антигену, атаке которого организм подвергся хотя бы один раз. Благодаря этому создается иммунологическая память на конкретный антиген во всей иммунной системе.

Поступление лимфоцитов из кровотока во вторичные лимфоидные органы жестко контролируется. Существенная часть зрелых Т- и В-



лимфоцитов постоянно циркулирует в кровотоке между лимфоидными органами (так называемые рециркулирующие лимфоциты).

Функциональное назначение рециркуляции лимфоцитов состоит в осуществлении постоянного «иммунного надзора» тканей организма иммунокомпетентными лимфоцитами, в эффективном обнаружении чужеродных и измененных собственных антигенов и снабжении органов лимфоцитопоеза информацией о появлении антигенов в различных тканях. Различают **быструю рециркуляцию** (осуществляется в течение нескольких часов) и **медленную** (длится неделями). В ходе быстрой рециркуляции лимфоциты крови связываются с венулами и далее мигрируют в лимфатические сосуды и через грудной лимфатический проток возвращаются в кровь. Этим путем мигрирует около 90 % лимфоцитов. При медленной рециркуляции лимфоциты крови мигрируют через венулы в различные периферические ткани, затем попадают в лимфатические сосуды и узлы и снова в кровь. Таким путем рециркулирует примерно 5-10 % лимфоцитов. Среди рециркулирующих лимфоцитов большей скоростью миграции обладают Т-лимфоциты и клетки иммунологической памяти обоих типов.

#### **4. Вещества с защитными комплексами (иммуноглобулины)**

К **гуморальным иммунным компонентам** относятся самые разнообразные иммунологически активные молекулы, от простых до весьма сложных, которые продуцируются иммунокомпетентными и другими клетками и участвуют в защите организма от чужеродного или своего дефектного. Среди них, прежде всего, следует выделить вещества белковой природы — иммуноглобулины, цитокины, систему компонентов комплемента, интерферон и другие. К иммунным компонентам относятся ингибиторы ферментов, подавляющие ферментативную активность бактерий, ингибиторы вирусов, многочисленные низкомолекулярные вещества, являющиеся медиаторами иммунных реакций (гистамин, серотонин, простагландины и другие).

### **ЛЕКЦИЯ 3-4**

#### **ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ, ФУНКЦИИ И КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИТЕЛ**

1. Химическое строение молекул иммуноглобулинов
2. Функции отдельных участков (доменов) молекулы иммуноглобулинов.
3. Классификация и функции отдельных классов иммуноглобулинов.
  - 3.1. Иммуноглобулины класса G (IgG)
  - 3.2. Иммуноглобулины класса A (IgA)
  - 3.3. Иммуноглобулины класса M (IgM)
  - 3.4. Иммуноглобулины класса E (IgE)
  - 3.5. Иммуноглобулины класса D (IgD)



## 1. Химическое строение молекул иммуноглобулинов

Представление об антителах и вызывающих их продукцию антигенах начало формироваться в конце XIX века. Основополагающими стали проведенные в 1890 году исследования Эмиля фон Беринга и Ш. Китазато, которые доказали наличие в плазме крови млекопитающих особых веществ, способных нейтрализовать действие токсинов бактерий. Такие вещества отсутствовали в крови изначально и появлялись в организме как ответ на действие токсина. Дальнейшие исследования показали, что подобный ответ могут вызывать различные вводимые в кровь агенты, причем появляющиеся в крови вещества обладают специфичностью, т. е. взаимодействуют только с агентом, вызвавшим ответ. Стало понятно, что предложенный Э. Берингом и Ш. Китазато термин «антитоксины» слишком узок, и его заменили на термин «антитела». Так сформировалось представление об антителах как о веществах, обеспечивающих защиту от действия чужеродного агента, и антигенах как чужеродных агентах, вызывающих образование антител.

Однако о химической природе антител стало известно только к середине XX века. В 1937 году Х. Тизелиусу и У. Кабату с применением метода электрофореза удалось установить принадлежность антител к гамма-глобулиновой фракции плазмы крови, что и привело к появлению термина «иммуноглобулины». Детально структуру иммуноглобулинов изучили в конце 50 - середине 60 годов в лабораториях Р. Портера и Д. Эдельмана. В эти же годы в цитологических исследованиях было показано, что данные молекулы секретируются в плазму В-клетками крови. Это позволило сформулировать нынешнее представление об антителах (иммуноглобулинах), как о продуцируемых В-лимфоцитами гликопротеинах гамма-глобулиновой фракции плазмы крови высших животных и человека, способных специфически взаимодействовать с вызвавшим их продукцию антигеном.

Функциональная молекула иммуноглобулина представляет собой белок в четвертичной структуре, образованный 4 полипептидными цепями (рис. 3). Две из них принято называть легкими и обозначать буквой L (от англ. *light* - легкий), две другие - тяжелыми или H-цепями (от англ. *heavy* - тяжелый). Легкие цепи имеют небольшую массу (около 25 kD), и количество аминокислотных остатков в них колеблется в пределах от 210 до 220. Тяжелые цепи как минимум в два раза тяжелее легких, и протяженность их (в зависимости от класса) - от 440 до 550 аминокислотных остатков.

Все цепи имеют доменную структуру. Протяженность одного домена в среднем около 110 аминокислотных остатков, приблизительно 60 из них образуют скрепленную ковалентными S-S-связями глобулярную часть домена. В легких цепях таких доменов всегда два, в тяжелых - 4 или 5. Домены принято нумеровать начиная от NH<sub>2</sub>-концов полипептидной цепи. И в легких и в тяжелых цепях первый домен обозначается латинской буквой V (от англ. *variable* - переменный), последующие - латинской буквой C (от англ. *constant* - постоянный). Для обозначения принадлежности домена к определенной цепи и положения домена в ней используется правый нижний

подстрочный индекс. Например, переменный домен легкой цепи обозначается как  $V_L$ , а второй константный домен тяжелой - как  $C_{H2}$ .

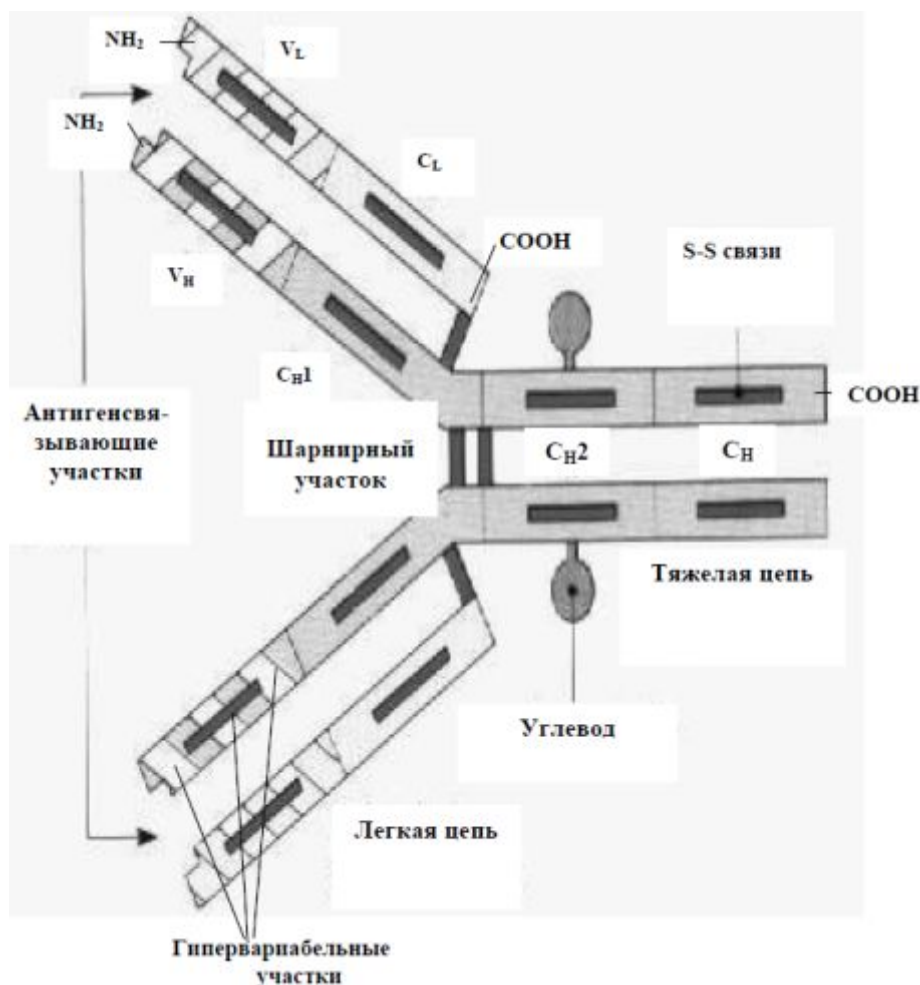


Рис. 3. Общая схема строения иммуноглобулинов (Песнякевич А.Г., 2007)

На константных доменах и легких и тяжелых цепей могут присутствовать углеводные компоненты. Количество, химический состав и локализация этих олигосахаридов варьирует в зависимости от класса или подкласса иммуноглобулинов.

Порядок расположения субъединиц в четвертичной структуре следующий. Две одинаковые Н-цепи ориентированы в молекуле так, что их COOH-концы сближены, и цепи закручены относительно друг друга участками, включающими домены  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$  и, если таковой имеется,  $C_{H4}$ . Между доменами двух цепей образуется не только множество характерных для четвертичной структуры слабых химических связей, но и несколько ковалентных S-S-связей, что и обеспечивает жесткую фиксацию этих участков субъединиц относительно друг друга. Количество S-S-связей и их положение варьирует в зависимости от класса и подкласса иммуноглобулинов, но большинство из них располагается в районе вторых константных доменов.

В каждой из Н-цепей между доменами  $C_{H1}$  и  $C_{H2}$  имеется богатый остатками пролина так называемый шарнирный участок, обеспечивающий

подвижность состоящих из доменов V и C<sub>H</sub>1 частей субъединиц относительно остальной части молекулы. Именно к этим подвижным частям присоединены идентичные друг другу легкие цепи, NH<sub>2</sub>-концы которых тесно сближены с NH<sub>2</sub>-концами тяжелых цепей. Легкая цепь жестко фиксирована относительно тяжелой множеством слабых химических взаимодействий между переменными и константными доменами и, как правило, одной ковалентной связью между доменами C<sub>H</sub>1 и C<sub>L</sub>. Таким образом, подвижными относительно друг друга и относительно остальной части иммуноглобулина оказываются два участка четвертичной структуры, включающие легкие субъединицы и домены V и C<sub>H</sub>1 тяжелых субъединиц. Такое строение молекулы обеспечивает наилучшие условия для выполнения антителами их главной функции - связывания с антигеном.

Решающий вклад в понимание того, как структура иммуноглобулина соответствует его функциям, внесли работы сотрудников лабораторий Р.Портера и Д.Эдельмана. Проведенные в 50-60 годах XX века опыты по фрагментации молекул иммуноглобулинов показали (рис. 4), что под воздействием фермента *папаина* образуются три фрагмента. Два из них оказались идентичными между собой и способными связывать антиген, третий отличался от двух первых и с антигеном не взаимодействовал. Исходя из этого, первый удвоенный участок молекулы получил обозначение F<sub>ab</sub> (от англ. *antigen binding* - связывающий антиген), а второй - F<sub>c</sub> (от англ. *crystallisable* - способный к кристаллизации, потому что он первым выпадал в осадок при осаждении продуктов протеолиза из раствора). Обработка иммуноглобулинов *пепсином* приводила к формированию одного крупного фрагмента и множества мелких. В этом случае только крупный фрагмент связывал антиген, причем в два раза большем количестве, чем полученные при действии папаина антигенсвязывающие фрагменты.

Кроме того, при обработке целых молекул и фрагментов *меркаптоэтанолом* и другими разрывающими S-S-связи агентами выяснилось, что антигенсвязывающие фрагменты всегда содержат легкие цепи и часть тяжелых, а остальная часть молекулы сформирована только участками тяжелых цепей. Было также установлено, что ни легкие, ни тяжелые цепи в отдельности антиген связывать не могли. Из этого следовало, что антигенсвязывающий участок в части F<sub>ab</sub> формируется с обязательным участием двух цепей. Выяснению того, какие именно участки цепей важны для взаимодействия с антигеном, помогло сравнение аминокислотного состава иммуноглобулинов, различающихся по специфичности связывания с антигеном. Оказалось, что различия имеют место в первых от NH<sub>2</sub>-конца доменах и легких и тяжелых цепей, вследствие чего они и получили (как уже указывалось выше) название переменных. Это и позволило сформировать представление о **паратопе** - участке молекулы иммуноглобулина, который вступает в непосредственное химическое взаимодействие с поверхностью антигенной детерминанты - эпитопом.

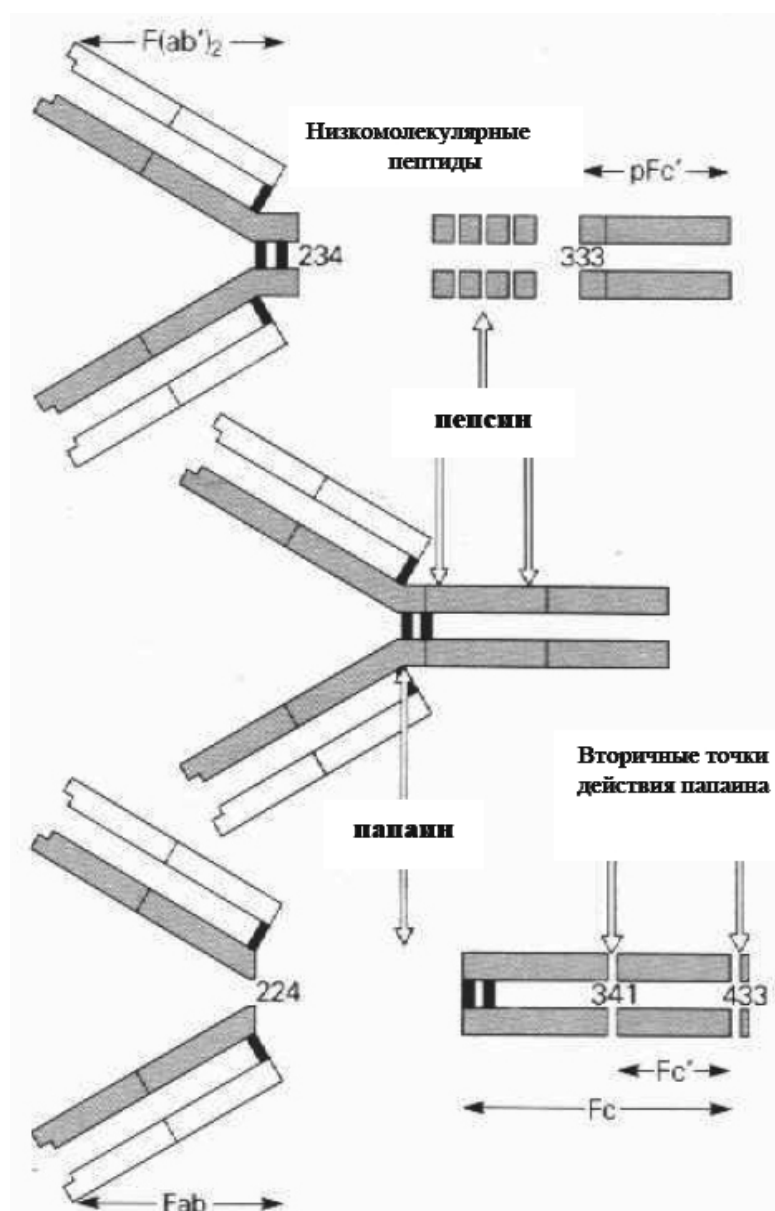


Рис. 4. Схема протеолитического расщепления молекулы IgG1 человека папаином и пепсином (Песнякевич А.Г., 2007)

Паратоп возникает в результате сближения переменных доменов легкой и тяжелой цепи при формировании четвертичной структуры иммуноглобулина. Фактически между плотно соединенными субъединицами остается небольшая по размерам ниша, форма которой зеркально соответствует той или иной антигенной детерминанте. В создании внутренней поверхности этой ниши принимают участие по три участка переменных доменов легкой и тяжелой цепей. Именно в этих участках и наблюдается большего всего различий в аминокислотном составе антител, выработанных в ответ на действие разных антигенов, вследствие чего они и получили название *гиперпеременных*. В каждой из цепей эти участки разобщены, между ними находятся фрагменты цепей с постоянным аминокислотным составом, которые называются *каркасными участками*. Однако при формировании третичной структуры каждой субъединицы и

затем при объединении их в четвертичную структуру все шесть гипервариабельных участков сближаются и становятся стенками углубления между субъединицами.

Экспериментально показано, что достаточно одной аминокислотной замены в пределах любой из гипервариабельных областей, чтобы изменить специфичность связывания антитела с антигеном. Из этого и делается вывод, что фактически взаимодействие антиген-антитело сводится к пространственному совмещению выступа на молекуле антигена (антигенной детерминанты) и впадины на молекуле антитела (антигенсвязывающего участка). Только при совпадении пространственных конфигураций ниши и выступа и возможно образование слабых химических связей между паратопом и эпитопом, обеспечивающих обратимое связывание антигена с иммуноглобулином.

Таким образом, выяснилось, что для взаимодействия антитела с антигеном нужны лишь два небольших участка иммуноглобулина. Естественно, возникали вопросы о роли остальных частей этой сложной молекулы.

## **2. Функции отдельных участков (доменов) молекулы иммуноглобулинов.**

Так, известно, что специфичность уже сформированного антитела к антигену не меняется даже после осаждения антител из раствора ионами солей или органическими растворителями. Исходя из этого, можно полагать, что взаиморасположение легких и тяжелых субъединиц иммуноглобулина является максимально стабильным, вероятно, вследствие структуры не только вариабельных, но константных доменов. Фактически *роль доменов  $C_{H1}$  и  $C_L$  заключается в поддержании антигенсвязывающего участка и его паратопа в неизменном состоянии* (рис. 5). Кроме того, *для домена  $C_{H1}$  иммуноглобулинов показана способность связываться с белком  $C4b$  из системы комплемента.*

Существенно, что два несущих паратопа фрагмента молекулы могут занимать в пространстве практически любое положение относительно ее  $F_c$ -части. Это обеспечивается шарнирными участками тяжелых цепей. Считается, что подвижность  $F_{ab}$  является одним из условий, важных для пространственного совмещения антигенных детерминант и антигенсвязывающих участков антител.

Следующий за шарнирным участком второй константный домен у иммуноглобулинов всех классов играет роль в определении времени существования антител в плазме крови и тканевой жидкости. Показано, что катаболизм антител связан расщеплением этих молекул протеазами именно в районе домена  $C_{H2}$  и что на скорость катаболизма влияет состояние расположенных здесь углеводных компонентов. Предполагается, что и расположенные в других доменах боковые олигосахаридные цепи могут иметь отношение к катаболизму, хотя функция углеводов в молекулах иммуноглобулинов еще не выяснена полностью.

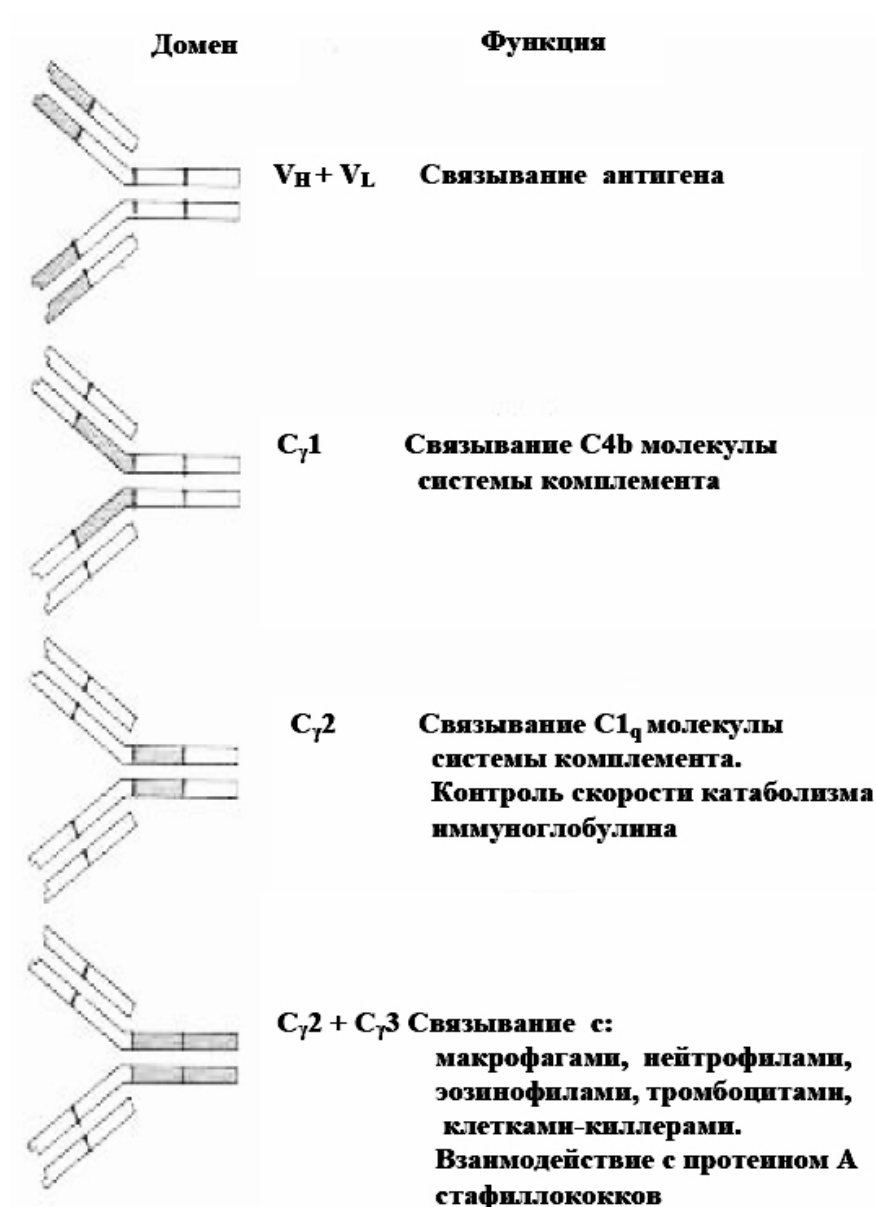


Рис. 5. Функции доменов иммуноглобулина IgG человека  
(Песнякевич А.Г., 2007)

Важнейшей функцией  $C_{H2}$ -домена является его способность связывать белок из системы комплемента и тем самым запускать классический путь ее активации. Установлено, что участок связывания образован боковыми цепями остатка глутамина в положении 318 и двух остатков лизина в положениях 320 и 322. Расположение этого участка в данной части молекулы, как думают, не является случайным. Предполагается, что у свободно движущегося в плазме крови или тканевой жидкости вследствие постоянного перемещения в пространстве его  $F_{ab}$ -частей сайт связывания является недоступным для взаимодействий. Когда же иммуноглобулин связывается с антигенами на поверхности чужеродной клетки, движение  $F_{ab}$  ограничивается и имеет возможность начать активацию. Тем самым комплемент не может запускаться свободными, не

связанными с антигенами антителами, постоянно присутствующими в значительном количестве в крови.

Подобный механизм, вероятно, реализуется и при запуске активации системы комплемента иммуноглобулинами класса М.

Домены  $C_{H2}$  и  $C_{H3}$  антител класса определяют и еще одну важнейшую функцию - взаимодействие с рецепторами на поверхности лейкоцитов и клеток стенок располагающихся в плаценте кровеносных сосудов. Именно благодаря этому осуществляется наиболее эффективный иммунный фагоцитоз и формируется пассивная форма естественного приобретенного иммунитета у новорожденных. У иммуноглобулинов класса Е за связывание с рецепторами тучных клеток и базофилов также отвечают участки тяжелых цепей, локализованные в третьем и втором константных доменах.

Изучение химической структуры молекул антител позволило установить не только изложенные выше общие принципы их строения, но и их разнообразие. У млекопитающих выявлено 5 классов иммуноглобулинов, часть из которых еще разделяется на подклассы. Принадлежность к классу или подклассу определяется структурой тяжелых цепей, которые принято обозначать буквами греческого алфавита, соответствующими латинским буквам в наименовании класса. В случае деления класса на подклассы букве, обозначающей подтип тяжелой цепи, придана соответствующая подклассу цифра. Например, в состав иммуноглобулина подкласса  $IgG_3$  входят тяжелые цепи  $\gamma_3$ .

Принадлежащие к различным типам или подтипам тяжелые цепи отличаются друг от друга по:

➤ *по первичной структуре* (количеством и расположением аминокислотных остатков и соответственно молекулярной массой);

➤ *по третичной структуре* (количеством и пространственной конфигурацией доменов, количеством внутридоменных S-S-связей, количеством и составом углеводных компонентов, протяженностью шарнирного участка);

➤ *и по их участию в образовании четвертичной структуры* (количеству межцепевых S-S-связей).

В отличие от тяжелых, легкие цепи не столь разнообразны, их существует всего два типа, которые принято обозначать  $\kappa$  (каппа) и  $\lambda$  (лямбда). Они входят в состав иммуноглобулина независимо от класса, но никогда в одной молекуле иммуноглобулина не могут присутствовать легкие цепи обоих типов. Цепи типа  $\kappa$  в целом преобладают количественно. Например, у человека это преобладание выражается соотношением 3:2, однако у других видов млекопитающих эти соотношения могут быть иными. Несмотря на различия в аминокислотных последовательностях цепей  $\kappa$  и  $\lambda$ , каких-либо функциональных различий между ними не выявлено. В то же время тип тяжелой цепи фактически определяет биологические особенности антител различных классов и подклассов).

### 3. Классификация и функции отдельных классов иммуноглобулинов.

Главная особенность антител – способность связывать строго определенный антиген. Например, при кори в организме начинает вырабатываться «противокоревой» иммуноглобулин, против гриппа – «противогриппозный» и т. д. Выделяют следующие классы иммуноглобулинов: **IgG, IgM, IgA, IgD, IgE**.

**3.1. Иммуноглобулины класса G. IgG** – антитела этого класса появляются через какое-то время после того, как произошел контакт с антигеном. Иммуноглобулины класса **IgG** (рис. 6) составляют в норме 70-80% от общего количества антител и являются основными обеспечивающими гуморальный иммунитет молекулами. Во время развития первичных иммунных ответов они уже к 10 суткам почти полностью заменяют появляющиеся первыми **IgM**, а вторичный иммунный ответ практически сразу начинается с их продукции.

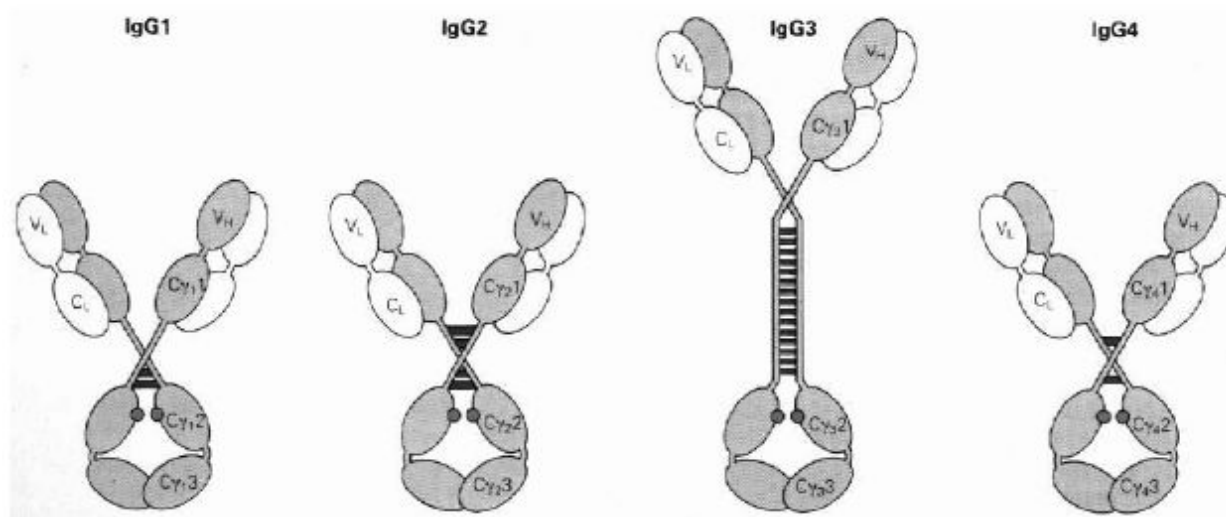


Рис. 6. Структура молекул человеческого IgG различных подклассов (Песнякевич А.Г., 2007)

В дальнейшем к ним присоединяются другие белки плазмы (так называемый комплемент), и бактериальная клетка лизируется (ее оболочка разрывается). Кроме того, **IgG** участвуют в возникновении некоторых аллергических реакций. Они являются главным защитным фактором у ребенка первых недель жизни, так как обладают способностью проходить через плацентарный барьер в сыворотку крови плода. При естественном вскармливании антитела из молока матери через слизистую оболочку кишечника новорожденного проникают в его кровь.

Их наименьшая среди антител молекулярная масса (около 150 kD) и наиболее выраженная способность преодолевать барьеры между кровью и тканями делает их практически вездесущими.



**IgG** в основном выполняют противобактериальные функции и образуют антитела против полисахаридов бактериальных оболочек, а также противорезусные антитела.

В настоящее время установлено, что у человека выявлено 4 подкласса, среди которых преобладает **IgG<sub>1</sub>** - 65 % от всех иммуноглобулинов этого класса, **IgG<sub>2</sub>** составляет 23 %, **IgG<sub>3</sub>** - 8 %, **IgG<sub>4</sub>** - 4 %. Основные структурные различия между молекулами подклассов незначительны и заключаются в длине шарнирных участков и количестве S-S-связей между тяжелыми цепями. Тем не менее, выявлены функциональные особенности представителей каждого подкласса. В частности, **IgG<sub>2</sub>** хуже остальных **IgG** проходит через плаценту и усиливает фагоцитоз. Наилучшими активаторами комплемента являются **IgG<sub>3</sub>** и **IgG<sub>1</sub>**, тогда как представители подкласса **IgG<sub>4</sub>** вообще не способны активировать комплемент.

**3.2. Иммуноглобулины класса А.** Второе место по численности занимают иммуноглобулины класса А (рис. 7). Их количество в плазме крови составляет от 15 до 20 % общего количества иммуноглобулинов, но основную значимость антител этого класса связывают с их способностью попадать в секреты слизистых оболочек и экзокринных желез и именно там, фактически вне организма, обеспечивать защиту от антигенов. Исходя из этого принято различать две формы **IgA** - сывороточную, обнаруживаемую в плазме крови, и секреторную.

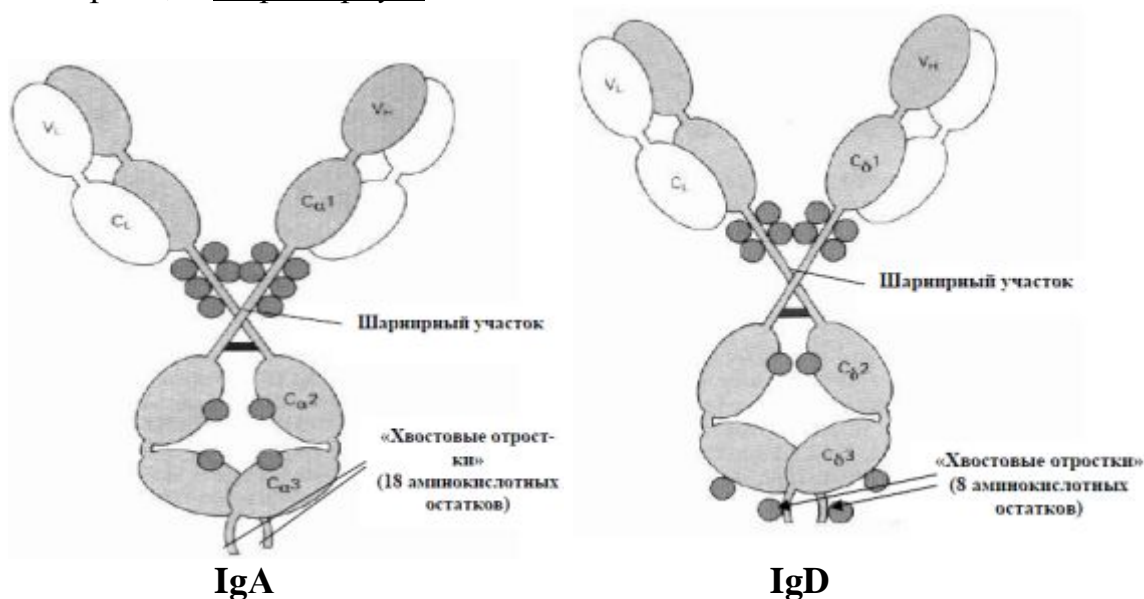


Рис. 7. Структура **IgA** и **IgD** человека (Песнякевич А.Г., 2007)

**IgA** вырабатываются лимфоцитами слизистых оболочек в ответ на местное воздействие чужеродного агента. Таким образом, они защищают слизистые оболочки от микроорганизмов и аллергенов. **IgA** тормозят прилипание микроорганизмов к поверхности клеток и тем самым препятствуют проникновению микробов во внутреннюю среду организма. Именно это предупреждает развитие хронического местного воспаления.

Как и **IgG**, иммуноглобулины класса А делятся на подклассы, но в данном случае у человека их всего два. Сравнение характерных для подклассов тяжелых цепей показало, что их аминокислотные последовательности гомологичны на 95 %, но небольшие отличия в шарнирном участке по количеству аминокислот существенно сказываются на свойствах молекул - иммуноглобулины подкласса **IgA<sub>2</sub>** гораздо более устойчивы к действию протеолитических ферментов, в том числе и бактериальных протеаз.

**3.3. Иммуноглобулины класса IgM.** Этот вид антител (около 5 %) появляется самым первым при контакте с антигеном (микробом), повышение их титра в крови свидетельствует об остром воспалительном процессе, **IgM** играют важную защитную роль при проникновении бактерий в кровь на ранних стадиях инфекции. К этому классу относятся антитела против полисахаридов микроорганизмов и вирусов.

**IgM** еще более сложны по структуре по сравнению с другими классами. В плазме же крови они всегда присутствуют в виде пентамеров (рис. 8).

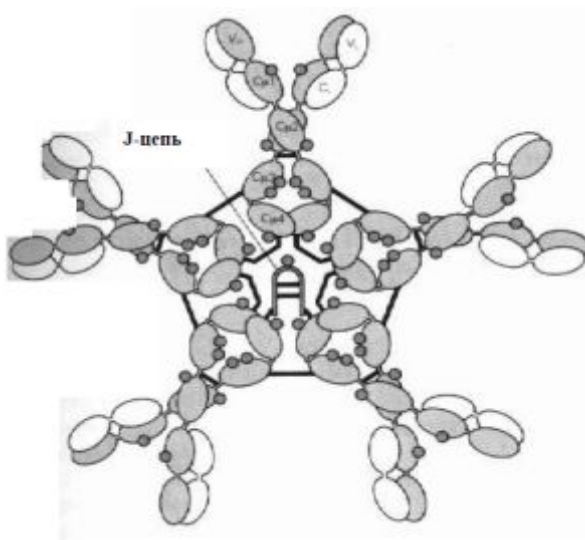


Рис. 8. Структура **IgM** человека (Песнякевич А.Г., 2007)

Экспериментально продемонстрирована способность пентамеров перемещать свои десять конечных цепей в пространстве. Благодаря изгибанию цепей пентамер может взаимодействовать более чем пятью антигенсвязывающими участками с антигенными детерминантами, расположенными в одной плоскости, принимая при этом так называемую «крабовидную» конфигурацию.

Имея 10 антигенсвязывающих участков, **IgM** могут более прочно, чем мономерные антитела, связывать антигены с несколькими повторяющимися антигенными детерминантами. Связывая одновременно несколько антигенов, такие антитела способствуют более быстрому их уничтожению фагоцитами. Кроме того, иммуноглобулины М, как и **IgA**, могут попадать в секреты слизистых оболочек и способствовать уничтожению антигенов вне

организма. Тем не менее, у высших млекопитающих **IgM** образуются лишь в небольшом количестве (1-5 % от числа всех иммуноглобулинов) и только на первых этапах первичных иммунных ответов. Следовательно, несмотря на все вышеописанные положительные черты, у антител этого класса имеется недостаток.

По современным представлениям таким недостатком является низкая мобильность: имея большую (около 900 kD) молекулярную массу и сложную пространственную конфигурацию, пентамеры хуже, чем мономеры, преодолевают барьеры между кровью и тканями и в целом медленнее диффундируют. Вероятно, поэтому в ходе эволюции отобрались такие формы животных, у которых благодаря их большей приспособленности к условиям обитания в целом закрепилась способность образовывать большое количество, пусть и менее прочно связывающих антиген, но более мобильных и специализированных антител. Можно полагать, что в отличие от других позвоночных, имеющих в качестве доминирующих антител **IgM**, млекопитающие получили лучшую защиту, перейдя на преимущественную продукцию **IgG** для связывания чужеродных антигенов во внутренней среде и **IgA** для борьбы с антигенами на поверхности слизистых оболочек.

**3.4. Иммуноглобулины класса IgE.** Особое место среди иммуноглобулинов млекопитающих занимают иммуноглобулины класса Е (рис. 9). Главной отличительной чертой этих антител является то, что они взаимодействуют с рецепторами, которые располагаются на тучных клетках и базофилах. Закрепляясь на поверхности этих клеток, иммуноглобулины Е, по всей вероятности, обеспечивают более быстрый запуск воспалительных реакций при вторичных попаданиях антигена.

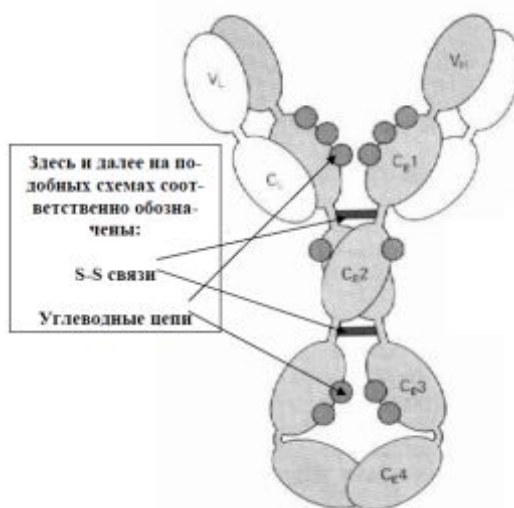


Рис. 9. Структура **IgE** человека (Песнякевич А.Г., 2007)

Однако эта их способность стимулировать базофилы и тучные клетки на выброс медиаторов воспаления может при определенных ситуациях служить причиной развития нежелательного для человека иммунного ответа на некоторые антигены - одной из форм гиперчувствительности немедленного

типа. Именно поэтому в первые годы после открытия **IgE** их называли реагинами (т.е. обеспечивающими повышенный уровень реагирования на антиген) или антителами аллергии.

В результате взаимодействия **IgE** с антигеном происходит освобождение гистамина и других медиаторов аллергии, вследствие чего развивается аллергическая реакция. При повторном контакте с аллергеном взаимодействие **IgE** происходит на поверхности клеток крови, что приводит к развитию анафилактической аллергической реакции. Помимо реакций аллергии, **IgE** принимают участие в обеспечении противоглистного иммунитета.

Антител этого класса образуется меньше всего - около 0,003 % от общего количества продуцируемых иммуноглобулинов. Причины переключения небольшой части плазматических клеток на продукцию антител этого класса до сих пор остаются невыясненными. Неясно также, почему при иммунном ответе на некоторые антигены у конкретных людей их количество повышается, что и определяет роль таких антигенов для этих людей как аллергенов.

Еще одной характерной чертой **IgE** является

- наличие у них четырех константных доменов в тяжелых цепях;
- и отсутствие в них шарнирного участка.

**3.5. Иммуноглобулины класса IgD.** Пятый класс антител млекопитающих составляют иммуноглобулины D (рис. 7). Их продуцируется в организме около 1 %, но в плазме крови они присутствуют в следовых количествах. Большинство исследователей считает, что в плазму антитела этого класса попадают вследствие разрушения В-лимфоцитов, на поверхности которых они играют роль клеточных рецепторов. Никаких других функций **IgD** не установлено и, скорее всего, их действительно нет.

Помимо классификации иммуноглобулинов по классам их, как и антигены, принято разделять в зависимости от происхождения на:

- **аутоантитела** - антитела собственного организма,
- **изоантитела** - антитела генетически идентичных особей,
- **гомо(алло-) антитела** - антитела другой особи своего же вида,
- **гетеро(ксено-) антитела** - антитела особи другого вида.

По причине, вызвавшей их образование, антитела принято делить на иммунные, являющиеся результатом выраженного ответа на чужеродный антиген, и, так называемые, нормальные (естественные). Нормальные антитела образуются в организме без воздействия антигена, с которым они могут специфически взаимодействовать. По всей вероятности, их образование наследственно детерминировано, но каких-либо данных о механизмах такой детерминации пока не имеется.

**Нормальные антитела** условно делят на две группы. К первой относятся гемагглютинины  $\alpha$  и  $\beta$  человека, определяющие несовместимость крови людей разных групп. Ко второй - противобактериальные нормальные

антитела, антитела против некоторых антигенов животного или растительного происхождения. В отношении антител этой группы не удалось установить определяющие их образование гены и характер их наследования.

Особо рассматриваются так называемые **неполные антитела**. В небольших количествах их обнаруживают практически у всех людей, но причины и механизм их возникновения до сих пор не выяснены. Главное отличие таких антител от обычных заключается в том, что они **реагируют с антигеном только одним из двух** антигенсвязывающих участков. Хотя причины их появления до сих пор не определены, в медицине накоплен эмпирический опыт, указывающий на повышение продукции неполных антител при некоторых патологиях. В частности, их количество повышено у матерей и новорожденных при резус-конфликтах, у людей, страдающих некоторыми видами аллергий, при некоторых инфекционных заболеваниях (дизентерии, брюшном тифе, бруцеллезе).

Наиболее важными функциями иммуноглобулинов в защитных реакциях организма являются:

- 1) **ограничение подвижности антигенов (диффузионной или активной) во внутренней среде и на поверхности слизистых оболочек,**
- 2) **нейтрализация их токсических или патогенных свойств,**
- 3) **опсонизация чужеродных частиц и усиление за счет этого эффективности фагоцитоза,**
- 4) **активация системы комплемента,**
- 5) **обеспечение антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ).**

## ЛЕКЦИЯ 5-6

### НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ (ВРОЖДЕННЫЙ) И СПЕЦИФИЧЕСКИЙ (ПРИБРЕТЕННЫЙ) ИММУНИТЕТ

1. Неспецифический (врожденный) иммунитет, его компоненты и их функции
2. Понятие о специфическом (гуморальном, лимфоидном) иммунитете
3. Механизмы неспецифического (врожденного) иммунитета
  - 1.1. Фагоцитоз и его фазы
  - 3.2. Внеклеточное уничтожение (цитотоксичность) – макрофаги и нормальные киллеры (НК)
  - 3.3. Система комплемента и ее активация:
    - а) Альтернативный путь активации комплемента
    - б) Классический путь активации комплемента
    - в) Белки острой фазы
    - г) Интерфероны
    - д) Лизоцим

- е) Фибронектин
- ж) Катионные белки

## **1. НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ ИММУНИТЕТ.**

Неспецифический иммунитет присущ животным всех уровней развития и, в свою очередь, делится на ***наследственный и клеточный*** (фагоцитарный). В основе наследственного иммунитета лежат общебиологические явления наследственности, изменчивости и естественного отбора. Если в популяции макроорганизмов, которая страдает от определенной инфекции, в результате случайной мутации появляется индивид, белковые молекулы которого ассимилируются патогенным микроорганизмом-агрессором или являются токсичными для него, то этот индивид или группа индивидов выживает и дает жизнеспособное потомство, а остальные популяции погибает. Правда, микроорганизмы также модифицируются и приспособляются к новым условиям, со временем захватывая и этот ареал, то есть процесс борьбы за выживание между макро- и патогенными микроорганизмами происходит постоянно. Поэтому есть основания считать, что микроорганизмы и их молекулярные патогенные факторы являются важными и не единственными биотическими агентами, которые продолжают естественный отбор среди людей. К факторам наследственного иммунитета, развились в процессе эволюции, принадлежат противомикробные и противовирусные факторы.

**Лизоцим (мурамидаза)** - белок, который проявляет высокую протеолитическую активность, разрушает пептидогликаны бактериальных мембран. Он содержится в белке куриного яйца, в слюне, слезах, в составе кишечного сока, скелетных мышцах, мозге, а также в гранулах нейтрофилов. Кроме бактериолитического действия лизоцим стимулирует также синтез антител.

**Комплемент** - термочувствительный (инактивируется нагревом) комплекс, состоящий из более чем 20 белков, способных к самоорганизации в систему. Большинство белков этой системы находятся в плазме крови в неактивном состоянии в виде проферментов, которые активируются в определенной последовательности в случае контакта с бактериями и вирусами. Активация комплемента вызывает бактериолизис, стимулирует фагоцитоз, продукцию и выделение тканями веществ, которые участвуют в воспалительных процессах. В активации комплемента участвует белок сыворотки крови **пропердин**, который обладает выраженным противобактерицидной и противовирусной активностью.

**Интерферон** - это низкомолекулярный белок, продуцируемый лейкоцитами, действует на клетки, инфицированные вирусом, не прямо, а стимулируя выработку противовирусных веществ соседними неинфицированными клетками макроорганизма.

**Катионные белки** - *дефензины и гистоны* - проявляют высокую противобактериальную и противовирусную активность; ферменты активного кислорода НАД-зависимые *флавиновые оксидазы* генерируют активные

формы кислорода (синглетный  $O_2$ , супероксидный  $O_2$ ,  $H_2O_2$ ), которые окисляют чужеродные внутриклеточные включения; белок *лактоферрин* уничтожает бактерии, конкурируя с ними за железо среды.

Большинство указанных факторов синтезируется нейтрофилами и эозинофилами, моноцитами и действуют в самой клетке, в ее фагосомах или выделяются в кровь и выполняют свои функции вблизи лейкоцитов. Все они являются элементами системы неспецифического наследственного гуморального иммунитета.

К неспецифическому иммунитету принадлежит также *клеточный иммунитет*, обусловленный активностью лейкоцитов и тромбоцитов. Наибольшую фагоцитарную активность проявляют нейтрофильные гранулоциты и моноциты. В частности, часть моноцитов, попадая в ткани, превращается там в макрофаги, например альвеолярные, звездчатые макрофагоциты (клетки Купфера печени) и другие. Для этих клеток не имеет значения вид микроорганизма или природа токсина. Если они способны уничтожить это инородное тело, то захватывают его и переваривают. Специфическая разновидность лимфоцитов - настоящие киллеры (*natural killers*) - способны при помощи белка перфорина без предварительной сенсibilизации уничтожать опухолевые и инфицированные вирусами клетки макроорганизма. Эти НК-лимфоциты представляют собой «первую линию обороны» макроорганизма, поскольку они реагируют на появление чужеродных клеток сразу же.

## 2. Понятие о специфическом (гуморальном, лимфоидном) иммунитете.

Присущ только позвоночным животным, осуществляется лимфоцитами.

Лимфоциты, выходящие в кровь из костного мозга, иммунологически являются нейтральными, или нулевыми. Иммунокомпетентными они становятся после созревания или дифференциации в органах лимфоидной системы (рис. 10).

Часть нулевых лимфоцитов с кровью попадает в вилочковую железу - тимус и вследствие сложной дифференциации превращается в иммунокомпетентные Т-лимфоциты, есть такие, которые способны вступать в реакцию с антигеном (бактериями, чужеродным белком и т.п.). Впервые встретив определенный антиген, Т-лимфоцит «запоминает» его и начинает делиться. Большая часть вновь Т-лимфоцитов вступает в реакцию с антигеном и с помощью перфорина уничтожает его. Это Т-лимфоциты-киллеры (убийцы). Часть Т-лимфоцитов в реакцию не вступает и продолжают циркулировать с кровью, иногда всю жизнь. Это лимфоциты иммунологической памяти.

В случае повторного контакта их с таким же антигеном они «узнают» его, начинают интенсивно делиться (пролиферировать), образуя большое количество Т-лимфоцитов-убийц, и уничтожают антиген.



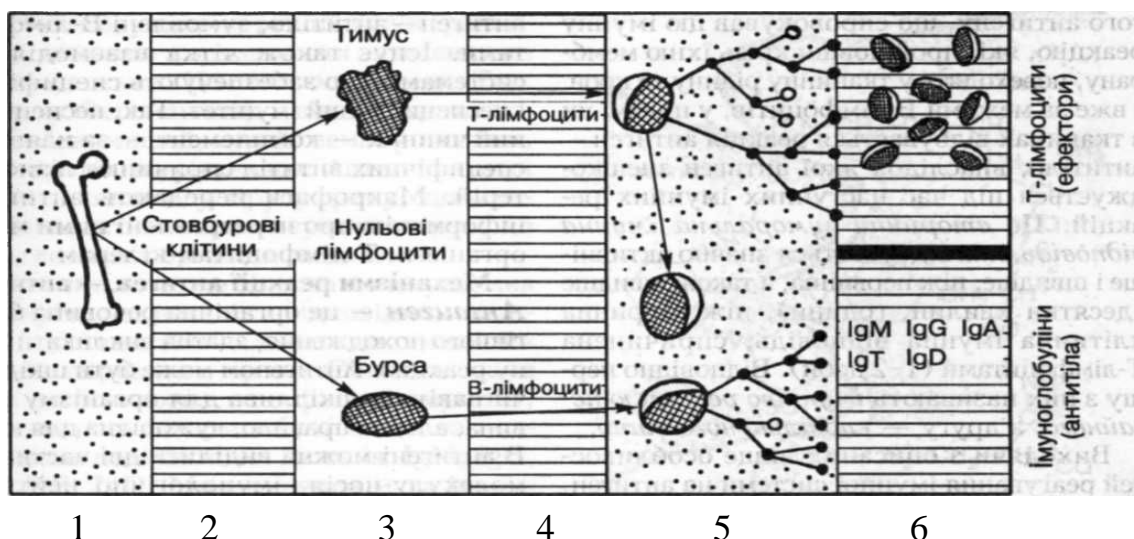


Рис. 10. Схема созревания и дифференциации лимфоцитов при специфическом иммунитете:

1- костный мозг; 2, 4, 5, 6 — кровь; 3 - центральные лимфоидные органы

Часть клеток иммунологической памяти продолжает циркулировать в организме до следующего контакта с антигеном. Понятно, что различные Т-лимфоциты «запоминают» и настраиваются на реакцию с различными антигенами, но каждый лимфоцит распознает только один антиген. В этом и заключается специфичность такого иммунитета, хотя сам действующий фактор Т-киллеров - перфорин - является неспецифическим.

Вторая часть нулевых лимфоцитов проходит дифференциацию в лимфатических узлах кишечника, аппендикса и костном мозге. Они получили название В-лимфоцитов. Молодые лимфоциты током крови разносятся в лимфоидные образования различных органов, где и происходит их дифференциация, в результате которой они становятся иммунокомпетентными, но еще не являются зрелыми эффекторными (действующими) В-лимфоцитами. На их поверхности содержатся уже готовые молекулы иммуноглобулина - антитела к конкретному антигену. При первом контакте В-лимфоцита с антигеном осуществляется «запоминания» антигена и пролиферация В-лимфоцитов. Большая часть дочерних клеток оседает в центрах размножения в лимфоидной системе организма и превращаются в плазматические клетки, которые синтезируют антитела, - возникает первичный гуморальный иммунный ответ.

Остальные В-лимфоциты снова выходят в кровь и становятся лимфоцитами иммунологической памяти. В случае появления антигена В-лимфоциты начинают синтезировать антитела к тому антигену, спровоцировавшему эту иммунную реакцию, которые, пройдя через их мембрану, переходят в тканевую жидкость и кровь. И уже за пределами В-лимфоцитов, в плазме или в тканях происходит реакция антиген-антитело, в результате которой антиген уничтожается. Это вторичный гуморальный



иммунный ответ, который происходит значительно активнее и быстрее, чем первичный, а также быстрее (десятки минут, часы), чем вторичный клеточный иммунный ответ, вызванный Т-лимфоцитами (1-2 суток). Соответственно, первую из них называют иммунной **реакцией немедленного**, а вторую - **замедленного** типа.

Исходя из описанных выше особенностей реагирования иммунной системы на антиген, в медицинской практике используют способ специфической профилактики инфекционных болезней - вакцинацию. Она заключается в том, что предварительно осуществляется искусственный контакт макроорганизма с ослабленным инфекционным агентом, который не вызывает заболевания, но приводит к появлению лимфоцитов иммунологической памяти к этому антигену. В случае повторного, уже не спровоцированного контакта макроорганизма с этим антигеном, лимфоциты пролиферируют и осуществляют эффективную иммунную реакцию, предотвращая заболевания.

### 3. МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО (ВРОЖДЕННОГО) ИММУНИТЕТА

*Неспецифические* (врожденные) *защитные механизмы* представляют собой совокупность всех физиологических факторов, способных:

- а) предотвратить попадание в организм или;
- б) нейтрализовать и разрушать проникшие в него чужеродные вещества и частицы или образовавшиеся в нем собственные измененные клетки. Эти механизмы не обладают специфичностью в отношении воздействующего агента.

Помимо упоминавшихся механических и химических факторов существует несколько других способов защиты: **фагоцитоз** («поедание» клетками), внеклеточное уничтожение зараженных вирусами и опухолевых клеток с помощью цитотоксических факторов (**клеточная цитотоксичность**) и **разрушение чужеродных клеток с помощью растворимых бактерицидных соединений**.

#### 3.1. Фагоцитоз

Фагоцитоз представляет собой филогенетически наиболее древнюю иммунную реакцию и является первой реакцией иммунной системы на внедрение чужеродных антигенов, которые могут поступать в организм в составе бактериальных клеток или вирусных частиц, а также в виде высокомолекулярного белка или полисахарида. *Макрофаги* и *моноциты* — древние клетки иммунной системы. Последние являются циркулирующими в периферической крови предшественниками макрофагов, функции которых разнообразны и не исчерпываются потребностями иммунной защиты организма.

Впервые на защитную функцию макрофагов указал И.И. Мечников, открывший явление фагоцитоза и получивший за это Нобелевскую премию в

1908 г. В настоящее время известна другая фундаментальная роль макрофагов — *представление* этими клетками *антигенов лимфоцитам*. Без этой функции макрофагов невозможно специфическое распознавание чужеродного антигена. Кроме того, макрофаги являются продуцентами многочисленных медиаторов иммунных реакций (интерлейкины, простагландины), а также белков системы комплемента.

Основой эволюционного становления фагоцитоза как иммунологического феномена явилась пищеварительная функция. Предковые одноклеточные организмы поглощали и переваривали чужеродные вещества внешней среды с целью питания. Такой тип питания сохранился у современных протозоа, губок и кишечнополостных. Источником питания, возможно, служили не только неструктурированные вещества, но и прокариоты, среди которых встречается много патогенных микроорганизмов. Несмотря на совершенствование в филогенезе механизмов специфической иммунной защиты, фагоцитарная функция амебоцитов-макрофагов сохранилась в эволюции от одноклеточных до высших многоклеточных, включая млекопитающих.

Механизм фагоцитоза однотипен и включает 8 последовательных фаз (рис. 11):

- 1) хемотаксис (направленное движение фагоцита к объекту),
- 2) адгезия (прикрепление к объекту),
- 3) активация мембраны (актин-миозиновой системы фагоцита),
- 4) начало собственно фагоцитоза, связанное с образованием вокруг поглощаемой частицы псевдоподий,
- 5) образование фагосомы (поглощаемая частица оказывается заключенной в вакуоль благодаря надвиганию на нее плазматической мембраны фагоцита подобно застёжке-молнии,
- 6) слияние фагосомы с лизосомами,
- 7) уничтожение и переваривание,
- 8) выброс продуктов деградации из клетки.

**Хемотаксис.** Чужеродные клетки посылают в окружающую среду хемотаксические сигналы (чаще всего это продукты метаболизма микроорганизмов), в направлении которых фагоцит начинает двигаться. На этот сигнал приходят первые фагоцитирующие элементы, которые, активируя другие иммунокомпетентные клетки, стимулируют их к выработке медиаторов, усиливающих хемотаксис. Далее хемотаксический потенциал усиливается за счет новообразованных антител, а также ряда факторов, образующихся при разрушении макрофагами сосудов и тканей в воспалительном очаге. Этот хемотаксический сигнал второго порядка (развитого очага воспаления) обеспечивает поддержание в нем активной работы за счет поступления новых порций иммунокомпетентных клеток. Достигнув очага воспаления, макрофаг останавливается под влиянием фактора торможения миграции лейкоцитов, вырабатываемого Т-лимфоцитами-хелперами. Исчезновение в очаге воспаления чужеродных антигенов, начало процессов регенерации ведет к резкому уменьшению

хемотаксического стимула и появлению продуктов, представляющих собой отрицательный хемотаксический сигнал. В результате этого новые фагоциты перестают мигрировать в воспалительный очаг, а оставшиеся жизнеспособные рассеиваются по всей ткани.

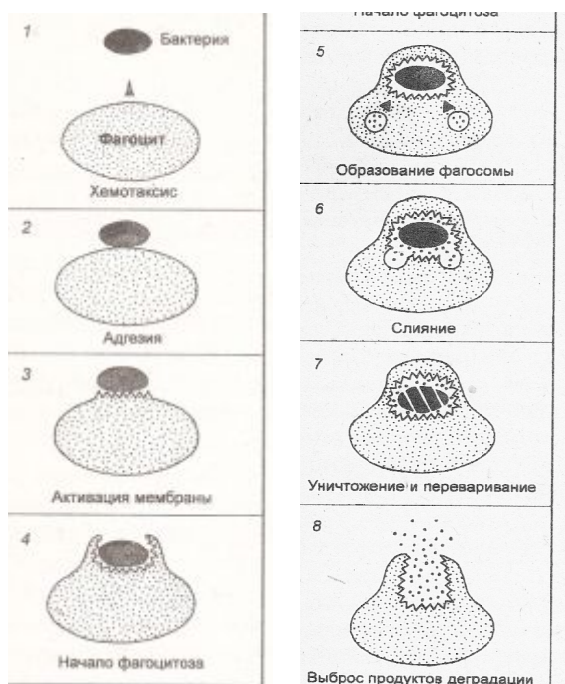


Рис. 11. Основные фазы фагоцитоза и уничтожения бактерий

**Адгезия.** Акт адгезии включает две фазы: распознавание чужеродного объекта и прикрепление, или собственно адгезию. Адгезия фагоцита к объекту фагоцитоза происходит крайне медленно в том случае, если отсутствует предварительное специфическое распознавание чужеродных клеток.

**Захват** (собственно фагоцитоз). В процессе фагоцитоза плазматическая мембрана макрофага при помощи образованных ею выступающих складок захватывает объект фагоцитоза и обволакивает его. Образующаяся при этом небольшая вакуоль называется *фагосомой*. В дальнейшем фагосома отрывается от поверхности мембраны и перемещается в цитоплазму.

**Киллинг** (убийство). В фагосоме захваченная чужеродная клетка гибнет. Для осуществления киллинга макрофаг продуцирует и секретирует в фагосому реакционноспособные производные кислорода.

**Переваривание.** Последний этап фагоцитоза — переваривание захваченного и убитого материала. Для этого с фагосомой, содержащей объект фагоцитоза, объединяются лизосомы, которые содержат более 25 различных ферментов, в число которых входит большое количество гидролитических энзимов. В фагосоме происходит активация всех этих ферментов, так называемый *метаболический взрыв*, в результате которого фагоцитированный объект переваривается.

### 3.2. Внеклеточное уничтожение (цитотоксичность)

**Макрофаги.** Известно, что фагоцитирующие клетки способны уничтожать микроорганизмы и остатки тканей не только внутри, но и вне клетки. Фагоциты при этом не поглощают объект, а взаимодействуют с ним с помощью рецепторов и убивают его. В элиминации опухолевых клеток и клеток, зараженных вирусами, принимают участие не только макрофаги, как это было принято думать, но и нейтрофилы.

Во время антигенной стимуляции фагоцитов резко возрастает поглощение кислорода и в среде появляются его высокореактивные метаболиты. Последние способны повреждать чужеродные клетки сами по себе и в комбинации с некоторыми другими микробицидными факторами, например, с *миелопероксидазой*. Перекись водорода вместе с миелопероксидазой и системой галогенирования является весьма активным цитотоксическим агентом в отношении опухолевых клеток и клеток, зараженных вирусами. Для осуществления цитотоксических эффектов фагоцитирующие клетки должны быть активированы цитокинами или другими гуморальными факторами неспецифической защиты организма.

**Нормальные киллеры.** В уничтожении зараженных вирусами и опухолевых клеток участвуют особые элементы иммунной системы — нормальные киллеры (НК). НК — это большие зернистые лимфоциты. Впервые эти клетки были обнаружены в аденокарциномах молочной железы у мышей. Было показано, что НК обладают цитолитической активностью, направленной против широкого спектра опухолевых клеток-мишеней. НК полностью лишены классической иммунологической специфичности и могут уничтожать любые опухолевые клетки независимо от их органного, генетического и видового происхождения. НК, в отличие от В-лимфоцитов, не имеют встроенных в мембрану иммуноглобулиновых молекул; они не содержат клеточных рецепторов и антигенных детерминант, присущих Т-лимфоцитам.

**Механизм уничтожения клеток НК-киллерами.** НК узнают определенные структуры высокомолекулярных гликопротеинов, которые находятся на мембране опухолевых или зараженных вирусами клеток. Благодаря этому НК отличают такие клетки от нормальных. Узнавание клетки-мишени и сближение с ней происходит за счет рецепторов НК. Для лизиса клеток-мишеней с помощью НК необходимы тесные межклеточные контакты.

В результате тесного межклеточного взаимодействия между клеткой-мишенью и НК последний активируется и выбрасывает содержимое своих гранул в узкую межклеточную щель, возникающую при контакте клеток. Возможно, что главная роль в последующем уничтожении клетки-мишени принадлежит *перфोरину*, или *цитолизину*, который может встраиваться в мембрану клетки-мишени с образованием трансмембранной поры. Гранулы НК содержат *сериновые протеиназы*, *миелопероксидазу*, *перекись водорода*, а также *лимфотоксин*, который путем экзоцитоза проникает в клетку-мишень и вызывает повреждение ядра. Повреждения клетки сопровождаются

нарушением ее водно-солевого гомеостаза и приводят к ее лизису. НК способны неоднократно осуществлять свое цитотоксическое действие.

### **3.3. Система комплемента и ее активация.**

Комплементом называют сложный комплекс белков и гликопротеинов (около 20), которые участвуют в защите организма от чужеродных клеток. Для этой системы характерен быстрый, многократно усиленный ответ на первичный антигенный сигнал за счет каскадного процесса. При этом продукт одной реакции служит катализатором последующей. Первые данные о существовании системы комплемента были получены в конце XIX в. при изучении механизмов защиты организма от проникающих в него бактерий и уничтожения чужеродных клеток, введенных в кровь. Эти исследования показали, что на проникновение микроорганизмов и чужеродных клеток организм отвечает образованием антител, способных агглютинировать эти клетки, не вызывая при этом их гибели. Добавление к этой смеси свежей сыворотки вызывало гибель (цитоллиз) чужеродных клеток. Сделанное наблюдение послужило толчком для интенсивных исследований, направленных на выяснение механизмов их лизиса.

Несмотря на то, что комплемент исследуется уже более 100 лет, полное значение этой конститутивной защитной системы, вероятно, еще не установлено. По мере изучения других иммунологических реакций выяснялась причастность комплемента к целому ряду событий, что позволяет говорить о его более широком биологическом действии, чем просто уничтожение имеющих клеточное строение патогенов.

В настоящее время в систему комплемента включают 19 белков, условно разделяемых на группы в связи с их функциями. Это белки:

- так называемого классического пути активации,
- белки альтернативного пути активации,
- белки атакующего мембрану комплекса
- и регуляторные белки системы комплемента.

Все эти белки продуцируются и секретируются в плазму крови моноцитами и гепатоцитами (клетками печени) и их количества в норме постоянны для млекопитающих конкретных видов.

Существует два пути активации комплемента: без участия антител — альтернативный и с участием антител — классический.

Ряд компонентов системы комплемента обозначают символом «С» и цифрой, которая соответствует хронологии их открытия.

**Белки альтернативного пути активации** системы комплемента. Первую группу составляют 6 белков, обозначаемых заглавной латинской буквой С (от лат. *complement*) с соответствующим индексом: C1q, C1r, C1s, C2, C4, C3. Наиболее сложным по строению и наиболее важным с точки зрения инициации активации системы комплемента по классическому пути является белок C1q.

В наибольшей концентрации в сыворотке крови человека присутствует компонент C3 (1,2 мг/мл).

**Белки альтернативного пути активации** системы комплемента не имеют, очевидно в силу их более позднего открытия, традиционного обозначения буквой С и обычно именуется факторами - фактор В, фактор Б и фактор Р. Входящий в эту же группу белок С3b возникает, как указывалось выше, из белка С3.

**Белки атакующего мембрану комплекса** имеют традиционное наименование - это белки С5, С6, С7, С8 и С9. В отличие от большинства рассмотренных ранее белков других групп их участие в функционировании системы комплемента не приводит к появлению комплексов, обладающих ферментативной активностью, и сами они в ходе активации комплемента не подвергаются никакому ферментативному воздействию.

**Регуляторные белки системы комплемента**, наоборот, обладают выраженной ферментативной активностью, которую проявляют по отношению к определенным возникающим при активации системы комплемента комплексам. Таковыми являются: ингибитор С1-эстеразы, С4-связывающий белок, фактор I (от англ. *inhibitor*) и белок S (от англ. *soluble* - растворимый, он также имеет второе название - витронектин).

**Альтернативный путь активации комплемента.** Первый путь активации комплемента, вызываемый чужеродными клетками, с филогенетической точки зрения является более древним. Основные его этапы представлены на рис. 12 и 13. Ключевую роль в активации комплемента играет компонент С3, который представляет собой гликопротеин, состоящий из двух полипептидных цепей. При нормальных условиях внутренняя тиоэфирная связь в С3 медленно активируется в результате взаимодействия с водой и следовыми количествами протеолитических ферментов плазмы крови, приводя к образованию С3b и С3а (фрагменты С3) (при расщеплении компонентов системы комплемента большему фрагменту присваивается символ «b», а меньшему — символ «a»). В присутствии ионов  $Mg^{2+}$  С3b может образовывать комплекс с другим компонентом системы комплемента фактором В; затем последний фактор расщепляется одним из ферментов плазмы крови — фактором D. Образовавшийся комплекс С3bBb (линия над обозначением указывает на наличие ферментативной активности) представляет собой **С3-конвертазу** — фермент, расщепляющий С3 на С3а и С3b.

Некоторые микроорганизмы могут активировать С3bBb-конвертазу с образованием большого количества продуктов расщепления С3. Затем другой белок **пропердин** взаимодействует с конвертазой, повышая стабильность ее связывания. Как только С3 расщепляется с помощью конвертазы, его внутренняя тиоэфирная связь активируется, и реакционноспособное производное С3b ковалентно связывается с мембраной микроорганизма. Один активный центр С3bBb позволяет связаться с микроорганизмом большому количеству молекул С3b. Существует и механизм, сдерживающий этот процесс в нормальных условиях (рис. 13):

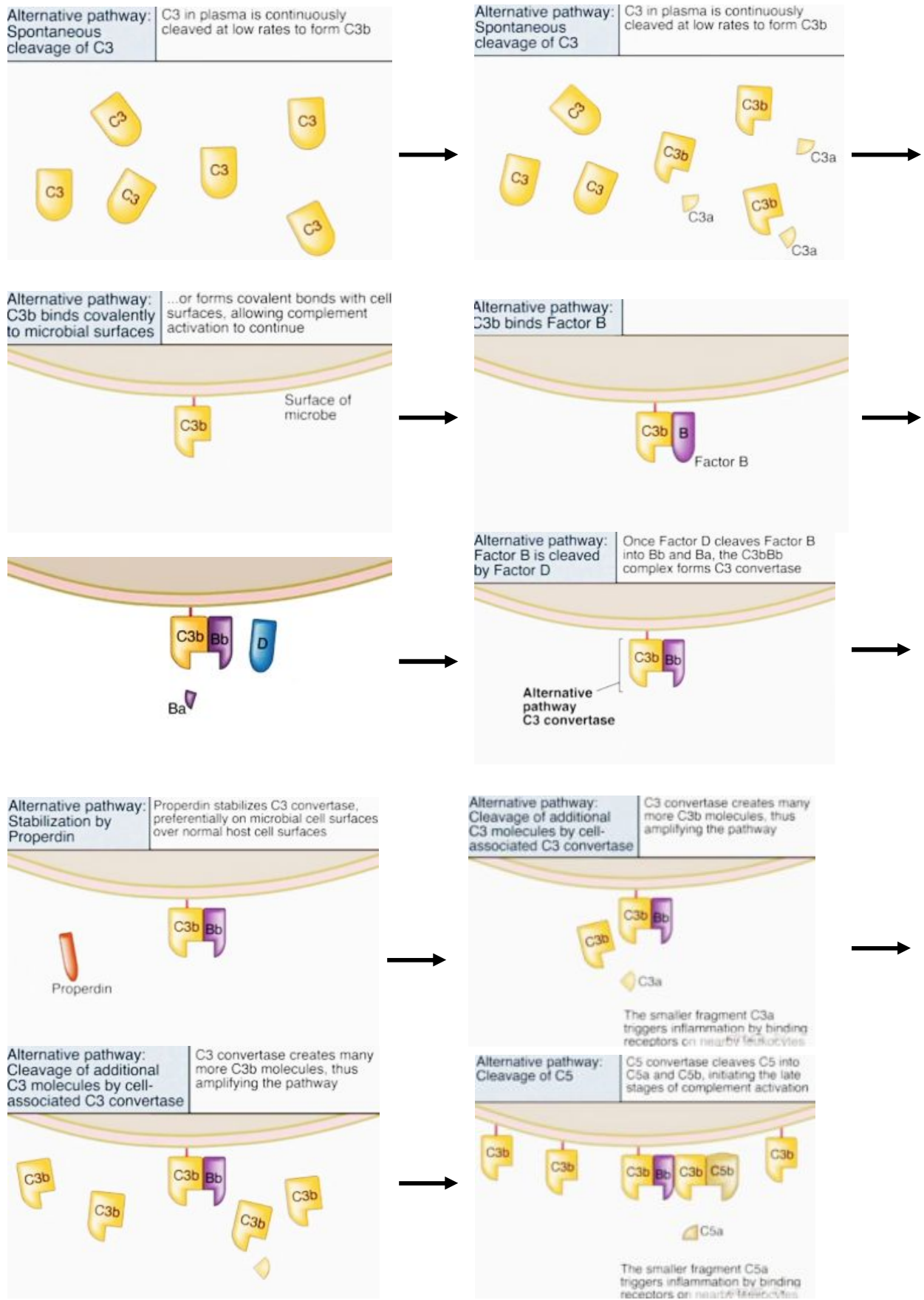


Рис. 12. Альтернативний путь активации комплемента



в присутствии факторов I и H C3b превращается в C3bi, последний под влиянием протеолитических ферментов расщепляется до конечных неактивных пептидов C3c и C3d.

Следующий активируемый компонент — C5, взаимодействуя с мембраносвязанным C3b, становится субстратом для C3bBb и расщепляется с образованием короткого пептида C5a, причем фрагмент C5b остается фиксированным на мембране. Затем C5b последовательно присоединяет C6, C7 и C8 с образованием комплекса, способствующего ориентации на мембране молекул последнего компонента C9. Это приводит к разворачиванию молекул C9, проникновению их внутрь билипидного слоя (рис. 14) и полимеризации в кольцообразный «мембраноатакующий комплекс» (МАК).

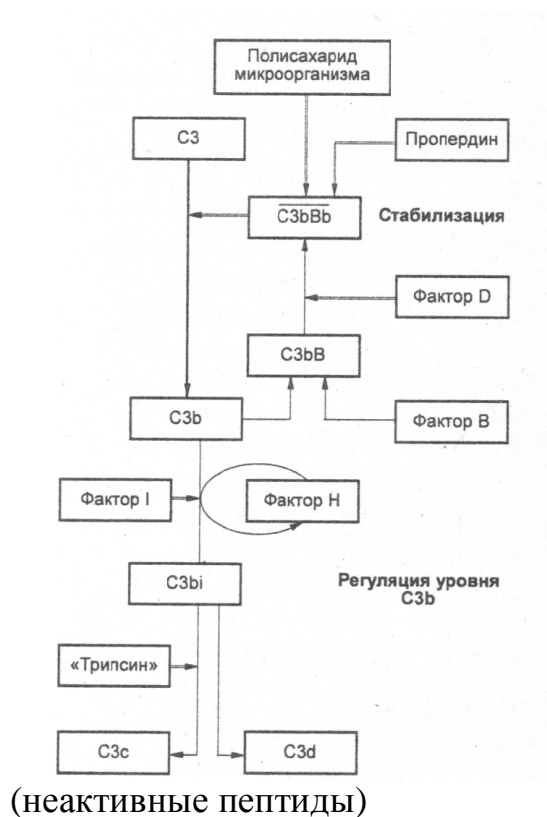


Рис. 13. Альтернативный путь активации комплемента, вызываемый микроорганизмами и его регуляция факторами I и H

Вклинившийся в мембрану комплекс C5b-C7 позволяет C8 войти в непосредственный контакт с мембраной, вызвать дезорганизацию ее регулярных структур и, наконец, привести к образованию спиралевидных трансмембранных каналов. Формирующийся трансмембранный канал полностью проницаем для электролитов и воды. За счет высокого коллоидно-осмотического давления внутри клетки в нее поступают ионы  $\text{Na}^+$  и воды, что и приводит к лизису чужеродной клетки или микроорганизма.



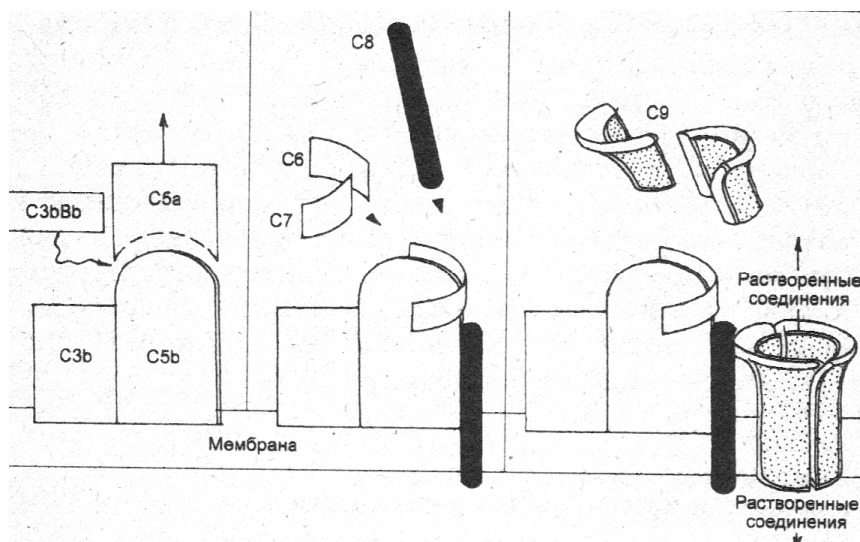


Рис. 14. Образование мембраноатакующего комплекса при активации комплемента по альтернативному пути (А.Г.Песнякевич, 2007)

Помимо способности лизировать клетки с чужеродной информацией комплемент обладает также другими важными функциями:

- а) за счет присутствия на поверхности фагоцитирующих клеток рецепторов к C3b и C3bi облегчается адгезия микроорганизмов;
- б) образующиеся в процессе активации комплемента небольшие пептиды C3a и C5a («анафилатоксины») стимулируют хемотаксис нейтрофилов к месту скопления объектов фагоцитоза, активируют кислородзависимые механизмы фагоцитоза и цитотоксичности, вызывают выброс медиаторов воспаления из тучных клеток и базофилов, расширение кровеносных капилляров и повышение их проницаемости;
- в) протеиназы, появляющиеся при активации комплемента, несмотря на их субстратную специфичность, способны активировать другие ферментные системы крови: систему свертывания и систему кининообразования;
- г) компоненты комплемента, взаимодействуя с нерастворимыми комплексами антиген-антитело, уменьшают степень их агрегации.

**Классический путь активации комплемента.** Инициация классического пути происходит в тот момент, когда антитело, соединенное с микробом или другой клеткой, несущей чужеродную информацию, связывает и активирует первый компонент каскада C1q.

Его молекула представлена 6 одинаковыми субъединицами, каждая из которых состоит из трех различных ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) белковых цепей.

Три такие парные субъединицы дополнительно объединяются в районах своих коллагенподобных участков, что и приводит к окончательному формированию четвертичной структуры белка C1q. N-концевые участки трех цепей спирально закручиваются друг относительно друга подобно тому, как это имеет место в молекуле коллагена, а 78 аминокислотных остатков от

N-конца обеспечивают объединение двух таких трехспиральных молекул с образованием парной субъединицы C1q. Следующие 200 аминокислотных остатков образуют свободный «стеблеобразный» участок, заканчивающийся имеющим глобулярную структуру С-концевым доменом, в состав которого входит 103-108 аминокислот. Эта структура позволяет глобулярным участкам каждой из субъединиц свободно перемещаться в пространстве относительно жестко связанных N-концевых доменов, и тем самым создаются наиболее оптимальные условия для взаимодействия глобул с определенными сайтами тяжелых цепей иммуноглобулинов классов G и M.

Эта молекула поливалентна в отношении связывания антител. Она состоит из центрального коллагеноподобного стержня, разветвляющегося на шесть пептидных цепочек, каждая из которых оканчивается связывающей антитело субъединицей. По данным электронной микроскопии вся молекула напоминает тюльпан (рис. 15).

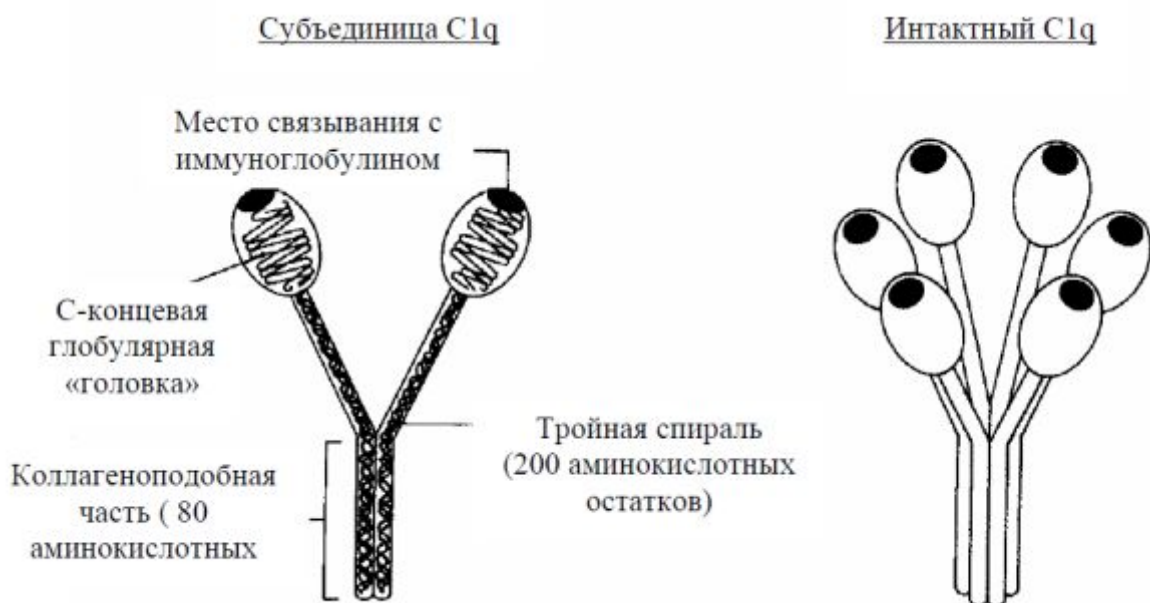


Рис. 15. Молекулярная структура комплекса C1 системы комплемента (А.Г.Песнякевич, 2007)

Его шесть лепестков образованы С-концевыми глобулярными участками полипептидных цепей. Глобулярные участки отвечают за взаимодействие с антителами, а коллагеноподобный участок — за связывание с двумя другими субъединицами C1.

Несмотря на то, что собственно система комплемента является, как уже упоминалось выше, конститутивным защитным механизмом и ее следует относить к факторам врожденного иммунитета, один из путей ее проявления связан с наличием у организма приобретенного иммунитета. Так называемый классический путь активации системы комплемента реализуется только в том случае, когда в организме уже имеются иммуноглобулины, комплементарно связывающиеся с антигенами попавших во внутреннюю среду чужеродных клеток.

Объясняется это тем, что только иммуноглобулины могут перевести белок C1q в активированное состояние. Для этого необходимо, чтобы как минимум две из шести глобулярных частей этого белка специфически связались либо с C<sub>H2</sub>-доменом иммуноглобулина G, либо с C<sub>H3</sub>-доменом иммуноглобулина M. Причем чем большее количество иммуноглобулинсвязывающих сайтов в конкретной молекуле C1q будет задействовано, тем большей будет степень активации этой молекулы.

Следует отметить две особенности, важных для понимания того, почему комплемент активируется именно там, где это необходимо, а именно на поверхности чужеродной клетки.

➤ **Во-первых**, природа не зря сотворила C1q «шестиголовым» - это позволяет запустить систему активации только при наличии в непосредственной близости друг от друга нескольких комплексов антиген-антитело, что, как правило, и имеет место на поверхности чужеродной клетки. Вероятность же случайного сближения находящихся в жидкой фазе (в плазме крови или тканевой жидкости) нескольких иммунных комплексов крайне невелика, поэтому даже при высокой концентрации свободно движущихся комплексов антиген-антитело активация комплемента не происходит.

➤ **Во-вторых**, участки молекул иммуноглобулинов, доступные для связывания с белком C1q, располагаются таким образом, чтобы связывание могло осуществиться только после того, как иммуноглобулин провзаимодействует с комплементарным ему антигеном. Тем самым исключается активация системы комплемента свободными антителами.

Связывание двух и более глобулярных участков молекулы придает ей активность сериновой протеиназы (эстеразы), субстратом для которой являются молекулы C1r. Катализируемая такой эстеразой реакция приводит к проявлению каталитических свойств у до этого момента неактивной молекулы C1r, причем активируется как минимум две молекулы. Две активные молекулы C1r соединяются и совместно с активной молекулой C1q осуществляют активирование также двух молекул C1s, которые объединяются между собой, затем с двумя молекулами C1r и все вместе с молекулой C1q образуют новую **сериновую протеиназу** (рис. 16). Для эффективного объединения всех перечисленных компонентов необходимо присутствие ионов Ca<sup>2+</sup>.

Образовавшийся ферментный комплекс C1q(C1r)<sub>2</sub>(C1s)<sub>2</sub> обычно называют **C1-эстеразой** или активированным C1, и субстратом для него являются две следующие молекулы из системы комплемента - C4 и C2.

Молекула C4, подобно описанной ранее молекуле C3, имеет располагающуюся в глубине третичной структуры тиоэфирную связь. Если такой белок оказывается рядом с поверхностью, на которой закреплен активированный C1, то он расщепляется последним на два фрагмента, в результате чего тиоэфирная связь обнажается. Меньший по размерам фрагмент, обозначаемый C4a, остается свободным, а больший, C4b, присоединяется к мембране клетки благодаря открывшейся тиоэфирной группе (рис. 17).

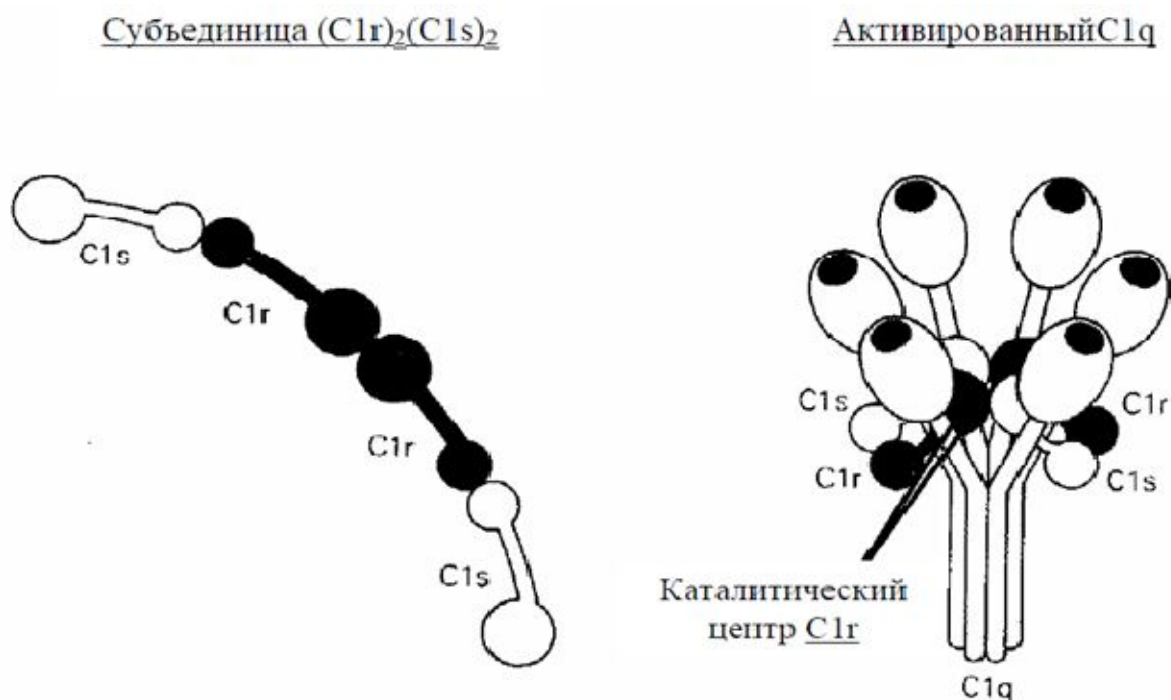
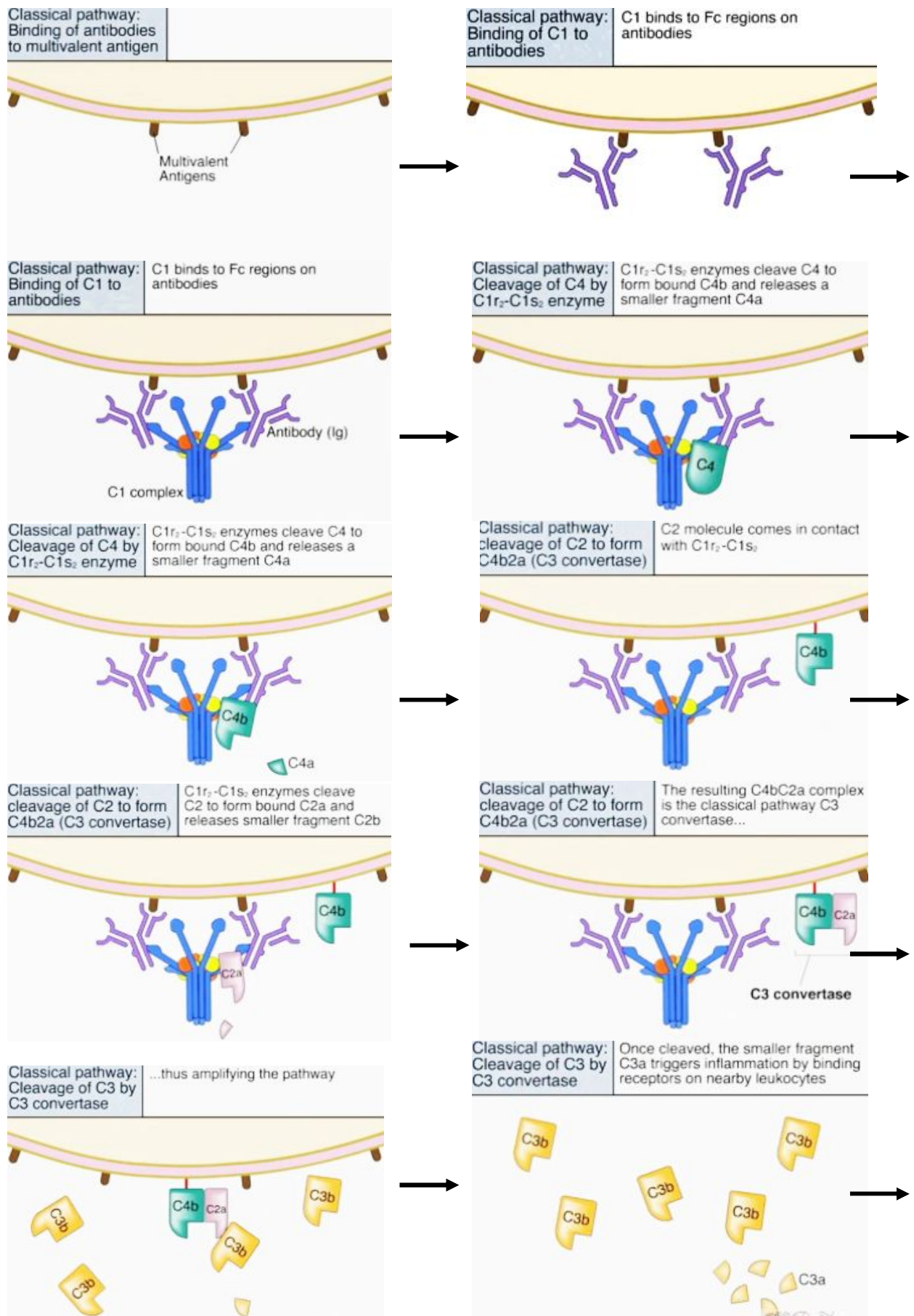


Рис. 16. Структура первого компонента каскада C1q системы комплемента (А.Г.Песнякевич, 2007)

Присоединение происходит крайне быстро, в течение нескольких миллисекунд, поэтому C4b оказывается в непосредственной близости от активированного C1 и, будучи рецептором для молекулы C2 из системы комплемента, обеспечивает связывание последней. Активированный C1 расщепляет связанную молекулу C2 также на два фрагмента, причем меньший из них, обозначаемый в данном случае C2b, отсоединяется и в дальнейшем в активации комплемента не участвует, а больший, C2a, остается связанным с молекулой C4b. Возникший комплекс C4bC2a представляет собой фермент, субстратом которого является молекула C3, поэтому этот комплекс обычно называют ***C3-конвертазой классического пути активации***.

Действие C3-конвертазы на молекулу C3 приводит к появлению небольшого фрагмента C3a, далее в активации комплемента не участвующего, и обладающего активной тиоэфирной группой фрагмента C3b, за счет которой этот фрагмент присоединяется к мембране рядом с уже существующим комплексом. В результате присоединения C3b субстратная специфичность комплекса изменяется, он приобретает способность расщеплять молекулу C5 и соответственно имеет название ***C5-конвертаза классического пути***.





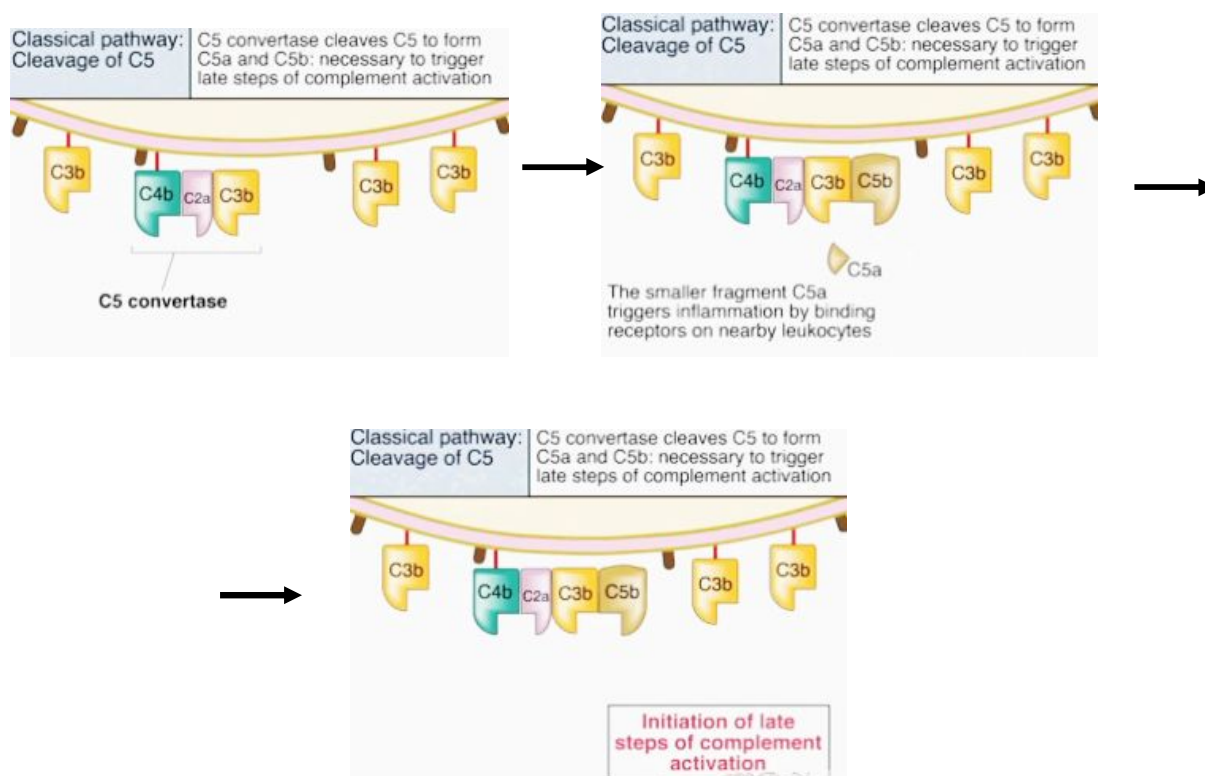


Рис. 17. Классический путь активации комплемента

Поскольку иммобилизованный C3b обладает максимально высоким сродством к C5-белку, C5-конвертаза присоединяет к себе молекулу C5 и расщепляет ее на C5a и C5b. Меньший фрагмент C5a отсоединяется, а больший, C5b, остается в составе комплекса. Фактически с этого момента заканчиваются связанные с проявлением ферментативной активности этапы активации комплемента, и начинается завершающий этап - формирование атакующего мембрану комплекса.

Образовавшаяся молекула C5b обладает ярко выраженным сродством к следующей молекуле системы комплемента - белку C6, благодаря чему C6 также присоединяется к мембране. Сочетание C5bC6 представляет собой рецептор для молекулы C7, которая имеет в своем составе гидрофобный участок. Благодаря наличию такого участка присоединившаяся молекула C7 прочно закрепляет комплекс на поверхности мембраны и, кроме того, делает возможным присоединение к нему белка C8.

Этот белок имеет еще более протяженный, чем у C7, гидрофобный домен, что позволяет ему насквозь пронизывать мембрану чужеродной клетки и уже на этом этапе возможно образование в мембране узких, диаметром до 3 нанометров, пор, через которые в клетку начинают нерегулируемо проникать низкомолекулярные соединения и ионы. Наличие в составе комплекса белка C8 обеспечивает присоединение нескольких молекул C9 (в зависимости от вида млекопитающих количество присоединяющихся молекул колеблется от 6 до 20), которые формируют более широкую, 8-12 нанометров в диаметре, пору.



Рис. 17. Схема путей активизации комплемента

Фактически из молекул C9 собираются полые цилиндры, прочно удерживающиеся в мембране благодаря гидрофобности своей наружной поверхности и обеспечивающие направленный во внутрь клетки мощный поток молекул воды и растворенных в ней ионов благодаря гидрофильности внутренней поверхности цилиндра. Показано, что даже наличие одного такого цилиндра в мембране клетки приводит к быстрому и необратимому возрастанию осмотического давления внутри клетки и наступающему вследствие этого разрыву мембраны. В этом и заключается механизм литического действия системы комплемента.

Комплекс активируется, приобретает протеолитические свойства и участвует в формировании центров связывания других компонентов каскада. Завершается процесс образованием мембраноатакующего комплекса (МАК).

Этот путь активации комплемента важен при уничтожении фагоцитами стареющих или поврежденных клеток организма. **Классический путь активации комплемента в организме человека и других млекопитающих является превалирующим.**

Как уже упоминалось выше, активация системы комплемента может осуществляться и по другому пути. Первые сведения о наличии независимого от антител пути активации были получены в 1954 году в лаборатории Луиса Пиллемера. В проводимых в этой лаборатории экспериментах было обнаружено, что обработка сыворотки крови млекопитающих зимозаном, препаратом, представляющим собой нерастворимую в воде фракцию клеточных стенок дрожжей, приводит к исчезновению из состава сыворотки белка С3 при сохранении исходных количеств белков С1, С2 и С4. Это позволило Пиллемеру и соавторам предположить наличие иного, независимого от наличия антител, пути активации. Однако в 1959 году появились сведения, что у некоторых видов млекопитающих в плазме крови присутствуют имеющиеся от рождения (так называемые нормальные) антитела к зимозану, и эксперименты Пиллемера посчитали лишь подтверждением уже описанного пути активации. Но в 1964 году были обнаружены морские свинки, у которых вследствие генетического дефекта отсутствует белок С4, но тем не менее в сыворотке их крови чужеродные клетки лизируются под воздействием комплемента. Это стимулировало интерес исследователей и в течение 70-х годов были выявлены ранее неизвестные белки системы комплемента и описан новый путь активации, получивший название альтернативного, а уже известный ранее путь стали именовать классическим.

**Белки острой фазы.** Концентрация некоторых белков плазмы крови, имеющих общее название «белки острой фазы» резко увеличивается в ответ на инфекцию или повреждение тканей. К этим белкам относятся С-реактивный белок (СРВ), сывороточный амилоидный А-белок,  $\alpha_1$ -антитрипсин,  $\alpha_2$ -макроглобулин, фибриноген, церулоплазмин, компонент комплемента С9 и фактор В.

В процессе инфекции продукты жизнедеятельности микробов (например, эндотоксины) стимулируют выработку интерлейкина-1 (ИЛ-1). ИЛ-1 не только повышает температуру тела, но и, воздействуя на печень, резко усиливает продукцию гепатоцитами С-реактивного белка. Концентрация последнего в плазме крови может увеличиваться в 1000 раз.

Важное свойство СРВ — способность связываться в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  с некоторыми микроорганизмами. Образовавшийся комплекс активирует систему комплемента по классическому пути. Это приводит к связыванию С3b с поверхностью микроба, в результате последний подготавливается к фагоцитозу. Кроме того, СРВ усиливает подвижность лейкоцитов, повышает функциональную активность лимфоцитов и облегчает взаимодействия антител с антигенами.

**Интерфероны.** У млекопитающих, так же как у других позвоночных животных, обнаружен ряд противовирусных агентов широкого спектра действия — интерфероны (ИФН). ИФН по своей химической природе являются белками и гликопротеинами и ИФН оказался в числе первых клеточных белков, синтезированных вне организма с помощью генной инженерии.



Существует более 20 разновидностей интерферона, которые продуцируются преимущественно макрофагами и В-лимфоцитами.

При вирусной инфекции клетки синтезируют интерферон и освобождают его в межклеточное пространство, где он связывается со специфическими рецепторами соседних незараженных клеток. Полагают, что в клетке, подвергшейся воздействию интерферона, начинается синтез двух ферментов: протеинкиназы А и фермента, активирующего латентную эндонуклеазу, что приводит к деградации иРНК вируса и хозяина. Конечный результат действия интерферона состоит в образовании барьера из неинфицированных клеток вокруг очага вирусной инфекции, чтобы ограничить ее распространение.

Наиболее низкие уровни интерферонов наблюдаются у детей до 3-х лет и у лиц старше 60 лет.

Лейкоциты доноров с I (0), III (В) и IV (AB) группами крови, как правило, хорошо продуцируют интерферон. У доноров с группой крови II (А) почти в 40% случаев выявлена дефектность системы интерферона, выражающаяся в резко сниженной способности продуцировать этот белок в ответ на вирусную инфекцию. Возможно, именно с этим связано то, что лица с группой крови II (А) более предрасположены к острым респираторным инфекциям и среди них чаще встречаются больные с различными онкологическими заболеваниями.

Изучение влияния стресса на животных выявило прямую корреляцию между способностью лимфоцитов синтезировать интерферон и уровнем стресса. Показано, что в течение первых суток после стресса резко снижается способность синтезировать интерфероны. Лишь на 8-й день после стресса отмечается нормализация продукции интерферона.

У спортсменов при предельных тренировочных нагрузках, имеющих характер стрессорных воздействий, происходит выраженное угнетение системы интерферона. При последующем отдыхе выявлена тенденция к нормализации уровня интерферона.

При изучении факторов, обуславливающих понижение общей резистентности организма (охлаждение, голодание, ионизирующие излучения, действие иммунодепрессантов, стероидных гормонов и др.), было установлено, что все они заметно угнетают выработку интерферона.

Лизоцим (мурамидаза, мурамилпептидаза) - белок, который проявляет высокую протеолитическую активность, разрушает пептидогликаны **бактериальных** мембран. Он содержится в белке куриного яйца, в слюне, слезах, в сыворотке крови, в составе желудочного и кишечного сока, скелетных мышцах, мозге, а также в гранулах нейтрофилов. Кроме бактериолитического действия лизоцим стимулирует также синтез антител.

Продуцируется макрофагами. Лизоцим обладает прямой бактерицидной активностью в отношении **грамположительных бактерий** (стафилококков, стрептококков) и в меньшей степени в отношении грамотрицательных бактерий. Лизоцим разрушает клеточную стенку бактерий, что приводит к

лизису микроорганизмов. В случае инфекции грамотрицательными микроорганизмами лизоцим действует совместно с системой комплемента.

**Фибронектин.** Фибронектин — белок, который содержится в плазме крови и тканевых жидкостях. Продуцируется макрофагами, тучными клетками и фибробластами.

Фибронектин участвует в клеточной адгезии, а также влияет на различные типы фагоцитарных реакций. Фибронектин обладает хемотаксической активностью для фибробластов, что может иметь важное значение в процессе восстановления поврежденных тканей.

**Катионные белки** - *дефензины и гистоны* - проявляют высокую противобактериальную и противовирусную активность; ферменты активного кислорода НАД-зависимые *флавиновые оксидазы* генерируют активные формы кислорода (синглетный  $O_2$ , супероксидный  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ), которые окисляют чужеродные внутриклеточные включения; *белок лактоферрин* уничтожает бактерии, конкурируя с ними за железо среды.

Большинство указанных факторов синтезируется нейтрофилами и эозинофилами, моноцитами и действуют в самой клетке, в ее фагосомах или выделяются в кровь и выполняют свои функции вблизи лейкоцитов. Все они являются элементами системы неспецифического наследственного гуморального иммунитета.

## ЛЕКЦИЯ 7-8

### МЕХАНИЗМЫ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА

1. Характеристика клеток, участвующих в реакциях специфического иммунитета
2. Механизмы реакции антиген-антитело.
  - 2.1. Понятие термина антиген, его общее строение. Имуногенность липидов, углеводов, нуклеиновых кислот и белков.
  - 2.2. Классификация антигенов.
  - 2.3. Механизм взаимодействия антиген-антитело.
3. Характеристика иммунных реакций.

Иммунная система включает в себя не только перечисленные выше малоспецифические компоненты, но и элементы, определяющие высокую специфичность иммунных реакций. Специфичность иммунной реакции определяется лимфоцитами и продуцируемыми ими специфическими иммуноглобулинами. Содержание лимфоцитов в крови человека в среднем составляет  $1-4 \times 10^9$  клеток в 1 л крови. В отличие от других иммуннокомпетентных клеток лимфоциты, циркулирующие в кровотоке, способны к интенсивной пролиферации и дифференцировке в ответ на

антигенный стимул. В ответ на антигенное раздражение лимфоциты могут, оседая в лимфоидной ткани, активно размножаться и дифференцироваться в конечные эффекторные клетки (в *плазматические клетки* из В-лимфоцитов и *цитотоксические* — из Т-лимфоцитов).

После исчезновения антигена гибнут клетки специфических клонов, однако часть таких специфических лимфоцитов, представляющих собой длительно живущие клетки, остается. Эти лимфоциты обуславливают иммунологическую память к данному антигену, обеспечивая при вторичном появлении его в организме более интенсивное по скорости размножение с образованием большого числа специфических клеток. Существование приобретенной иммунологической памяти подтверждается следующим примером. После первичного введения кролику столбнячного анатоксина (бактериальный экзотоксин, потерявший токсичность) проходит несколько дней, прежде чем в крови будут обнаружены антитела, затем количество их возрастает до максимума и далее падает. При вторичном введении препарата динамика иммунного ответа резко меняется: наблюдается более быстрая и интенсивная продукция антител. Этот вторичный ответ является результатом того, что лимфоциты могут пролиферировать значительно быстрее под влиянием антигена.

Основное свойство приобретенного иммунитета - **его специфичность** - обусловлено способностью распознающих участков молекул антител различать антигены. Антитела, реагирующие с анатоксином, не связываются, например, с гемагглютинином вируса гриппа, и, соответственно, антитела к вирусу гриппа не взаимодействуют со столбнячным анатоксином.

Эта способность узнавать единственный антиген и выделять его среди других имеет фундаментальное биологическое значение для распознавания «своего» и «чужого». Неспособность отличить «свое» от «не своего» может привести к синтезу антител, взаимодействующих с компонентами собственного организма (*аутоантитела*), а это заканчивается возникновением тяжелых патологических процессов. М. Бёрнет и Ф. Феннер предположили, что организм человека имеет механизм, различающий «свое» и «не свое». По их мнению, этот механизм состоит в том, что циркулирующие компоненты организма, попадающие в развивающуюся лимфоидную систему в пренатальном периоде, «запоминаются» как «свои». Затем по отношению к ним возникает постоянная неспособность к иммунному ответу, или *толерантность*. Это означает, что после завершения созревания иммунной системы неспособность реагировать на «свои» компоненты становится нормой.

## **1. Характеристика клеток, участвующих в реакциях специфического иммунитета**

Единая общепринятая классификация клеток, обеспечивающих реакции специфического иммунитета, отсутствует. На основании функциональных особенностей выделяют несколько типов клеток:

➤ *антиген-представляющие клетки (АПК)*, захватывающие антигены, перерабатывающие их и представляющие соответствующие антигенные детерминанты другим иммунокомпетентным клеткам, (к АПК относятся дендритные АПК, моноциты и макрофаги, а также В-лимфоциты);

➤ *эффекторные клетки*, непосредственно осуществляющие реакции специфического иммунитета (относятся цитотоксические Т-лимфоциты и плазматические клетки);

➤ *регуляторные клетки*, обеспечивающие активацию или угнетение отдельных звеньев иммунных реакций (активаторы — индукторы Т-хелперов, индукторы Т-супрессоров, Т-хелперы, макрофаги; ингибиторы — Т-супрессоры;

➤ *клетки памяти*, хранящие информацию о взаимодействии с конкретным антигеном и тем самым способствующие более активному развитию иммунного ответа при повторном его воздействии.

Антиген-представляющие клетки (АПК) располагаются на главных путях поступления антигенов в организм (в коже и в слизистых оболочках), откуда, захватив антигены, они мигрируют в периферические органы иммунной системы, где представляют антигены лимфоцитам.

**Функции АПК включают:**

1) захват нативного (неизмененного) антигенного материала путем фагоцитоза, пиноцитоза или эндоцитоза;

2) частичный протеолиз эндогенного материала в эндосомах в течение 30-60 мин;

3) синтез гликопротеиновых молекул главного комплекса гистосовместимости и транспорт комплекса несовместимости на поверхность АПК, где они представляются распознающим их лимфоцитам;

4) секрецию растворимых медиаторов, которые вызывают активацию лимфоцитов.

## **2. Механизмы реакции антиген-антитело.**

О том, что антитела способны связывать антиген, известно, можно сказать, со времени их открытия. Но полная картина такого взаимодействия стала понятна только во второй половине XX века после выяснения структуры антител и их антигенсвязывающих участков.

Как уже упоминалось выше, в непосредственное взаимодействие вступают не любые участки антитела и антигена, а строго определенные: ***антигенная детерминанта и антигенсвязывающий участок***. Решающим моментом в реализации такого взаимодействия является комплементарное совпадение пространственных конфигураций этих элементов сталкивающихся молекул, т.е. выступ на поверхности антигена (антигенная детерминанта) должен соответствовать по форме впадине (нише) между переменными доменами тяжелой и легкой цепи антитела. Необходимость такого пространственного соответствия диктуется тем, что связи, возникающие между образующими паратоп (поверхность ниши в антителе) и эпитоп (поверхность антигенной детерминанты) атомами, не являются

ковалентными и формируются только на очень коротких расстояниях. Такими связями являются: гидрофобные взаимодействия, вандерваальсовы силы, электростатические взаимодействия, водородные связи, причем гидрофобное связывание обеспечивает около половины общей энергии (силы) удержания молекул в комплексе.

## **2.1. Понятие термина антиген, его общее строение. Иммуногенность липидов, углеводов, нуклеиновых кислот и белков.**

**Антиген** - это органическое вещество биологического происхождения, способное вызвать иммунную реакцию. Антигеном может быть токсичное и даже безвредное для организма вещество, но, как правило, чужеродное для него.

Собственно слово «антиген» происходит от широко используемых в современных языках древнегреческих *анти* - противоположный, и *генез* - рождающий. Кто и когда применил это слово для обозначения агентов, вызывающих ответную реакцию иммунной системы, история умалчивает. Но, вероятно, авторы термина имели в виду то, что при введении в организм болезнетворного начала (например, патогенных бактерий) в организме развивается что-то, действующее противоположным болезнетворному началу образом, поскольку результатом такой реакции является предотвращение болезни в дальнейшем. Таким образом, антиген - это что-либо, вызывающее рождение себе противоположного.

В ранний период формирования иммунологии под антигеном всегда однозначно понимали организмы или вещества, имеющие отношение к инфекционным заболеваниям. Затем в результате открытия таких явлений, как продукция специфичных к веществам растительного происхождения антител, гиперчувствительность и различий людей по группам крови, трактовка этого термина расширилась. В настоящее время термин антиген используют в нескольких имеющих общую основу значениях.

Чисто иммунологическая современная трактовка такова: **антиген - это агент, способный вызвать реакцию иммунной системы и специфично взаимодействовать (связываться) с продуктами этой реакции.**

Фактически, чтобы признать какое-либо вещество антигеном, необходимо подтвердить наличие у него **трех основных свойств: иммуногенности, антигенности и специфичности.** Поскольку каждый конкретный организм невосприимчив (иммунотолерантен) по отношению к собственным антигенам, т.е. в норме (без патологии) не отвечает на свои обладающие тремя выше указанными свойствами молекулы, приходится добавлять к основным свойствам антигенов **четвертое - чужеродность.**

С учетом этого под **иммуногенностью** следует понимать способность вызвать иммунный ответ при введении во внутреннюю среду другого организма. **Антигенность** - это способность вступать во взаимодействие с продуктами вызванного именно этим веществом иммунного ответа. **Специфичность** как свойство фактически вытекает из двух предыдущих - каждый антиген вызывает свой иммунный ответ и это подтверждается тем,

что взаимодействия с продуктами вызванного другим антигеном иммунного ответа, как правило, не наблюдается.

Вещества, обладающие всеми четырьмя свойствами, принято называть **полными антигенами**. Необходимость введения этого понятия появилось в 30-е годы XX столетия, когда было обнаружено, что некоторые вещества обладают антигенностью, но лишены иммуногенности.

В антигене можно выделить две части - молекулу носителя, иммунологически нейтральное высокомолекулярное органическое соединение с массой свыше 10 кД, и размещенные на ее поверхности несколько низкомолекулярных групп - **гаптенов**, которые имеют органическую или неорганическую природу и предоставляют всей молекуле способностью вызывать иммунный ответ. Термин «гаптен» был выбран не случайно - *гапто* по-гречески означает «прикрепляю». Такие антигены называют полными в отличие от **неполных антигенов**, к которым относятся вещества, которые сами не способны вызвать иммунный ответ, но приобретают такую способность после соединения с белком-носителем. Так, в частности, низкомолекулярные вещества, попав в организм, могут приобретать антигенные свойства после их соединения с макромолекулами этого организма. В таком случае они выступают в роли гаптенов.

Из этих экспериментов были сделаны важнейшие и далеко идущие выводы.

➤ **Во-первых**, стало понятно, что иммунная система узнает не весь антиген сразу и целиком, а отдельные его фрагменты.

➤ **Во-вторых**, антитела взаимодействуют не со всей молекулой антигена и не с любым его участком, а со строго конкретным.

➤ **В-третьих**, для выработки иммунного ответа и для взаимодействия антигена с антителом важна пространственная структура молекулы антигена.

➤ **В-четвертых**, для индукции иммунного ответа действительно важен размер молекулы антигена.

Согласно этим представлениям обладающая антигенными свойствами молекула должна иметь поверхностные, доступные для взаимодействия с антителами или рецепторами иммунокомпетентных клеток участки. Эти участки получили название **антигенные детерминанты**, а их наружная поверхность, способная обеспечивать слабые химические взаимодействия с соответствующим участком антитела или рецептора клетки, название **эпитоп**.

Детерминанта - это небольшая часть молекулы антигена (4-10 аминокислотных остатков), которая непосредственно соединяется с рецепторной зоной антитела. В белковой молекуле антигена может быть несколько детерминант, причем они могут иметь различную специфичность. Следует заметить, что для антигенов полисахаридной природы (например, агглютиноген системы АВО-групп крови) детерминанты организованы моносахарами.

Антигены бывают видовые, а у позвоночных животных также групповые и индивидуальные, тканевые и тому подобное. Кроме того, у

животных разных видов отмечают антигены с одинаковыми антигенными детерминантами. Это гетероантигены. Так, антигена Ферсмана, который есть в эритроцитах коней, собак, мышей, кур, нет у человека, обезьян, кроликов, крыс, уток. Антигены группы крови А обнаружены у вируса гриппа, что можно рассматривать как приспособление вируса к проникновению в организм человека

Количество антигенных детерминант принято называть **валентностью антигена**, а сами антигены в зависимости от этого свойства разделять на **моновалентные, поли- и мультивалентные**. Различие между поливалентными и мультивалентными антигенами базируется на том, что антигенные детерминанты одной молекулы могут быть разными (поливалентность), или одна и та же антигенная детерминанта может повторяться несколько раз, как это характерно для полимеров регулярного строения (мультивалентность).

Если сравнивать между собой основные классы природных органических веществ, то липиды обладают наименее выраженной иммуногенностью и антигенностью.

Низкомолекулярные углеводы неиммуногенны по такой же причине, но даже при значительной массе полимерных углеводов их антигенные свойства выражены очень слабо.

Подтверждением роли именно пространственной структуры молекул в проявлении их антигенной активности являются липополисахариды. Даже при относительно небольшой молекулярной массе они проявляют ярко выраженные антигенные свойства, что наглядно проявляется при изучении антигенных свойств бактерий, у которых такие вещества входят в состав капсул или клеточных стенок.

Имеющие самую большую массу полимерные нуклеиновые кислоты (например, ДНК) также не являются антигенами. Поначалу это кажется странным, потому что именно по последовательности нуклеотидов в ДНК все организмы (за исключением однояйцевых близнецов) и отличаются друг от друга. Но достаточно вспомнить пространственную организацию молекулы ДНК, и все становится понятным: хотя азотистые основания нуклеотидов имеют жесткую хорошо выраженную конфигурацию, они обращены в двойной спирали друг к другу и фактически скрыты внутри молекулы, а наружная поверхность ДНК не имеет выраженных антигенных детерминант.

Белки, будучи сложными гетерополимерами со сложной пространственной структурой, обладают наиболее хорошо выраженными антигенными характеристиками. Именно для них была установлена минимальная молекулярная масса, обеспечивающая иммуногенность - 5 000. Именно они имеют максимально выраженную антигенную валентность, которая возрастает с увеличением молекулярных масс. Например, у яичного альбумина (мол. масса 44 000) валентность равна 5, у тиреоглобулина (650 000) - 40, у гемоглобина (650 000) - 231.

Учитывая значимость белковых молекул для жизни практически любых живых существ, их многообразие, существующее в природе с начальных этапов развития жизни, можно полагать, что иммунные системы высших животных постоянно эволюционировали и совершенствовались, прежде всего, под воздействием белковых антигенов. Поэтому именно для их распознавания и удаления из организма иммунная система наиболее приспособлена.

**2.2. Классификация антигенов.** Так, можно классифицировать антигены по:

**А) их отношению к организму**, в котором они вызывают иммунный ответ. При таком подходе принято выделять:

➤ **аутоантигены** - собственные антигены организма, на которые по тем или иным причинам отреагировала иммунная система. Как правило, такая реакция приводит к иммунопатологическим состояниям;

➤ **изоантигены** - антигены генетически идентичных организмов;

➤ **гомо- (алло-) антигены** - антигены разных особей одного и того же вида;

➤ **гетеро- (ксено-) антигены** - антигены особей любого другого вида;

➤ **комплексные антигены** - возникают как результат объединения своих и чужеродных молекул.

**Б) По структурной организации антигенов** их принято делить на две группы: так называемые **растворимые** антигены и **корпускулярные** (партикулированные) антигены. В первую группу входят все антигены, представленные собственно молекулами, причем любой сложности. Вторую составляют состоящие из множества различных молекул иммуногенные агенты (фрагменты клеток или вирусов, не разрушенные вирусные частицы или клетки микроорганизмов, клетки других высших организмов). Естественно, при попадании корпускулярных антигенов в организм в нем развивается несколько иммунных ответов на конкретные составляющие такой антиген молекулы. Важно то, что совокупность таких ответов обеспечивает конечный результат - удаление из организма чужеродного агента, например болезнетворных бактерий.

**В) по эффекту, который они оказывают на иммунизируемый организм**. В частности, агенты, вызывающие после первичного попадания в организм отсутствие реакции иммунной системы на последующие контакты организма с ними (толерантность), называют **толерогенами**. Агенты с противоположным действием, т.е. вызывающие повышенную реактивность организма на вторичные попадания, чаще всего называют **аллергенами**.

### **2.3. Механизм взаимодействия антиген-антитело.**

**Антитело** - это белковая молекула, которая специфически взаимодействует с соответствующим антигеном. Все антитела принадлежат к гамма-глобулинам сыворотки крови. Функция иммуноглобулинов очень хорошо выражена только у птиц и млекопитающих.



Структурно иммуноглобулин (антитело) состоит из большой белковой молекулы, в которой есть относительно небольшая (до 20 аминокислот) активная отличительная группа – рецептор. Он обеспечивает специфичность этого антитела, которая основана на высоком соответствии (комплементарности) структуры активного центра антитела и детерминантных групп антигена, причем соответствие должно быть не только в пространственной конфигурации аминокислотных радикалов обеих взаимодействующих молекул, но и в их электрических зарядах (рис. 18).

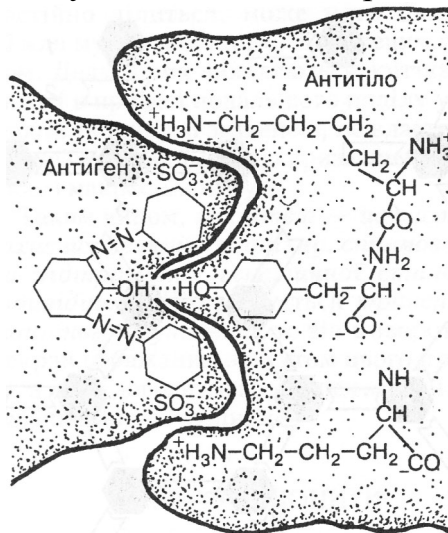


Рис. 18. Взаимодействие антигена с антителами

Процесс распознавания определяется слабыми межмолекулярными (вандерваальсовыми) взаимодействиями, которые действуют на очень малых расстояниях между молекулами. А последнее возможно лишь при полном соответствии отличительной части антитела детерминантам антигена. Специфический иммунитет заключается в том, что каждой антигенной детерминанте соответствует определенное и лишь одно антитело, производится группой (клоном) лимфоцитов. Если культуру ткани выращивать из одного лимфоцита и заставить ее производить антитела, то все образованные молекулы антител будут против одного антигена - это моноклональные антитела.

Вследствие контакта антитела с соответствующим антигеном образуется прочный комплекс антиген-антитело, в котором антиген теряет свои патогенные свойства, нейтрализуется или уничтожается. В результате возможны различные последствия, которые, прежде всего, зависят от валентности взаимодействующих молекул, то есть от количества детерминантных групп антигена и рецепторных групп антитела; в антигене их может быть много, тогда как антитело имеет одну или две рецепторную группу. В случае, если реагирующие компоненты имеют по одной контактной группе (рис. 19 а), объединение комплекса антиген-антитело в группы не происходит и внешних проявлений иммунной реакции нет. При наличии двух рецепторных групп у антитела и нескольких детерминант на

антиген могут образовываться большие группы молекул: происходит их склеивание, осаждения и т.д. (рис. 19 б).

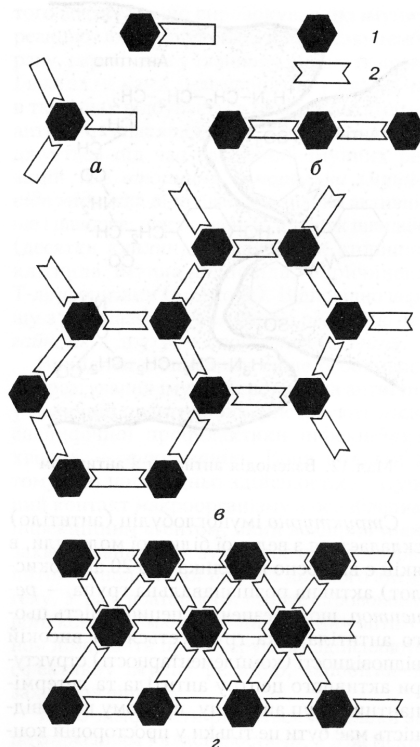


Рис. 19. Формы комплексов антиген-антитело:

1- антиген; 2 антитело; антитело имеет одну контактную группу (рецептор) (в); антиген - две (б), три (в), шесть (г) детерминантных групп

Анализируя *взаимодействие антиген-антитело, можно отметить несколько особенностей:*

1) Оно может реализоваться только в среде электролитов, поскольку часть описанных выше связей между эпитопом и паратопом возникают только в условиях, обеспечивающих формирование несущих заряды поверхностей. Во внутренней среде организма животных такие условия реально присутствуют, но при постановке реакций антиген-антитело *in vitro* это необходимо учитывать;

2) Оптимальной концентрацией ионов солей для таких реакций является концентрация **0,85 %**, а ионная сила растворов должна быть в пределах **0,5-0,1**. Значительное повышение концентрации солей приводит к распаду комплексов антиген-антитело, в частности, 15 % раствор NaCl используют для получения компонентов реакции в свободном состоянии;

3) Оптимальный интервал значений **pH - 6,4-8,6**. При изменениях pH до значений более 9,0 или менее 5,0 происходит сдвиг реакции в сторону диссоциации комплексов, что также используется при выделения антител или антигенов;

4) Оптимальной для взаимодействия температурой является **37<sup>0</sup> C**, но образование комплексов антиген-антитело происходит и при более низких температурах достаточно эффективно. Например, ориентировочные реакции агглютинации ставят при комнатной (18-20<sup>0</sup>C) температуре.

Повышение температуры на несколько градусов (до 40<sup>0</sup>С) не сказывается на эффективности взаимодействия, но более высокие температуры (60<sup>0</sup>С) стимулируют распад комплексов антиген-антитело, что также можно применить для получения чистых фракций антигена или антитела. Считается, что температурный параметр реакции в большей степени зависит от антител, чем от антигенов, поскольку у млекопитающих, и в частности у человека, выявлены так называемые холодовые антитела. Они взаимодействуют с антигенами только при температурах ниже 37° С;

5) При постановке реакций антиген-антитело *in vitro* видимые результаты реагирования проявляются не сразу после смешивания растворов реагентов, а по истечении определенного времени. В связи с этим реакцию антиген-антитело условно разделяют на фазу взаимодействия и фазу проявления. Условность такого разделения заключается в том, что собственно взаимодействие между паратопом и эпитопом при их правильном расположении друг относительно друга осуществляется мгновенно, однако до фазы проявления может проходить от нескольких минут до нескольких суток. Следует также помнить, что в зависимости от свойств и концентраций взятых в реакцию антител и антигенов проявление результатов взаимодействия может существенно различаться.

Агрегирование антигенов и антител имеет значение не только при постановке реакций *in vitro*. Наличие в молекуле иммуноглобулинов как минимум двух идентичных антигенсвязывающих фрагментов явно не является случайностью. Происходящая в организме агглютинация усиливает иммобилизацию активнодвигающихся чужеродных агентов (например, бактерий) и значительно ускоряет их уничтожение путем фагоцитирования. То же самое можно отнести и к диффузионнодвигающимся чужеродным молекулам (например, обладающим антигенными свойствами токсинов), которые, входя в состав преципитата, как правило, утрачивают вредные для организма свойства и с большей вероятностью обнаруживаются и уничтожаются фагоцитами. В обоих случаях будет иметь место наиболее эффективный иммунный фагоцитоз, при котором достаточно взаимодействия одного из вошедших в агрегат иммуноглобулинов с рецепторами фагоцитирующей клетки, чтобы все находящиеся в агрегате чужеродные агенты были уничтожены.

### 3. Характеристика иммунных реакций

Среди иммунных реакций наиболее изученными следующие.

**Реакция преципитации** - осаждение комплекса антиген-антитело в результате агрегации отдельных комплексов в большие частицы и выпадения в осадок. Раствор при этом мутнеет.

**Реакция агглютинации** – склеивание частиц (бактерий, клеток или их частиц) соответствующим антителом. В результате образуются большие скопления - комки частиц, заметные невооруженным глазом, как, например, при агглютинации эритроцитов в плазме несовместимой группы крови.

Реакция агглютинации, как и предыдущая, осуществляется с участием бивалентных (полных) антител.

Наиболее показательными в плане визуализации являются именно эти две реакции агглютинации и преципитации, при которых образуются фиксируемые невооруженным взглядом агрегаты, состоящие из множества единиц антигенов и антител.

Собственно феномен агглютинации (преципитации) заключается в следующем. При случайных столкновениях антигенов и антител в растворе возможны ситуации, когда одна молекула антитела присоединяется одним из своих антигенсвязывающих участков к антигенной детерминанте на одной антигенной частице, а вторым - к такой же, но находящейся на другой частице. Тем самым две такие антигенные частицы оказываются связанными в агрегат. Поскольку антигены в таком агрегате поливалентны, возможны реализующиеся по такой же схеме взаимодействия с новыми молекулами антител, а значит, укрупнение уже существующих агрегатов и постепенное выпадение их в осадок. Характер выпадающего осадка, прежде всего, зависит от свойств антигенной частицы. Чем больше она имеет размеры, тем короче будет фаза взаимодействия и тем более выраженным будет осадок. Кроме того, важным является количество доступных для связывания антигенных детерминант. При наличии двух детерминант образуются агрегаты в виде цепочек или небольших колец (слабо видимый, медленно образующийся осадок). При увеличении количества детерминант возрастает вероятность образования агрегатов в виде трехмерных решеток (сеток), имеющих гораздо большие размеры. Соответственно скорость образования и выраженность осадков увеличиваются.

Существенным для проявления результатов агглютинации и преципитации является и состав участвующих в реакции антител. Если суспензия антител включает антитела различной специфичности, а антиген имеет несколько разновидностей комплементарных этим антителам антигенных детерминант, вероятность образования осадков возрастает. Поэтому так называемые поликлональные антитела, получаемые из сывороток иммунизированных конкретным поливалентным антигеном животных, являются более предпочтительными в подобных реакциях, чем обладающие только одним типом специфичности моноклональные антитела.

Все описанные выше особенности в равной мере касаются и агглютинации и преципитации, поскольку принципиальных различий между ними нет. Применение этих двух терминов сложилось исторически и сохраняется, скорее, как дань традициям. Агглютинацией принято считать осаждение антителами корпускулярных антигенов (клеток, вирусных частиц или состоящих из множества молекул их фрагментов), преципитацией - осаждение молекул, обладающих антигенными свойствами.

**Реакция лизиса** - растворение клеток или их компонентов под воздействием специфических антител. Эта реакция, как правило, возникает после агглютинации клеток и происходит при обязательном участии

комплемента - совокупности многих неспецифических белковых факторов сыворотки крови, способных усиливать иммунные реакции.

В макроорганизме описанные выше иммунные реакции происходят в определенной последовательности и тесной взаимосвязи. В результате осуществления сложного комплекса этих и других реакций развивается иммунный ответ, который приводит к уничтожению (элиминации) антигена.

При нормальных условиях в организме нет антител к собственным антигенам. Неприродным есть явление выработки таких антител - аутоантител. Оно наблюдается чаще всего в ответ на появление собственных антигенов, измененных под влиянием различных факторов: токсинов, вирусов, бактерий, химических или физических (лекарственных средств, облучения, ожога и т.д.), или после некоторых заболеваний, например, антикардиальные антитела у больных после повторного инфаркта миокарда. Такие антитела провоцируют или усиливают патологический процесс и таким образом теряют свою защитную направленность. Еще одним отклонением в функции иммунной системы является аллергическая реакция.

Биологическое значение реакций антиген-антитело состоит в обезвреживании патогенного агента и поддержании нормального функционирования макроорганизма. Однако в некоторых случаях развивается повышенная чувствительность (гиперсенситилизация) организма к какому-то антигену, иногда даже биологически нейтрального - запаха какого-то растения, раствора безвредного вещества и тому подобное. И тогда вторичный иммунный ответ может быть настолько интенсивной, что может наносить вред этому организму. Развивается аллергическая реакция: затруднение дыхания вследствие бронхоспазма, покраснение и высыпание на коже, ощущение зуда. В таких случаях прибегают к угнетению иммунной системы организма лекарственными средствами. Этот же прием используют также, чтобы предотвратить отторжение пересаженного человеку органа, ведь полной иммунной совместимости органов донора и реципиента практически достичь не удастся.

Проявление иммунного ответа специфической иммунной системы разнообразно. В случае, если мутировавшая клетка организма приобретает свойства, отличные от свойств генетически присущих ему клеток (например, опухолевые), Т-киллеры поражают клетки самостоятельно, без вмешательства других элементов иммунной системы. В-киллеры также уничтожают распознанные антигены, покрытые нормальными антителами, самостоятельно. Полный иммунный ответ возникает против некоторых антигенов, впервые проникших в организм. Макрофаги, фагоцитируя такие антигены вирусного или бактериального происхождения, не могут их полностью переварить и через некоторое время выбрасывают. Антиген, прошедший через фагоцит, несет на себе метку, свидетельствующую о его «неперевариваемости». Фагоцит таким образом подготавливает антиген к «подаче» в систему специфической иммунной защиты. Он распознает антиген и соответствующим образом его метит.

Таким образом, специфический иммунный ответ предусматривает различные случаи взаимодействия антигена и иммунной системы. В нем участвуют комплемент, подготавливающий антиген к фагоцитозу, фагоциты, обрабатывающие антиген и подающие его лимфоцитам, Т– и В-лимфоциты, иммуноглобулины и другие составляющие. В процессе эволюции выработались различные сценарии борьбы с чужеродными клетками. Еще раз следует подчеркнуть, что иммунитет является сложной многоэлементной системой. Но, как и любая сложная система, иммунитет имеет недостаток. Дефект одного из элементов приводит к тому, что может отказать вся система. Возникают болезни, связанные с иммунодепрессией, когда организм не может самостоятельно противодействовать инфекции.

## ЛЕКЦИЯ 9

### ИММУНИТЕТ К ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ

1. Понятие врожденного и приобретенного иммунитета
2. Понятие естественного и искусственного иммунитета. Виды вакцин и вакцинных препаратов
3. Пути получения трансгенных организмов для производства вакцинных препаратов

#### 1. Понятие врожденного и приобретенного иммунитета

В современном понимании иммунитет к заразным болезням следует разделять на **врожденный** (он же наследственный или видовой) и приобретенный (или индивидуальный). Такого рода разделение базируется на следующем. Любая вызванная инфекционным началом болезнь с биологической точки зрения представляет собой случай симбиоза, т.е. продолжающегося какое-то время сожительства как минимум двух организмов, один из которых (так называемый хозяин) является средой обитания для другого. Причем, поскольку речь идет о болезни, такое сожительство для хозяина неблагоприятно, и такого рода симбиоз следует расценивать как паразитизм, а возбудителя болезни следует называть паразитом. Все случаи паразитизма, которые доводится наблюдать в окружающей нас природе, представляют результат длительной совместной эволюции когда-то вступивших в симбиотические взаимоотношения видов, и инфекционные болезни в данном случае не являются исключением.

Как уже упоминалось выше, большинство видов высокоорганизованных животных обладают защитными факторами, препятствующими заселению своей внутренней среды какими-либо другими организмами. Приобретение и совершенствование этих факторов в ходе эволюционного процесса организмов-хозяев приводило к тому, что многие стремящиеся к колонизации и использованию других организмов виды утрачивали способность поражать организмы, ранее служившие им хозяевами. Но, с

другой стороны, эволюция паразитических видов, проходившая при постоянном контакте с видами-хозяевами, приводила к совершенствованию факторов патогенности и вирулентности паразитов.

Поэтому все наблюдаемые нами сочетания хозяин-паразит отличаются, во-первых, высокой степенью специфичности, а во-вторых, являются примером достигнутого в ходе эволюции равновесия между защитными факторами хозяина и факторами патогенности и вирулентности паразита. Условно говоря, если бы в длительной многовековой борьбе хозяина и паразита победил любой из противодействующих партнеров, это привело к исчезновению в ходе эволюции какого-либо из данных видов, и мы бы не имели возможности наблюдать такое сочетание как инфекционное заболевание. Вероятно, именно с таких позиций можно объяснять невосприимчивость, например, человека, как *Homo sapiens*, ко многим болезням, поражающим другие виды млекопитающих. Такой иммунитет и принято считать **врожденным или видовым**, поскольку любая особь данного вида защищена от паразитов других видов возникшими в ходе эволюции именно данного вида особенностями.

Понятие же **приобретенного иммунитета** касается защиты от тех паразитов, которые способны преодолевать конститутивные защитные барьеры (непроницаемость покровов, фагоцитоз, комплемент, воспаление) организмов конкретного вида. Причем такого рода защита возникает уже только в результате контакта с инфекционным началом и у каждой особи данного вида независимо от других, поэтому его и называют **индивидуальным**. В формировании такого иммунитета основную роль играют специальные защитные факторы и именно здесь наиболее полно проявляют себя особенности специализированной системы организма, называемой иммунной.

## **2. Понятие естественного и искусственного иммунитета. Виды вакцин и вакцинных препаратов**

Базируясь на данных медицины, микробиологии и иммунологии, люди получили возможность направленно вызывать приобретенный иммунитет к инфекционным заболеваниям, поэтому в настоящее время его принято делить на **искусственный и естественный**.

**Искусственный иммунитет.** Искусственный иммунитет можно вызвать двумя основными путями.

**Первый** предполагает обеспечение контакта с болезнетворным началом, осуществляемого таким образом, чтобы иммунная система получила возможность специфически на него отреагировать, но при этом в организме не развились симптомы заболевания в той степени, которая характерна для возникшей естественным путем болезни. В идеале вакцины – препараты, с помощью которых создают искусственный иммунитет - вообще не должны вызывать у вакцинированных каких-либо нежелательных реакций, однако не все из производимых в настоящее время вакцин этому требованию соответствуют.

Современные применяемые в ветеринарии и медицине для профилактики или лечения вакцинные препараты принято условно делить на несколько групп.

**1.** Прежде всего, это так называемые **живые вакцины**, содержащие жизнеспособные болезнетворные микроорганизмы, но такие их варианты, которые не способны вызвать заболевание. Из применявшихся в практике вакцинации препаратов известны так называемые *гетеро- и гомологичные живые вакцины*. Примерами гетерологичных вакцин являются вакцинные препараты Э. Дженнера и противотуберкулезные вакцины на основе возбудителя мышиного туберкулеза. В обоих этих случаях в организм прививаемых людей вводили микроорганизмы, вызывающие сходные заболевания у других млекопитающих - коров и мышей соответственно. *Под гомологичными живыми вакцинами* понимают штаммы микроорганизмов, относящиеся к патогенному для человека виду, но имеющие более низкую степень патогенности и вирулентности по сравнению с обычными штаммами. Получить такие аттенюированные (т.е. ослабленные по вирулентности) штаммы можно либо путем пассирования через организм маловосприимчивого хозяина, либо путем длительного культивирования на питательных средах без контакта с хозяином, либо путем отбора спонтанных или индуцированным мутантов исходных высоковирулентных форм. При этом в ходе получения пригодного для вакцинации штамма необходимо так произвести ослабление вирулентности, чтобы не произошло исчезновение или сильное ослабление иммуногенности, т. е. способности вызывать иммунный ответ. Следует ответить, что именно по способности вызывать хорошо выраженный иммунный ответ живые вакцины превосходят все другие вакцинные препараты. Объяснением этому, вероятно, является сохранение живой клеткой или вирусной частицей большинства антигенов, на которые способны реагировать иммунная система, что и делает иммунный ответ наиболее широким по набору антител и клеток иммунологической памяти и, следовательно, более полноценным.

**2.** Вторую группу составляют препараты, содержащие не разрушенные, но лишенные жизнеспособности клетки или вирусные частицы возбудителя, так называемые **убитые вакцины**. Для их получения стараются применять такие способы умерщвления микроорганизмов (нагревание, обработка определенными химическими веществами), которые бы не разрушали их основные антигены. Естественно, что в каждом конкретном случае при разработке того или иного препарата приходится эмпирически подбирать условия обработки, что обусловлено особенностями строения антигенов различных возбудителей. Такие вакцины считаются более безопасными, поскольку по сравнению с вакцинами первой группы вызвать заболевание даже у лиц с ослабленным иммунным статусом они не способны.

Однако и у этих препаратов имеются свои недостатки:

➤ **во-первых**, возникающий после их введения иммунитет обычно менее продолжителен и является более слабым по напряженности (выраженности), чем после введения вакцин первой группы;



➤ **во-вторых**, большинство таких вакцин может давать нежелательные побочные эффекты, особенно у лиц, предрасположенных к аллергическим реакциям.

Для предотвращения такого рода нежелательных эффектов еще в начале XX века было предложено химически очищать препараты убитых и разрушенных бактериальных клеток или вирусных частиц от так называемых балластных (т.е. необязательных для выработки нужного иммунного ответа) компонентов. Это привело к появлению еще двух групп вакцинных препаратов.

**3.** Прежде всего, базируясь на проведенных в конце XIX века исследованиях медиков и микробиологов, иммунологи пришли к выводу, что при некоторых заболеваниях основное поражение организма-хозяина возникает под действием конкретных вырабатываемых патогеном веществ - токсинов и что для защиты организма от данной болезни достаточно выработки им антител именно против таких токсинов. Эксперименты, в которых организмам в небольших дозах вводили очищенные препараты токсина, подтвердили правильность такого направления, и дальнейшие исследования привели к созданию особой **третьей** группы вакцин, так называемых **анатоксинов**. Это используемые для вакцинации препараты, содержащие особым образом обработанный очищенный токсин, причем его обработка должна проводиться так, чтобы токсин утратил свои токсические свойства (отсюда название: приставка «ана-» обозначает в данном случае отрицание, т.е. «нетоксин»), но обязательно сохранил иммуногенность, т.е. способность вызывать иммунный ответ.

**4.** Однако не во всех случаях симптомы заболевания связаны только с токсинами и для выработки полноценного иммунного ответа необходима выработка антител против конкретных антигенов бактериальных клеток или вирусных частиц. Очищая и концентрируя такие конкретные антигены, и создают вакцины **четвертой группы**. Поскольку при изготовлении таких препаратов применяют методы химической очистки веществ, такие вакцины традиционно называют в русскоязычной литературе **химическими**. Хотя такие вакцины, к сожалению, дороги в производстве, их безопасность и наименьшая способность вызывать нежелательные побочные эффекты делает эти вакцины наиболее предпочтительными для применения.

В конце XX века благодаря развитию генетической инженерии появились новые возможности получения таких вакцин. Особенные трудности в получении любых вакцинных препаратов создает обязательное обеспечение строжайших мер безопасности при работе с патогенами, поэтому возможности клонирования генов, контролирующей выработку основных антигенов болезнетворных бактерий или вирусов, и переноса их в другие организмы открывают огромные перспективы. Получение рекомбинантных (трансгенных) организмов, синтезирующих основные антигены возбудителей, значительно бы упростило и удешевило производство вакцинных препаратов.

### 3. Пути получения трансгенных организмов для производства вакцинных препаратов

Исследования такого рода интенсивно проводятся во многих странах и здесь можно выделить несколько основных направлений.

1. **Первое** - это *получение трансгенных одноклеточных* (бактерий и дрожжей), в клетках которых добиваются повышенной экспрессии генов болезнетворных бактерий или вирусов;

2. **Второе** - это *получение рекомбинантных вирусов* на основе вирусов растений и вирусов, вызывающих заболевания у человека или животных. Желательно, чтобы такие гибридные вирусные штаммы сохраняли способность репродуцироваться в клетках растений, но при этом не вызывали у растения серьезного заболевания и, конечно же, обеспечивали синтез антигенов вирусов, патогенных для млекопитающих. Размножение таких гибридных вирусов в растениях и последующее выделение уже из растительного материала нужных для создания вакцины антигенов дает возможности получения наиболее дешевых вакцинных препаратов;

3. **Третье** направление предполагает получение трансгенных растений, способных синтезировать нужные антигены. Из биомассы таких растений также можно получать вакцинные препараты различного назначения или же, если антиген может вызвать иммунный ответ при пероральном (через рот) введении, такие растения можно будет употреблять в пищу не только как продукт питания, но и как вакцинный препарат.

Поскольку широкомасштабная вакцинация населения и сельскохозяйственных животных требует значительных затрат не только на производство препаратов, но и на их применение (имеется в виду оплата труда осуществляющих введение вакцин медиков и ветеринаров), ведутся разработки так называемых комплексных вакцин, содержащих антигены различных болезнетворных микроорганизмов. Так называемые ди-, три- и поливакцины уже имеют применение, и проводится постоянная работа по созданию новых подобных препаратов.

Создаваемый с помощью вакцин искусственный иммунитет называют **активным**, поскольку в организме вакцинируемых в результате развившегося иммунного ответа сохраняются клетки иммунной памяти и при последующих контактах с таким же возбудителем организм отвечает выработкой антител. Такая форма иммунитета, как правило, сохраняется в течение нескольких лет.

Вторая же форма искусственного иммунитета создается путем введения в организм уже готовых, выработанных в другом организме антител против конкретного возбудителя. Этот иммунитет сохраняет свою эффективность, как правило, около месяца, поскольку введенные антитела постепенно разрушаются в плазме крови, а собственных антител, способных защитить от данного возбудителя, организм не вырабатывает. Поэтому такой создаваемый с помощью содержащих антитела препаратов (их обычно называют сыворотками) искусственный иммунитет называют **пассивным**.

Получение сывороток, пригодных для создания искусственного пассивного иммунитета, осуществляют чаще всего путем проводимой по специальной схеме длительной иммунизации животных возбудителем какого-либо заболевания человека. Возможно также получение сывороток и из донорской крови высокоиммунных по отношению к конкретной болезни людей, однако такие сыворотки изготавливают значительно реже.

Для профилактики инфекционных болезней применяют обе формы искусственного иммунитета, но активный искусственный иммунитет имеет гораздо более широкое распространение. Более чем столетняя история применения массовых прививок (так традиционно называют введение вакцин медики) наглядно показала, что иммунизация населения с помощью вакцин является наилучшим способом борьбы с болезнетворными микроорганизмами. Поскольку большинство возбудителей болезней - это облигатные паразиты, путем создания искусственного активного иммунитета у большинства людей можно добиться такой ситуации, когда вероятность распространения и поддержания такого вида будет ничтожно мала или же вообще невозможна. По данным эпидемиологов, угроза эпидемий исчезает по достижении иммунитета у 75% населения, а более высокий процент иммунных людей может привести полному исчезновению возбудителя того или иного инфекционного заболевания как вида. Примерами эффективности такого подхода может служить отсутствие в настоящее время эпидемий оспы и полиомиелита, ранее наносивших огромный урон человечеству.

С целью профилактики инфекционных болезней пассивный искусственный иммунитет создают, как правило, только у определенного контингента лиц, вынужденных по службе или в силу складывающихся обстоятельств контактировать с болезнетворным началом (врачи, обслуживающий персонал медучреждений, работники соответствующих научно-исследовательских лабораторий и производств). Могут также получать инъекции сывороток и люди, вынужденно контактировавшие больными во время вспышки, например, родственники и соседи заболевших.

**Естественный иммунитет.** Естественный иммунитет возникает без вмешательства человека и также представлен двумя формами. Возникающая после перенесенного заболевания невосприимчивость к некоторым болезням, или так называемый **постинфекционный иммунитет**, имеет в своей основе развитие у болеющего иммунного ответа, приводящего к формированию и длительному (иногда на всю оставшуюся жизнь) сохранению в организме соответствующих клеток иммунной памяти. Фактически то, чего медики пытаются достичь путем вакцинации, в данном случае происходит естественным образом, и данная форма защиты организма именуется **естественным активным** иммунитетом.

Аналогично **естественный пассивный** иммунитет может возникать как результат попадания во внутреннюю среду организма антител, продуцируемых другим организмом. Единственной ситуацией, при которой возможно естественное проникновение антител из одного организма в другой, является период внутриутробного развития у млекопитающих.

Установлено, что иммуноглобулины класса G способны преодолевать плацентарный барьер и перемещаться в кровь развивающегося плода из материнского организма. Если концентрация определенных антител оказывается достаточно высокой, то после рождения, до тех пор, пока еще сохраняются материнские антитела, младенец может быть невосприимчив к конкретному заболеванию. Необходимо отметить, что в медицинской литературе достаточно часто такой иммунитет называют врожденным, чего по современным представлениям делать не следует, поскольку данная форма зависит от иммунного состояния матери и проявляется не у каждого родившегося, т.е. относится не к видовому, а к индивидуальному иммунитету. Гораздо более удачным и наиболее распространенным в настоящее время вторым названием естественного пассивного иммунитета следует считать термин *плацентарный* иммунитет.

Суммируя изложенную в этом разделе информацию, можно привести следующую схему соотношения форм иммунитета к инфекционным заболеваниям (рис. 20)

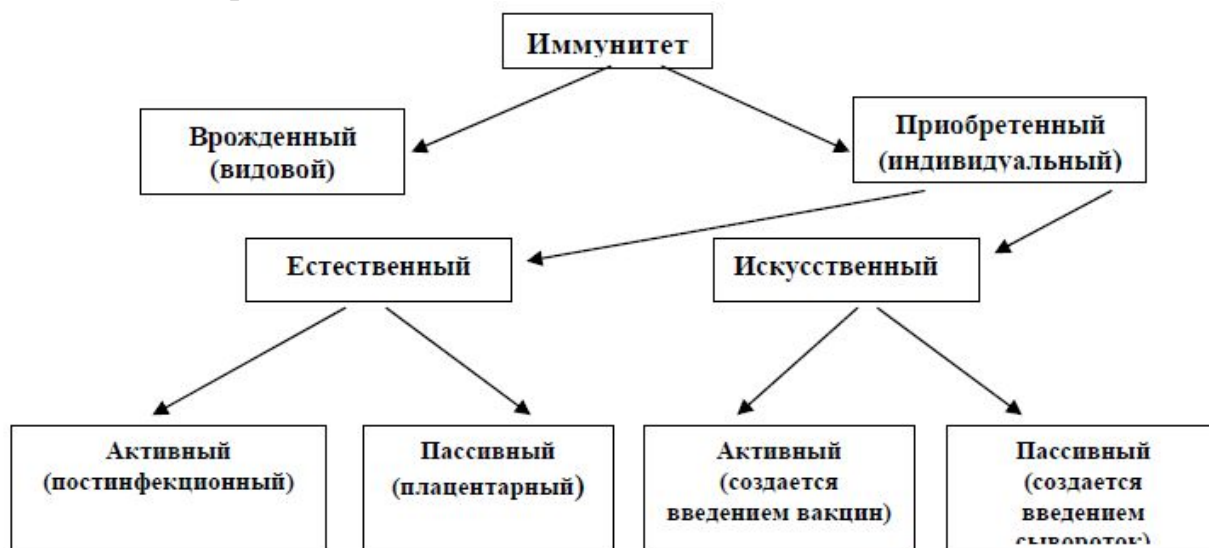


Рис. 20. Схема соотношения форм иммунитета к инфекционным заболеваниям (Песнякевич А.Г., 2007)

## ЛЕКЦИЯ 10

### ИММУННЫЙ СТАТУС. ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ

1. Общие закономерности функционирования иммунной системы
2. Понятие иммунного статуса и его основные характеристики
3. Иммунодефициты
  - 3.1. Врожденные иммунодефициты
  - 3.2. Приобретенные иммунодефициты
  - 3.3. Аутоиммунные заболевания
  - 3.4. СПИД

## 1. Общие закономерности функционирования иммунной системы

Нарушение механизмов реализации иммунного ответа приводит к различным патологиям иммунитета, опасным для здоровья и жизни. Наиболее часто встречающаяся форма такой патологии – иммунологическая недостаточность, или согласно общепринятой международной терминологии иммунодефицитные состояния. Вкратце рассмотрим общие закономерности функционирования иммунной системы.

**Во-первых**, эффективность работы иммунной системы основана на балансе ее компонентов. Каждый компонент иммунной системы в значительной степени повторяет функции других компонентов. Таким образом, дефект части компонентов иммунной системы зачастую может быть компенсирован другими компонентами иммунной системы. Поэтому, если у человека имеется дефект какого-либо иммунного компонента, в качестве вспомогательного средства необходимо использовать препараты, улучшающие метаболизм клеток.

**Во-вторых**, клетки иммунной системы осуществляют свои основные функции в активном состоянии. Главным стимулом для активизации всех клеток иммунной системы является антиген. Но существуют ситуации, когда антиген выступает в роли подавляющего фактора. Например, известен феномен так называемых ленивых лейкоцитов, которые недостаточно активно реагируют на чужеродный субстрат.

**В-третьих**, степень активизации иммунной системы связана с уровнем совокупности ее компонентов. У здоровых людей количество и интенсивность взаимосвязей между компонентами иммунной системы обычно минимальны. При возникновении воспалительного процесса во время активной работы иммунной системы их количество резко возрастает. При благоприятном исходе (после выздоровления) взаимосвязь компонентов вновь снижается. Хронический же процесс характеризуется поддержанием высокого уровня совокупности иммунных компонентов (в основном в несколько раз больше, чем у здоровых людей), что расценивается как синдром напряженности иммунной системы. Это объясняется тем, что при данных обстоятельствах иммунная система продолжает активно бороться с чужеродным агентом, поддерживая его на некотором компенсированном уровне, но не способна полностью его ликвидировать. Обострение хронического процесса можно объяснить срывом эффективной работы иммунной системы после длительного напряжения.

## 2. Понятие иммунного статуса и его основные характеристики

Характеристику *состояния иммунной системы организма, выраженную качественными и количественными показателями ее компонентов*, называют **иммунным статусом (иммунограммой)**. Определение иммунного статуса проводят с целью установления правильного диагноза и выбора метода лечения. Выявленные изменения иммунитета оцениваются не изолированно, а в комплексе с

индивидуальными особенностями состояния человека и данными других исследований.

Таким образом, иммунный статус определяет в сумме индивидуальную реактивность организма и отражает те границы взаимодействия с окружающей средой, за которыми нормальная реакция превращается в патологическую. Любое острое заболевание не является следствием того, что в окружающей человека среде имеются всевозможные болезнетворные бактерии. Если бы это было так, то люди постоянно болели бы. Но заболевают только те, кто реагирует на определенный вид бактерий, патологический для него.

Если исходить из этого, то можно сказать о трех уровнях реактивности организма, таких как: **толерантность, резистентность и иммунитет.**

**Толерантный** организм не имеет защиты от патологических факторов. Отсутствие защиты приводит к разрушению организма и смерти. Это происходит при иммунодефицитах.

**Резистентный** организм при встрече с патологическим агентом реагирует включением иммунной системы для борьбы с ним. Результат этой борьбы будет зависеть от мощности защитных механизмов количества и качества патогена. Эта борьба проявляется как патологический процесс.

**Иммунный** организм взаимодействует с возбудителем, и результат его реакции – это уничтожение возбудителя на уровне нормальной защиты организма. Но такое деление очень условно и относительно. Например, организм, толерантный к одному антигену, может быть резистентным к другому и иммунным к третьему. Кроме того, существуют и промежуточные виды реакций. Это относится к хроническим заболеваниям, когда защитные силы иммунитета не могут окончательно уничтожить антиген, но в то же время не предоставляют ему возможности разрушить больной орган или ткань. Эта борьба идет с переменными успехами, т. е. периоды ремиссии (выздоровления) сменяются периодами обострения хронического заболевания.

Таким образом, в борьбу с патогеном включаются все более высокие уровни организма, в том числе системы жизнедеятельности. Организм в этом случае работает на пределе. Компенсаторные реакции могут достигнуть такой силы, что начинают поражаться системы жизнеобеспечения. Например, при лихорадке температура тела в результате термических реакций может превысить допустимую и стать причиной смерти. В этом случае смерть является ценой адаптации. Это лишь единичный пример, но и он показывает, как важно для организма иметь хороший иммунологический статус.

Исследование иммунного статуса включает в себя:

- 1) определение группы крови и резус-фактора;
- 2) общий анализ крови с развернутой лейкограммой или формулой;
- 3) определение количества иммуноглобулинов;
- 4) исследование лимфоцитов;
- 5) исследование фагоцитарной активности нейтрофилов.

Кроме этого, существуют два этапа иммунологической диагностики. Первый этап выявляет «грубые» дефекты в иммунной системе. Исследования проводят с помощью простых, так называемых ориентировочных методов. Это тесты первого уровня. Поэтому методу определяют двадцать показателей: количество лейкоцитов, лимфоцитов, разнообразных подгрупп Т-лимфоцитов, уровни иммуноглобулинов (**Ig**) А, М, J, Е, концентрацию циркулирующих иммунных комплексов и др. На этом этапе учитываются количество клеток, их процентное соотношение и функциональная активность.

На втором этапе проводится более тщательный анализ состояния иммунитета, если были выявлены отклонения в ориентировочных тестах. Тесты второго уровня позволяют проследить изменения в содержании сложных веществ, участвующих в регуляции иммунного ответа (например, интерлейкина), а также количество клеток, несущих определенный вид иммуноглобулинов. Следует подробнее остановиться на расшифровке показателей иммунограммы.

### **Лейкоциты**

Норма –  $3,5-8,8 \times 10^9/\text{л}$ . Повышение числа лейкоцитов – это лейкоцитоз, снижение – лейкопения. Лейкоцитоз делится на физиологический и патологический. Причинами физиологического лейкоцитоза могут быть прием пищи (при этом количество лейкоцитов не превышает  $10-12 \times 10^9/\text{л}$ ), физическая работа, прием горячих и холодных ванн, беременность, роды, предменструальный период. По этой причине кровь следует сдавать натощак и перед этим не заниматься тяжелой физической работой. Для беременных, рожениц, детей установлены свои нормы.

Патологический лейкоцитоз бывает при инфекционных заболеваниях (пневмонии, менингите, общем сепсисе и др.), инфекционных заболеваниях с поражением клеток иммунной системы, различных воспалительных заболеваниях, вызванных микроорганизмами (фурункулезе, перитоните и т.д.). Но имеются и исключения. Например, некоторые инфекционные заболевания протекают с лейкопенией (брюшной тиф, бруцеллез, малярия, краснуха, корь, грипп, вирусный гепатит в острой фазе). Отсутствие лейкоцитоза в острой фазе инфекционного заболевания является неблагоприятным признаком, который свидетельствует о слабой сопротивляемости организма.

### **Лимфоциты**

Норма: абсолютное содержание –  $1,2-3,0 \times 10^9/\text{л}$ , но чаще в клиническом анализе крови указывается процентное содержание лимфоцитов. Этот показатель составляет 19–37 %. Различают также лимфоцитоз и лимфопению. Лимфоцитоз обнаруживается при хронической лучевой болезни, бронхиальной астме, тиреотоксикозе, некоторых инфекционных заболеваниях (коклюше, туберкулезе), при удалении селезенки. К лимфопении приводят ионизирующее излучение, аутоиммунные заболевания, эндокринные заболевания, прием гормональных препаратов, СПИД.

### **Т-лимфоциты**

Норма: относительное содержание 50–90 %, абсолютное –  $0,8–2,5 \times 10^9/\text{л}$ . Количество Т-лимфоцитов повышается при аллергических заболеваниях, в период выздоровления, при туберкулезе. Снижение содержания Т-лимфоцитов происходит при хронических инфекциях, иммунодефицитах, опухолях, стрессах, травмах, ожогах, некоторых формах аллергии, инфаркте.

### **Т-хелперы**

Норма: относительное содержание – 30–50 %, абсолютное –  $0,6–1,6 \times 10^9/\text{л}$ . Содержание Т-хелперов повышается при инфекциях, аллергических заболеваниях, аутоиммунных заболеваниях (ревматоидном артрите и др.). Снижение содержания Т-хелперов происходит при иммунодефицитных состояниях, СПИДе, цитомегаловирусной инфекции.

### **В-лимфоциты**

Норма: относительное содержание – 10–30 %, абсолютное –  $0,1–0,9 \times 10^9/\text{л}$ . Повышенное содержание бывает при инфекциях, аутоиммунных заболеваниях, аллергиях, лимфолейкозах.

Снижение количества В-лимфоцитов обнаруживается при иммунодефицитах, опухолях.

### **Фагоциты (нейтрофилы)**

Фагоцитарная активность лейкоцитов повышается при острых бактериальных инфекциях, снижается при врожденных иммунодефицитах, хронических инфекциях, аутоиммунных заболеваниях, аллергиях, вирусных инфекциях, СПИДе. Активность работы фагоцитов, т. е. клеток-«пожирателей», оценивается так называемым фагоцитарным числом (в норме клетка поглощает 5–10 микробных частиц), фагоцитарной емкостью крови, количеством активных фагоцитов, индексом завершенности фагоцитоза (должен быть больше 1,0).

При исследовании иммунного статуса определяют также уровень различных иммуноглобулинов и количество иммунных комплексов (ИК). Иммунный комплекс состоит из антигена, антитела и связанных с ними компонентами.

## **3. Иммунодефициты**

Иммунная система, как и любая другая система организма, может иметь расстройства в любых звеньях, возникают так называемые иммунодефициты. Основой иммунодефицитных состояний являются нарушения генетического кода, которые не позволяют иммунной системе осуществлять то или иное звено иммунного ответа. Иммунодефицитные состояния могут быть первичными (врожденными) и вторичными (приобретенными).

### **3.1. Врожденные иммунодефициты**

Эта патология является генетически обусловленной. Чаще всего врожденные иммунодефициты проявляются в первые месяцы жизни. Дети очень часто болеют инфекционными заболеваниями, которые нередко протекают с осложнениями. Существует рабочая классификация врожденных



состояний иммунной недостаточности, предложенная экспертами ВОЗ в 1971 г. Согласно этой классификации первичные иммунодефициты распределяются на пять больших групп.

1. К первой группе относятся заболевания, которые связаны только с дефектом В-клеток, например иммунная недостаточность, сцепленная с Х-хромосомой.

2. Во вторую группу входят заболевания иммунной недостаточности с дефектом только Т-клеток, например, гипоплазия зобной железы (синдром Ди Джорджи).

3. Третья группа – это заболевания с одновременным поражением В– и Т-клеток: тимомы (опухолью тимуса) и др.

4. В четвертую группу входят состояния иммунодефицита, при которых одновременно поражены В– и Т-стволовые клетки, например, комбинированная иммунная недостаточность, сцепленная с Х-хромосомой, и др.

5. В заключительную пятую группу включены не квалифицированные выше состояния иммунной недостаточности.

На практике врожденные состояния иммунной недостаточности ограничиваются тремя основными группами:

- 1) дефектами фагоцитоза;
- 2) недостаточностью клеточного и гуморального иммунитета (Т–, В– и стволовых клеток);
- 3) нарушением функций комплементарной системы.

Клинические проявления врожденных иммунодефицитных состояний очень разнообразны. Они варьируют от тяжелых симптомов, вызванных перенесенными инфекциями или вакцинациями, до средних и легких и трудно диагностируемых болезненных явлений. Врожденные или первичные иммунодефициты являются одними из частых причин ранней детской смертности.

### **3.2. Приобретенные иммунодефициты**

Их еще называют вторичными иммунодефицитами, так как они появляются в процессе жизни человека по самым разным причинам. Другими словами, они возникают как результаты воздействия множества повреждающих факторов на организм, который при рождении имел здоровую иммунную систему. Этими повреждающими факторами могут являться:

- 1) неблагоприятная экология (загрязнение воды, воздуха и т.д.);
- 2) нарушения питания (нерациональные диеты, вызывающие нарушения обмена веществ, голодание);
- 3) хронические заболевания;
- 4) длительный стресс;
- 5) не полностью излеченные острые бактериальные и вирусные инфекции;

6) заболевания печени и почек (органов, обеспечивающих детоксикацию организма);

7) радиация;

8) неправильно подобранные лекарственные средства.

Научно-технический прогресс привел нашу цивилизацию к использованию огромного количества искусственных (синтетических) добавок в питании, лекарствах, средствах гигиены и т.д. Если эти факторы длительно воздействуют на организм, то в крови и лимфе накапливаются ядовитые продукты и продукты обмена веществ в такой концентрации, что развиваются хронические заболевания. В результате этого некоторые виды бактерий, которые были поглощены макрофагами (фагоцитами), не погибают, а начинают активно размножаться, что приводит к гибели фагоцита. Проблема вторичных иммунодефицитов является очень актуальной для современности. Они могут серьезно изменять и утяжелять болезни, влиять на их исход и эффективность лечения.

Существуют временные нарушения иммунитета, так называемые функциональные нарушения. Они хорошо поддаются коррекции (чаще всего у детей). Временное снижение активности иммунных показателей может быть и у здоровых людей. Обычно это связано с сезонными явлениями (снижением солнечной активности, влажной погодой), что приводит к эпидемическим вспышкам простудных заболеваний, гриппа. При своевременном выявлении функциональные изменения иммунитета легко восстанавливаются до нормы. Если вторичные иммунодефициты нарушают процессы самоочищения организма, то со временем этот дисбаланс может привести к аутоиммунным заболеваниям и онкологии.

### **3.3. Аутоиммунные заболевания**

Эти заболевания могут возникнуть при воздействии неблагоприятных факторов окружающей среды. В основе патогенеза аутоиммунных патологий лежит нарушение работы Т-лимфоцитов (супрессоров). В результате иммунная система начинает проявлять агрессию против собственных (здоровых) клеток своего же организма. Происходит «самоповреждение» тканей или органов.

Аутоиммунные заболевания имеют наследственную предрасположенность. К этим болезням относятся ревматоидный артрит, ревматизм, рассеянный склероз и т.д. У всех аутоиммунных заболеваний имеется развитие по принципу порочного круга. Схематично этот круг можно описать следующим образом. Когда чужеродные агенты (бактерии, вирусы, грибок) внедряются в клетку, то развивается воспалительная реакция, имеющая своей целью изолировать, отторгнуть вредный агент. При этом собственная ткань изменяется, отмирает и сама становится для организма инородной, и уже на нее начинается выработка антител, в результате чего вновь развивается воспаление. Когда оно достигает стадии некроза, то некротическая ткань тоже становится антигеном, вредным агентом, на который опять вырабатываются антитела, в результате чего опять возникает воспаление. Антитела и воспаление разрушают эту ткань. И так

происходит бесконечно, образуется болезненный и разрушительный круг. Первичного агента (бактерии, вируса, грибка) уже нет, а болезнь продолжает разрушать организм.

### **3.4. СПИД**

СПИД – это синдром приобретенного иммунодефицита, который вызывается вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), поэтому заболевание имеет двойное название: СПИД или ВИЧ-инфекция. Вирус иммунодефицита человека был выделен в 1983 г. французскими, а затем и американскими исследователями. Обнаружение вируса в тех или иных субстратах заболевших (крови, слюне, сперме), дало возможность уточнить пути передачи заболевания.

СПИД – тяжело протекающая болезнь, при далеко зашедшем заболевании гибель больного практически неизбежна. По уровню смертности СПИД вышел на третье место после атеросклероза и рака. Правда, это касается форм заболевания с выраженной клинической картиной. Несмотря на то, что СПИД нельзя назвать широко распространенным заболеванием, увеличение числа заболевших, по мнению ученых, растет в геометрической прогрессии. Считается, что число заболевших удваивается каждые полгода. Вызывает тревогу и тот факт, что согласно последним данным контингент, имеющий антитела к вирусу – возбудителю СПИДа, исчисляется миллионами. Все это вызывает опасение, что в будущем приобретенный иммунодефицит может стать массовым заболеванием. Отмечается и широкое географическое распространение СПИДа. В настоящее время нет ни одного обитаемого континента, свободного от этого заболевания.

Вирус иммунодефицита человека относится к так называемым ретровирусам. Ретровирусы – единственные в мире живые существа, способные синтезировать ДНК с РНК, в то время как остальные могут синтезировать только РНК с ДНК. Для этой цели у вирусов данной группы имеется фермент обратная транскриптаза. Отсюда и название ретровируса (от лат. *«ретро»* – «обратный»). Среди вирусов животных, вызывающих иммунодефицитные состояния, наибольший интерес представляют ретровирусы обезьян. Попадая в организм человека, вирус иммунодефицита человека прикрепляется к особым образованиям, расположенным на мембране лимфоцита, затем проникает внутрь него, встраивается в генетический аппарат клетки и заставляет продуцировать частицы вируса до тех пор, пока клетка не погибнет. Новые вирусы поражают новые клетки и т.д. Прежде чем количество лимфоцитов снизится до такой степени, что разовьется иммунодефицит, может пройти десяток лет. Но все это время зараженный человек, чувствуя себя здоровым, может являться источником инфекции для других.

Эта инфекция имеет ряд клинико-эпидемиологических особенностей. К ним относятся:

1) необычайно (для огромного большинства инфекций) длительный инкубационный период (иногда превышающий 5 лет), поэтому СПИД можно отнести к так называемым медленным вирусным инфекциям;

2) исключительно «узкое» приложение вируса – он поражает лишь некоторые категории иммунокомпетентных клеток, но это не мешает возникновению тотального поражения всей защитной системы организма;

3) инфекция не имеет определенной клинической картины, что делает невозможной чисто клиническую диагностику заболевания.

Многие особенности заболевания в настоящее время не поддаются рациональному объяснению. Остается неясным происхождение СПИДа. Однако уже достаточно изучен механизм воздействия вируса СПИДа на организм и описаны клинические проявления заболевания в развернутой стадии. ***Основным в патогенезе ВИЧ-инфекции является выявленная способность вируса избирательно выключать Т-хелперы, в результате чего иммунный ответ не развивается***, а человек становится совершенно беззащитным перед любой инфекцией или патологией (может умереть даже от условно-патогенных бактерий). Вирус, попадая в Т-хелперы, может много лет находиться в неактивном состоянии, но человек уже является инфицированным. Когда же ВИЧ по каким-то причинам активизируется, развивается СПИД, большинство больных умирают в течение 1–2 лет.

У больных СПИДом отсутствует синтез интерлейкина-2.

Что касается путей передачи инфекции, то не подлежит сомнению, что СПИД передается прямым контактом при половых сношениях. Другим путем передачи инфекции считается контактно-бытовой путь – через предметы, зараженные кровью источников инфекции, при попадании вируса в организм через мелкие дефекты на коже и слизистых оболочках. Несомненна возможность «вертикальной» передачи инфекции от матерей-вирусоносительниц или больных.

К главной особенности этой инфекции относится длительность инкубационного периода. Вне всякого сомнения, СПИД является инфекцией с очень продолжительной инкубацией (от нескольких месяцев до нескольких лет). Причем длительность инкубации для различных возрастных групп неодинакова. Например, при переливании крови инкубация может растягиваться до 58 месяцев. Средняя продолжительность инкубационного периода у детей – 12 месяцев, у взрослых – 29 месяцев.

Ранними признаками СПИДа является усугубившаяся симптоматика предшествующего периода – периода преСПИДа:

1) лихорадка невыясненной этиологии с течением, не поддающимся обычному лечению;

2) лимфаденопатия – увеличение размеров лимфоузлов;

3) нарастающая общая слабость и потеря аппетита;

4) диарея и снижение массы тела;

5) увеличение печени и селезенки;

6) кашель;

7) лейкопения.

## ЛЕКЦИИ 11-12

### АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

1. Понятие об аллергии, механизм развития аллергических реакций, причины увеличения аллергических реакций
2. Общая этиология аллергических заболеваний. Классификация аллергенов и их характеристика:
  - a. Бытовые аллергены
  - b. Инсектные аллергены
  - c. Эпидермальные аллергены
  - d. Лекарственные аллергены
  - e. Пыльцевые аллергены
  - f. Пищевые аллергены
  - g. Промышленные аллергены
  - h. Аллергены инфекционного происхождения
3. Патогенез аллергических процессов. Классификация аллергических реакций
4. Анафилактический шок

**1. Понятие об аллергии, механизм развития аллергических реакций, причины увеличения аллергических реакций.** Урбанизация, химизация, изменение пищевых рационов, увеличение доли консервированных и рафинированных продуктов, применение сильнодействующих лекарственных препаратов и прочее, вызвали воздействие на организм человека таких факторов, с которыми защитные механизмы ранее не взаимодействовали. Сформировалось выражение «болезни цивилизации», которое обозначает количественный рост таких заболеваний, как сердечно-сосудистые патологии, рак, различные аллергии и т.п. Появились ранее не известные заболевания, такие как «болезнь легионеров» (острое воспаление легких), СПИД и др. Все эти факты свидетельствуют о том, что системы защиты человеческого организма развиваются, отвечая на изменение условий существования формированием новых элементов компенсаторной защиты. Эти факты подтверждаются широким развитием аллергических реакций, которые приняли массовые масштабы. Аллергии известны еще с древних времен. Еще Гиппократ описывал бронхиальную астму. В настоящее время в медицине аллергология выделена в отдельную науку, которая пытается раскрыть причины возникновения аллергий и разрабатывает новые методы лечения и предупреждения их.

За последние два десятилетия частота аллергических заболеваний существенно возросла, особенно в экономически развитых странах и в странах с неблагоприятной экологической ситуацией. По прогнозам некоторых ученых, XXI век станет веком аллергических заболеваний. В настоящее время уже известно более 20 тысяч аллергенов, и их количество продолжает возрастать.

Что же такое аллергия? В чем принципиальная особенность ее фундаментальных механизмов и клинических проявлений?

**Термин «аллергия» обозначает повышенную чувствительность организма к действию тех или иных веществ внешней и внутренней среды при повторном с ним контакте.**

Впервые термин "аллергия" был предложен в 1906 г. австрийским педиатром К. Пирке для определения изменений реактивности, которую он наблюдал у детей при сывороточной болезни и инфекционных заболеваниях. Для этого общего понятия измененной реактивности он предложил выражение "аллергия" (от греч. *alio*— другой; *ergon*— действие).

Вещества, способные вызывать эту повышенную чувствительность, называются аллергенами. Аллергены, как и антигены, вызывают образование в организме антител. Но в отличие от антигенов, имеющих биологическую природу, аллергенами могут быть разнообразные вещества, которые содержатся в пищевых продуктах, химических веществах, косметических средствах, лекарствах, лечебных сыворотках, домашней пыли, пыльце растений и т.п. Для многих людей это абсолютно безвредные вещества, но для человека, который предрасположен к аллергии, они становятся причинами бронхиальной астмы, сенной лихорадки, крапивницы, аллергического насморка, а иногда тяжелейшего анафилактического шока. Особенностью аллергической реакции является то, что первое взаимодействие аллергена с организмом никак не проявляется внешне. На него иммунная система реагирует тем, что образуются антитела к конкретному аллергену, например антитела класса Е (**IgE**) (или реагины). Таким образом, первое взаимодействие с аллергеном делает организм чувствительным к нему. При повторном взаимодействии с аллергеном соответствующий ему клон реагинов включает аллергическую реакцию немедленного (через 1-2 суток) типа.

Для аллергических реакций характерно то, что:

1) аллерген и антитело соединяются на цитоплазматической мембране клетки-мишени;

2) в результате воздействия комплекса аллерген-антитело на определенные клетки (тучные клетки) выделяются химически активные вещества (гистамин, серотонин и др.), которые инициируют аллергическую реакцию;

3) химически активные вещества, которые образовались во второй стадии, воздействуют на организм, вызывая повреждение клеток тканей и воспаление.

Таким образом, в отличие от чисто иммунной реакции, в которой клетки организма разрушаются антигеном, а Т- и В-лимфоциты уничтожают антигены, при аллергической реакции патологическое разрушение клеток происходит под влиянием веществ, вырабатываемых самим организмом. Поэтому считается, что реакция повышенной чувствительности (аллергия) не является частью защитного механизма, а, наоборот, повреждение ткани при

аллергии является неблагоприятным фактором и даже «просчетом» иммунного процесса.

Сегодня выделяют три стадии истинной аллергической реакции, то же самое мы рассмотрим и при характеристике анафилактического шока.

**1. Иммунная стадия** - длится от момента первичного контакта иммунной системы с аллергеном до развития сенсibilизации. **Сенсibilизация** – это повышение чувствительности организма к антигенам (аллергенам) экзогенного или эндогенного происхождения. Понятия сенсibilизации и аллергии различаются между собой. Аллергия включает в себя не только повышение чувствительности к какому-либо антигену, но и реализацию этой повышенной чувствительности в виде аллергической реакции. Вначале повышается чувствительность к антигену, и только тогда, если аллерген (антиген) остается в организме или попадает в него вновь, развивается аллергическая реакция, т.е. сама аллергическая реакция имеет две составляющие части. Эти части разделены во времени. При этом сенсibilизация является первой (или подготовительной) частью, а вторая часть является собственно аллергической реакцией.

По способу получения различают активную и пассивную сенсibilизации. **Активная сенсibilизация** развивается при искусственном введении или естественном попадании аллергена в организм. **Пассивная сенсibilизация** воспроизводится в эксперименте при введении сыворотки крови или лимфоидных клеток пассивному реципиенту от активно сенсibilизированного донора. Если возникает сенсibilизация плода во время его внутриутробного развития, то такую сенсibilизацию называют внутриутробной. Сенсibilизация может быть **моновалентной**, когда имеется повышенная чувствительность к одному аллергену, и **поливалентной** при сенсibilизации ко многим аллергенам. Существует и так называемая **перекрестная сенсibilизация**, когда имеется повышение чувствительности сенсibilизированного организма к другим антигенам, имеющим общие детерминанты с тем аллергеном, который вызвал сенсibilизацию.

**Патохимическая стадия** - включается при повторном контакте иммунной системы со специфическим аллергеном и характеризуется высвобождением большого количества биологически активных веществ.

**Патофизиологическая стадия** - характеризуется нарушением функционирования клеток и тканей организма вплоть до их повреждения под влиянием биологически активных веществ, выделенных иммунной системой во время патохимической стадии.

В организм постоянно поступают извне вещества антигенной природы: через кожу, дыхательную систему, желудочно-кишечный тракт. В самом организме в процессе метаболизма образуются вещества антигенной природы, которые уничтожаются механизмами гуморальной и клеточной неспецифической и иммунной (специфической) защиты. Чужеродные клетки и антигены, постоянно образующиеся или поступающие в организм, сами по себе не вызывают повреждения или же не успевают их вызвать, потому что механизмы защиты ограничивают их количество минимальным уровнем,

который не превышает порога. Выше этого порога начинается патологическая реакция.

Таким образом, для развития патологических реакций имеют значение ***не наличие разрушений, а их масштабы и сила***. В одних случаях иммунный механизм обеспечивает защиту организма, а в других – разрушение. Один и тот же антиген может вызвать иммунную или аллергическую реакцию у разных людей. Однако многие антигены вызывают ***преимущественно*** аллергию, например растительная пыльца, пищевые продукты, перхоть, шерсть животных, комнатная пыль и т.д. При попадании в организм через кожу и слизистые они вызывают образование иммуноглобулина Е и вследствие этого аллергию. Но введение их в пищевод даже в больших количествах приводит к образованию иммунных антител, которые, соединяясь с аллергеном, не вызывают повреждения тканей.

Таким образом, антиген может проявлять и не проявлять аллергенных свойств в зависимости ***от количества и путей проникновения***. В механизме ответной реакции большое значение имеет также реактивность организма, т.е. его способность в качественном и количественном отношении реагировать на антигенное раздражение. От реактивности организма во многом зависит способность организма формировать иммунитет или, при несостоятельности иммунитета, формировать аллергическую реакцию, т.е. патологический процесс, имеющий черты защиты и разрушения. При аллергической реактивности более вероятно, что антиген будет проявлять аллергические свойства, т.е. при повторном его введении возникнет реакция, приводящая к повреждению ткани. Условиями, которые способствуют переводу иммунной реакции в аллергическую, являются повышение проницаемости покровных тканей, что способствует поступлению антигенов в организм, изменение характера иммунного ответа, нарушение соотношения разных классов иммуноглобулинов и их количества, увеличение образования медиаторов аллергических реакций и уменьшение их инактивации.

Увеличение числа аллергических заболеваний обусловлено несколькими причинами.

#### **Изменение структуры инфекционной заболеваемости.**

➤ Во-первых, снижение уровня или даже полная ликвидация эпидемических заболеваний уменьшило контакт человека с сильными аллергенами их возбудителей, которые тормозили реакцию на преимущественно слабые аллергены окружающей среды. Как это ни парадоксально звучит, но сегодня есть все основания говорить, что улучшение качества жизни, снижение числа вирусных и бактериальных заболеваний в детстве, в том числе, туберкулеза, приводит к усилению функции Т-хелперов и развитию аллергических реакций в будущем.

➤ Во-вторых, введение вакцин, сывороток и других веществ антигенной природы вызывает повышенную чувствительность (сенсibilизацию) предрасположенных к этому организмов.

➤ В-третьих, резко возросло число новых химических веществ, которые даже не встречаются в природе. К этим веществам относятся лекарственные



препараты, бесконтрольный прием которых вызывает изменение реактивности организма, действует на нейроэндокринную систему.

➤ В-четвертых, изменение условий образа жизни и питания. Нарушение контакта с природой, городские условия жизни приводят к тому, что естественные продукты природы (пыльца растений, перхоть, шерсть животных и т.п.), с которыми человек раньше встречался с момента рождения, становятся чужеродными, а бесконтрольная химизация сельского хозяйства приводит к повышению содержания в продуктах питания химических веществ. Каждый класс иммуноглобулинов предназначен для защиты организма от определенных групп антигенов, поэтому можно предположить, что иммунная система формирует новый элемент защиты – иммуноглобулины класса Е, или реагины, для борьбы с необычными антигенами-аллергенами, так как иммуноглобулины других классов не вызывают универсальную защитную реакцию с этими антигенами – воспаление, т.е. иммунная система проходит эволюцию, приспособляясь к новым условиям среды. Результатом адаптации является повышенная реактивность отдельных людей, вызванная индивидуальными особенностями их иммунной системы.

## **2. Общая этиология аллергических заболеваний. Классификация аллергенов и их характеристика.**

Таким образом, причинами аллергических заболеваний являются аллергены. Условия возникновения аллергии – определенные особенности внешней среды и состояние реактивности организма. Несмотря на множество окружающих человека аллергенов, заболевает определенный процент людей, а не все, так как в развитии аллергических болезней значительная роль принадлежит тем конкретным неблагоприятным условиям, которые складываются в данный момент и способствуют реализации действия аллергена на организм.

Аллерген – это вещество, вызывающее развитие аллергической реакции. Чем отличается аллерген от антигена? Главным отличием является конечный результат действия. Если вещество вызывает аллергическую реакцию, то оно называется аллергеном, если ведет к развитию иммунной реакции – антигеном. Получается, что аллергены обладают всеми свойствами антигенов (это преимущественно белковая природа, макромолекулярность, чужеродность для данного организма и др.).

Но аллергические реакции могут вызывать не только вещества антигенной природы, но и вещества, которые обладают этими свойствами. К ним относятся многие микромолекулярные соединения, например лекарственные препараты, простые химические вещества (бром, йод, хром, никель и др.), а также более сложные продукты небелковой природы (некоторые микробные продукты, полисахариды и др.). Эти вещества называют гаптенами. При попадании в организм они не включают иммунных механизмов, а становятся антигенами (аллергенами) *только после*

*соединения с белками тканей организма.* При этом образуются так называемые комплексные антигены, которые и сенсибилизируют организм.

Специфичность комплексного антигена определяется специфичностью гаптена. При этом изменения свойств белка-носителя могут быть различными. В одних случаях его пространственная конфигурация не меняется или меняется незначительно. Она не становится для организма чужеродной, поэтому сенсибилизация идет только к гаптену. В других случаях присоединение гаптена вызывает значительные изменения конформации носителя. Происходит денатурация белковых молекул. Это наблюдается при присоединении галогена, нитрировании, ацетилировании, присоединении хрома и др. В этих случаях развивается сенсибилизация не только к гаптену, но и к измененным участкам белковой молекулы.

Таким образом, обобщая вышесказанное, следует сделать вывод: если конформация носителя не изменяется, то развиваются аллергические реакции, протекающие по типу реакций на экзогенный (внешний) аллерген, т. е. с развитием аллергических заболеваний, при изменении конформации носителя присоединяются аутоаллергические реакции.

Однако не каждое соединение химического вещества с белком приводит к образованию антигена. Многие лекарственные препараты в организме соединяются с сывороточными белками, но образовавшиеся комплексы не всегда становятся для организма антигенами. Сывороточные белки соединяются и со многими эндогенно образующимися микромолекулярными соединениями (например, стероидными гормонами, ионами меди, железа, продуктами метаболизма), выполняя по отношению к ним транспортную функцию. Но это также не ведет к появлению антигенности. Соединение транспортных белков с соответствующим эндогенным продуктом или метаболитом может менять конформацию носителя, но не приводит к его денатурации, так как эти структурные изменения, выработанные в процессе эволюции, для организма являются «своими», к ним имеется иммунологическая толерантность, т. е. они не воспринимаются как чужеродные.

Другое дело, если в организм поступают химические соединения извне, которые не являются продуктами естественного обмена веществ и попадают иногда не через желудочно-кишечный тракт, а через кожу или дыхательные пути. Все эти вещества в организме обычно подвергаются метаболизму (чаще всего в печени) и выводятся. Но если среди этих веществ или их метаболитов встречаются такие, которые имеют активный, реакционный участок в структуре молекулы, то такие вещества соединяются с белком-носителем химическими связями. Это ведет к образованию комплексного аллергена.

Существует классификация, в основе которой лежит способ попадания аллергена в организм:

- 1) воздушные, ингаляционные аллергены (бытовая и производственная пыль, пыльца растений, эпидермис и шерсть животных и др.);
- 2) пищевые аллергены;

- 3) контактные аллергены, проникающие через кожу и слизистые оболочки (химические вещества, лекарства);
- 4) инъекционные аллергены (лекарства, сыворотки);
- 5) инфекционные аллергены (бактерии, вирусы);
- 6) лекарственные аллергены.

В каждую группу этой классификации входят аллергены различного происхождения. Существует и более удобная классификация, которая основана на происхождении экзогенных аллергенов. Они разделяются на следующие группы:

- 1) аллергены неинфекционного происхождения – бытовые, эпидермальные, пылевые, пищевые, промышленные;
- 2) аллергены инфекционного происхождения – бактериальные, грибковые, вирусные.

### **2.1. Бытовые аллергены**

Главную роль среди них играет домашняя пыль. Это сложный по своему составу аллерген, в который входят пылевые частички (с одежды, постельного белья, матрацев), грибы (в сырых помещениях), частички домашних насекомых, бактерии (непатогенные стафилококки и др.). Главными аллергенами в домашней пыли являются клещи и продукты их жизнедеятельности. Они обитают в постелях, подушках, где питаются частичками эпидермиса человека. При перетряхивании постели клещи, их частички и экскременты попадают в дыхательные пути. Этот вид клещей распространен очень широко. Большой аллергенностью обладают дафнии, входящие в корм аквариумных рыбок. Бытовые аллергены вызывают чаще всего аллергические заболевания органов дыхания.

### **2.2. Инсектные аллергены**

Это аллергены яда жалящих, слюны кусающих и частичек покрова тела насекомых. Эти аллергены вызывают как местные, так и общие аллергические реакции. У людей с повышенной чувствительностью к одному насекомому имеется такая же повышенная чувствительность и к другим насекомым в пределах отряда и семейства, так как у них имеются общие антигены.

### **2.3. Эпидермальные аллергены**

К этой группе относятся перхоть, шерсть животных, перья птиц, чешуя рыб. Одним из особых аллергенов является перхоть лошади. Этот вид аллергенов вызывает профессиональную аллергию у работников вивариев, овцеводов, работников птицеферм, коневодов, парикмахеров. Проявляется ринитом, бронхиальной астмой, крапивницей.

### **2.4. Лекарственные аллергены**

Практически любой лекарственный препарат может привести к развитию лекарственной аллергии. Лекарства или их метаболиты являются, как правило, гаптенами и становятся полноценными аллергенами только после связывания с белками тканей. Молекула лекарства имеет участок, в котором идет образование антител, т.е. этот участок (а не вся молекула целиком) выполняет роль антигенной детерминанты. Такие участки могут

оказаться одинаковыми у различных лекарственных препаратов, поэтому при сенсibilизации к одному препарату будут возникать аллергические реакции и на все другие лекарства, имеющие ту же детерминанту.

Таким образом, необходимо при аллергии на один препарат исключить применение всех препаратов, которые имеют общую с ним детерминанту.

### **2.5. Пыльцевые аллергены**

Аллергические заболевания вызывает пыльца не всех видов растений, а только достаточно мелкая (диаметром не более 35 мкм), а также обладающая хорошим летучим эффектом. Чаще всего это пыльца различных видов ветроопыляемых растений. Аллергия, вызванная пыльцой растений, называется **поллинозом**. Антигенный состав пыльцы довольно сложен и состоит из нескольких компонентов. Например, в состав пыльцы амброзии входят 5-10 антигенов, а пыльца тимopheевки содержит до 7-15 антигенных компонентов. Различные виды пыльцы могут иметь общие аллергены, поэтому у людей, чувствительных к одному виду пыльцы, возможна реакция и на другие ее виды. Найдены общие аллергены в пыльце злаковых трав (тимopheевки, ржи, овсяницы, мятлика). В каждой климатогеографической зоне имеются свои виды растений, пыльца которых чаще всего вызывает развитие поллиноза. В восточных и южных областях Украины это пыльца сорняка амброзии и дикой конопли, в городах – пыльца луговых трав и т.д.

### **2.6. Пищевые аллергены**

Аллергенами могут быть многие пищевые продукты. Но чаще всего ими являются рыба, мясо (особенно свинина), яйца, молоко, шоколад, пшеница, бобы, томаты. Кроме того, аллергенами могут быть и пищевые добавки, входящие в продукты и являющиеся химическими веществами. Это антиокислители, красители, ароматические и другие вещества.

### **2.7. Промышленные аллергены**

Бурное развитие химической промышленности значительно увеличило количество различных химических веществ на производстве и в быту, следовательно, и контакт с ними людей. Это вызвало появление различных по характеру аллергических реакций. Промышленные аллергены в подавляющем большинстве являются гаптенами, которые соединяются с белками. Считается, что чем выше способность гаптена образовывать химическую связь с белком, тем выше его аллергенная активность. Наиболее частые промышленные аллергены – это скипидар, масла, никель, хром, мышьяк, деготь, смолы, дубильные вещества, многие красители и т.д. В парикмахерских и косметических салонах аллергенами могут быть красители для волос, бровей и ресниц, жидкость для химической завивки и т.д. В быту аллергенами могут быть мыло, стиральные средства, синтетические ткани и т.д.

### **2.8. Аллергены инфекционного происхождения**

Аллергические процессы могут вызывать самые различные возбудители инфекционных болезней, а также продукты их жизнедеятельности. Те инфекционные болезни, в патогенезе которых аллергия играет ведущую роль, называются инфекционно-аллергическими заболеваниями. К ним

относятся все хронические инфекции (туберкулез, лепра, бруцеллез, сифилис, ревматизм, хронические кандидозы и др.). По мере ликвидации эпидемических заболеваний стали приобретать все большее значение аллергические процессы, которые вызываются условно-патогенной и сапрофитной флорой.

Очень распространенными аллергенами являются грибы. Около 350 видов грибов обнаруживают аллергенную активность. Среди них имеются патогенные для человека виды, которые вызывают заболевания с аллергией в основе патогенеза. Такими заболеваниями являются, например, аспергиллез, актиномикоз, кокцидиоз, гистоплазмоз и др. Однако многие не патогенные для человека грибы при попадании в организм вызывают сенсibilизацию и развитие различных аллергических заболеваний (бронхиальной астмы и др.). Такие грибы содержатся в атмосферном воздухе, жилищах, домашней пыли, заплесневелых пищевых продуктах и т.д. Их концентрация зависит от времени года, влажности, температуры и других условий.

### **3. Патогенез аллергических процессов. Классификация аллергических реакций.**

Существуют различные классификации аллергических реакций. Наиболее распространенная делит все аллергические реакции на аллергические реакции *немедленного* типа и аллергические реакции *замедленного* типа. В основу этой классификации положено время появления реакции после контакта с аллергеном. Реакция немедленного типа развивается в течение 15–20 мин, замедленного типа – через 1–2 суток. Но эта классификация не охватывает всего разнообразия проявлений аллергии. Например, некоторые реакции развиваются через 4–6 или 12–18 ч, т.е. их нельзя отнести ни к реакциям замедленного, ни к реакциям немедленного типов. Поэтому различия между аллергическими реакциями стали связывать с разными механизмами их развития и составили классификацию, основанную на патогенетическом принципе. Все аллергические реакции делят на *истинные*, или собственно аллергические, и *ложные*, или псевдоаллергические (неиммунологические). В свою очередь истинные, или собственно аллергические, делятся на *химергические* (В-зависимые) и *китергические* (Т-зависимые).

Истинные, собственно аллергические, реакции имеют иммунологическую стадию в своем развитии, ложные ее не имеют. Деление истинных реакций на два вида основано на характере иммунологического механизма. Химергические вызываются реакцией аллергена с антителами (от греч. *himos* – «сок»), а китергические вызываются соединением аллергена с сенсibilизированными лимфоцитами (от греч. *citos* – «клетка»).

Далее эта классификация была усовершенствована. В ней были детализированы иммунологические механизмы. Химергические реакции стали называться В-зависимыми, так как именно с В-лимфоцитами связано образование антител. В зависимости от класса иммуноглобулинов, к которым принадлежат образовавшиеся антитела, в В-зависимых аллергических

реакциях выделены А, J, Е и М-глобулиновые реакции. Китергические реакции получили название Т-зависимых.

Существует еще одна широко распространенная классификация, также основанная на патогенетическом принципе. В ее основу положены особенности иммунных механизмов. В соответствии с этой классификацией выделены 4 типа аллергических реакций:

- 1) анафилактический (**IgE**– и реже **IgG**-антитела);
- 2) цитотоксический (**IgG**– и **IgM**-антитела);
- 3) тип Артюса – повреждение иммунным комплексом (**IgG**– и **IgM**-антитела);
- 4) замедленная гиперчувствительность (сенсibilизированные лимфоциты).

Различают 4 типа реакций гиперчувствительности при аллергических реакциях (рис. 21):

1) реагиновый тип повреждения тканей. Название этого типа происходит от названия антител-реагинов, принимающих участие в его развитии. Реагины относятся главным образом к **IgE**-классу, но среди них есть и реагины **IgG**-класса. Его еще называют *атонический* (от греч. *atonos* – «необычный», «чуждый»), *анафилактический*, *аллергическая реакция немедленного типа*. В ответ на попадание в организм аллергена образуются реагины. Они фиксируются главным образом на тучных клетках и их аналогах в крови – базофилах. В результате возникает состояние сенсibilизации. Повторное попадание в организм одного и того же аллергена приводит к соединению его с образовавшимися реагинами, что вызывает выброс из тучных клеток и базофилов целого ряда биологически активных веществ, а также их образование другими клетками. Образовавшиеся и освободившиеся медиаторы оказывают как защитный, так и патогенный эффекты. Медиаторами реакций реагинового типа являются гистамин, серотонин, простагландины.

2) цитотоксический тип повреждения тканей. Цитотоксическим его называют потому, что образовавшиеся к антигенам клеток антитела соединяются с клетками и вызывают их повреждение и даже лизис (цитологическое действие). Повреждение может идти тремя путями:

- а) за счет активации комплемента образуются активные фрагменты комплемента, которые повреждают клеточную мембрану;
- б) за счет активации фагоцитоза клеток, покрытых антителами.
- в) за счет активации лизосомальных ферментов, которые выделяются фагоцитами.

3) повреждение иммунными комплексами. При этом типе аллергических реакций повреждение вызывается иммунными комплексами. Представления об этом типе сформировались на основе наблюдений за местным токсическим действием на ткани комплекса антиген–антитело, образованного в избытке антигена. На попадающий в организм антиген, имеющий растворимую форму, идет образование антител. Наибольшую роль в этом случае играют антитела **IgG**– и **IgM**-классов. При определенных

условиях комплекс антиген–антитело может вызвать повреждение и развитие заболевания. В этих случаях повреждающее действие комплекса реализуется главным образом через активацию комплемента, освобождение лизосомальных ферментов, образование медиаторов (кининов, серотонина, гистамина).

4) **аллергическая реакция замедленного типа**. Этим термином обозначают группу аллергических реакций, которые развиваются у сенсibilизированных людей через 24–48 ч после контакта с аллергеном. Вначале характерным признаком являлось время развития реакции. Затем было установлено, что в механизме их возникновения основная роль принадлежит действию сенсibilизированных лимфоцитов на аллерген. Гиперчувствительность IV типа связана с тем, что сенсibilизированные антигеном Т-клетки при повторной встрече с тем же антигеном выделяют цитокины, которые вызывают воспалительные реакции, а также активируют макрофаги, которые выделяют медиаторы воспаления.

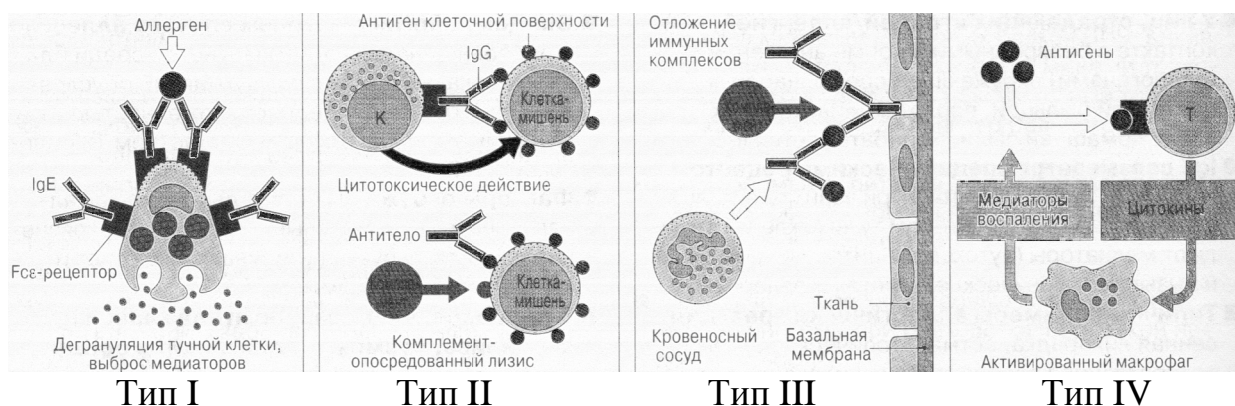


Рис. 21. Типы реакций гиперчувствительности

1. Тип I характеризуется связыванием **IgE** с рецепторами тучных клеток. При контакте с аллергеном происходит перекрестное связывание **IgE**, что вызывает высвобождение медиаторов аллергических реакций

2. При гиперчувствительности II типа вырабатываются антитела к антигену поверхности собственных клеток организма или чужеродному антигену (например, эритроцитов при переливании крови). Связывание таких антител на клетках-мишенях может вызвать цитотоксический эффект или лизис клеток.

3. Гиперчувствительность III типа обусловлена отложением в тканях иммунных комплексов. При этом происходит активация комплемента и в месте отложения комплексов происходит локальное повреждение тканей и воспаление;

4. Гиперчувствительность IV типа связана с тем, что сенсibilизированные антигеном Т-клетки при повторной встрече с тем же антигеном выделяют цитокины, которые вызывают воспалительные реакции, а также активируют макрофаги, которые выделяют медиаторы воспаления.

В ответ на попадание в организм аллергена образуются так называемые сенсibilизированные лимфоциты. Они относятся к Т-популяции лимфоцитов, и в их клеточную мембрану встроены также структуры, которые играют роль антител, способных соединяться с соответствующим антигеном. При повторном попадании аллергена он соединяется с сенсibilизированными лимфоцитами. Это ведет к ряду морфологических биохимических и функциональных изменений в лимфоцитах. Они проявляются в виде усиления синтеза ДНК, РНК и белков, секреций различных медиаторов, которые называются *лимфокинами*. С помощью лимфокинов происходит мобилизация различных клеток. Под влиянием одних лимфокинов несенсibilизированные лимфоциты приобретают повышенную чувствительность к аллергену. Особый вид лимфокинов оказывает цитотоксическое и угнетающее активное действие на клетки-мишени (цитотоксическое действие). Отмечаются разрушение клеток-мишеней, их фагоцитоз, повышение проницаемости сосудов. Все это проявляется в виде воспалительной реакции.

*Основными медиаторами четвертого типа аллергических реакций являются лимфокины*, образованные в процессе взаимодействия Т- и В-лимфоцитов с аллергенами. Лимфокины действуют на различные клетки (макрофаги, лимфоциты, фибробласты, эпителиальные клетки и др.) через соответствующие рецепторы на этих клетках.

Рассмотрев типы аллергических реакций, нужно сделать следующее заключение. Включение того или иного типа аллергической реакции определяется многими факторами, но их можно свести к двум основным. Это *свойства антигена* и *реактивность организма*. Среди свойств антигена важную роль играют его химическая природа, физическое состояние и количество. Слабые антигены, которые находятся в окружающей среде в небольших количествах (пыльца растений, домашняя пыль, перхоть и шерсть животных), чаще дают атоический тип аллергических реакций. Нерастворимые аллергены (бактерии, споры грибов и др.) чаще приводят к аллергической реакции замедленного типа. Растворимые аллергены (антитоксические сыворотки,  $\gamma$ -глобулины, продукты лизиса бактерий и др.), особенно в больших количествах, обычно вызывают аллергическую реакцию иммунокомплексного типа.

Аллерген как причина аллергического заболевания действует на организм в определенных условиях, которые могут либо способствовать его действию, что приведет к развитию заболевания, либо затруднять его действие и тем самым не допускать развития заболевания. Поэтому, несмотря на наличие в окружающей среде большого количества потенциальных аллергенов, аллергические заболевания развиваются только в определенном проценте случаев. Условия могут быть внешними (количество аллергена, длительность и характер его действия) и внутренними. Внутренние условия – это реактивность организма.



**Реактивность организма** – это свойство организма как целого отвечать изменениями жизнедеятельности на воздействие окружающей среды. Она зависит от наследственных особенностей строения и функционирования систем организма и тех свойств, которые организм приобретает в процессе своей жизни. Эта совокупность врожденных (наследственных) и приобретенных свойств и представляет те внутренние условия, от которых в значительной степени зависит возможность развития или неразвития заболевания. Этот факт имеет большое значение, так как возможно целенаправленно изменять реактивность организма в направлении, затрудняющем реализацию действия потенциальных аллергенов.

Установлено, что иммунный ответ на каждый антиген предопределен генетически. От особенностей функционирования структурных генов иммуноглобулинов зависят класс и типы образующихся антител. Наследственные или приобретенные дефекты в работе некоторых звеньев иммунной системы могут способствовать развитию аллергических реакций.

#### **4. Анафилактический шок**

Является самым грозным аллергическим осложнением. Анафилактический шок могут вызвать практически все применяемые в настоящее время лекарственные препараты, сыворотки и вакцины, пыльцевые аллергены, пищевые продукты, особенно рыба, молоко, яйца и другие, алкогольные напитки, купание в холодной воде при холодовой аллергии, укусы ос, пчел, шмелей, шершней. Анафилактический шок относится к аллергическим осложнениям, протекающим с циркулирующими гуморальными антителами, основной характеристикой которых является их влияние на механизм биологически активных субстанций реакции антиген–антитело в тканях и жидких тканевых средах, а в качестве промежуточного звена процессы возбуждения центральной нервной системы.

В патогенезе анафилактического шока различают три стадии:

- иммунологическую,
- патохимическую (биохимическую),
- патофизиологическую.

1. Начальным этапом иммунологической стадии является сенсibilизация, т.е. процесс возникновения повышенной чувствительности, образования комплекса антиген-антитело. В эксперименте сенсibilизация возникает приблизительно в течение 7–8 дней, а у человека этот период может длиться многие месяцы и годы. Фаза сенсibilизации характеризуется выработкой специфических антител – реагинов. Взаимодействие аллергена с антителами происходит в органах и клетках, где находятся антитела, т.е. в шоковых органах. К этим органам относятся кожа, гладкие мышцы внутренних органов, клетки крови, нервная ткань, соединительная ткань.

2. Во время патохимической стадии комплекс аллерген–антитело ведет к подавлению активности ингибиторов тканевых и сывороточных ферментов, что вызывает интоксикацию и появление биологически активных веществ (гистамина, серотонина, гепарина, ацетилхолина, брадикинина, и др.).

3. Патофизиологическая стадия дает комплекс патофизиологических расстройств, лежащих в основе клинической картины. Характерными являются бронхоспазм, спазмы гладких мышц кишечника, мочевого пузыря, матки, нарушение сосудистой проницаемости. В эту фазу происходит и аллергическое воспаление, которое развивается на коже, слизистых оболочках и во внутренних органах.

Лекарственный анафилактический шок, как правило, развивается у больных, которые принимали данный медикамент повторно, причем нередко с аллергическими осложнениями, у лиц с лекарственной сенсibilизацией, развившейся в результате профессионального контакта (медсестер, врачей, фармацевтов и др.), у больных, имеющих аллергические заболевания.

Скорость возникновения осложнения – от нескольких секунд или минут до 2-х ч. Симптомы шока многообразны, степень выраженности их варьирует у разных больных. По степени тяжести делится на четыре стадии: легкую, среднетяжелую, тяжелую и крайне тяжелую (смертельную). Большинство больных жалуются на внезапную слабость, одышку, головокружение, снижение зрения, потерю слуха, резкий зуд кожи или чувство жара во всем теле, озноб, боли в животе, сердце, тошноту, рвоту. Может наступить потеря сознания.

Также отмечается тахикардия, нитевидный пульс, низкое или совсем неопределяемое артериальное давление, холодный пот, глухие тоны сердца, расширение зрачков, судороги, пена изо рта, иногда резкий отек языка, отек лица, гортани.

Длительность симптомов анафилактического шока зависит от степени сенсibilизации, правильности и своевременности лечения от сопутствующих заболеваний и т.д. В одних случаях смерть больных наступает в течение 5-30 мин от асфиксии, в других – через 24–48 ч или несколько дней от тяжелых изменений в почках (за счет гломерулонефрита), печени (гепатита, некроза печени), желудочно-кишечном тракте (желудочно-кишечных кровотечений), сердце (миокардита) и других органах.

В число осложнений анафилактического шока входят инфаркт, пневмония, параличи. Летальность при анафилактическом шоке колеблется от 10 до 30 %.

## ЛЕКЦИЯ 13

### ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

1. Пути укрепления иммунитета. Профилактическая иммунизация (вакцинация и ревакцинация)
2. Принципы постановки иммунологических реакций *in vitro*
  - 2.1. Общий принцип получения антител. Понятие адъюванта.
  - 2.2. Получение поликлональных антител и пути улучшения их качества

## 2.3. Технология получения моноклональных антител

### 1. Пути укрепления иммунитета. Профилактическая иммунизация (вакцинация и ревакцинация)

В жизни человека имеется несколько критических этапов в развитии способности иммунной системы осуществлять защиту организма от чужеродных клеток и веществ. Эти этапы связаны с возрастными изменениями, во время которых иммунная система ведет себя непредсказуемо, когда внедрение антигена в организм вызывает неправильную парадоксальную реакцию. Это выражается в том, что иммунный ответ может оказаться либо недостаточным для отражения агрессии чужеродного агента, либо чрезмерным, приводящим к аллергическим реакциям разного вида.

**Первым периодом повышенного риска** является первый месяц после рождения. Ребенок рождается практически «стерильным». Микрофлора матери для него не представляет опасности благодаря пассивному иммунитету, который состоит из защитных антител матери, полученных ребенком через плаценту во время внутриутробного развития и с молоком при грудном вскармливании. Микробы, которые имеются в роддоме, представляют потенциальную опасность для новорожденного, так как возможностей противостоять им у него мало. Собственные антитела его организм (иммунная система) еще не вырабатывает, фагоциты недостаточно активны и т.д. Поэтому все предметы, которые соприкасаются с новорожденным ребенком, должны быть практически стерильными. Если ребенок родился здоровым, то он не должен длительно задерживаться в родильном доме или отделении. Дома новорожденного буквально атакует микрофлора членов семьи и бытовых предметов. На адаптацию к ней ребенку требуется не меньше месяца. Однако уже к концу первой недели жизни в его крови резко увеличивается количество лимфоцитов.

**Второй период ослабления защитных сил** приходится на 3-6-й месяцы жизни ребенка. Это связано с тем, что к этому периоду запас материнских антител, полученных через плаценту, заканчивается. Из-за этого повышается восприимчивость организма к вирусам гриппа, простуды и возбудителя детских инфекций, которые в этом возрасте протекают нетипично и не дают стойкого иммунитета. Ребенку в этот период нежелательно контактировать с детьми, которые посещают детский сад и школу. Очень важно длительное естественное кормление, так как через грудное молоко отчасти восполняется недостаток антител, способных защитить его от инфекций и уберечь от развития пищевой аллергии, которая чаще всего появляется в эти месяцы.

**Третий период** приходится на 2-й год жизни, когда расширяется круг контактов ребенка с окружающей средой, а местный иммунитет слизистых оболочек дыхательной и пищеварительной систем еще не функционирует в полную силу, из-за чего существует риск повторных вирусных и бактериальных инфекций. Избегать их помогают закаливание, прогулки на

свежем воздухе, правильное питание. В этом возрасте необходимо избегать посещения с ребенком людных мест.

**Четвертым периодом** являются 4-6-й годы жизни малыша. Это так называемый дошкольный период, когда ребенок посещает детский сад, в котором происходят постоянные контакты с детьми. В этом возрасте часто развивается хронический тонзиллит, увеличиваются аденоиды, бывают частые респираторные инфекции, появляется склонность к аллергическим реакциям.

**Пятым периодом** является подростковый возраст, начинающийся в 12–13 лет у девочек и в 14–15 лет у мальчиков. Это время очень бурного роста и развития организма, за которым не успевают органы иммунной системы. «Всплеск» половых гормонов снижает активность Т-лимфоцитов и ведет к повышенной выработке антител В-лимфоцитами. Это приводит к активизации воспалительных, хронических и аутоиммунных заболеваний. В то же время в этот период происходит облегчение течения аллергических заболеваний, вплоть до их полного исчезновения. Необходима санация всех очагов хронической инфекции (кариозных зубов, аденоидов, больных миндалин и т.д.). Также важным является правильное, сбалансированное по всем параметрам питание. Во все периоды роста и развития ребенка количество лекарственных средств, применяемых для лечения различных заболеваний, должно быть минимальным. Одним из методов, укрепляющих иммунную систему и предупреждающих некоторые заболевания, является вакцинация.

**Вакцинация** – самый эффективный метод защиты против инфекционных заболеваний, известный в настоящее время. Основным принципом вакцинации является то, что пациенту вводится ослабленный или убитый болезнетворный агент для стимуляции выработки антител, необходимых для борьбы с возбудителем заболевания. Прививки с успехом применяются для борьбы с вирусами краснухи, кори, эпидемического паротита, гепатита В, полиомиелита, гриппа или бактериями (возбудителями туберкулеза, дифтерии, коклюша, столбняка). Суть вакцинации состоит в создании или усилении искусственного иммунитета. Существует понятие «коллективного» иммунитета. Чем больше людей имеют иммунитет к болезни, тем меньше вероятность у неиммунизированных заболеть и меньше риск возникновения эпидемии (т.е. при помощи вакцинации создается так называемая иммунная прослойка населения). Вакцинация бывает как однократной (от кори, паротита), так и многократной (от полиомиелита, АКДС). Кратность показывает то, сколько раз необходимо ввести в организм вакцину для образования иммунитета.

**Ревакцинация** – это мероприятие, направленное на поддержание иммунитета, который создан предыдущими вакцинациями. Обычно проводится через несколько лет после вакцинации. При возникновении очаговой вспышки какого-либо инфекционного заболевания для предотвращения эпидемии проводится массовая вакцинация. Она представляет собой одномоментную начальную вакцинацию, используемую

для быстрого прерывания цепи передачи инфекции. Примером такой вакцинации может служить массовый охват прививками перед надвигающейся эпидемией гриппа. Но у вакцинации есть и недостатки. Она проводится только против определенных штаммов, возможна неэффективность вследствие мутации вирусов.

Вакцины бывают различных видов:

- 1) живые вакцины, содержащие ослабленный живой микроорганизм;
- 2) инактивированные («убитые») вакцины;
- 3) химические вакцины. Они содержат компоненты клеточной стенки или других частей возбудителя;
- 4) анатоксины (содержат неактивный токсин, продуцированный бактериями);
- 5) комбинированные вакцины (содержащие несколько компонентов).

В иммунокоррекцию входит и применение препаратов для восстановления нарушенного иммунитета. Это либо монотерапия, либо применение иммуномодуляторов по определенной схеме. Для этого используют препараты, которые замещают утраченную функцию иммунитета (иммуноглобулины, интерфероны), и препараты, стимулирующие сниженную функцию иммунитета (индукторы интерферонов, растительные препараты, неспецифические иммуностимуляторы). Универсальных средств повышения иммунитета не существует. Иммунная система организма человека очень сложна, поэтому к вопросам укрепления и коррекции иммунитета нужно подходить разумно, комплексно и индивидуально, делая упор прежде всего на пропаганду здорового образа жизни. Это и полноценное, сбалансированное питание, и закаливание организма, и отсутствие стрессов, и рациональный режим дня (работа, отдых, сон), и активный образ жизни. Все это поможет укрепить иммунитет и, следовательно, здоровье организма.

## **2. Принципы постановки иммунологических реакций *in vitro***

В современной биологии и медицине иммуноглобулины являются неотъемлемыми участниками исследований на клеточном и молекулярном уровнях. Их широкое применение базируется на высокой специфичности взаимодействия с антигенами, точнее, с отдельными антигенными детерминантами. Фактически с помощью антител удается обнаруживать отличия не только клеток по их поверхностным антигенам, но и отдельных молекул друг от друга. Более того, с применением иммуноглобулинов возможно выявлять присутствие конкретных клеток или молекул в анализируемых субстанциях и получать их для исследования в чистом виде. Условно говоря, даже самые современные физические и химические методы исследования клеток и сложных органических молекул проигрывают иммунологическим методам по разрешающей способности и простоте их реализации. Отражением роли и значения иммуноглобулинов в современных научных исследованиях и биотехнологических производствах является

присуждение Нобелевской премии за разработку гибридной технологии, с помощью которой удастся получать суспензии высокоспецифических антител.

До появления гибридных технологий единственным источником антител для проведения иммунологических реакций являлись высшие животные. Чаще всего для этих целей используются так называемые лабораторные животные (кролики или мыши), но когда требуются значительные объемы сывороток, предпочтение отдается рогатому скоту или лошадям.

### **2.1. Общий принцип получения антител. Понятие адъюванта.**

**Общий принцип получения антител** в организме животных заключается в так называемой иммунизации их конкретным антигеном. Для этого суспензию антигена вводят во внутреннюю среду животного с помощью шприца, используя различные методы введения (внутримышечно, подкожно, внутрикожно и др.). Концентрации, растворители, вводимые дозы и время их введения подбираются с учетом особенностей иммунизируемого вида животных и с конкретной целью вызвать максимально высокую продукцию антител, специфичных к антигенным детерминантам вводимого антигена. Зная о том, что вторичный иммунный ответ дает более высокий титр антител и специфичность их будет более высокой, антиген, как правило, вводят несколько раз на протяжении 4-5 недель. По достижении предполагаемого времени максимального выражения вторичного иммунного ответа отбирают небольшое количество крови животного, получают сыворотку (то есть освобождают кровь от форменных элементов и фибриногена) и определяют количество нужных антител путем титрования сыворотки. Если титр признается удовлетворительным, животное обескровливают и получают максимальное количество сыворотки.

Для получения максимально высокого титра антител антиген, чаще всего, вводят совместно с **адъювантами** - факторами различного происхождения и состава, стимулирующими деятельность иммунной системы. К настоящему времени известно, что адъювантными свойствами обладают:

- лишенные жизнеспособности клетки различных микроорганизмов (микобактерий, коринебактерий и др.);
- отдельные фракции разрушенных бактериальных клеток (чаще всего полисахариды или липополисахариды);
- некоторые органические вещества (агар-агар, крахмал, пектины, желатин, лецитин, ланолин, глицерин и др.) и неорганические (минеральные масла, аммониево-кальциевые квасцы, гидроксиды алюминия или железа, фосфаты алюминия или кальция, хлорид кальция и др.);
- вещества природного происхождения, а также синтетические молекулы (олигонуклеотиды, полианионы и др.).

Способность выступать в качестве адъювантов для подавляющего большинства применяемых в таком качестве веществ была определена эмпирически, поскольку механизм воздействия адъювантов до сих пор

обсуждается лишь предположительно. Одно из предположений базируется на том, что многие адъюванты обладают способностью неспецифически сорбировать молекулы и одновременно являются веществами, плохо метаболизируемыми во внутренней среде организма млекопитающих (например, полисахариды растительного происхождения с большой молекулярной массой из органических адъювантов или аммониево-кальциевые квасцы из неорганических). Считается, что подобные соединения могут постепенно, в течение длительного времени освобождать введенный вместе с ними антиген. Такое действие часто называют эффектом депо, т.е. адъювант депонирует антиген, а затем многократно представляет его иммунной системе, обеспечивая тем самым последовательное развитие нескольких иммунных ответов на него. Предполагается также, что имеющие небольшую молекулярную массу антигены объединяются с макромолекулами адъюванта в комплексные антигены, вследствие чего более эффективно узнаются иммунной системой.

Адъюванты принято делить на простые и сложные, исходя из того, одно это вещество или смесь нескольких веществ. На практике в зависимости от ситуаций используются многие простые и сложные адъюванты, но наиболее известными и широко применяемыми для получения иммунных сывороток являются **полный и неполный адъюванты Фрейнда**. Неполный вариант этого адъюванта включает липополисахариды *Mycobacterium tuberculosis*, ланолин (он же шерстяной воск), вазелиновое масло, эмульгатор (Твин-80). Полным такой адъювант становится при добавлении культуры БЦЖ (BCG, от *bacillus Calmette-Guerin* - бацилла Кельмета-Герена), применяемой в качестве живого вакцинного препарата для профилактики туберкулеза. Оба варианта производятся промышленно и поставляются в лаборатории, где осуществляется иммунизация с целью получения сывороток.

Следует отметить, что неспецифическое стимулирование иммунной системы адъювантами находит применение и в профилактике инфекционных заболеваний. Многие химические вакцинные препараты производят сорбированными на гидроксиде или фосфате алюминия не только для лучшего хранения, но и для придания им способности дополнительно стимулировать иммунную систему. Считается также, что более продолжительный и эффективный искусственный активный иммунитет после применения живых или убитых вакцин в сравнении с некоторыми химическими является следствием наличия в составе первых бактериальных липополисахаридов и нуклепротеидов, обладающих адъювантными свойствами.

## **2.2. Получение поликлональных антител и пути улучшения их качества**

Полученные путем иммунизации животных суспензии антител называют поликлональными антителами. Действительно, зная о том, как именно представляется поливалентный антиген иммунной системе, можно предполагать, что в организме формируется множество клонов

плазматических клеток. Для защиты организма от данного антигена такой ответ является наиболее выгодным и эффективным, однако для применения таких антител в реакциях *in vitro* их многообразие может быть нежелательным. В частности, известно, что многие близкородственные бактерии обладают практически одинаковыми антигенами или антигенными детерминантами. Это приводит к так называемым перекрестным реакциям, когда агглютинат или преципитат образуется при смешивании поликлональных антител с антигенами (клетками или молекулами), не использовавшимися для иммунизации животного. Естественно, что при применении таких сывороток для идентификации выделенного антигена (например, конкретных болезнетворных бактерий) или обнаружения его в исследуемом материале перекрестные реакции явно нежелательны.

В связи с этим еще на заре применения сывороток для идентификации бактерий и диагностики инфекционных заболеваний был предложен до сих пор используемый метод улучшения их качества. Так называемые моноспецифические сыворотки или, как их традиционно называют до сих пор, **антисыворотки** («анти» в данном контексте обозначает «против конкретного антигена», например, антисыворотка холерная, позволяющая отличить холерного вибриона от других бактерий) получают **путем истощения**. Для этого сыворотку смешивают с антигеном, дающим нежелательную перекрестную реакцию, в условиях, обеспечивающих взаимодействие антиген-антитело, и полученные комплексы отделяют от раствора, например центрифугированием. Антител в сыворотке становится меньше (она истощается), но за счет адсорбции антигеном дающих нежелательную перекрестную реакцию антител специфичность сыворотки по отношению к нужному антигену нарастает. Используя по такой схеме последовательно несколько родственных антигенов, можно достичь нужного уровня специфичности сыворотки.

Однако при истощении на каждом этапе происходит уменьшение общего объема сыворотки при удалении получаемых осадков, поэтому адсорбцию обычно проводят лишь несколько раз. Кроме того, такой прием не освобождает сыворотку от других, так называемых балластных, антител. В связи с этим с появлением в химии колоночной аффинной хроматографии был разработан **метод получения суспензий антител одинаковой специфичности из поликлональных сывороток** (рис. 22). Основой метода является обратимость реакций антиген-антитело. Хроматографическую колонку заполняют гранулами несорбирующего белки вещества, с которым ковалентно связаны молекулы конкретного антигена. Затем через колонку пропускают раствор электролитов, обеспечивающий условия связывания антигенов и антител и далее смесь такого раствора с сывороткой. По мере прохождения через колонку на заполняющем ее веществе будут осаждаться только специфичные по отношению к выбранному антигену антитела. После прохождения всего объема раствора, содержащего сыворотку, колонку промывают несколькими объемами исходного раствора электролитов для полного удаления всех несвязавшихся антител. Последним этапом является



пропускание через колонку раствора, вызывающего диссоциацию комплексов антиген-антитело, что приводит к элюции (смыванию) нужных антител. Выходящую из колонки суспензию собирают и используют для постановки реакций.

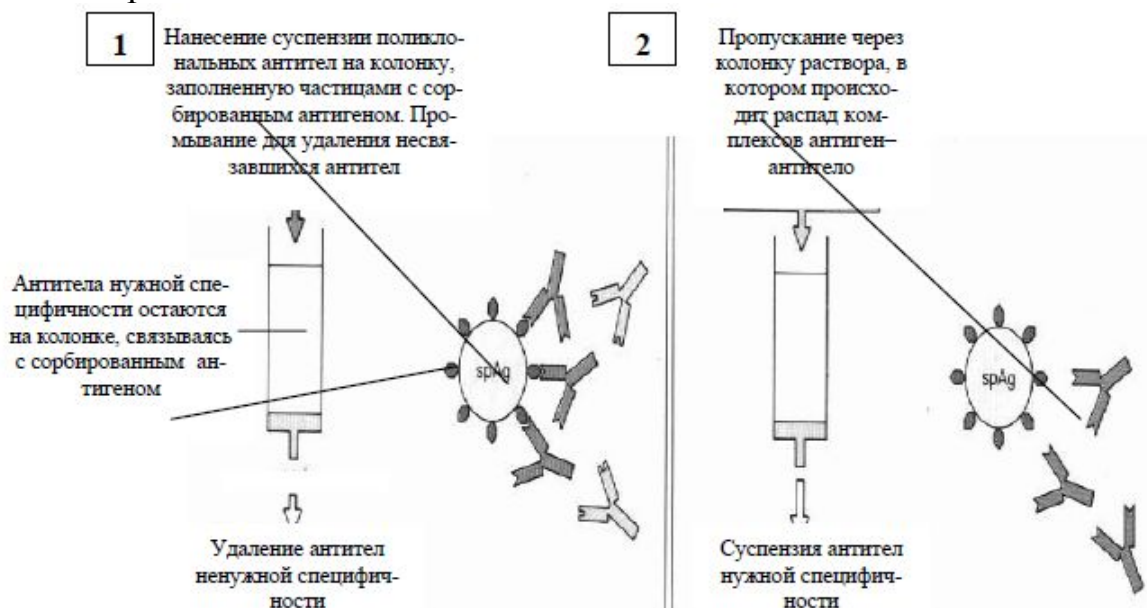


Рис. 22. Выделение антител нужной специфичности посредством аффинной хроматографии (А.Г.Песнякевич, 2007)

Недостатками такого метода является небольшое количество нужных антител, получаемых из значительных объемов сыворотки, и отсутствие полной идентичности отбираемых таким методом антител. Последнее связано с тем, что при использовании поливалентного антигена в суспензии окажутся антитела, специфичные по отношению к разным антигенным детерминантам этого антигена, поскольку при иммунном ответе организма образовывались разные клоны плазматических клеток. Иначе говоря, такая суспензия, хотя и будет высокоспецифичной, останется все равно поликлональной.

### 2.3. Технология получения моноклональных антител

Преодолеть вышеперечисленные недостатки удалось в результате разработки **технологии создания клеток, пригодных для получения моноклональных антител**. Основой для такого подхода стало понимание того, что конкретные В-лимфоциты индивидуальны по своим клеточным рецепторам для антигена и что после их активации Т-клетками они дают клон плазматических клеток, образующих антитела только одной специфичности. То есть если отобрать один из таких дающих нужные антитела В-лимфоцитов и размножить его вне организма, можно будет получать идентичные по антигенсвязывающим участкам антитела. Основной проблемой на пути воплощения такого теоретического подхода в жизнь стало отсутствие у клеток млекопитающих способности размножаться вне

организма, на искусственных питательных средах. Решить эту проблему смогли Г. Кёллер и Ц. Мильштейн (Нобелевская премия 1984 года).

В отличие от обычных клеток млекопитающих злокачественно измененные (раковые) клетки обладают способностью длительное время (в специальных условиях бесконечно долго) делиться на питательных средах. Среди раковых заболеваний есть и такие, которые являются следствием злокачественного изменения клеток красного костного мозга - множественной миеломы. Одним из симптомов этой болезни является накопление в крови белков глобулиновой фракции, которые представляют собой однородные по составу иммуноглобулины. Именно от таких больных были выделены злокачественно измененные способные к продукции антител В-лимфоциты (их называют **плазмоцитомы** - от *плазматическая клетка*), которые могут длительно размножаться в культуре. Со временем был найден способ вызывать множественную миелому красного костного мозга у лабораторных животных (в частности, белых мышей и крыс) и были получены линии миеломных В-клеток различного происхождения.

Кроме того, уже существовала методика так называемой соматической гибридизации клеток животных - слияния под воздействием действующих на биологические мембраны химических веществ, например, полиэтиленгликоля.

Опираясь на эти факты, Кёллер и Мильштейн поставили целью добиться объединения свойств миеломных и обычных В-клеток путем их слияния. Главной задачей при достижении этой цели стал подбор условий, позволяющих отобрать нужные продукты слияния, так называемые **гибридомы**. Для этого были использованы клетки мутантных плазмоцитом, у которых отсутствовали ферменты путей биосинтеза азотистых оснований.

Фактически главным достижением Кёллера и Мильштейна стало использование **содержащей гипоксантин, аминоптерин и тимидин среды (сокращенно ГАТ-среды)**, позволяющей отобрать нужные продукты слияния. Предложенная ими схема отбора гибридом, пригодных для получения моноклональных антител, представлена на рис. 23.

Первым этапом является иммунизация животного (например, белой мыши) тем антигеном, к которому необходимо получить моноклональные антитела. После развития иммунного ответа (что контролируется по появлению в сыворотке крови животного антител к выбранному антигену) из селезенки животного отбирают лимфоциты, смешивают с суспензией ГАТ-чувствительных миеломных клеток мыши, добавляют вещество, способствующее слиянию клеток (например, полиэтиленгликоль) и выдерживают необходимое для слияния время. Затем получившуюся смесь высевают на ГАТ-среду.

Поскольку слияние происходит неконтролируемо, в смеси могут содержаться различные слившиеся и не слившиеся лимфоциты. К размножению на ГАТ-среде оказываются способными только представители одной группы из присутствующих в смеси клеток. В ней оказываются такие объединенные клетки, потомки которых унаследуют от миеломной клетки

способность постоянно делиться, а от нормального, не ракового, В-лимфоцита - нечувствительность к ГАТ-среде.

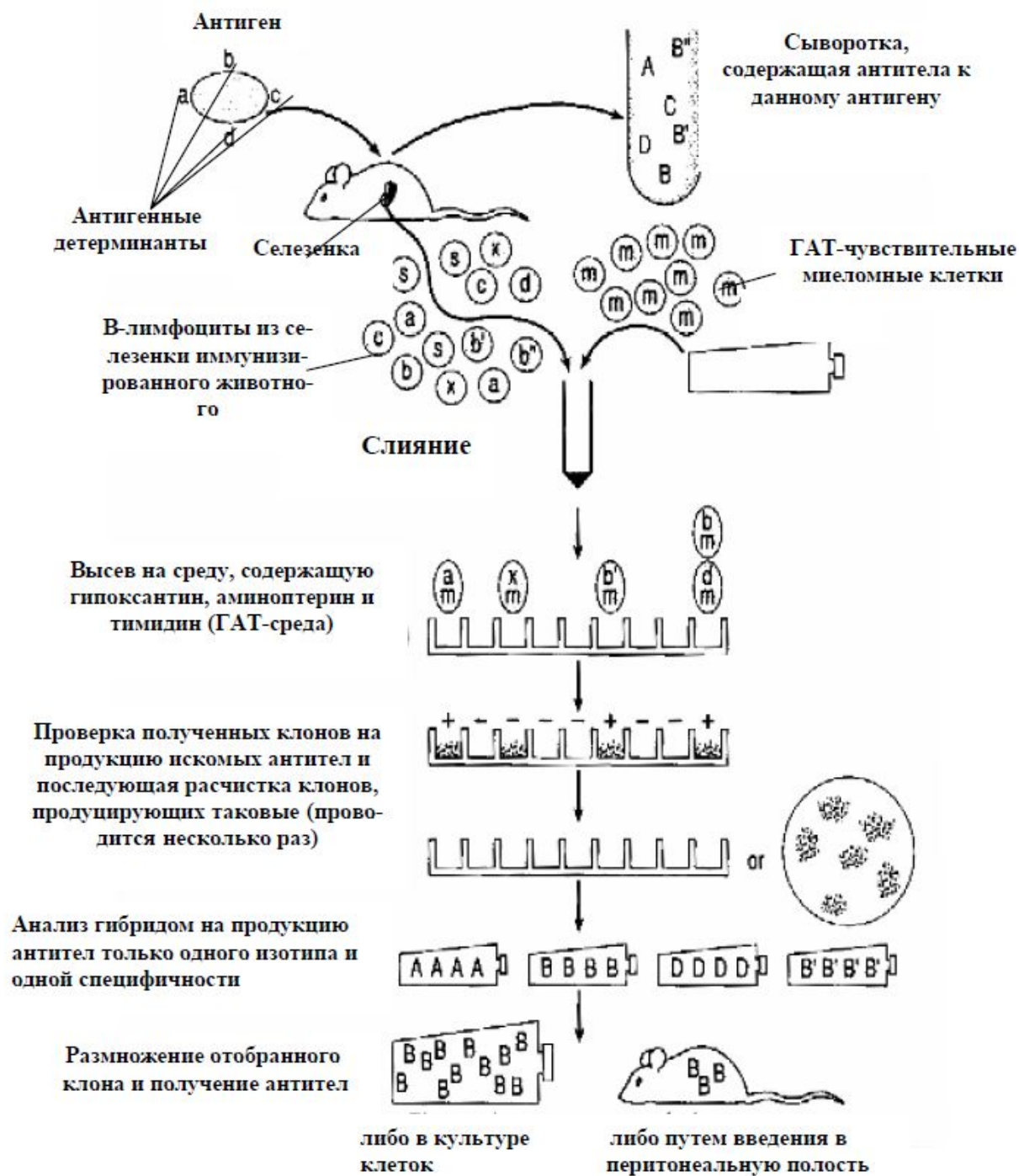


Рис. 23. Схема получения моноклональных антител (А.Г.Песнякевич, 2007)

Сформировавшиеся клоны проверяют на способность продуцировать антитела и отбирают те из них, которые дают антитела к использованному для иммунизации животного антигену.

Полученные стабильные, не дающие расщепления клоны являются источниками гибридом, пригодных для получения абсолютно однородных по специфичности антител, которые и называют моноклональными. Нарработку нужного количества антител осуществляют либо побуждая гибридомные

клетки к продукции антител в культуре, либо вводя суспензию таких гибридом в организм специально подготовленных лабораторных животных.

Преимущества моноклональных антител подтверждены уже более чем тридцатилетним опытом их применения в различных областях биологии и медицины. Благодаря использованию таких иммуноглобулинов удалось обнаружить и получить в пригодном для исследования количестве и виде множество не выявляемых другими методами веществ. В настоящее время моноклональные антитела все шире используются в масштабном промышленном производстве высокочистых препаратов для научных и медицинских целей. Осуществляемая с их помощью аффинная хроматография позволяет достигать максимально высокой степени гомогенности производимых веществ. На основе моноклональных антител разработаны специальные диагностические наборы, позволяющие идентифицировать возбудителей инфекционных заболеваний и антигены, появляющиеся в организме при различных патологиях неинфекционной природы.

В настоящее время существует множество линий миеломных ГАТ-чувствительных В-лимфоцитов, ведущих свое происхождение от млекопитающих различных видов. Отработаны также методы выделения В-лимфоцитов не из селезенки, а из так называемой периферической крови, которая отбирается из сосудов иммунизируемого организма стандартными методами. Это позволяет получать гибридомы и, соответственно, моноклональные антитела, различной видовой принадлежности, включая человеческие. Это открывает возможности для терапии ряда заболеваний, например, злокачественных изменений, путем доставки связанных с моноклональными антителами лекарственных препаратов непосредственно к раковым клеткам без причинения вреда остальным клеткам организма.

## **ЛЕКЦИЯ 14**

### **РЕАКЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ ИЛИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ**

1. Реакции агглютинации
2. Реакции преципитации
3. Реакции гемагглютинации
4. Реакции с участием комплемента
5. Реакции нейтрализации
6. Реакции иммунофлюоресценции (РИФ)
7. Радиоиммунологический анализ (РИА)
8. Иммуноферментный анализ (ИФА)
9. Иммуноблоттинг

Перейдем к рассмотрению принципов постановки различных реакций с применением поликлональных или моноклональных антител.

## 1. Реакции агглютинации

Реакции этой группы применяются для качественного и количественного определения корпускулярных антигенов или соответствующих им антител в анализируемых суспензиях. Наиболее широкое применение они находят в микробиологических исследованиях и в медицине при диагностике инфекционных заболеваний.

Существует множество разновидностей реакций агглютинации, которые применяются в зависимости от поставленной цели. В случаях, когда достаточно получения сведений о наличии конкретного антигена или конкретных антител, применяются так называемые качественные реакции, которые дают существенный выигрыш во времени.

Наиболее распространенным вариантом таких экспресс-реакций является ориентировочная реакция агглютинации на стекле. Для ее постановки на поверхность обычного предметного стекла (или в лунки специальных стекол) наносят капли цельной или незначительно разведенной сыворотки и затем вносят в каждую каплю корпускулярный антиген в растворе электролита (например, физиологическом растворе). В качестве контролей на стекло должны быть нанесены отдельные капли, содержащие только антиген или только сыворотку. В случае соответствия антигена антителам сыворотки в опытных каплях в течение 5-15 мин образуется видимый глазом осадок, который не наблюдается в контрольных каплях. В такой реакции неизвестным может быть антиген (например, бактерии), и в этом случае используются промышленно производимые антисыворотки, содержащие антитела к антигенам бактерий конкретных видов или серотипов. Применить эту реакцию можно и для анализа сыворотки, полученной, например, от конкретного пациента. В этом случае используются промышленно производимые взвеси антигенов, называемые обычно диагностикумами. И та и другая реакция может быть применена для постановки диагноза заболевания, только в первом случае это будет часть бактериологического метода в диагностике инфекционных заболеваний, во втором - часть серологического метода.

Для количественной оценки свойств сыворотки существует развернутая реакция агглютинации (рис. 24.). Применение этой реакции основано на эффекте фиксации комплексы образуются только при соответствующих концентрациях реагирующих антигенов и антител. Для постановки реакции анализируемую сыворотку разводят физиологическим раствором в зависимости от предполагаемого в ней количества анализируемых антител либо в 10 или в 100 раз.

Далее в каждую пробирку вносят равные объемы суспензии антигена, перемешивают и помещают в термостат с температурой 37°C на 1-4 часа. Учет результатов проводят визуально, отмечая, при каких разведениях сыворотки образуются осадки. Наибольшее разведение (например, 1:3000),

при котором осадок образовался, считается показателем и называется титром сыворотки. Хотя такой метод не дает точных данных о количестве молекул антител конкретной специфичности, он позволяет достоверно сравнивать сыворотки между собой и эффективно использовать их в постановке различных реакций. Для промышленно производимых сывороток на упаковках или в сопроводительных документах указывается титр как основной показатель их качества, что позволяет при постановке реакций с ними правильно подобрать разведение.

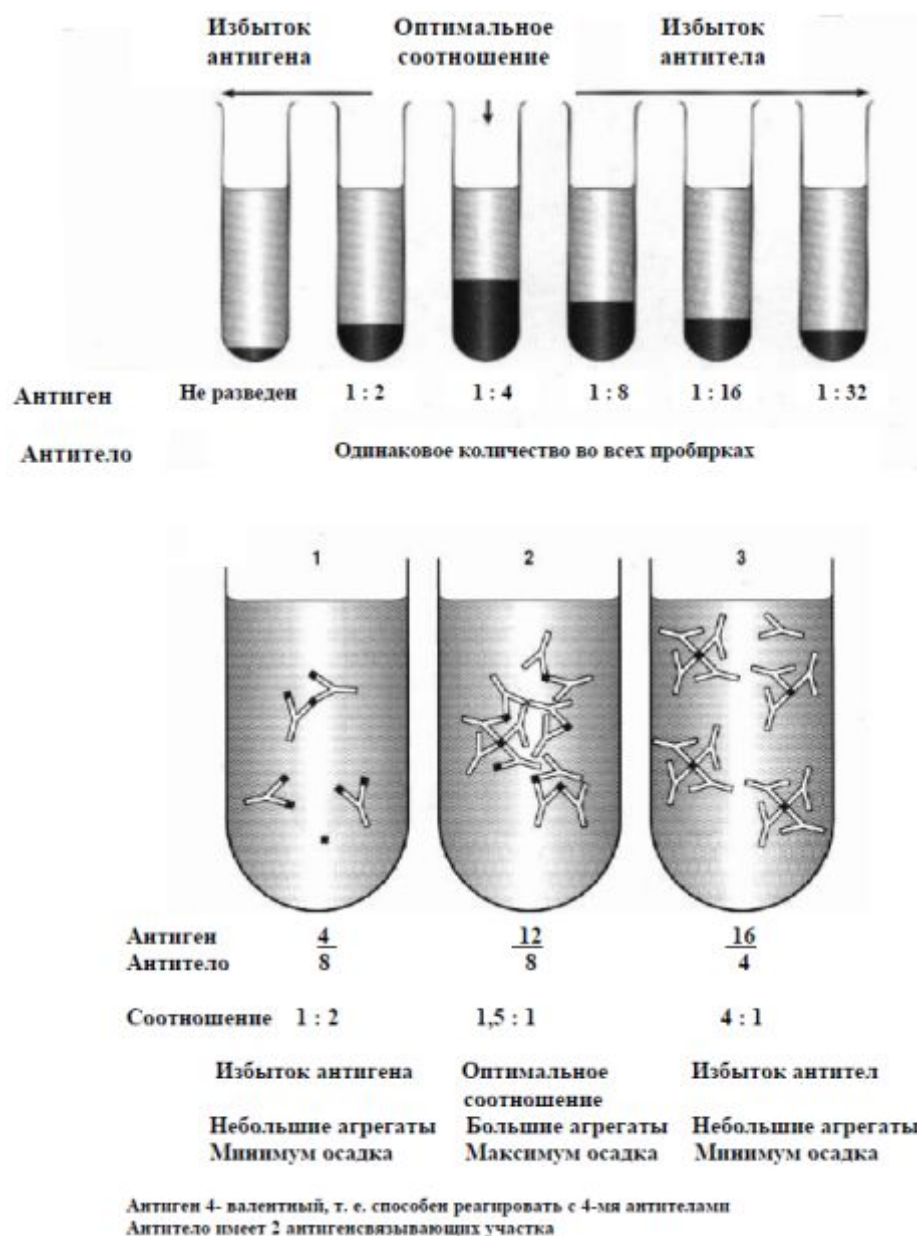


Рис. 24. Количественные отношения антиген-антитело при агглютинации и преципитации

Развернутые реакции агглютинации также можно применить и для качественного или количественного определения антигена в исследуемых жидкостях. В этом случае используется одно разведение сыворотки, а из содержащей антиген суспензии готовят серию разведений.



## 2. Реакции преципитации

Такие реакции используются для так называемых высокодисперсных антигенов, представляющих собой отдельные молекулы. Основные отличия их от реакций агглютинации заключаются в более медленном образовании осадка (преципитата), меньшей его плотности и способности со временем диссоциировать.

Наиболее быстрый вариант (экспресс-метод) преципитации - это реакция кольцепреципитации. Для ее постановки используют специальные узкие пробирки, обычно называемые преципитационными. Небольшой диаметр таких пробирок должен препятствовать смешиванию двух растворов, содержащих соответственно антиген и антитела. Необходимо, чтобы оба раствора были прозрачны и не содержали видимых взвешенных частиц. Сначала в пробирку до половины объема наливают один из растворов, а затем медленно по стенке, не допуская перемешивания с уже налитым раствором, приливают второй в таком же объеме. В результате диффузии молекул антигена и антител будут создаваться меняющиеся соотношения концентраций, и, когда они окажутся эквивалентными, образуется располагающийся на границе двух растворов осадок, обычно имеющий форму кольца, что и дало название реакции. Обычно кольцо образуется в течение 5-15 мин, но затем из-за продолжающейся диффузии концентрации выйдут из зоны эквивалентности, комплексы антиген-антитело начнут диссоциировать и кольцо осадка может исчезнуть. Поэтому учитывать результат такой реакции следует не позже, чем через час после ее постановки, что в целом считается одним из ее недостатков.

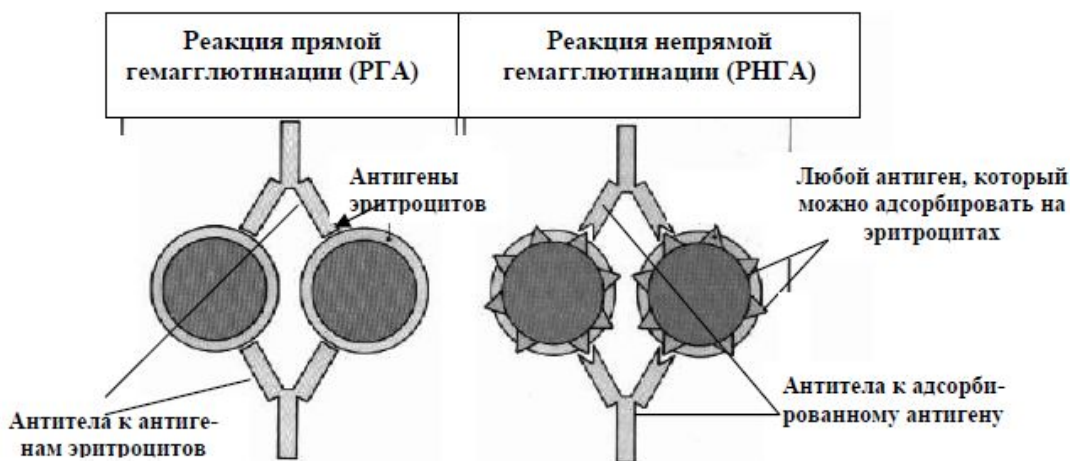
С целью избежать диссоциации образующихся осадков были разработаны варианты реакций преципитации в гелях, получившие название реакций иммунодиффузии. Нагретый гелеобразующий раствор наносят слоем равной толщины на прозрачную стеклянную или пластиковую пластинку или дно чашки Петри и после застывания в геле изготавливают лунки равной глубины и диаметра. В зависимости от варианта реакции в лунки будут вноситься растворы антигенов или антител, при диффузии которых в геле будут создаваться эквивалентные концентрации. Хотя такая диффузия будет происходить медленнее, чем в жидкостях, что удлиняет время протекания реакций, образующиеся в геле осадки сохраняются гораздо большее время.

Описанные выше реакции агглютинации и преципитации были введены в практику еще в конце XIX века и не утратили своего значения до сих пор, но уже в первые годы их применения стало понятно, что их разрешающая способность не всегда удовлетворяет исследователей. В частности, при малых концентрациях того или иного реагента образующиеся комплексы настолько невелики по размерам, что даже с применением микроскопии не могут быть фиксированы исследователем. Поэтому постоянно проводились попытки подобрать условия для более выраженной визуализации результатов взаимодействия антиген-антитело. Одной из успешных попыток стало применение эритроцитов крови в качестве носителей антигена.

### 3. Реакции гемагглютинации

Собственно феномен гемагглютинации заключается в объединении эритроцитов в видимые невооруженным глазом агрегаты и более быстрое, чем оседание свободных эритроцитов, осаждение их из раствора. Помимо открытых еще К. Ландштейнером агглютининов  $\alpha$  и  $\beta$ , агрегирование эритроцитов могут вызывать антитела к различным эритроцитарным антигенам, лектины растительного происхождения, антигены и жгутики бактерий некоторых видов, некоторые вирусы, в том числе и вирусы человека. Таковую гемагглютинацию принято называть прямой или активной (рис. 25.).

Кроме этого, при закреплении на поверхности эритроцитов изначально несвойственных им антигенов, возможно агрегирование и осаждение их антителами, комплементарными таким антигенам. В этом случае агглютинацию называют **непрямой** или пассивной. Осаждение на поверхность эритроцитов таких, условно говоря, чужих для них антигенов может происходить естественным путем (например, неполных антител из плазмы крови) или в результате направленного экспериментального воздействия.



Разведения анализируемых сывороток    Контроли  
2   4   8   16   32   64   128   256   512   1024 ПН

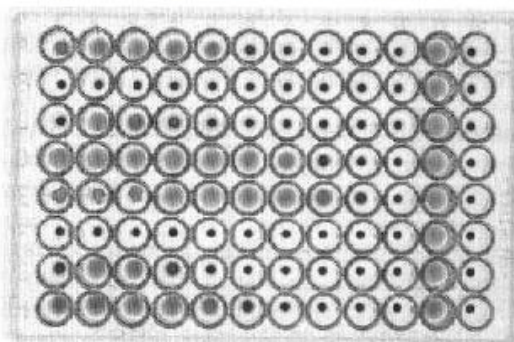


Рис. 25. Реакции гемагглютинации



Реакции гемагглютинации проводят при ряде неинфекционных (гемолитическая анемия, желтуха новорожденных и др.) заболеваний и некоторых инфекционных (бруцеллезе, туляремии и др.) болезнях.

Гемагглютинацию можно использовать для выявления определенных возбудителей болезней и антител, вырабатываемых под их воздействием. В первом случае ставится реакция прямой активной гемагглютинации.

#### **4. Реакции с участием комплемента**

Еще одной группой методов с улучшенной визуализацией результатов реакции антиген-антитело стали реакции с применением комплемента. Как известно, активация комплемента по классическому пути инициируется комплексами антиген-антитело. В тех случаях, когда сами комплексы не могут быть фиксированы визуально, можно оценить их наличие косвенно, например, по гибели или разрушению (лизису) клеток. Если в качестве клеток-мишеней в таких реакциях используются эритроциты, лизис которых легко тестируется по выходу гемоглобина в раствор, говорят о реакциях гемолиза.

Примером реакции, в которой используются комплемент и эритроциты, является реакция связывания комплемента (сокращенно РСК). Наибольшую известность получило применение этой реакции в диагностике сифилиса, поскольку выявлять образующиеся в малых количествах в организме болеющих антитела против возбудителя этой болезни методами преципитации или агглютинации не удавалось.

#### **5. Реакции нейтрализации**

Эта группа реакций была введена в практику одной из первых, еще в конце XIX века, но до сих пор не утратила своей актуальности. С помощью реакций нейтрализации можно выявлять наличие антител и оценивать эффект их действия, а также идентифицировать микроорганизмы или их факторы патогенности. Особенностью реакций этой группы является использование для визуализации результатов взаимодействия антиген-антитело живых тест-систем. Под этим термином понимают целостный организм взрослого животного, куриные эмбрионы, поддерживаемые в культуре клетки животных или человека. Выбор тест-системы определяется, прежде всего, свойствами антигенов, которые используются в конкретной реакции.

Реакции нейтрализации могут быть использованы для идентификации патогенных микроорганизмов и определения их количества в анализируемых пробах. В этом случае необходимо наличие антисывороток или суспензий моноклональных антител, специфичных по отношению к конкретным видам или штаммам. Испытываемую жидкость смешивают с антителами, выдерживают необходимое для взаимодействия антиген-антитело время, и вводят в живую тест-систему. В качестве контроля используют введение в такую же тест-систему смеси нормальной сыворотки и анализируемой

пробы. Сравнивая состояние тест-систем в опыте и контроле, делают вывод о наличии или отсутствии нейтрализации и, соответственно, о видовой или штаммовой принадлежности патогена. Для некоторых микроорганизмов, в частности, болезнетворных вирусов, реакции нейтрализации до сих пор являются фактически единственным методом их идентификации.

По сходному принципу осуществляются и реакции, позволяющие исследовать не микроорганизмы, а их токсины и обладающие антитоксическим действием антитела (антитоксины).

К реакциям нейтрализации относят и такие, в которых исследуются факторы патогенности бактерий, являющиеся не токсинами, а ферментами (лецитиназами, гиалорунидазами, коллагеназами и др.) или специфичные по отношению к ним антитела. Отличительной чертой этой группы реакций нейтрализации является то, что в них не используются живые тест-системы, а для визуализации результатов взаимодействия антиген-антитело достаточно проверки воздействия фермента на его субстрат.

## 6. Реакции иммунофлюоресценции (РИФ)

В реакциях этой группы используются антитела или антигены, связанные с флюорохромами - веществами, способными излучать свет определенной длины волны при облучении их светом с другой длиной волны (например, ультрафиолетом). Разрешающая способность таких реакций выше, чем у всех описанных в предыдущих разделах, потому, что в данном случае имеется возможность обнаруживать очень небольшие комплексы антиген-антитело с помощью люминисцентного микроскопа. Кроме того, применение конъюгированных с флюорохромом антител дает возможность обнаруживать трудно переводимые в раствор антигены, например белки наружной цитоплазматической мембраны клеток или какие-либо молекулы, прочно связанные с межклеточным веществом тканей. При этом удается определить не только наличие антигенов, но и места их преимущественной локализации в анализируемых образцах, что в некоторых случаях и является главной целью исследования.

Чаще всего в подобных реакциях используют связанные с флюорохромом иммуноглобулины. В качестве хорошо связывающихся с белками флюорохромов применяют **флюоресцеинизотиоцианат** (ФИТЦ), который излучает в зеленой части спектра, и **фикоэритрин**, который при возбуждении светом такой же длины волны дает красный свет. Это позволяет при необходимости использовать так называемое «двойное окрашивание» и в одном анализе выявлять разные антигены.

Различают три основных варианта РИФ (рис. 26). Так называемая **прямая иммунофлюоресценция** заключается в обработке анализируемого препарата (среза тканей или мазка, приготовленного из суспензии клеток) антителами, связанными с флюорохромами. После отмывания препарата от несвязавшихся антител его просматривают в люминисцентном микроскопе.

**Непрямая флюоресценция** включает два этапа. Сначала препарат обрабатывают обычными («несветящимися») антителами конкретного вида животных. После отмывания проводят обработку конъюгированными с флюорохромом антителами, специфическими к антигенным детерминантам использованных в первой обработке антител («светящимися» антииммуноглобулинами).

### ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИЯ



Рис. 26. Варианты реакций иммунофлюоресценции

Отмытый после второго этапа препарат подвергают микроскопированию. Хотя эта реакция требует большего времени на постановку, ее разрешающая способность выше, поскольку, как правило, на одно «несветящееся» антитело осаждается не одно, а несколько

«светящихся». Кроме того, такой метод позволяет работать с очень разными антигенами, используя одну суспензию связанных с флюорохромами иммуноглобулинов, т. е. отпадает необходимость проводить конъюгирование с флюорохромом иммуноглобулинов каждой вновь получаемой сыворотки или суспензии моноклональных антител.

Третий вариант - непрямая иммунофлюоресценция с применением комплемента - основан на том, что при активации по классическому пути молекулы системы комплемента образуют комплексы именно там, где имеются закрепленные иммуноглобулины.

Иммунофлюоресценция позволила разработать уникальный по своим возможностям метод отбора нужных клеток из смешанных суспензий (рис. 27). Такую суспензию (например, фракцию лейкоцитов крови человека) подвергают обработке иммуноглобулинами двух разных типов, одни из которых дают при возбуждении зеленый свет флюорохромом, вторые - красный свет. Затем смесь помещают в прибор, который называют «лазерный проточный цитометр». Клетки в тонкой струе жидкости по одной пропускаются через луч лазера с длиной волны, возбуждающей свечение в конъюгированных с антителами флюорохромах. Сложная оптическая система прибора регистрирует сразу несколько параметров прошедшей через луч клетки: ее размеры, наличие цитоплазматических гранул и испускаемый свет. В зависимости от информации, поступившей из оптического блока в механический блок, сепаратор направит клетку с определенными характеристиками в нужный сосуд. Одновременно связанная с прибором компьютерная система регистрирует, сколько и каких клеток было проанализировано, что позволяет кроме сортировки получить количественные данные о составе изучаемой суспензии.

Недостатками реакций иммунофлюоресценции является невозможность их применения к объектам, молекулы которых могут флюоресцировать, и невысокая точность определения количеств анализируемых антигенов.

## 7. Радиоиммунологический анализ (РИА)

Эта группа реакций считается самой чувствительной и высокоточной в количественном отношении. В таких реакциях применяют радиоактивно меченые антитела или антигены. В качестве радиоактивной метки чаще всего используют хорошо связывающиеся с белками изотопы йода ( $I^{131}$  и  $I^{125}$ ) для антител и изотопы водорода ( $H^3$ ) и фосфора ( $P^{32}$ ) для антигенов небелковой природы. Технические возможности измерения радиоактивного излучения позволяют с помощью РИА обнаруживать в моче, крови, экссудатах антигены, присутствующие в пикограммовых количествах и не тестируемые вследствие этого химическими методами (рис. 28).

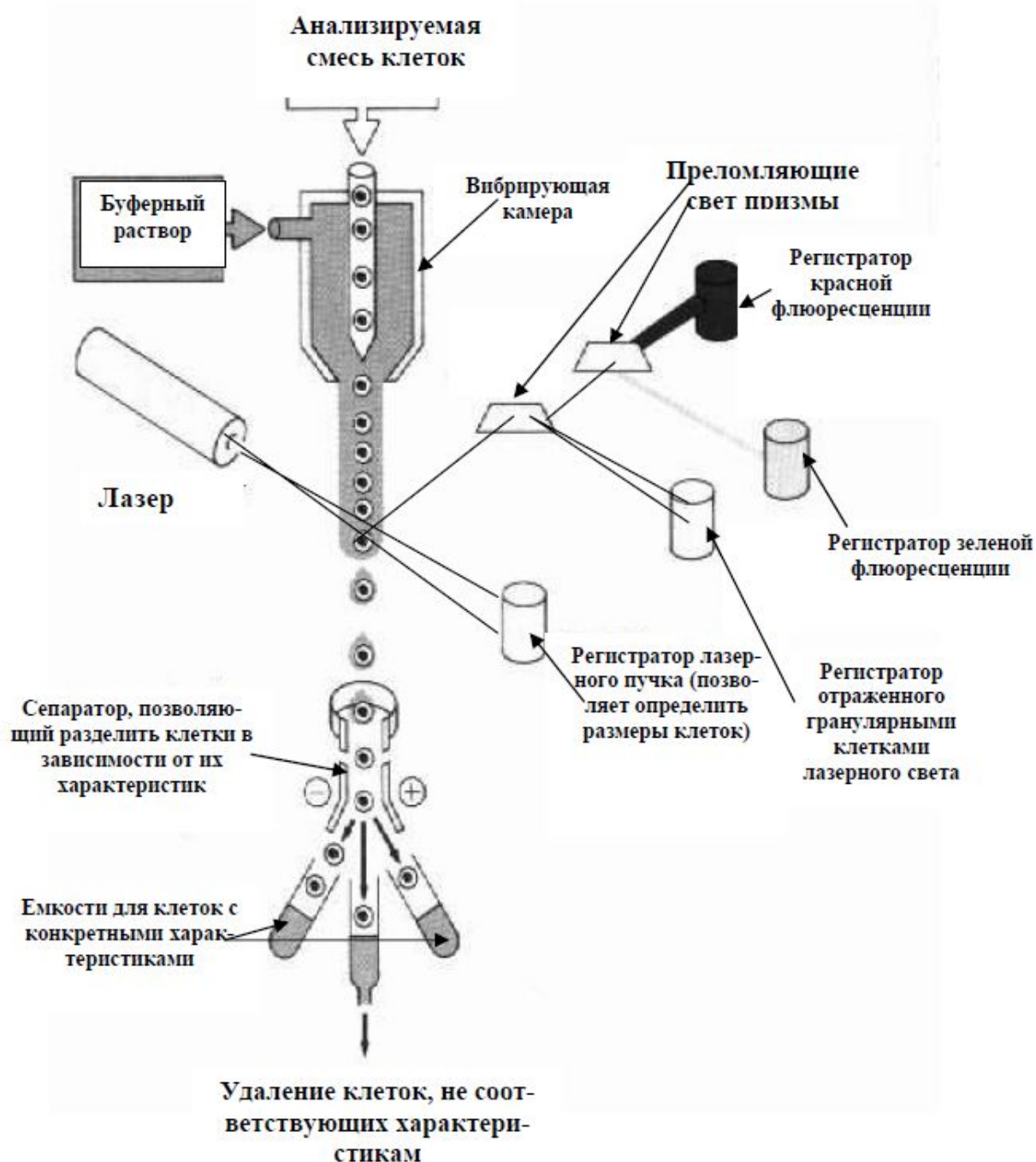


Рис. 27. Разделение различных клеток из смеси при помощи реакций иммунофлюоресценции методом лазерной проточной цитометрии

Одним из примеров применения РИА могут служить методики, разработанные для тестирования аллергических состояний у человека.

В настоящее время существует много вариантов использования РИА, но их обычно применяют только в тех случаях, когда другие методы исследования не позволяют получить желаемый результат. Это связано с обязательным соблюдением мер безопасности, необходимых при работе с радиоактивными веществами, что и ограничивает широкое применение РИА.

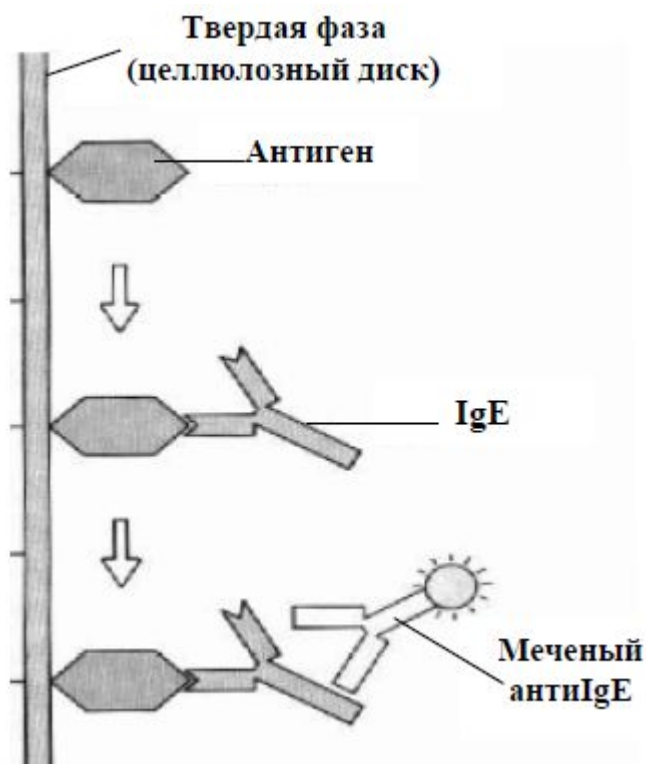


Рис. 28. Принцип метода радиоиммунологического анализа

## 8. Иммуноферментный анализ (ИФА)

Реакции этой группы ненамного уступают в точности и разрешающей способности РИА, но зато являются безопасными. В силу этого иммуноферментный анализ в настоящее время получил наибольшее распространение. В основе этих реакций лежит применение антител (реже антигенов), конъюгированных с ферментами, которые способны обеспечить превращение неокрашенного вещества (так называемого хромогена) в окрашенное (рис. 29). Наиболее часто применяемыми для таких целей ферментами являются сохраняющие активность в относительно широком диапазоне условий, доступные и дешевые ферменты из растений (пероксидаза хрена) и бактерий (щелочная фосфатаза и  $\beta$ -D-галактозидаза).

Субстратом для пероксидазы является перекись водорода, которая сама по себе, естественно, не может давать окрашенных продуктов реакции. Поэтому так называемые хромогенные смеси для пероксидазы помимо  $H_2O_2$  в определенных концентрациях содержат собственно хромоген, который, окисляясь образующимся при распаде перекиси атомарным кислородом, и будет давать окрашивание. Чаще всего в качестве хромогенов выступают вещества, продукты окисления которых имеют желтый (ортофенилендиамин и др.) или синий (тетраметилбензидин и др.) цвет, поскольку эти цвета лучше регистрируются спектрофотометрически. Недостатком применения пероксидазы является необходимость готовить субстратную смесь незадолго до применения из-за нестабильности перекиси в растворах.



Субстратами для ферментов бактериального происхождения являются дающие синее окрашивание паранитрофенилфосфат для щелочной фосфатазы и паранитрофенил-β-галактозид для β-галактозидазы.

А) Принцип постановки

В) Фотография микромеры, в которой осуществлялся анализ

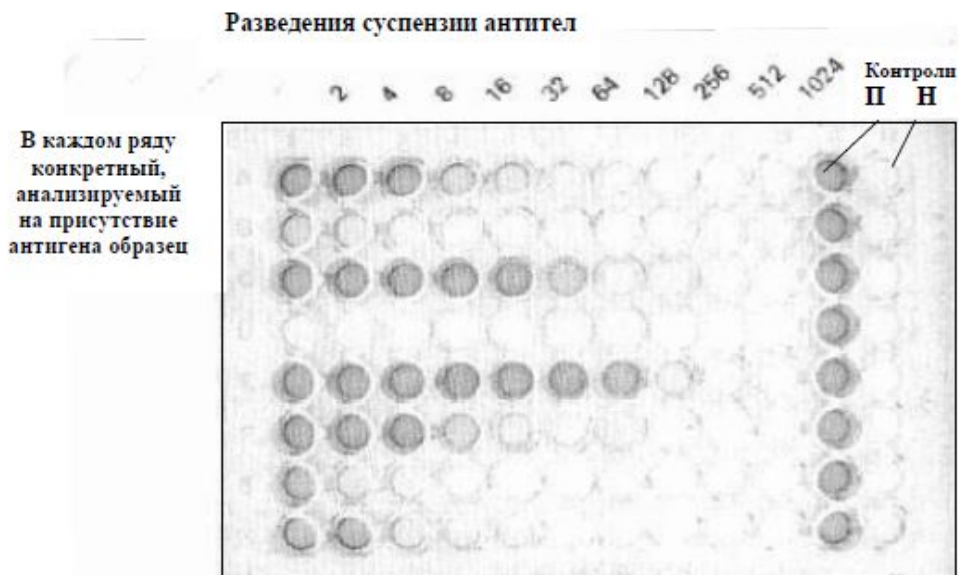
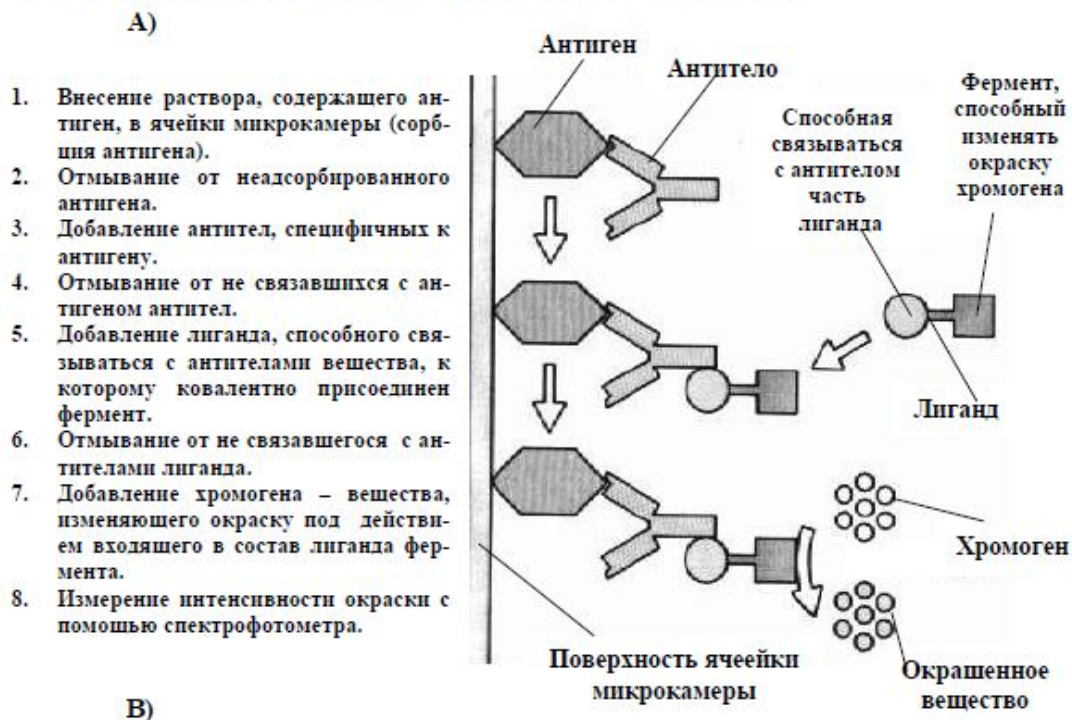


Рис. 29. Принцип осуществления реакции иммуноферментного анализа

Преимуществами иммуноферментного анализа являются его высокая разрешающая способность (можно обнаруживать антиген, присутствующий в нанограммовых количествах), возможность проведения реакций в очень небольших объемах и быстрота получения результатов. То, что интенсивность окрашивания раствора пропорциональна количеству

фермента, делает ИФА не только качественным, но и высокоточным количественным методом, поскольку с помощью фотоколориметров или спектрофотометров можно регистрировать очень небольшие различия в интенсивности окрашивания.

Особенностью ИФА является осуществление двух различных типов химических реакций: взаимодействия антиген-антитело и взаимодействия фермент-субстрат. Если оба типа реакций удастся провести в одной и той же смеси растворов, такой вариант иммуноферментных реакций относят к *гомогенному ИФА*. Если для проведения иммунологических и ферментативных реакций требуются различные условия, реакции разделяют во времени, удаляя предшествующие растворы и заменяя их на последующие. Этот вариант получил название *гетерогенного или твердофазного ИФА*. Последнее название отнюдь не случайно - именно сорбируя на твердой фазе образующиеся иммунные комплексы и удастся эффективно менять одни растворы на другие. Хотя твердофазный ИФА требует большего количества этапов и, соответственно, является более продолжительным в постановке, точность и возможность выявления различных по своей природе антигенов сделали его наиболее распространенным. Подавляющее большинство применяемых в настоящее время методик ИФА базируются именно на нем.

В качестве твердой фазы используют инертные в химическом отношении материалы синтетического (полистирол, полипропилен, поливинилхлорид, нейлон, полиакриламид) или природного (целлюлоза и ее производные, декстраны, агароза) происхождения.

Еще одним современным методом исследования, основанным на сочетании электрофореза и применении меченых тем или иным образом антител, является иммуноблоттинг.

## 9. Иммуноблоттинг

Суть этого метода, применяемого для идентификации белков, заключается в следующем (рис. 30). Содержащие белки суспензии подвергают электрофорезу в соответствующем геле. Затем на гелевую пластинку накладывают пластинку из сорбирующего пористого материала (чаще всего целлюлозный или нитроцеллюлозный фильтр) и создают условия для переноса на нее белков из геля. В силу того, что перенос происходит за счет естественной или усиленной тем или иным способом диффузии в направлении гель-фильтр, расположение мест сорбции белков на фильтре будет соответствовать их расположению в геле после фореа. Фактически такой перенос на фильтр необходим для улучшения условий обработки анализируемых белков мечеными антителами. Манипулируя с фильтром, легче создать условия для взаимодействия антиген-антитело, легче отмывать от несвязавшихся антител и, главное, легче визуализировать результаты. В зависимости от желания и возможностей исследователя можно применить любой современный вариант визуализации - РИФ, ИФА или РИА.



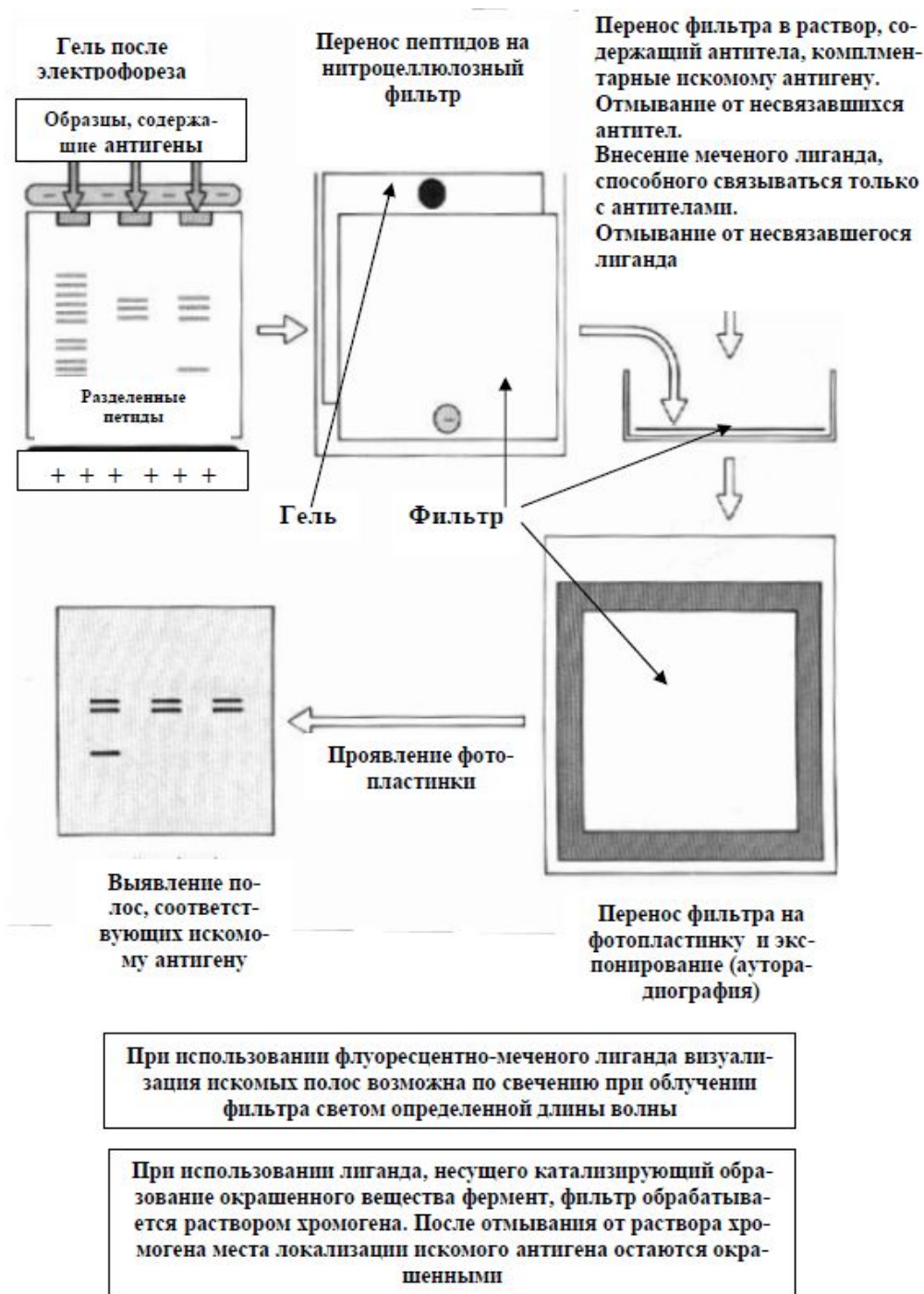


Рис. 30. Принцип осуществления реакции иммуноблоннинга

В первом случае обнаружить искомый антиген можно будет, просматривая обработанный фильтр под источником света соответствующей длины волны. Нужная полоса будет флуоресцировать. Во втором случае в месте локализации антигена на белом фильтре будет визуально регистрироваться окрашенное пятно. Для выявления результатов при применении радиоактивно меченых антител необходимо совместить фильтр с фотопластинкой, после экспонирования и проявления которой на месте, соответствующем расположению антигена на фильтре, будет темное пятно засвеченной фотозмульсии.

## Литература

### Основная

1. Хаитов Р.М. Иммунология: учебник для студентов медицинских вузов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 320 с.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 604 с.
3. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М., 1999. – 511 с.
4. Методы исследования в общей иммунологии: Уч. пособие /Белан Э.Б., Гумилевский Б.Ю.-Волгоград. - 2006.
5. Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В. Клиническая иммунология: учебник. - М.: «ГЭОТАР-МЕДИА», 2005.
6. Горячкина Л.А., Кашкина К.П. Клиническая аллергология и иммунология. М.: Миклош, 2009. - 432 с.

### Дополнительная

1. Иммунология (ред. У. Пол), т. 1-3, (пер. англ.) М., 1988.
2. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунология. - М.:ГОЭТАР – Медиа, 2009. – 514 с.
3. Борисов Л. Б. и др. Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. - М, Медицина, 1993. – 238 с.
4. Клиническая иммунология и аллергология (ред. Л. Йегер) ,т. 1-3, (пер. нем.) М., 1990.
5. Паттерсон Р. Аллергические болезни. М., 2000.
6. Олехнович В.М. Клиника и терапия неотложных состояний в аллергологии и их профилактика. - М.: Мед. книга, 2005.
7. Стефани Д. В., Вельтищев Ю. В. Иммунология и иммунопатология детского возраста. М. 1996.
8. Клиническая иммунология и аллергология. Под ред. Г.Лолора-младшего, Т. Фишера, Д.Адельмана. – Пер. с англ. – М.:Практика, - 806 с.
9. Пыцкий И. И., Адрианова Н. В., Артмосова А. В. Аллергические болезни, М., 1984.
10. Хаитов Р.М. Клиническая аллергология. – М.: «МЕД-пресс-информ», 2002. – 624 с.
11. Зарецкая Ю.М., Хамаганов Е.Г., Губарев М.И. Иммунология и иммуногенетика человека. М.: Карманная энциклопедия, 2002.
12. Климов В.В. Иммунная система и основные формы иммунопатологии. Ростов-на-Дону:Феникс, 2006.
13. Полетаев А.Б. Клиническая и лабораторная иммунология: лекции. М.: МИА, 2007.
14. Хаитов Р.М., Ильин Н.И. Аллергология и иммунология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.

15. Чепель Э. Основы клинической иммунологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
16. Ковальчук Л.В. Иммунология. Практикум. 2010.

### **Информационные ресурсы**

1. <http://www.farmafak.ru/Fiziologiya-1.htm>
2. <http://meduniver.com/Medical/Physiology/>
3. <http://www.bibliotekar.ru/447/>
4. <http://human-physiology.ru/>
5. <http://www.berl.ru/article/biology/fisiology.htm>
6. [http://fondknig.com/2009/06/04/lekcii\\_po\\_anatomii\\_i\\_fiziologii\\_s\\_osnova  
mi\\_patologii\\_audiokniga.html](http://fondknig.com/2009/06/04/lekcii_po_anatomii_i_fiziologii_s_osnova_mi_patologii_audiokniga.html)
7. <http://www.booksmed.com/fiziologiya/page/8/>
8. <http://www.onu.edu.ua/>
9. <http://www.biology.org.ua>