

Занятие 7

Приобретенный (специфический) иммунитет. Иммунная система организма. Иммунокомпетентные клетки. Антигены. Реакции иммунного ответа. Антитела. Серологические тесты

Специфический иммунитет

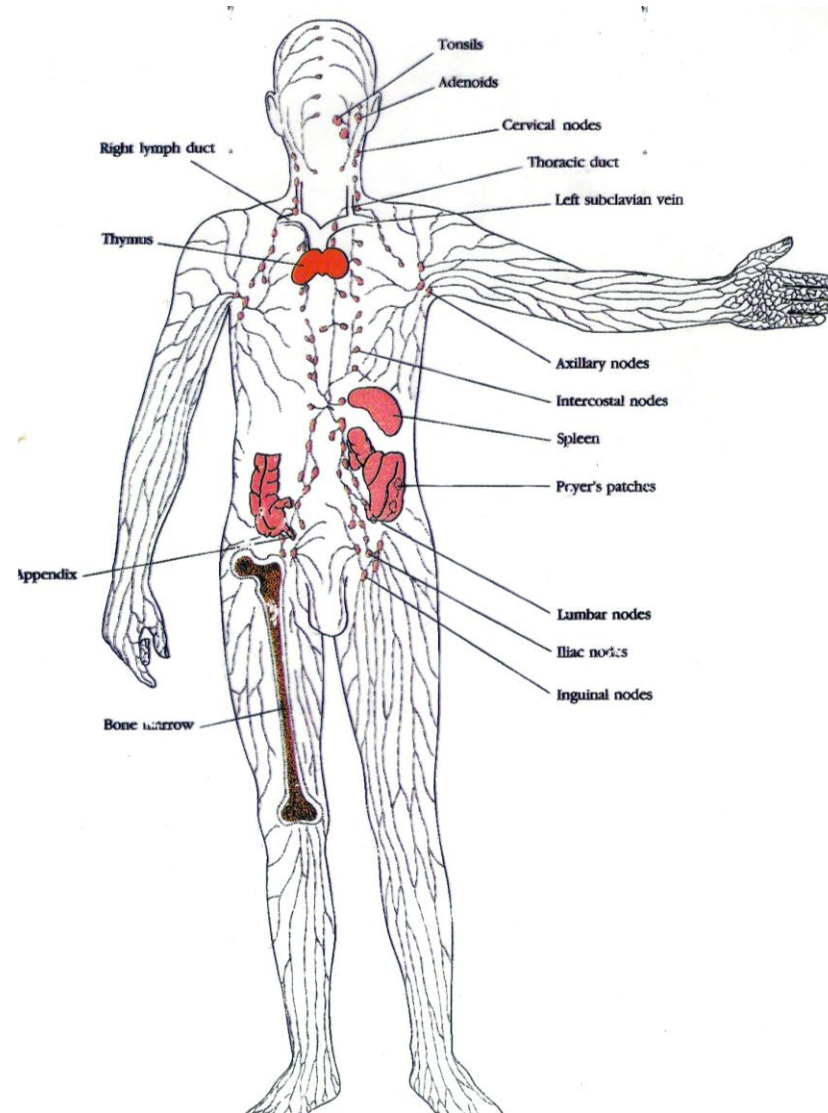
- Специфический иммунитет формируется у человека при контакте иммунной системы с возбудителем или антигеном
- Специфическая защита, сформированная против какого-либо антигена, не может защитить организм от других антигенов.

Иммунная система организма

Для защиты от чужеродных веществ и поддержания гомеостаза в организме существует сложная система защиты, получившая название **иммунной системы** - совокупности органов, лимфоидной ткани, а также отдельных клеток.

- Иммунная система это специализированная, анатомически обособленная ткань разбросанная по всему организму в виде различных лимфоидных образований и отдельных клеток.
- Наиболее важная функция иммунной системы – иммунитет: защита организма от генетически чужеродных веществ экзогенного и эндогенного происхождения. К свойствам иммунной системы также относятся специфичность, чувствительность, толерантность

Иммунная система организма



Органы иммунной системы

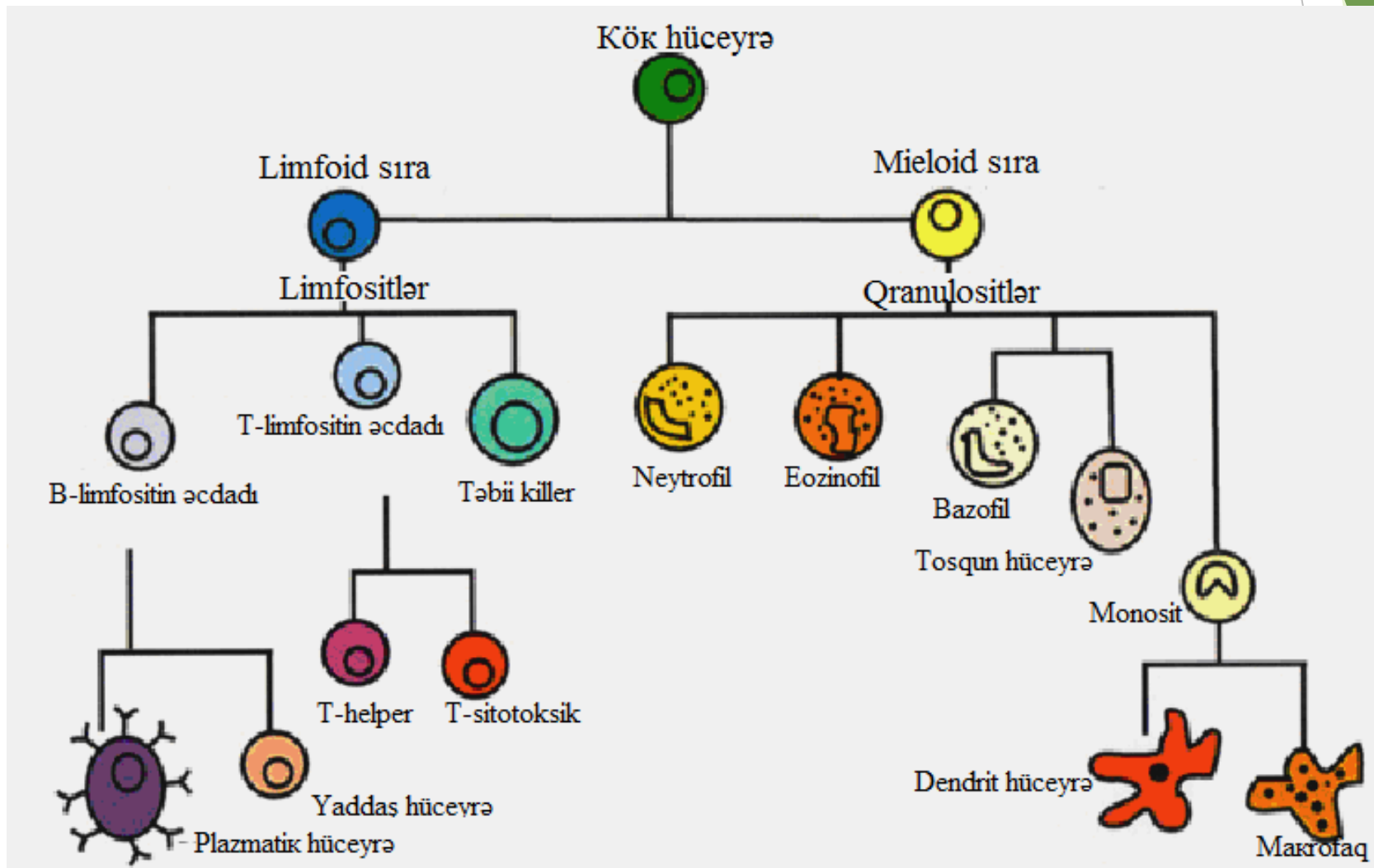
- **Центральные органы иммунной системы** принимают участие в процессах антигеннезависимой дифференцировки и созревания клеток иммунной системы

Костный мозг, тимус

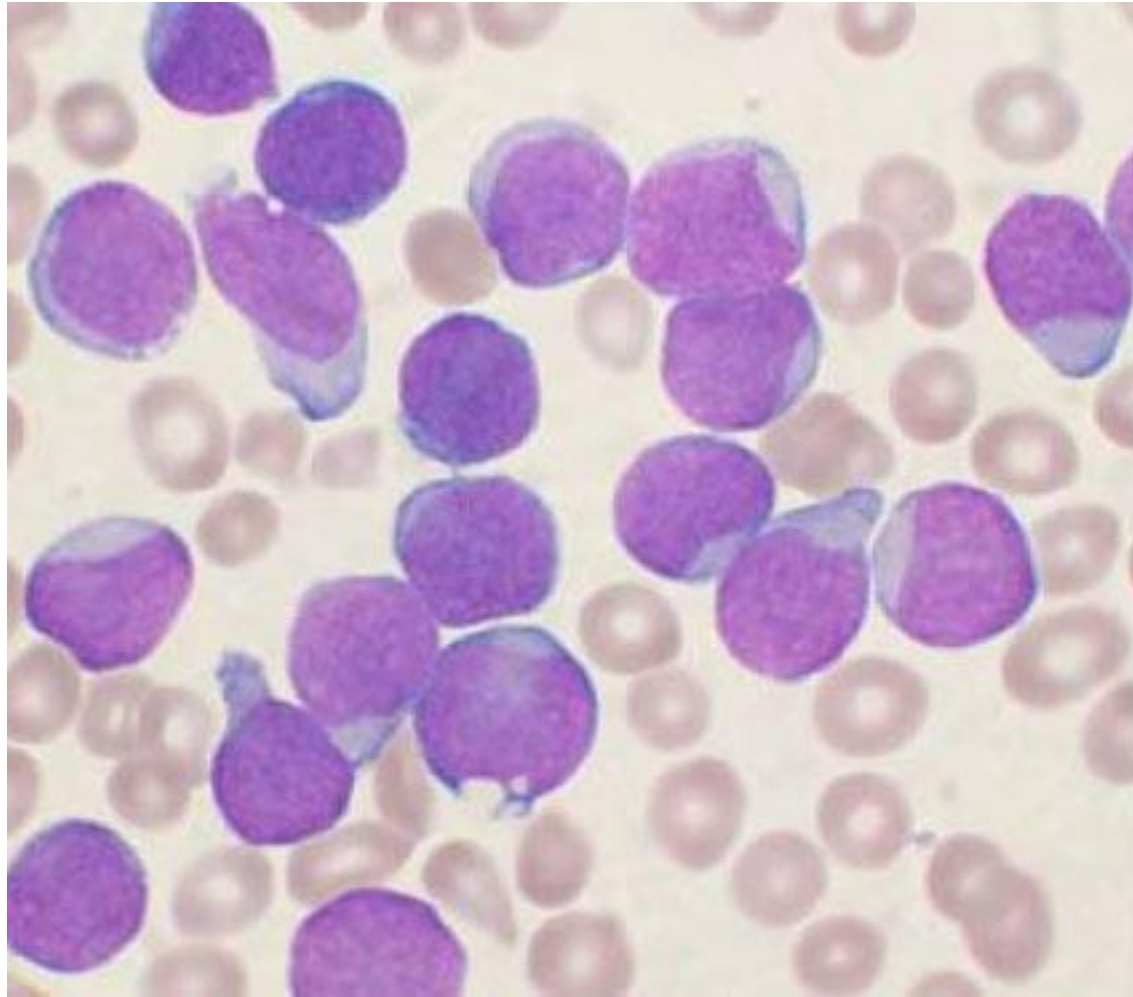
- **Периферические органы иммунной системы** участвуют в антигензависимой дифференцировке лимфоцитов, презентации антигена и иммуногенезе Т- и В-лимфоцитов

Селезенка, лимфатические узлы, лимфоидные фолликулы

Созревание клеток иммунной системы



Клетки иммунной системы - лимфоциты



Лимфоциты

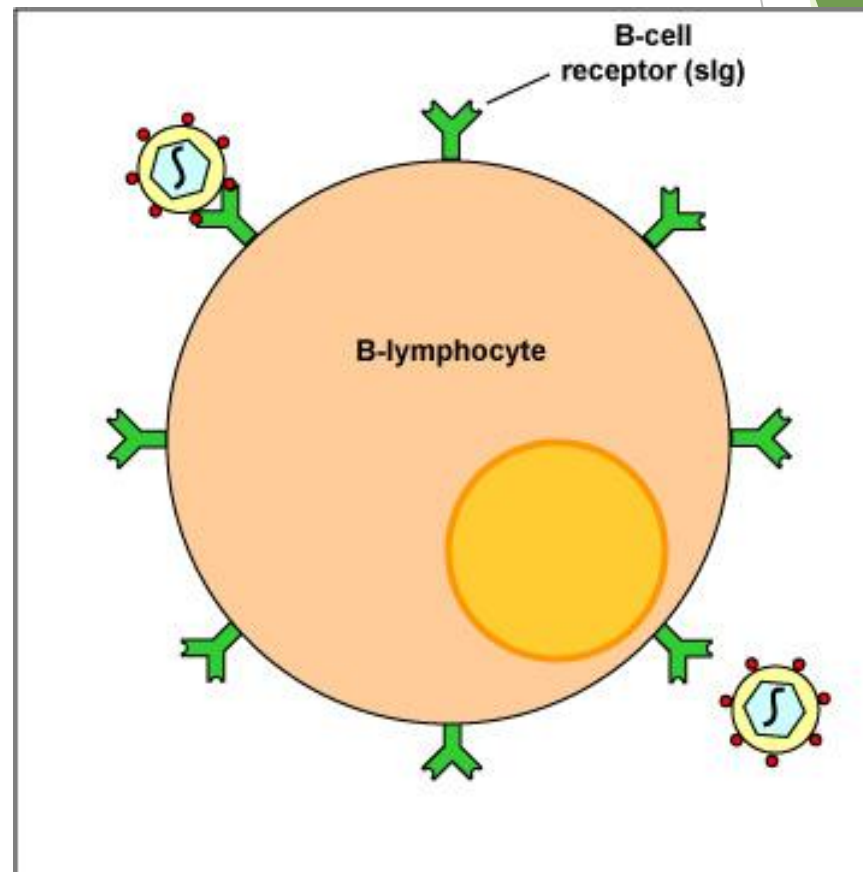
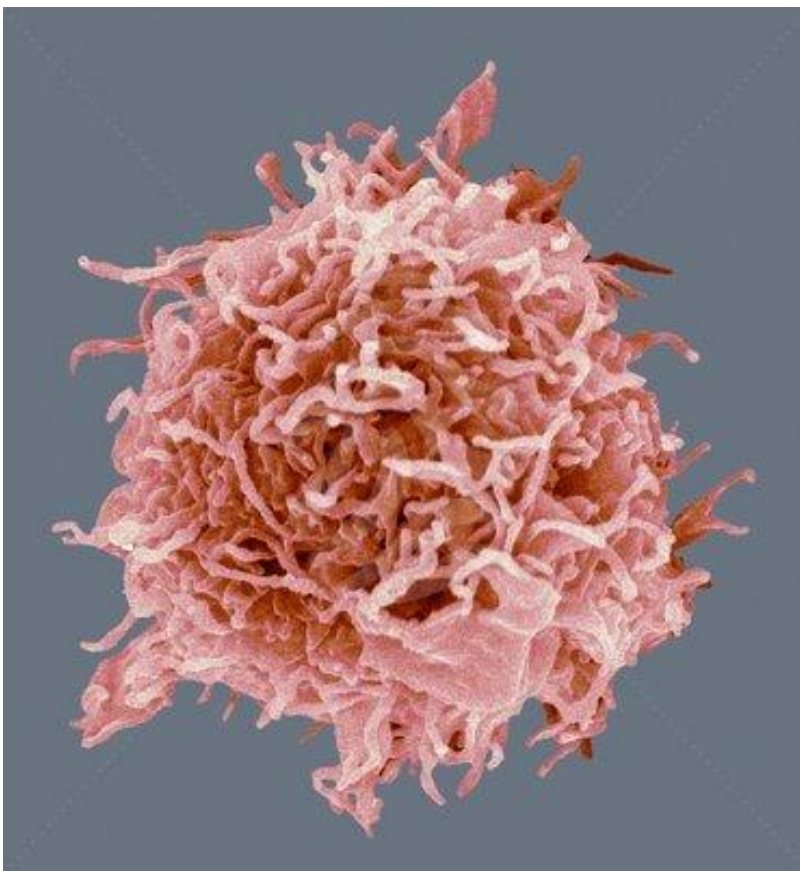
В зависимости от места созревания в организме, эти клетки подразделяются на две гетерогенные популяции

- **В** - лимфоциты
- **Т** – лимфоциты
- Клетки без отличительных признаков Т- и В-лимфоцитов получили название нулевых клеток.
- **0** – лимфоциты

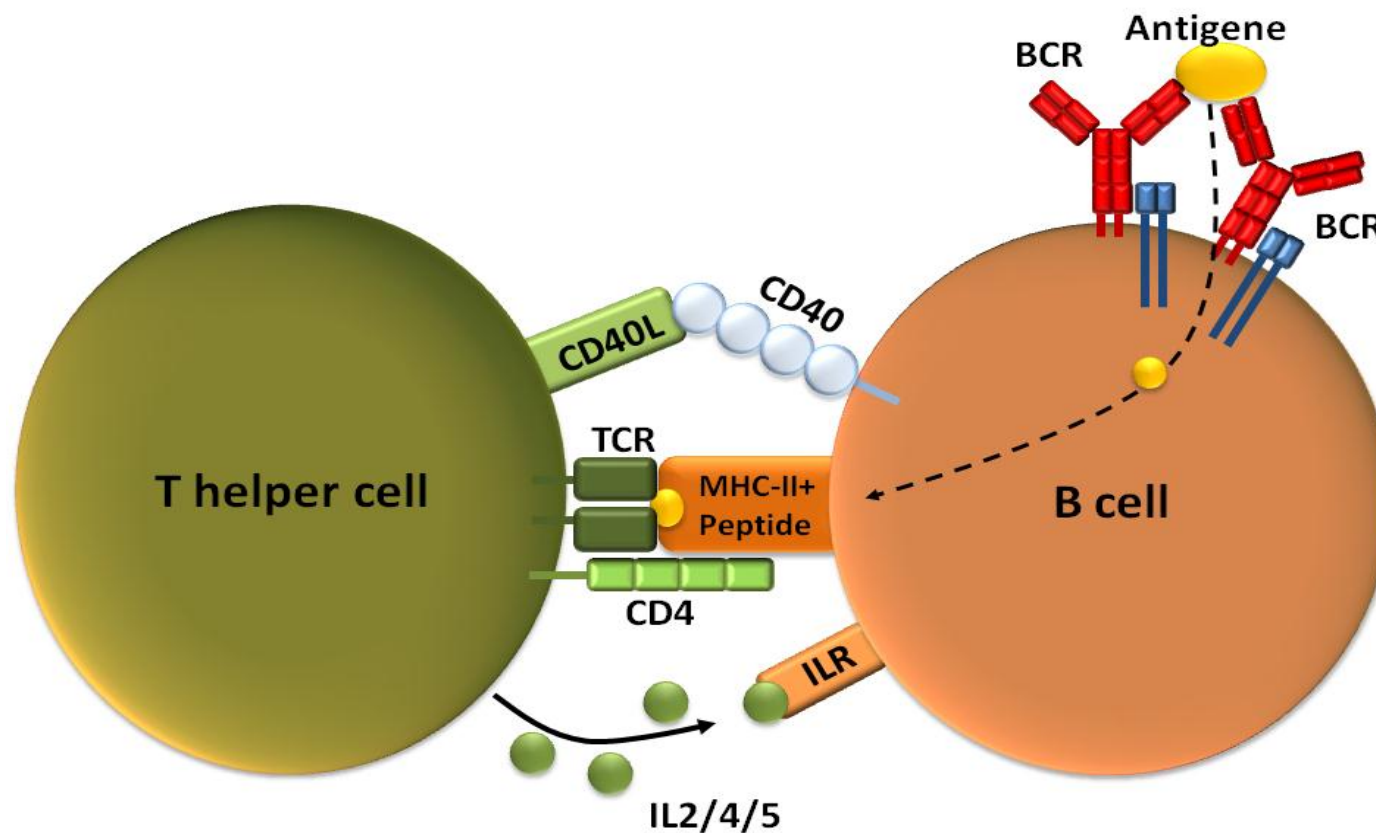
В-лимфоциты и плазмоциты

- Основой гуморального адаптивного иммунного ответа служит активация В-лимфоцитов и их дифференцировка в **антителообразующие** плазматические клетки.
- В-лимфоцит играет роль *антигенпредставляющей* и *антителообразующей* клетки.
- Участвуют в формировании **иммунологической памяти**.
- Участвуют в развитии **реакций гиперчувствительности**.

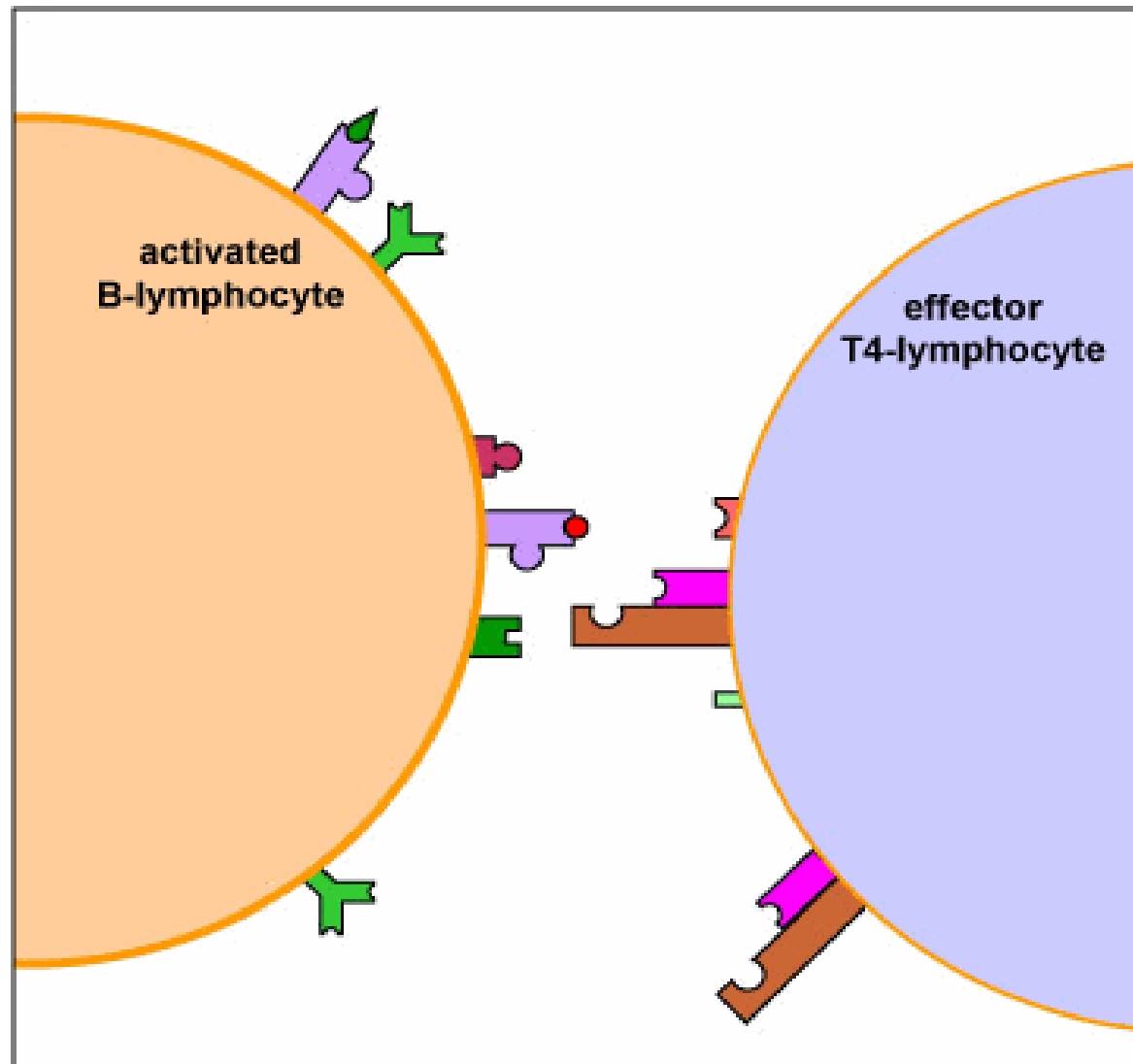
В-лимфоциты



Передача информации об антигене от Т-хелпера к В-лимфоциту



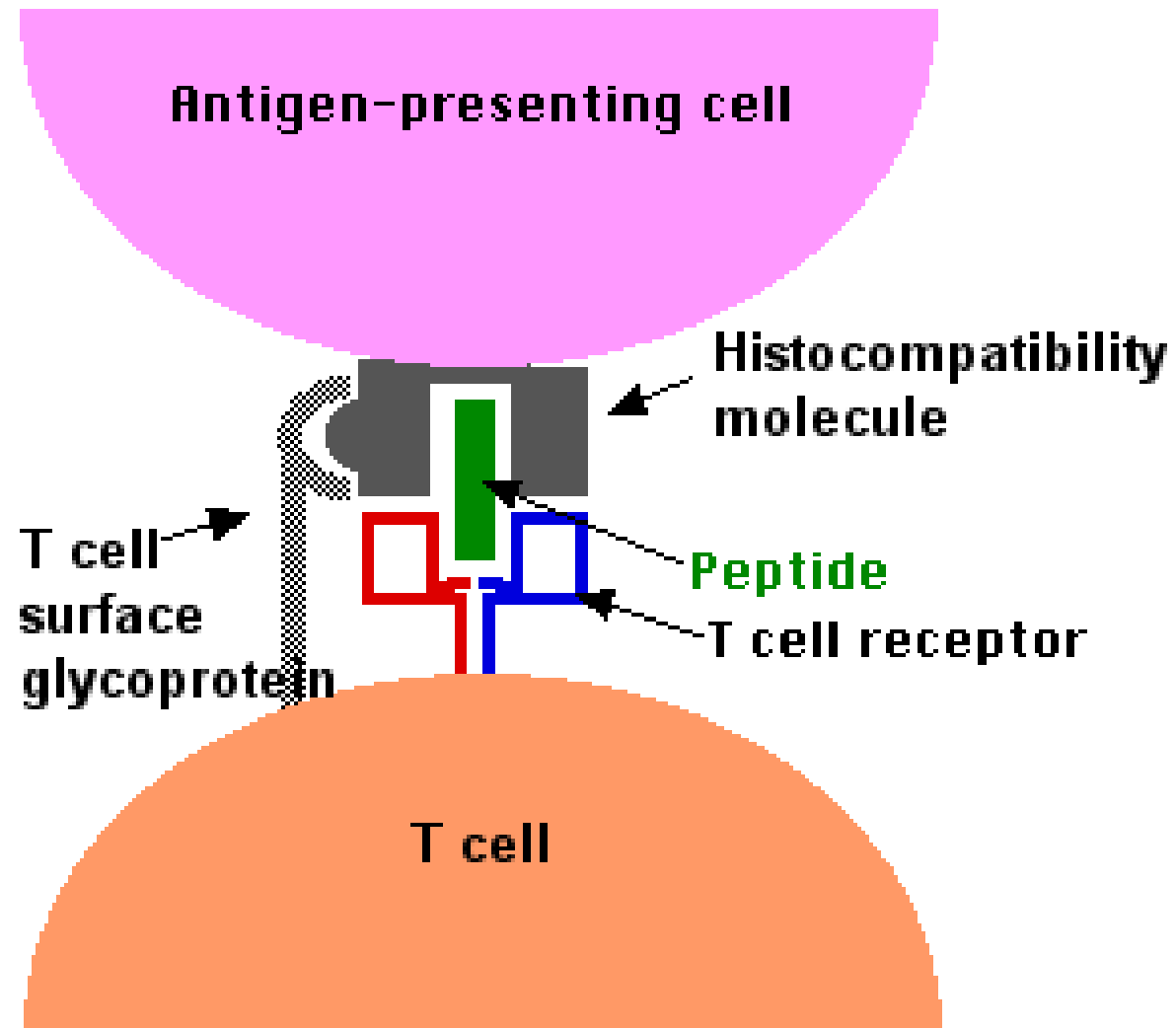
В-лимфоцит принимает информацию об антигене от Т-хелпера



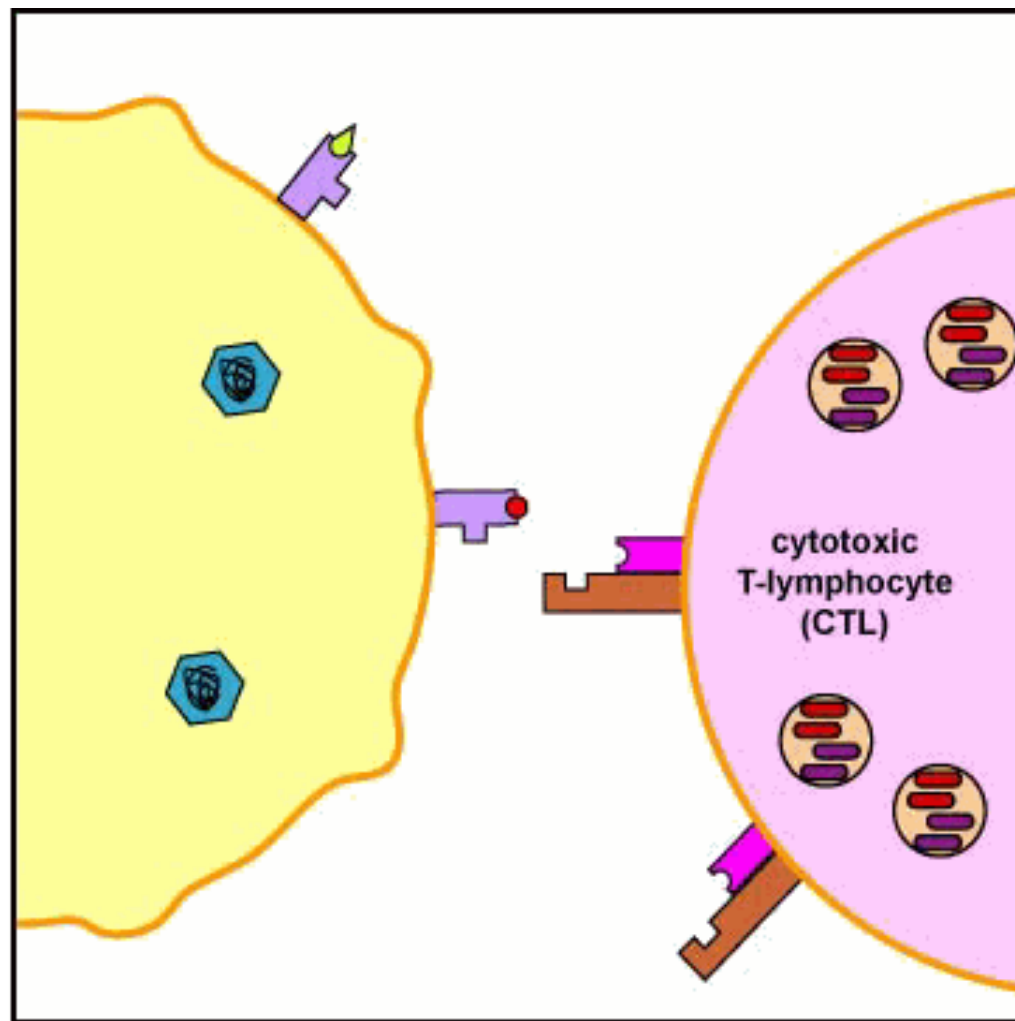
Т-лимфоциты

- **Т-хелперы(СD4)**
распознают антиген, передают информацию от антигенпрезентирующих клеток иммунокомпетентным клеткам
- **Т-киллеры (СD8)**
лизуют клетки-мишени, несущие чужеродные или видоизмененные аутоантигены
- **Т-супрессоры**
Регулируют интенсивность иммунного ответа, предотвращают развитие аутоиммунных реакций

Передача информации об антигене от макрофага Т-лимфоциту



Т-киллеры уничтожают клетки-мишени антителонезависимой цитотоксичностью



НК-клетки

(англ. «natural killer»- естественные киллеры)

- Специализируются на уничтожении вирусинфицированных, опухолевых клеток, а также клеток с внутриклеточными паразитами
- Уничтожают клетки-мишени антителозависимой и антителонезависимой цитотоксичностью

НК-клетки

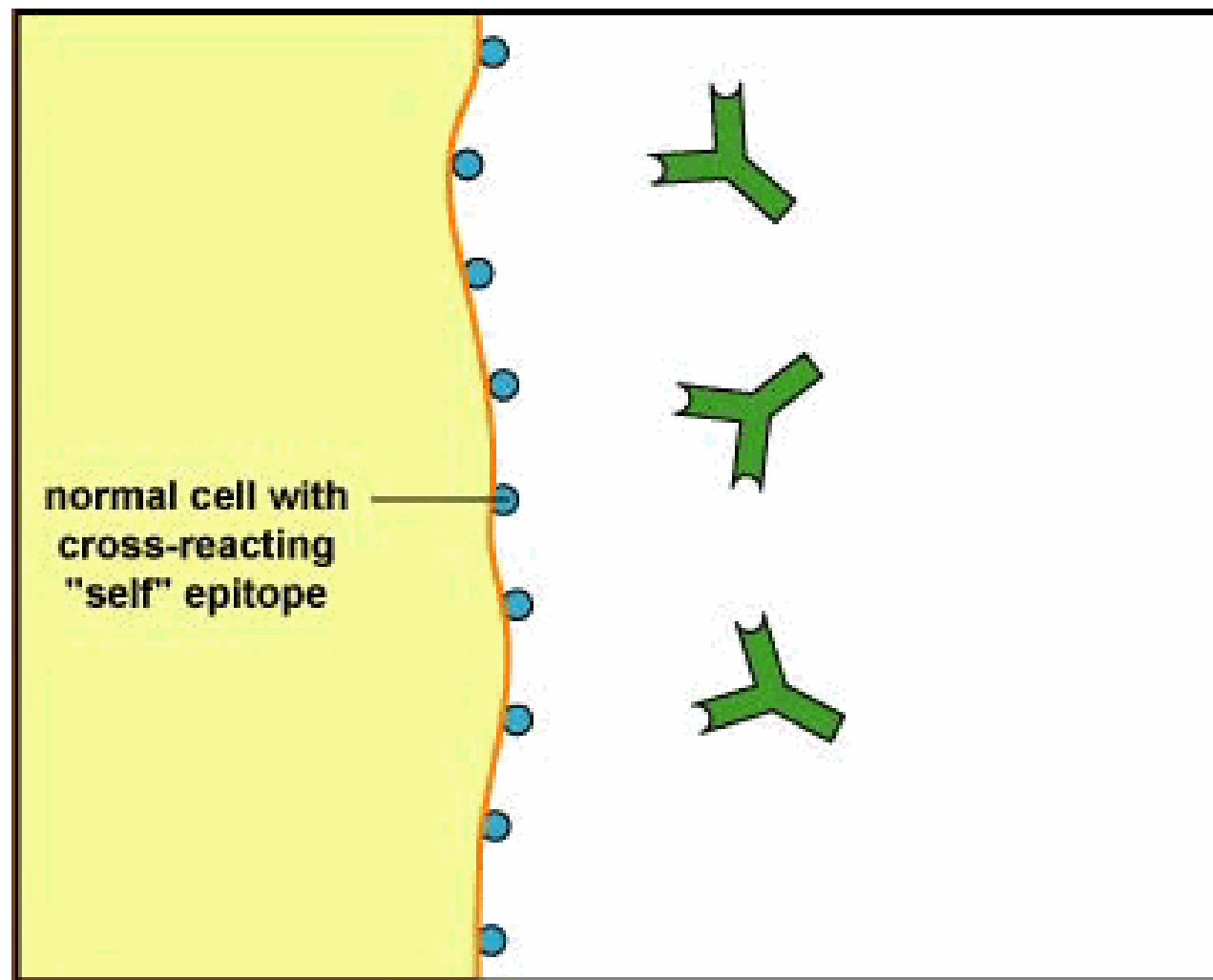
(англ. «natural killer»- естественные киллеры)

- Специализируются на уничтожении вирусинфицированных, опухолевых клеток, а также клеток с внутриклеточными паразитами
- Уничтожают клетки-мишени антителозависимой и антителонезависимой цитотоксичностью

«нападение» НК- клетки на опухолевую клетку



Действие НК-клетки на клетку-мишень



Антигены

- **Антиген** – высокомолекулярное соединение, несущее признаки генетической чужеродности, которое при попадании в организм способно вызвать развитие иммунных реакций.
- Антигенами являются компоненты и продукты жизнедеятельности микробов, организмов животных и растений. Антигены могут образовываться в собственном организме при структурных изменениях молекул, их можно получить искусственно

Антигены

- Наибольшей антигенностью обладают биополимеры белковой природы.
- Способностью в достаточной мере активировать иммунную систему помимо белков обладают и полисахариды, ЛПС, гликопротеиды, липопротеиды, и их сополимеры.

Свойства антигенов

- **Чужеродность** является обязательным условием. Чем дальше в филогенетическом развитии организмы отстоят друг от друга, тем большей чужеродностью обладают их антигены по отношению друг к другу.
- Вместе с тем антигенные детерминанты даже генетически неродственных животных или структурно различных биополимеров могут иметь определенное подобие. В этом случае их антигены оказываются способными специфически взаимодействовать с одними и теми же факторами иммунитета. Такие антигены получили название ***перекрестно реагирующих***.
- Явление, когда один микроб маскируется антигенами другого микроба или макроорганизма для «защиты» от факторов иммунитета, получило название ***антигенная мимикрия***.

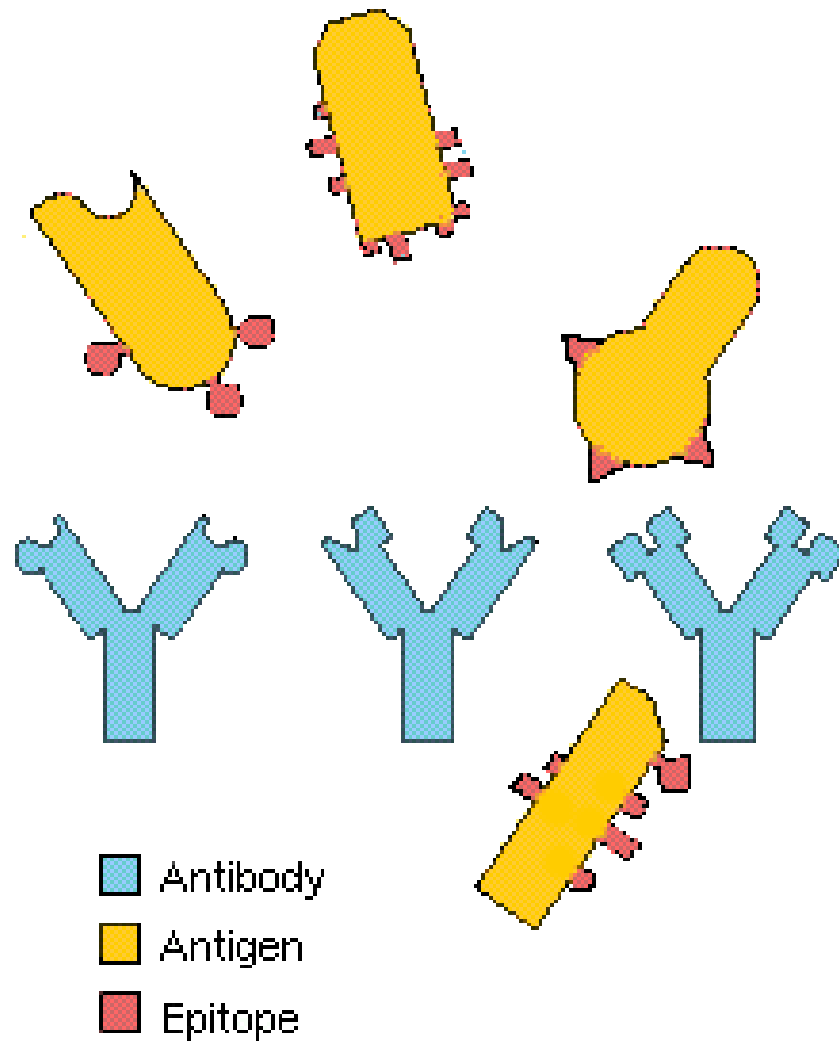
По степени чужеродности различают: ксено-, алло- и изоантигены.

- **Ксеногенные антигены (гетерологичные)** – общие для организмов, относящихся к разным родам и видам.
- **Аллогенные антигены (групповые)** – общие для генетически неродственных организмов, но относящихся к одному виду. На основании аллоантигенов общую популяцию организмов можно подразделить на отдельные группы. Аллогенные ткани при трансплантации иммунологически несовместимы – они отторгаются или лизируются реципиентом.
- **Изогенные антигены (индивидуальные)** – общие только для генетически идентичных организмов, н-р для однояйцевых близнецов, инбредных линий животных. Примером таких антигенов в популяции людей являются антигены гистосовместимости, а у бактерий – типовые антигены.

Свойства антигенов

- **Антигенность** характеризует потенциальную способность молекулы антигена активировать компоненты иммунной системы и специфически взаимодействовать с факторами иммунитета (антитела, клон эффекторных лимфоцитов).
- Компоненты иммунной системы взаимодействуют не со всей молекулой антигена одновременно, а только с ее небольшим участком, который получил название **«антигенная детерминанта»**, или **«эпитоп»**. Антигены индуцируют синтез антител, способных связаться с ними
- В структуре большинства антигенов определяется множество антигенных детерминант, которые распознаются разными по специфичности антителами и клонами лимфоцитов (такие антигены являются мультивалентными).

Антигенные детерминанты (эпитопы)



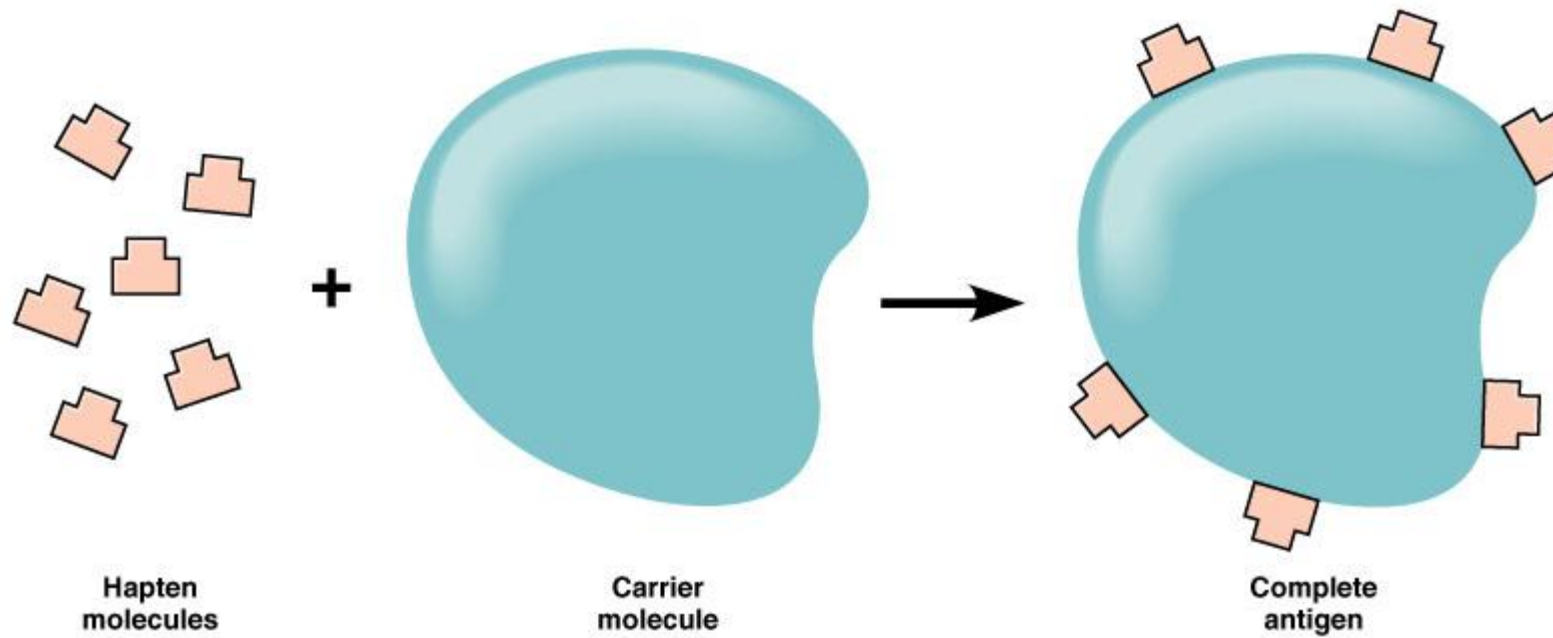
Свойства антигенов

- **Иммуногенность** – потенциальная способность антигена вызывать по отношению к себе в макроорганизме специфическую защитную реакцию.
- Степень иммуногенности зависит от ряда факторов - молекулярных особенностей антигена и реактивности макроорганизма
- Существуют некоторые различия между понятиями антигенности и иммуногенности. Например, возбудители бактериальной дизентерии обладают высокой антигенностью, но формируемый после заболевания иммунитет не достаточно активен, иными словами, они обладают слабой иммуногенностью.

Гаптены

- **Гаптены** или неполные антигены, не способны индуцировать в организме иммунный ответ, так как обладают крайне низкой иммуногенностью. Однако свойство антигенности они не утратили, что позволяет им специфически взаимодействовать с уже готовыми факторами иммунитета (антителами, лимфоцитами).
- Чаще всего гаптенами являются низкомолекулярные соединения
- Гаптены вызывают иммунный ответ только после соединения с белком или с другим полимером-носителем

Гаптены



Свойства антигенов

- **Специфичностью** называют способность антигена индуцировать иммунный ответ к строго определенному эпитопу.
- Взаимодействие антител и антигенов отличается высокой специфичностью, основанная на способности антител связываться со строго определенной антигенной детерминантой.
- Это свойство обусловлено комплементарностью рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток к конкретной антигенной детерминанте. Поэтому специфичность антигена во многом определяется свойствами составляющих его эпитопов.
- Сила специфического взаимодействия антитела с антигеном (или энергия их связи) называется ***аффинностью***

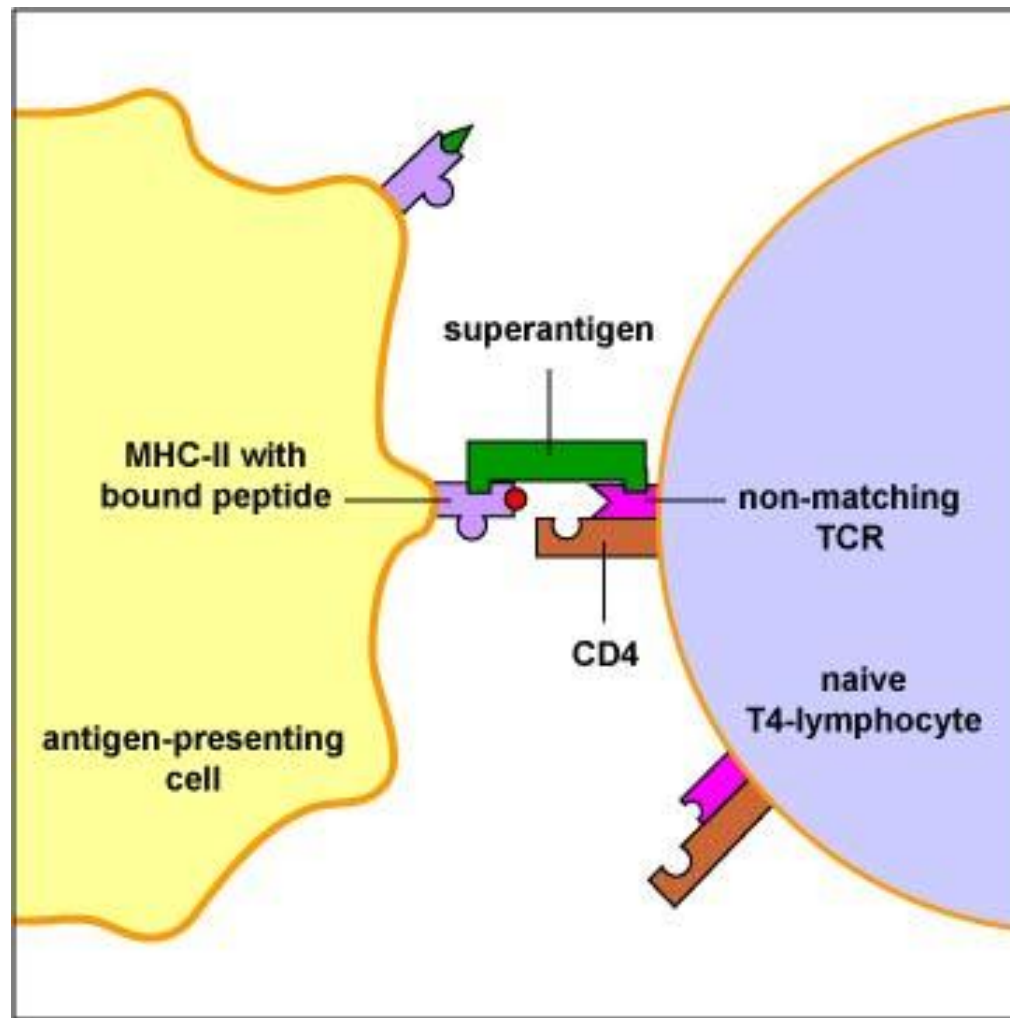
Иммуногены, толерогены, аллергены

- **Иммуногены** при попадании в организм способны индуцировать продуктивную реакцию иммунной системы, которая заканчивается выработкой факторов иммунитета (антител, антигенреактивных клонов лимфоцитов).
- - *T-зависимые*
- *T-независимые*
- **Толероген** является полной противоположностью иммуногену. Толерогену присуща мономерность, низкая молекулярная масса, высокая эпитопная плотность и высокая дисперсность (безагрегатность) коллоидных растворов.
- **Аллерген** - формирует патологическую реакцию организма в виде гиперчувствительности немедленного или замедленного типа.

Суперантигены

- **Суперантигены** - вещества, в основном, микробного происхождения, которые могут неспецифически вызывать поликлональную реакцию. Молекула суперантигена самостоятельно связывается с межклеточным комплексом «антиген гистосовместимости II класса – Т-клеточный рецептор» и формирует ложный сигнал распознавания чужеродной субстанции.

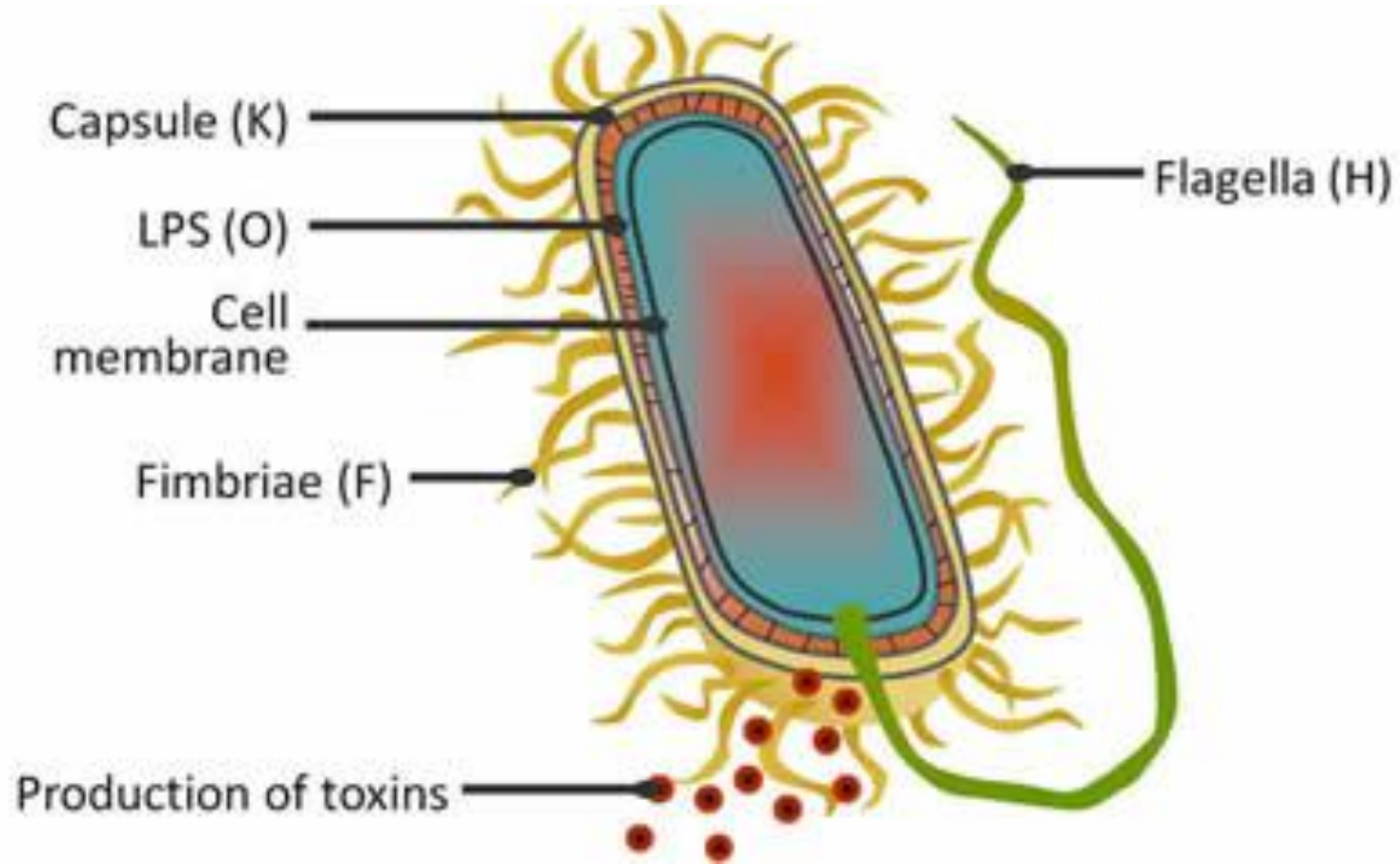
Суперантигены



Антигены микроорганизмов

- Антигены бактерий
 - Жгутиковый, или H-антиген,
 - Соматический, или O- антиген,
 - Капсульный , или K- антиген,
 - Антиген вирулентности, или Vi-антиген,
 - Экзотоксины, ферменты
- Антигены вирусов
 - вирусоспецифические

Антигены бактерий



Антигены организма человека

- *Эритроцитарные антигены*
- *антигены системы ABO*
- *резус-антигены*
- *Главный комплекс гистосовместимости, или МНС (аббр. от англ. Main Hystocompatibility Complex, Human Leukocyte Antigen - HLA)*
- Различают два основных класса молекул МНС.
- МНС I класса экспрессируются на поверхности практически всех клеток, кроме эритроцитов (в безъядерных клетках отсутствует биосинтез) и клеток ворсинчатого трофобласта («профилактика» отторжения плода).
- МНС II класса экспрессируются на цитоплазматической мембране особой группы клеток, которая получила название антигенпрезентирующих клеток (АПК).

Антигены гистосовместимости

- Антигены гистосовместимости обнаруживаются на цитоплазматических мембранах практически всех клеток макроорганизма. Большая часть из них относится к системе главного комплекса гистосовместимости, или МНС (аббр. от англ. *Main Hystocompatibility Complex*).

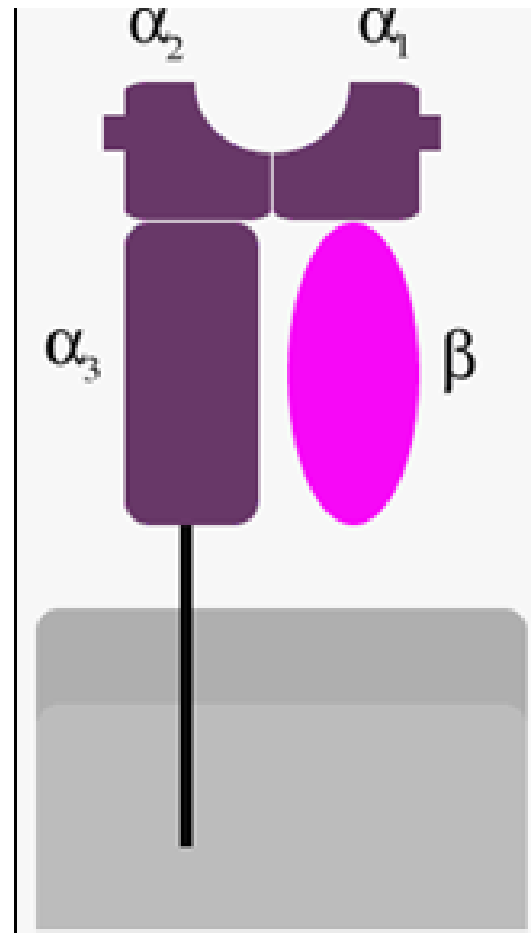
МНС

- У человека МНС был ассоциирован с лейкоцитами, поэтому его обозначили как HLA (аббр. от англ. *Human Leukocyte Antigen*). Биосинтез HLA определяется генами, локализованными сразу в нескольких локусах короткого плеча 6-й хромосомы.
- Гены HLA-A, HLA-B и HLA-C кодируют белки **МНС I класса**. Некоторые HLA-D локусы кодируют белки **МНС II класса** (DP, DQ, DR).
- Между локусами I и II классов располагается III locus. К **МНС III класса** относятся некоторые компоненты комплемента (C2, C4), белки теплового шока, факторы некроза опухоли и др.

МНС

- Каждый человек строго уникален по набору антигенов гистосовместимости, исключение составляют только однайцевые близнецы, которые абсолютно похожи по набору генов.
- Антигены гистосовместимости играют ключевую роль в осуществлении специфического распознавания «свой-чужой» и индукции приобретенного иммунного ответа. Они определяют совместимость органов и тканей при трансплантации в пределах одного вида, генетическую рестрикцию (ограничение) иммунного реагирования и другие эффекты.
- МНС I класса индуцирует преимущественно клеточный иммунный ответ, а МНС II класса – гуморальный.

Гликопротеиды МНС I экспрессируются на поверхности практически всех ядродержащих клеток



HLA I класса определяют биологическую индивидуальность («биологический паспорт») и являются маркерами «своего» для иммунокомпетентных клеток.

- Заражение клетки вирусом или мутация изменяют структуру HLA I класса.
- Содержащая чужеродные или модифицированные пептиды молекула MHC I класса имеет нетипичную для данного организма структуру и является сигналом для активации Т-киллеров (CD8⁺-лимфоциты).
- Таким образом, клетки, отличающиеся по I классу уничтожаются как чужеродные

МНС II класса

МНС II класса экспрессируется на поверхности ограниченного числа клеток: дендритных, В-лимфоцитах, Т-хелперах, активированных макрофагах, тучных, эпителиальных и эндотелиальных клетках.

Участие МНС II класса в индукции приобретенного иммунного ответа

- Происходит следующим образом:
- Фрагменты молекулы антигена экспрессируются на цитоплазматической мембране антигенпрезентирующих клеток в виде комплекса **молекула МНС II + антиген**
- МНС II класса с включенным в него пептидом воспринимается и анализируется Т-хелперами (CD4⁺-лимфоциты).
- В случае принятия решения о чужеродности включенного в МНС II класса пептида Т-хелпер начинает синтез соответствующих иммуноцитоккинов, и включается механизм специфического иммунного реагирования.

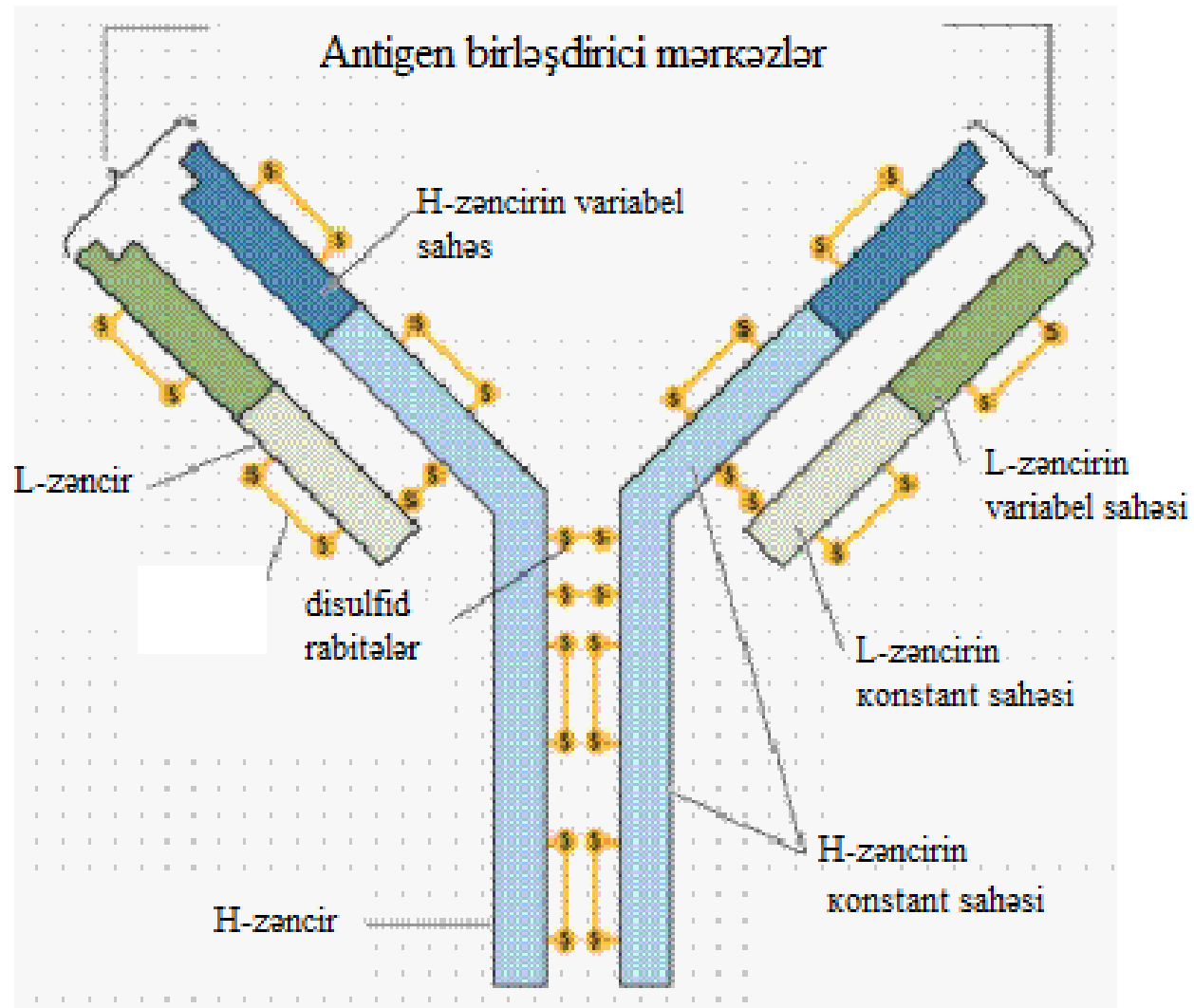
Иммуноглобулины, антитела

- Синтез антител происходит в результате кооперации трех клеток - макрофагов, Th- и В-лимфоцитов.
- После процессинга фрагменты антигена выставляются на поверхности макрофагов в комплексе с белками МНС II класса. Эти молекулы связываются со специфическими рецепторами Th-клеток.
- Т-лимфоциты синтезируют цитокины - IL2 (фактор роста Т-клеток), IL4 (фактор роста В-лимфоцитов) и IL5 (фактор дифференцировки В-лимфоцитов). Эти цитокины активируют антиген-специфические В-лимфоциты.
- Активированные В-лимфоциты размножаются, дифференцируются и превращаются в плазматические клетки, которые синтезируют иммуноглобулины (антитела).

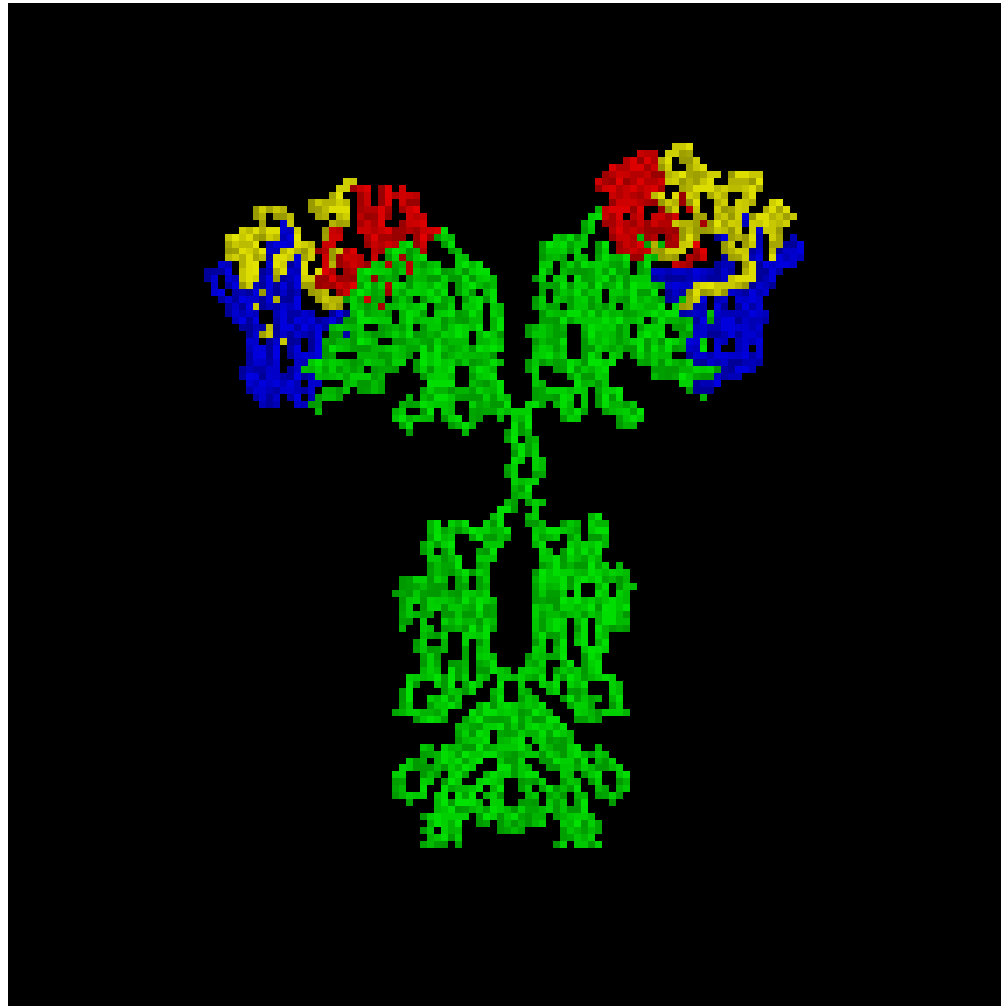
Иммуноглобулины

- Антитела относятся к γ -глобулиновой фракции белков сыворотки крови.
- Молекула Ig состоит из 2 пар полипептидных цепей: двух **H-** (от англ. *heavy* – тяжелый) и двух **L-** (от англ. *light* – легкий) цепей, связанных между собой попарно дисульфидными связями (-S-S-).
- Молекулярный вес тяжелых цепей 50-70 кДа, молекулярный вес легких составляет 20-25 кДа
- В составе легких и тяжелых цепей есть **постоянные или C-домены**, и **V-домены с переменной структурой**.

Строение молекулы иммуноглобулина



Модель молекулы иммуноглобулина



Строение молекулы иммуноглобулина

- В составе легкой цепи есть по одному V- и С-домену, а в тяжелой – один V- и 3-4 С-домена. Примечательно, что не весь переменный домен изменчив по своему аминокислотному составу, а лишь его незначительная часть – *гиперпеременная область*, на долю которой приходится около 25 %.
- Переменные домены легкой и тяжелой цепи совместно образуют участок, который специфически связывается с антигеном. Это антигенсвязывающий центр молекулы Ig, или паратоп, который локализован в Fab-фрагменте (*от англ. «фрагмент, связывающийся с антигеном»*) молекулы Ig.
- Связь антигена с антителом осуществляется за счет слабых взаимодействий (ван-дер-ваальсовы силы, водородные связи, электростатические взаимодействия) в пределах антигенсвязывающего центра.

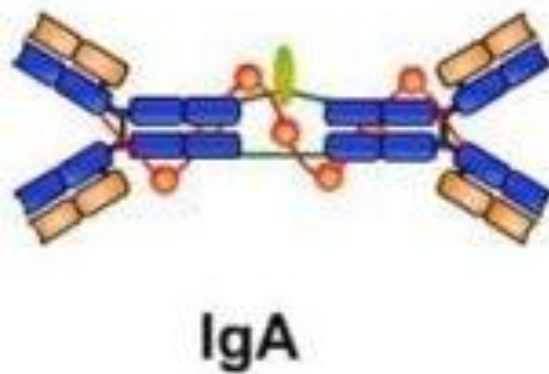
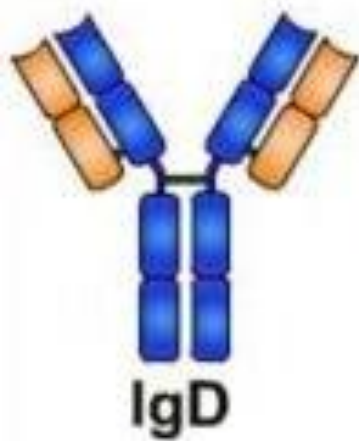
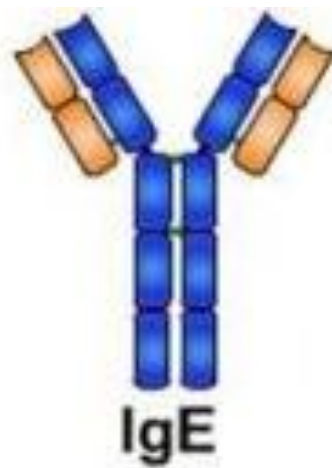
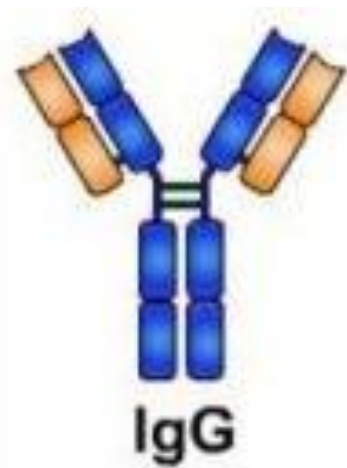
Строение молекулы иммуноглобулина

- Фрагмент иммуноглобулинов, состоящий из С-доменов тяжелой и легкой цепи получил название ***Fc – фрагмента*** (*от англ. «фрагмент кристаллизующийся»*), так как способен образовывать кристаллы. Он ответственен за связывание с рецепторами на мембране клеток макроорганизма (Fc-рецепторы) и некоторыми микробными суперантигенами.
- Получение отдельных фрагментов молекулы Ig возможно после их обработки протеолитическими ферментами.

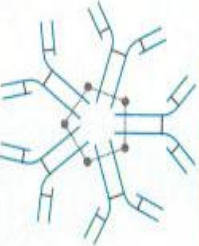
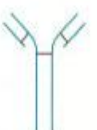
Класс иммуноглобулинов

- В зависимости от особенностей молекулярного строения тяжелой цепи различают **5 классов, или изотипов Ig**.
- Молекулы, содержащие тяжелую цепь α -типа, относят к изотипу A (сокращенно IgA); IgD обладает δ -цепью, IgE – ϵ -цепью, IgG – γ -цепью и IgM – μ -цепью. Соответственно особенностям строения подтипов тяжелых цепей различают и подклассы Ig.
- Некоторые иммуноглобулины могут иметь 4 подтипа: н-р, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4; IgA, IgM и IgD – имеют 2 подтипа

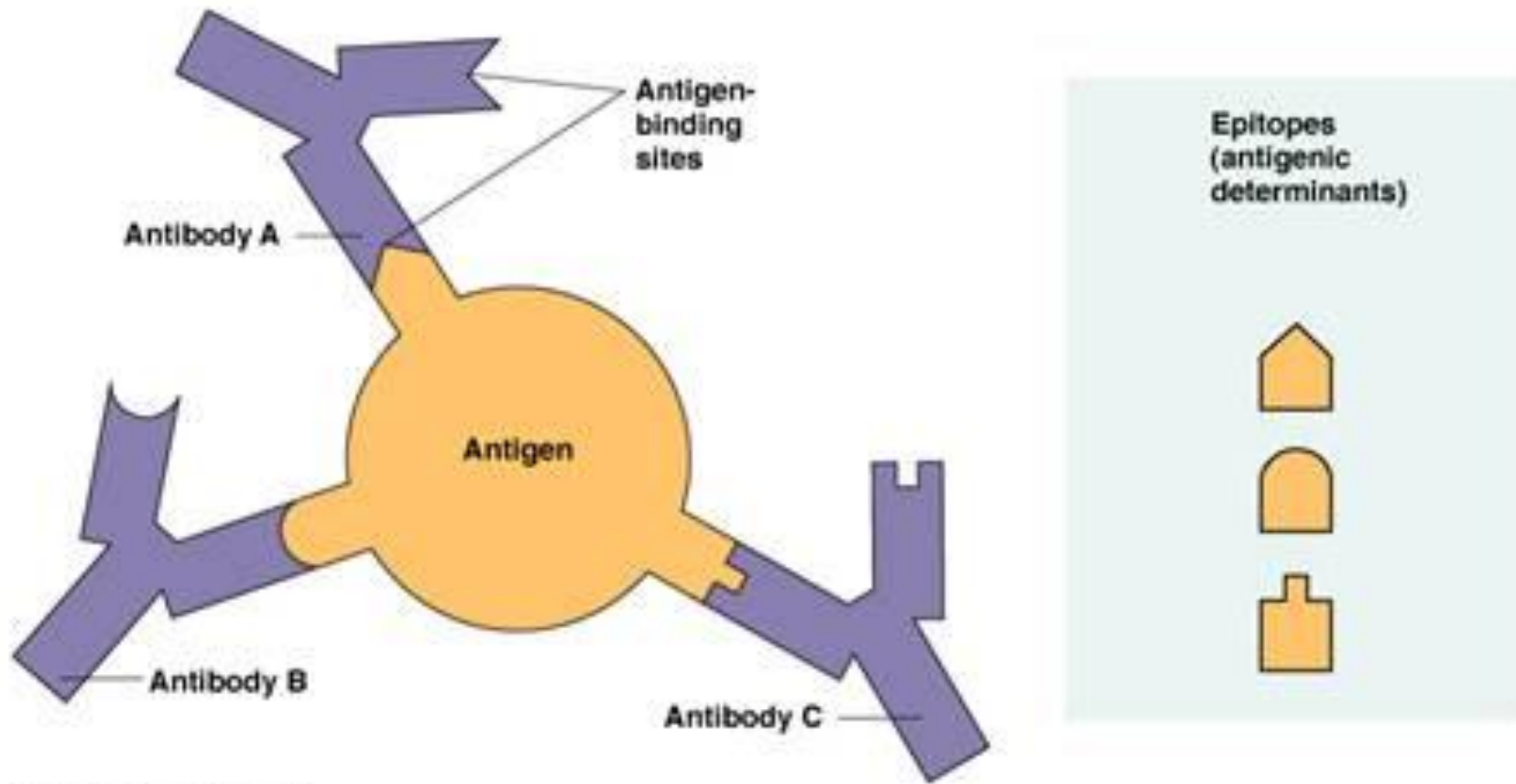
Классы иммуноглобулинов



Классы иммуноглобулинов

Immuno- globulin Class	Structure	Molecular Weight	Percent in Blood	Location	Crosses Placenta?	Fixes Complement?
IgG		150,000	75–80	Blood and tissue fluids	Yes	Yes
IgM		900,000	6–7	Blood and tissue fluids	No	Yes
IgA		170,000*	15–21	Saliva, mucus, and secretions	No	No
IgE		200,000	<1	Skin, respiratory tract, and tissue fluids	No	No
IgD		180,000	<1	Serum	No	No

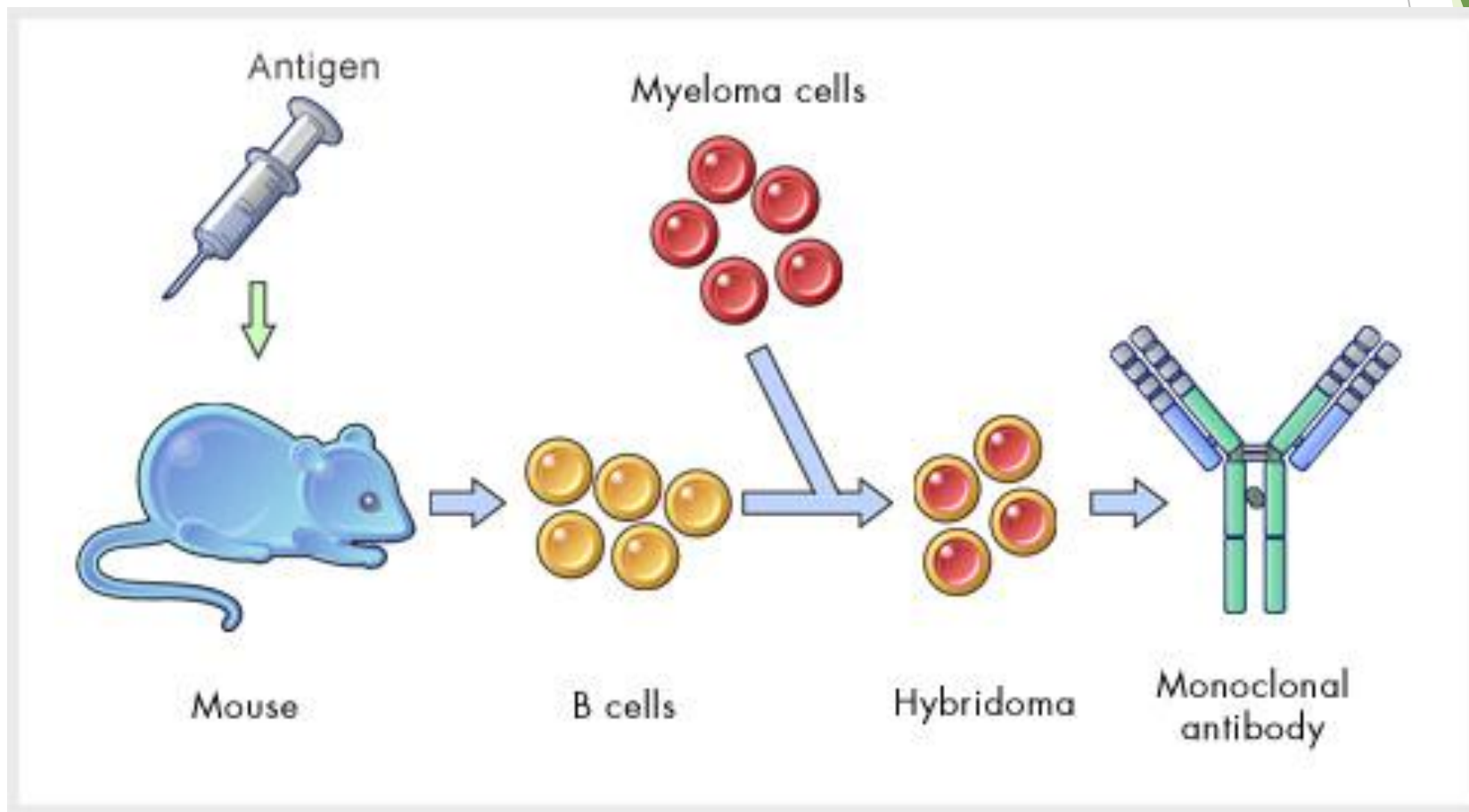
Специфичность иммуноглобулинов



Разнообразие антител

- Нормальные или естественные антитела.
- Рецепторные иммуноглобулины
- Поликлональные антитела
- Моноклональные антитела получены Д. Келлером и Ц. Мильштейном (1975) путем слияния иммунных В-лимфоцитов с миеломной (опухолевой) клеткой. Полученные гибриды обладали специфическими свойствами антителопродуцента и «бессмертием» раковотрансформированной клетки.
- Неполные, или блокирующие антитела.

Получение моноклональных антител



Динамика образования антител

- **Первичный иммунный ответ** развивается после первичного попадания антигена. Через 4-5 дн. (иногда 7-10 дн.) в сыворотке крови обнаруживаются IgM, а затем – IgG, формируются Т-лимфоциты памяти.
- **Вторичный иммунный ответ** развивается при повторном введении антигена. Благодаря ранее образовавшимся лимфоцитам памяти практически отсутствует латентный период антителообразования. При вторичном иммунном ответе за счет лимфоцитов памяти значительно возрастает скорость образования, количество и сродство к антигену (аффинность).

Получение гипериммунных сывороток

- Явление интенсивного антителообразования при повторном контакте с антигеном широко используется в практических целях, например при вакцинопрофилактике.
- Эффект иммунной памяти составляет основу вакцинопрофилактики многих инфекционных болезней. Для этого человека вакцинируют а затем (через определенный интервал времени) **ревакцинируют**.
- Этот же феномен используют при получении высокоактивных лечебных и диагностических иммунных сывороток (**гипериммунных**). Для этого животным или донорам производят многократные введения препаратов антигена по специальной схеме.

Иммунодиагностика

- Особенности взаимодействия антитела с антигеном являются основой диагностических реакций в лабораториях
- При попадании в организм антигенов, в сыворотке крови образуются специфические антитела. Эти антитела обладают способностью специфически связываться с антигенами не только в организме (*in vivo*), но и вне организма (*in vitro*).
- Специфичность взаимодействия между антителами и антигенами обуславливает возможность идентифицировать неизвестное антитело на основе известного антигена или наоборот.
- Иммунные реакции используют при диагностических и иммунологических исследованиях у больных и здоровых людей. С этой целью применяют **серологические методы** (от лат. *serum* – сыворотка и *logos* – учение), т. е. методы изучения антител и антигенов с помощью реакций антиген – антитело, определяемых в сыворотке крови и других жидкостях, а также тканях организма.

Применение серологических реакций

- Серологические реакции можно проводить в двух направлениях:
- Для **идентификации антигенов микробов**, различных биологически активных веществ, групп крови, тканевых и опухолевых антигенов, иммунных комплексов, рецепторов клеток и др.
- При выделении микроба от больного проводят идентификацию возбудителя путем изучения его антигенных свойств с помощью **иммунных диагностических сывороток**, т. е. сывороток крови гипериммунизированных животных, содержащих специфические антитела. Это так называемая **серологическая идентификация** микроорганизмов.

Применение серологических реакций

- Для идентификации неизвестных антител в серологических реакциях используются известные антигены или микроорганизмы , т.е. ***диагностикумы***
- В качестве диагностикумов используются эталонные штаммы микроорганизмов или их антигены.
- Обнаружение в сыворотке крови больного антител против антигенов возбудителя позволяет поставить диагноз болезни (***серологическая диагностика***).

Типы серологических реакций

- Оценка результатов серологических реакций проводится на основании образования **комплекса антиген-антитело**
- Реакции различаются по регистрируемому эффекту и технике постановки, однако, все они основаны на реакции взаимодействия антигена с антителом и применяются для выявления как антител, так и антигенов. Различают :
 - **простые** серологические реакции (с участием двух компонентов)
 - **сложные** серологические реакции (с участием трех и более компонентов).
- С целью иммунодиагностики широко применяются реакции ***агглютинации, преципитации, нейтрализации, реакции с участием комплемента, с использованием меченых антител и антигенов*** (радиоиммунологический, иммуноферментный, иммунофлюоресцентный методы).
- Реакции иммунитета характеризуются высокой чувствительностью и специфичностью.

Фазы серологических реакций

- Реакция *in vitro* между антигеном и антителом состоит из специфической и неспецифической фазы.
- В **специфическую фазу** происходит быстрое специфическое связывание активного центра антитела с детерминантой антигена.
- **Неспецифическая фаза** – более медленная, которая проявляется видимыми физическими явлениями, например образованием хлопьев (феномен агглютинации) или преципитата в виде помутнения. Эта фаза требует наличия определенных условий (электролитов, оптимального pH среды).

Связывание детерминанты антигена (эпитопа) с активным центром Fab-фрагмента антител обусловлено вандерваальсовыми силами, водородными связями и гидрофобным взаимодействием. Прочность и количество связавшегося антигена антителами зависят от аффинности, авидности и валентности антител.

Феномен агглютинации

