

№ ПЕД-15

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ"
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России)



КАФЕДРА ДЕТСКИХ БОЛЕЗНЕЙ №2

Зав. кафедрой – проф., д.м.н. КАЛОЕВА З.Д.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
для семинарских занятий по дисциплине
КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Часть II

Владикавказ, 2020 г.

*Печатается по решению ЦКУМС СОГМА
(протокол №1 от 28.08.2020 г.)*

Составители:

*К.м.н. И.Г. Гуссоева, к.м.н. З.Ю. Созаева, д.м.н., проф. З.Д. Калоева, к.м.н.
К.М. Дзилихова, к.м.н. С.К. Каряева, к.м.н. Б.З. Албегова*

Рецензенты:

Зав.кафедрой № 1 ФГБОУ ВО КубГМУ Министерства здравоохранения
Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор Шашель В.А.

Зав.кафедрой детских болезней №1 ФГБОУ ВО Министерства
здравоохранения Российской Федерации, д.м.н. Бораева Т.Т.

Занятие №5 по теме:

АНТИТЕЛА И АНТИТЕЛОГЕНЕЗ. КЛОНАЛЬНО-СЕЛЕКЦИОННАЯ ТЕОРИЯ (ТЕОРИЯ БЕРНЕТА). СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ. АФФИННОСТЬ И АВИДНОСТЬ АНТИТЕЛ. АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА АНТИТЕЛ. АЛЛОТИПЫ И ИДИОТИПЫ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ. ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕ КЛАССОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ. В-ЛИМФОЦИТЫ.

I. Научно-методическое обоснование темы.

Важно знать строение и функцию основных классов иммуноглобулинов и их роль в иммунологических реакциях. Это связано с тем, что физико-химические свойства и структура иммуноглобулинов обуславливает их биологические особенности. Иммуноглобулины обеспечивают гуморальный иммунный ответ, но, кроме того, фиксированные на поверхности мембран макрофагов и лимфоцитов, они функционируют в качестве антигенных рецепторов, т.е. участвуют и в клеточном иммунном ответе.

II. Цель деятельности студентов.

Общая цель: изучение темы направлено на формирование компетенций по ФГОС-03 по специальности Педиатрия (ОК1, ПК16, ПП19, ПК31, ПК32): формировать способность и готовность использовать на практике методы гуманитарных, естественнонаучных, медико-биологических и клинических наук в различных видах профессиональной и социальной деятельности, формировать умение работать с научной литературой, анализировать информацию, вести поиск, выделять основные положения, делать выводы, развивать личностные качества. Активно использовать современные достижения науки, особенно подчеркивая роль отечественных ученых в разработке данной темы.

Студент должен знать:

- Гуморальный иммунитет и его роль в иммунологических реакциях.
- Основные этапы дифференцировки В-лимфоцитов, а также рецепторы и антигены на их поверхности.
- Структуру и характеристику различных классов иммуноглобулинов.
- Роль иммуноглобулинов в иммунологических реакциях.
- Методы оценки В-системы иммунитета.

Студент должен уметь:

- Применить полученные знания для оценки гуморального иммунитета.

III. Содержание обучения:

1. Антитела – понятийный аппарат.
2. Иммуноглобулины. Классы иммуноглобулинов.
3. Структура иммуноглобулинов. Основные характеристики и функции.
4. Гены иммуноглобулинов.
5. Переключение иммуноглобулинов.
6. В-лимфоциты.
7. Структура и функции В-лимфоцитов.
8. Методы исследования, используемые для оценки состояния гуморального иммунитета (В-системы иммунитета).

IV. Учебно-материальное обеспечение.

1. Наглядные пособия: таблицы, схемы, мультимедийные презентации, видеофильмы, аудиограммы.
2. Учебная медицинская документация (истории болезни, лабораторные исследования, иммунограммы).
3. Технические средства обучения.
4. Литература.

V. Список рекомендуемой литературы.

Основная литература:

1. Хаитов, Р.М. Иммунология: учеб. Для студентов мед. ВУЗов. Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2006, 2009, 2011.-311 с.: ил. Гриф УМО. CD-ROM прилагается. Глава 3. Доиммунные механизмы резистентности. С.35-52.
2. Хаитов, Р.М. Иммунология. Норма и патология : учеб. Для студентов мед. ВУЗов и ун-тов/ Р.М.Хаитов, Г.А. Игнатъева, И.Г.Сидорович.-3-е изд., перераб. И доп.- М. : Медицина, 2010. – 750 с. : ил. – (Учеб. Лит. Для студентов мед. Вузов и ун-тов).Глава 4. Врожденный иммунитет С.293-400.

Дополнительная литература:

1. Электронная библиотека медицинского вуза «Консультант студента» www.studmedlib.ru:
2. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 640 с. : ил.

3. Иммунология : практикум : учеб. пособие / [Ковальчук Л. В. и др.]; под ред. Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатъевой, Л. В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 176 с. : ил.
4. Иммунология: учебник / А. А. Ярилин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с. : ил.
5. Лекции по иммунологии.
6. Методические указания для внеаудиторной работы студентов 5 курса педиатрического факультета по дисциплине "Клиническая иммунология".

VI. БАЗИСНЫЕ РАЗДЕЛЫ ДЛЯ ПОВТОРЕНИЯ: к практическому занятию студент должен повторить:

- Гистология, эмбриология, цитология: учебник / под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – 6-е изд., перераб.и доп. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2012. – 800 с.: ил. Глава 2. Методы исследования в гистологии, цитологии и эмбриологии. с. 20-36. Глава 7. Кровь и лимфа. Кроветворения. с. 159-179. Глава 14. Система кроветворения и иммунной защиты. с. 450-451.
- Сапин М.Р., Билич Г.Л. Анатомия человека: учебник: в 3 т. – изд. 3-е испр., доп. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2009. – Т. 2. – 496 с.: ил. Органы кроветворения и иммунной системы, с. 267-276.
- Биология: учебник: в 2 т. / под ред. В.Н. Ярыгина. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2011. – Т. 2. – 560 с.: ил. Радел V, глава 14.7. Защита и поддержание целостности организма, постоянства его внутренней среды, оптимальных условий для процессов жизнедеятельности. Эволюция иммунной системы. с. 238-244.
- Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В.Н. Царева. – М.: Практическая медицина, 2010. – 581 с.: ил. Радел 7.7. Иммунная система организма.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Дайте понятие гуморального иммунитета.
2. Какова его роль в иммунологических реакциях?
3. Каковы основные этапы дифференцировки В-лимфоцитов?
4. Как взаимодействуют В-лимфоциты с тимусзависимыми и тимуснезависимыми антигенами?
5. Какие рецепторы имеются на поверхности В-лимфоцитов?
6. Дайте характеристику различных классов Ig. Какова их структура?
7. Строение и функции Fab и Fc-фрагментов.
8. Роль основных классов Ig в иммунологических реакциях.
9. Какие есть методы исследования В-системы иммунитета? (Реакция Манчини).

БЛОК ИНФОРМАЦИИ

АНТИГЕН

Антиген - любая молекула (соединения разной химической природы: пептиды, углеводы, полифосфаты, стероиды), которая потенциально может быть распознана иммунной системой организма как чужеродная («не своя»). Таким образом, антиген - молекула, несущая признаки генетически чужеродной информации. В качестве синонима применяют также термин «иммуноген», подразумевая, что иммуноген (антиген) способен вызвать ответные реакции иммунной системы, в итоге приводящие к развитию приобретённого иммунитета. Способность вызывать такие ответные реакции (т.е. образование антител и сенсibilизацию - приобретение организмом чувствительности к антигену) присуща не всей молекуле антигена, а только особой её части, которую называют антигенной детерминантой, или эпитопом. У большинства белковых антигенов такую детерминанту образует последовательность из 4-8 аминокислотных остатков, а у полисахаридных антигенов - 3-6 гексозных остатков. Число детерминант у одного вещества может быть различным. Так, у яичного альбумина их не менее 5, у дифтерийного токсина - минимум 80, у тиреоглобулина - более 40. Различают экзогенные (поступающие в организм извне) и эндогенные антигены (**аутоантигены** - продукты собственных клеток организма), а также антигены, вызывающие аллергические реакции, - **аллергены**.

АНТИТЕЛА

Антитело - особый растворимый белок с определённой биохимической структурой - **иммуноглобулин**, который присутствует в сыворотке крови и других биологических жидкостях и предназначен для связывания антигена. В энциклопедическом словаре медицинских терминов указано следующее определение: антитела (анти- + тела) - глобулины сыворотки крови человека и животных, образующиеся в ответ на попадание в организм различных антигенов (принадлежащих бактериям, вирусам, белковым токсинам и др.) и специфически взаимодействующие с этими антигенами.

- **Антитела связывают антиген.** Существенным и уникальным свойством антител, отличающим их даже от TCR, служит их способность связывать антиген непосредственно в том виде, в каком он проникает в организм (в нативной конформации). При этом времени на предварительную метаболическую обработку антигена не требуется, поэтому антитела - очень важный фактор безотлагательной защиты организма (например, от сильных ядов, при укусах змей, скорпионов, пчёл и др.).

- **Конкретное антитело синтезируется исключительно В-лимфоцитами одного клона.** При дифференцировке каждый В-лимфоцит и его дочерные клетки (клон В-лимфоцитов) приобретают способность синтезировать **единственный**

вариант антител с уникальной структурой антигенсвязывающего центра молекулы - т.е. имеет место **клональность биосинтеза иммуноглобулинов**.

• **Множество антител.** В то же время вся совокупность В-лимфоцитов организма способна синтезировать огромное разнообразие антител - около 10^6 - 10^9 , однако точно установить, сколько разных антигенов потенциально способно связать одно антитело, принципиально невозможно.

• **Иммуноглобулины.** Все антитела - белки, имеющие глобулярную вторичную структуру, поэтому молекулы этого типа и названы иммуноглобулинами. Антитела принадлежат к суперсемейству иммуноглобулинов (рис. 23), куда входят также белки МНС, некоторые молекулы адгезии [LFA-2 (CD2), ICAM-1 (CD54), VCAM-1 (CD106) и др. (см. табл. 4-1)], TCR, отдельные рецепторы цитокинов [для ИЛ-1 типов I и II, ИЛ-6, М-CSF, c-kit (CD117)], рецепторы для Fc-фрагментов иммуноглобулинов (FcαR, FcγRI, FcγRII), мембранные молекулы CD3, CD4, CD8, CD80 и др.

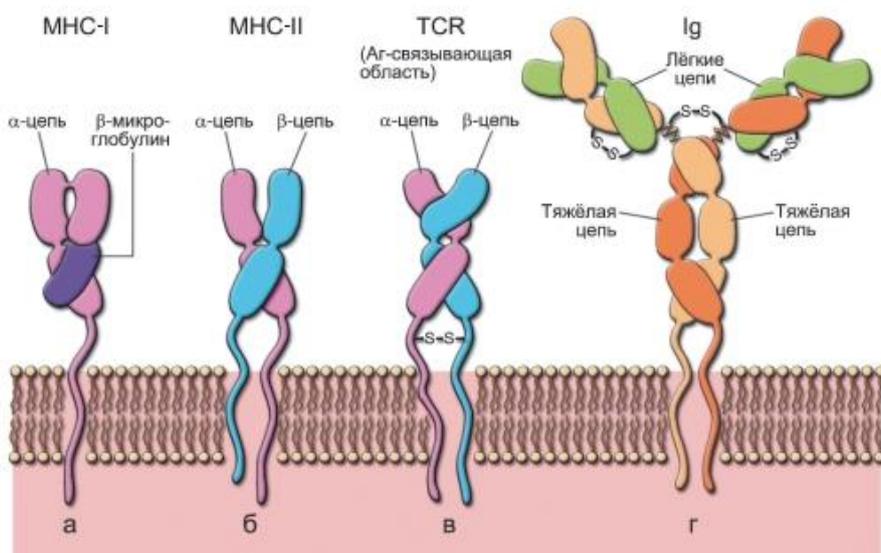


Рис.23. Структура белков суперсемейства иммуноглобулинов: а - молекула МНС-I состоит из α-цепи, внеклеточная её часть связана с короткой цепью β₂-микроглобулина; б - молекула МНС-II состоит из двух субъединиц: более длинной α-цепи и β-цепи. Часть каждой цепи выступает над поверхностью клеточной мембраны, цепь

содержит трансмембранный участок и небольшой фрагмент в цитоплазме; в - антигенсвязывающая область молекулы TCR состоит из двух цепей: α и β. Каждая цепь представлена двумя внеклеточными иммуноглобулинподобными доменами (вариабельным на NH конце и константным), стабилизированными при помощи S-S связей, и цитоплазматическим стабильным COOH-концом. SH-группа, присутствующая в цитоплазматическом фрагменте α-цепи, может взаимодействовать с мембранными или цитоплазматическими белками; г - мономер молекулы IgM, встроенный в плазматическую мембрану В-лимфоцитов, это рецептор для антигена. Разнообразие специфичностей TCR и иммуноглобулинов обеспечивается возможностью сайтспецифической рекомбинации множества различных генных сегментов, кодирующих отдельные фрагменты молекулы

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

Иммуноглобулины [международная аббревиатура - Ig (*Immunoglobulin*)] - класс структурно связанных белков, содержащих 2 вида парных полипептидных цепей:

лёгкие (L, от англ. *Light* - лёгкий), с низкой молекулярной массой, и тяжёлые (H, от англ. *Heavy* - тяжёлый), с высокой молекулярной массой. Все 4 цепи соединены вместе дисульфидными связями. Принципиальная схема строения молекулы иммуноглобулина (мономер) приведена на рис.24.

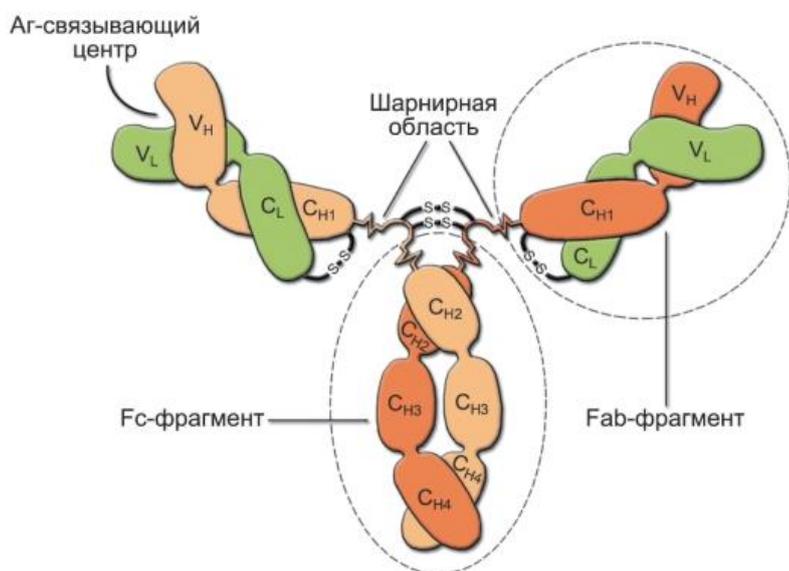


Рис.24. Молекула иммуноглобулина: L - лёгкие цепи; H - тяжёлые цепи; V - переменная область; C - константная область; N-концевые области L- и H-цепей (V-область) образуют 2 антигенсвязывающих центра - (Fab)₂-фрагмент. Fc-фрагмент молекулы взаимодействует со своим рецептором на мембране различных типов клеток (макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки)

Классы иммуноглобулинов

На основании структурных и антигенных признаков H-цепей иммуноглобулины подразделяют (в порядке относительного содержания в сыворотке крови) на 5 классов: IgG (80%), IgA (15%), IgM (10%), IgD (менее 0,1%), IgE (менее 0,01%). Заглавная латинская буква справа от «Ig» обозначает класс иммуноглобулина - M, G, A, E или D. Молекулы IgG, IgD и IgE мономерны, IgM - пентамер; молекулы IgA в сыворотке крови - мономерны, а в секретируемых жидкостях (слёзная, слюна, секреты слизистых оболочек) - димеры (рис. 25).

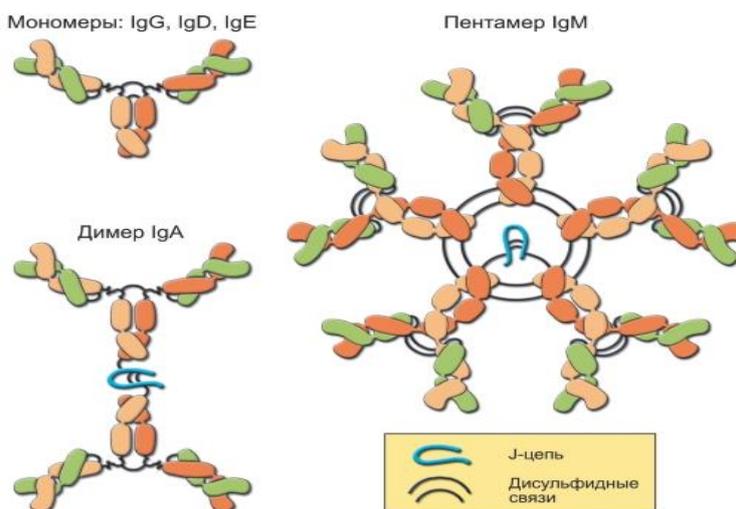


Рис. 25. Мономеры и полимеры иммуноглобулинов. J-цепь (от англ. Joining - связывающая) связывает остатки цистеина на C-концах тяжёлых цепей IgM и IgA

• **Подклассы.** У иммуноглобулинов классов G (IgG) и A (IgA) имеется несколько подклассов: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 и IgA1, IgA2.

- **Изотипы.** Классы и подклассы иммуноглобулинов иначе называют изотипами, они одинаковы у всех особей данного вида.
- **Аллотипы.** Индивидуальные аллельные варианты иммуноглобулинов в пределах одного изотипа называются аллотипами.
- **Идиотипы.** По антигенной специфичности антитела относят к различным идиотипам.

Структура иммуноглобулинов

• **Фрагменты молекулы иммуноглобулина** (см. рис. 1-2). Путём протеолитического расщепления молекулы иммуноглобулина с последующей ионообменной хроматографией можно получить 3 фрагмента: 1 Fc-фрагмент и 2 Fab-фрагмента.

◇ **Fab-фрагменты** (*Fragment, antigen binding* - антигенсвязывающие фрагменты) - 2 одинаковых фрагмента, сохраняющих способность связывать антиген.

◇ **Fc-фрагмент** (*Fragment, constant or crystallizable* - константный фрагмент) - непарный, легко кристаллизуется. Fc-фрагменты иммуноглобулинов в пределах одного изотипа строго идентичны (независимо от специфичности антител к антигенам). Они обеспечивают взаимодействие комплексов антиген-антитело с системой комплемента, фагоцитами, эозинофилами, базофилами, тучными клетками. При этом каждый класс иммуноглобулинов взаимодействует только с определёнными эффекторными клетками или молекулами.

• **Тяжёлые цепи** определяют различия между классами иммуноглобулинов, поэтому разные типы тяжёлых цепей обозначают греческими буквами соответственно латинской аббревиатуре класса: для IgM - μ , для IgG - γ , для IgA - α , для IgE - ϵ , для IgD - δ . Каждая из H-цепей молекул IgG, IgD и IgA состоит из 4 доменов (см. рис. 5-2): переменного - VH и константных (CH1, CH2, CH3). H-цепи молекул IgM и IgE содержат дополнительный домен - CH4.

• **Лёгкие цепи** примыкают к N-концу тяжёлых цепей. Каждая L-цепь состоит из двух доменов - VL и CL. Известно 2 типа лёгких цепей иммуноглобулинов - κ и λ . Функциональ-

ные различия между иммуноглобулинами с лёгкими κ - или λ -цепями не выявлены.

• **Домены.** Вторичная структура полипептидных цепей представлена доменами (см. рис. 5-1), каждый из которых включает около 110 аминокислотных остатков.

◇ **V-домены** обеих цепей имеют сильно варьирующий аминокислотный состав (отсюда и их обозначение - *Variable*), что позволяет им связывать разные антигены.

◆ **Гипервариабельные участки.** Внутри V-доменов выделяют несколько гипервариабельных участков: HVR1, HVR2, HVR3 (HVR - от *Hypervariable Region*). Другое обозначение - CDR (*Complementarity Determining Region*), т.е. области молекулы иммуноглобулина, определяющие её комплементарность антигену.

♦ **Каркасные области.** Промежутки между гипервариабельными участками обозначают как FR (*Framework Regions*), т.е. каркасные области: FR1, FR2, FR3 и FR4. Помимо чисто «скелетной», для них характерны и другие функции, не связанные с распознаванием антигенов: FR-участки V-области молекул иммуноглобулинов могут обладать ферментативной (протеазной и нуклеазной) активностью, связывать ионы металлов и суперантигены.

◇ **C-домены.** Остальные домены имеют строго инвариантный для каждого изотипа иммуноглобулинов аминокислотный состав и называются C-доменами (от *Constant*).

♦ В C-доменах и в FR-участках V-доменов содержатся одинаковые аминокислотные последовательности, что рассматривают как молекулярное свидетельство генетической общности.

♦ Гомологичные последовательности аминокислот присутствуют (помимо иммуноглобулинов) и в молекулах других белков, объединяемых с иммуноглобулинами в одно молекулярное суперсемейство иммуноглобулинов (см. выше и рис. 5-1).

Большое количество возможных комбинаций L- и H-цепей создаёт многообразие антител каждого индивидуума.

• **Формы иммуноглобулинов.** Молекулы иммуноглобулинов одной и той же специфичности присутствуют в организме в трёх формах: растворимой, трансмембранной и связанной.

◇ **Растворимая.** В крови и других биологических жидкостях (секретируемый клеткой иммуноглобулин).

◇ **Трансмембранная.** На мембране В-лимфоцита в составе антигенраспознающего рецептора В-лимфоцитов - BCR. Трансмембранные формы всех классов иммуноглобулинов (включая IgM и IgA) - мономеры.

◇ **Связанная.** Иммуноглобулины, за Fc-конец связанные с Fc-рецепторами клеток (макрофагами, нейтрофилами, эозинофилами). Все антитела, кроме IgE, могут фиксироваться FcR клеток только в комплексе с антигеном.

Связывание антигена

Гипервариабельные участки V-области антитела (как и TCR) непосредственно и комплементарно связывают антиген с помощью ионных, ван-дер-ваальсовых, водородных и гидрофобных взаимодействий (сил, связей).

• **Эпитоп** (антигенная детерминанта - см. выше) - участок молекулы антигена, непосредственно участвующий в образовании ионных, водородных, ван-дер-ваальсовых и гидрофобных связей с активным центром Fab-фрагмента.

• **Сродство** между антигеном и антителом количественно характеризуют понятиями «аффинность» и «авидность».

• **Аффинность.** Силу химической связи одного антигенного эпитопа с одним из активных центров молекулы иммуноглобулина называют аффинностью связи

антитела с антигеном. Аффинность количественно принято оценивать по константе диссоциации (в моль⁻¹) одного антигенного эпитопа с одним активным центром.

Так как у цельных молекул мономерных иммуноглобулинов присутствует по 2 потенциально равнозначных симметрично расположенных активных центра для связывания антигена, у димерного IgA - 4, а у пентамерного IgM - 10, скорость диссоциации целой молекулы иммуноглобулина со всеми связанными эпитопами меньше, чем скорость диссоциации одного из активных центров.

- **Авидность.** Силу связи целой молекулы антитела со всеми антигенными эпитопами, которые ей удалось связать, называют авидностью связи антитела с антигеном.

ГЕНЫ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Зародышевые гены иммуноглобулинов. У здорового человека В-лимфоциты в течение жизни создают несколько миллионов вариантов антител, связывающих разные антигены (потенциально 10¹⁶ антигенов). Никакой геном физически не несёт столько различных структурных генов. Количество наследуемого от родителей генетического материала (ДНК), определяющего биосинтез антител, не так уж и велико - немногим более 120 структурных генов. Это наследуемое множество генов - зародышевые гены иммуноглобулинов (зародышевая конфигурация генов).

Гены переменных доменов

Во всех соматических клетках, включая СКК, гены иммуноглобулинов находятся именно в зародышевой конфигурации, где гены V-участков представлены в виде отдельных сегментов, расположенных друг относительно друга на значительном расстоянии и сгруппированных в несколько кластеров: собственно V (вариабельный), J (связующий), а у тяжёлых цепей также D (от англ. *Diversity* - разнообразие). Процесс формирования разнообразия структурных генов для миллионов вариантов V-участков молекул иммуноглобулинов продолжается в течение всей жизни в процессе дифференцировки В-лимфоцитов и является запрограммированнослучайным. В его основе лежат 3 механизма, свойственные только генам антигенсвязывающих молекул (иммуноглобулинов, TCR): соматическая рекомбинация, неточность связей между V, D и J сегментами и гипермутагенез.

- **Соматическая рекомбинация.** На самом раннем этапе дифференцировки лимфоцитов начинается сложный генетический процесс **объединения сегментов ДНК**, предназначенных для кодирования разных частей антигенсвязывающих молекул - V- и C-доменов. В непрерывную последовательность ДНК соединяются **по одному сегменту** из V-, D- и J-областей, при этом в каждом отдельном В-лимфоците возникает **уникальная комбинация VDJ** для тяжёлой цепи

и VJ - для лёгкой цепи. Вся остальная ДНК зародышевого гена выбрасывается из генома в виде кольцевых ДНК.

◇ **Число возможных комбинаций** можно подсчитать. Для κ-цепи из 40 V-сегментов и 5 J-сегментов может получиться $40 \times 5 = 200$ вариантов V-области; для λ-цепи - $30 \times 4 = 120$ вариантов; всего для лёгких цепей 320 вариантов; для тяжёлой цепи $50V \times 30D \times 6J = 9000$ вариантов антигенсвязывающих областей. В целой молекуле иммуноглобулина разные лёгкие и тяжёлые цепи объединяются в тетрамер также случайным образом (по крайней мере теоретически). Число случайных сочетаний из 320 и 9000 - около 3×10^6 .

◇ **Рекомбиназы.** Рекомбинацию ДНК генов иммуноглобулинов катализируют специальные ферменты - рекомбиназы (RAG1 и RAG2 - *Recombination-Activating Gene*). Они же катализируют рекомбинацию ДНК генов TCR в Т-лимфоцитах, т.е. рекомбиназы - уникальные ферменты лимфоцитов. Однако в В-лимфоцитах эти ферменты не «трогают» гены TCR, а в Т-лимфоцитах «обходят» гены иммуноглобулинов. Следовательно, до начала процесса перестройки ДНК в клетке уже существуют регуляторные белки, различные у Т- и В-лимфоцитов.

• **Неточность связи V-D-J.** Под неточностью связей сегментов V, D и J понимают тот факт, что при их формировании происходит **добавление** лишних нуклеотидов. Выделяют 2 типа таких нуклеотидов: P- и N-нуклеотиды.

◇ Нуклеотиды P (от англ. *Palindromic sequences* - зеркальные последовательности) возникают на концах каждого из сегментов, вовлечённых в рекомбинацию, при вырезании одноцепочечных петель ДНК (шпилек) и «достройки хвостов» ферментами репарации ДНК.

◇ Нуклеотиды N (от англ. *Nontemplate-encoded* - нематрично кодируемые), характерные только для тяжёлых цепей, случайным образом пристраиваются к концам V-, D- и J-сегментов специальным ферментом - терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазой.

◇ С учётом присоединения N- и P-нуклеотидов число вариантов антигенсвязывающих областей целых молекул иммуноглобулинов составляет порядка 10^{13} . Если учесть аллельные варианты V-, D- и J-сегментов, то мыслимое разнообразие составит около 10^{16} (в действительности это число меньше, поскольку в организме нет такого количества лимфоцитов). ◇ В 2/3 случаев «платой» за попытки увеличить разнообразие антигенсвязывающих областей антител служит **непродуктивная рекомбинация генов**, т.е. сдвиг рамки считывания или генерация стоп-кодона, делающий невозможной трансляцию белка.

• **Гипермутагенез** - запланированное повышение частоты точечных мутаций - отличает гены иммуноглобулинов даже от генов TCR. Гипермутагенез имеет место только в В-лимфоцитах во время иммуногенеза (т.е. после состоявшегося распознавания антигена и начавшегося иммунного ответа) в зародышевых центрах

лимфоидных фолликулов периферических лимфоидных органов и тканей (лимфатических узлов, селезенки, диффузных скоплений). Частота точечных мутаций в V-генах иммуноглобулинов достигает 1 нуклеотида из 1000 на 1 митоз (т.е. каждый второй В-лимфоцит клона в зародышевом центре приобретает точечную мутацию в V гене иммуноглобулинов), тогда как для всей остальной ДНК она на 9 порядков ниже.

Гены константных доменов

Структурные гены константных доменов полипептидных цепей иммуноглобулинов расположены в тех же хромосомах, что и V-, D- и J-гены, к 3'-концу от J-сегментов.

- **Лёгкая цепь** (рис. 26). Для лёгких κ- и λ-цепей существует по одному C-гену - Cκ и Cλ «Стыковка» нуклеотидного кода для V- и C-доменов лёгких цепей происходит на уровне не ДНК, а РНК - по механизму сплайсинга первичного транскрипта РНК.

- **Тяжёлая цепь** (рис. 27) каждого изотипа иммуноглобулинов также кодируется отдельным C-геном. У человека такие гены расположены в следующем порядке, считая от J-сегмента к 3'-концу: Cμ, Cδ, Cγ3, Cγ1, ψCε (псевдоген ε-цепи), Cα1, Cγ2, Cγ4, Cε, Cα2.

Завершившие лимфопоэз В-лимфоциты (независимо от специфичности их BCR) экспрессируют иммуноглобулины только классов IgM и IgD. При этом мРНК транскрибируется в виде непрерывного первичного транскрипта с перестроенных генов VDJ и Cμ/Cδ.

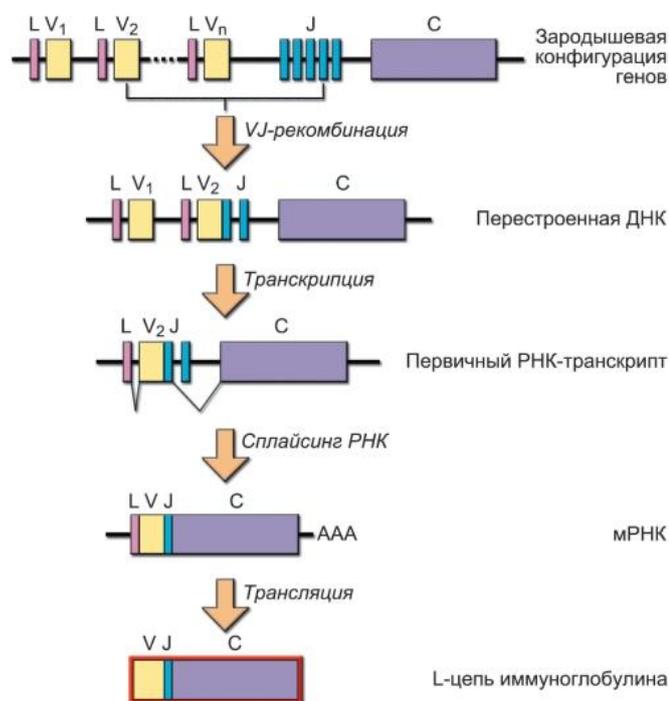


Рис. 26. Структура генов и синтез белка лёгкой (L) цепи иммуноглобулинов

При этом ДНК остальных C-генов других изотипов остаётся нетронутой. В результате альтернативного сплайсинга первичного транскрипта образуются мРНК отдельно для тяжёлых цепей IgM и IgD, которые и транслируются в белок. Этим процессом заканчивается полноценный лимфопоэз В-клеток.

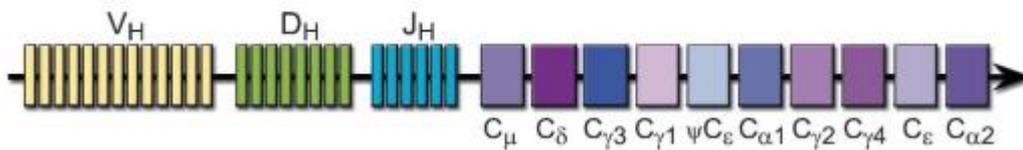


Рис. 27. Структура генов тяжёлой (H) цепи иммуноглобулинов человека

Переключение изотипов иммуноглобулинов

В процессе развития иммунного ответа, т.е. после распознавания антигена и под действием определённых цитокинов и молекул клеточной мембраны Т-лимфоцитов, может происходить переключение синтеза иммуноглобулинов на другие изотипы - IgG, IgE, IgA (рис. 28).

- Переключение изотипа тяжёлой цепи тоже идёт по механизму рекомбинации ДНК: к ранее перестроенной комбинации VDJ присоединяется один из С-генов тяжёлой цепи (C_μ, C_δ, C_{γ3}, C_{γ1}, C_ε, C_{α1} или C_{α2}). При этом происходит разрыв ДНК по областям переключения - SR (*Switch Region*), расположенным в интронах перед каждым С-геном (за исключением C₅).

С IgM на IgG3

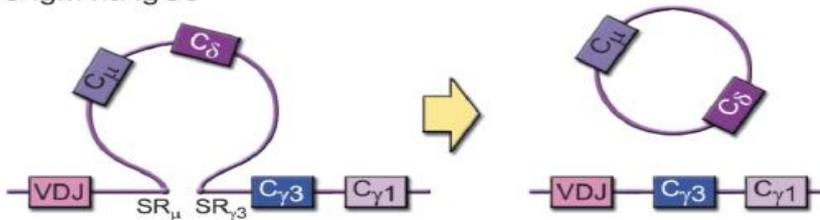
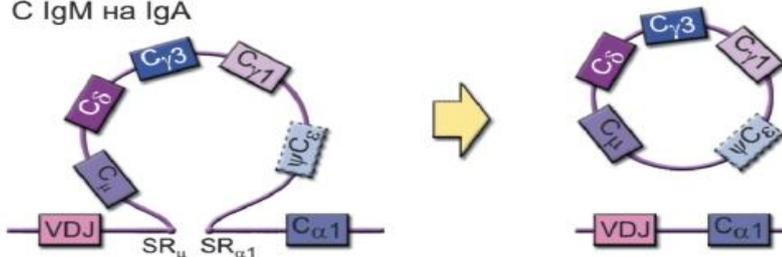


Рис. 28. Рекомбинация ДНК при переключении изотипов иммуноглобулинов В-лимфоцитов

С IgM на IgA



- ДНК С-генов, предшествующих задействованному, элиминируется в виде кольцевых структур, поэтому дальнейшее переключение изотипа возможно только по направлению к 3'-концу.

переключение изотипа возможно только по направлению к 3'-концу.

- Установлено, что гипермутагенез и переключение изотипов иммуноглобулинов катализируются ферментом AID (*Activation Induced Cytidine Deaminase* - цитидиндезаминаза, индуцируемая активацией). Этот фермент специфически атакует экспрессированные гены иммуноглобулинов и отщепляет аминогруппы от цитидиновых оснований, которыми богата ДНК этих генов. В результате этого цитозины преобразуются в урацилы, которые распознаются и вырезаются ферментами репарации ДНК. Последующая цепочка каталитических реакций с участием более чем десяти различных белков (эндонуклеаз, фосфатаз, полимераз, гистонов и т.п.) приводит к появлению мутаций (в случае гипермутагенеза) или двуцепочечных разрывов в ДНК по областям переключения изотипов.

В-ЛИМФОЦИТЫ

Рецептор BCR

Молекула иммуноглобулина способна связывать антиген как в растворе, так и в иммобилизованном на клетке состоянии, однако для формирования полноценного BCR необходимы ещё 2 полипептида, называемые (на наш взгляд, неудачно) (CD79a) и Ig β (CD79b). Все 6 полипептидных цепей BCR представлены на рис.29.

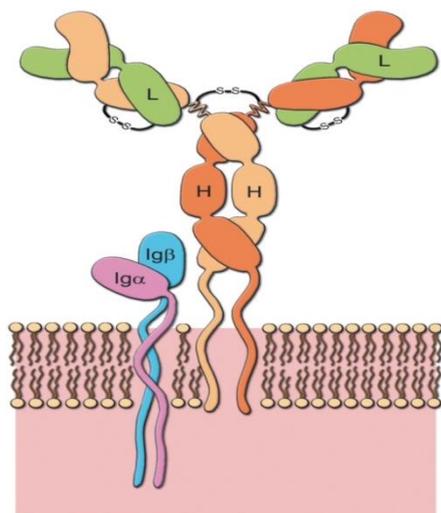


Рис. 29. Антигенраспознающий рецептор В-лимфоцита

Внеклеточный домен. Ig α и Ig β имеют по одному внеклеточному домену, которым они прочно, но нековалентно связаны с тяжёлыми цепями иммуноглобулинового компонента BCR.

Цитоплазматические активирующие последовательности. В цитоплазматических участках

Ig α и Ig β присутствуют характерные последовательности аминокислотных остатков, называемые иммунорецепторными тирозинсодержащими активирующими последовательностями (ITAM - *Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif*); такие же последовательности присутствуют в проводящих сигнал компонентах антигенраспознающего рецептора Т-клеток.

Активация В-лимфоцита. Для эффективной активации В-клетки через BCR необходима перекрёстная «сшивка» антигеном нескольких BCR. Для этого молекула антигена должна иметь повторяющиеся эпитопы на своей поверхности. Дальнейшие события активации В-лимфоцита показаны на рис. 30.

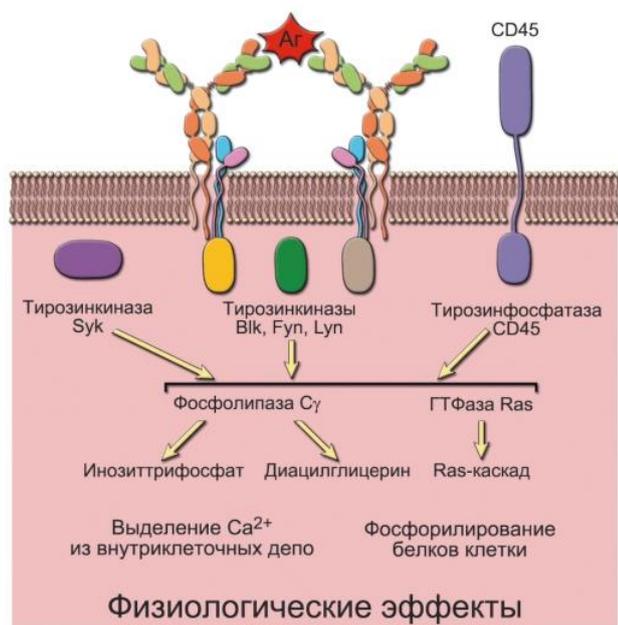


Рис.30. Активация В-лимфоцита: внутриклеточная передача «сигнала»

Корецепторный комплекс

Повторяющиеся эпитопы есть не на каждом антигене; следовательно, не каждый антиген способен вызвать перекрёстную сшивку BCR, поэтому необходим дополнительный корецепторный комплекс мембранных молекул, связанных с внутриклеточными системами проведения сигналов. В этот

комплекс входят по крайней мере 3 мембранные молекулы: CD19, CR2 (CD21) и ТАРА-1 (CD81).

- **CR2** - рецептор для компонентов комплемента. Связывание CR2 с продуктами деградации компонентов комплемента (C3b, C3dg и C3bi) вызывает фосфорилирование молекулы CD19 ассоциированными с BCR киназами.
- **CD19**. Фосфорилированная молекула CD19 активирует фосфатидилинозит-3-киназу и молекулу Vav (многофункциональная молекула проведения внутриклеточных сигналов), которые **усиливают** активационные реакции, инициированные BCR (рис. 5-8).
- **ТАРА-1** (*Target of AntiProliferative Antibody* - мишень для антипролиферативных антител) в мембране физически примыкает к CD19 и CR2, но роль этой молекулы неизвестна.

Дифференцировка В-лимфоцитов

Дифференцировка В-лимфоцитов из общей лимфоидной клетки-предшественника (потомка СКК) включает несколько этапов и процессов: перестройку генов иммуноглобулинов и интеграцию их продуктов в клеточный метаболизм; экспрессию генов молекул, обеспечивающих проведение сигнала с BCR внутрь клетки; экспрессию генов мембранных молекул, необходимых для взаимодействия с другими клетками (в первую очередь с Т-лимфоцитами и ФДК); экспрессию на мембране корецепторных комплексов.

В2-лимфоциты

Этапы В2-лимфопоэза. В лимфопоэзе В2-лимфоцитов выделяют 6 этапов: общая лимфоидная клетка-предшественник → ранняя про-В-клетка → поздняя про-В-клетка → большая пре-В-клетка → малая пре-В-клетка → незрелая В-клетка → зрелая наивная В-клетка (выходит из костного мозга в периферическую лимфоидную ткань).

- **Общая лимфоидная клетка-предшественник.** Экспрессирует несколько молекул адгезии, обеспечивающих оседлость в течение необходимого периода времени в костном мозге, среди них VLA-4 (*Very Late Activation Antigen-4* - очень поздний активационный антиген 4), лигандом которого на клетках стромы служит VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule-1* - молекула-1 адгезии к стенке сосуда).
- **Ранняя про-В-клетка.** Происходит D-J-рекомбинация в генах тяжёлых цепей, на обеих гомологичных хромосомах. В этой стадии (помимо молекул адгезии) экспрессируется рецептор c-kit (CD117) для первого фактора роста - мембранной молекулы клеток стромы SCF - фактора стволовых клеток. Это взаимодействие обеспечивает прохождение предшественниками В-лимфоцитов, ещё не поделёнными на клоны по антигенраспознающим рецепторам, необходимого числа митозов.

• **Поздняя про-В-клетка.** Происходит V-DJ-рекомбинация генов иммуноглобулинов сначала на одной из гомологичных хромосом. Если она окажется непродуктивной, то та же попытка повторяется на второй гомологичной хромосоме. Если перестройка на первой хромосоме продуктивна, вторая хромосома использована не будет. При этом образуется так называемое аллельное исключение (*allelic exclusion*), когда белок иммуноглобулина будет кодироваться только одной хромосомой, а вторая будет «молчащей». В результате индивидуальный лимфоцит сможет продуцировать антитела только одной специфичности. Этот процесс закладывает основу клональности антител.

◇ Как только в клетке происходит трансляция полипептида тяжёлой цепи, он экспрессируется на мембране в составе так называемого пре-В-рецептора. Этот рецептор содержит суррогатную лёгкую цепь (идентичную для всех клеток на этой стадии созревания), μ -цепь, $Ig\alpha$, $Ig\beta$. Экспрессия этого рецептора транзиторна, но абсолютно необходима для правильной дифференцировки В-лимфоцитов.

◇ Поздняя про-В-клетка также экспрессирует рецепторы для цитокинов ИЛ-7 и SDF-1, секретируемых клетками стромы и вызывающих пролиферацию и накопление «полуклонов» В-лимфоцитов (про-В- и больших пре-В-клеток) с уже известной специфичностью по тяжёлой цепи, но ещё неизвестной - по лёгкой. Это тоже увеличивает разнообразие молекул иммуноглобулинов: с одной и той же тяжёлой цепью будет сочетаться больше разных вариантов лёгких цепей.

• **Пре-В-клетка.** Происходит V-J-перестройка генов иммуноглобулинов лёгких цепей (сначала одной из цепей - κ или λ) на одной из гомологичных хромосом. Если продуктивная перестройка не получится с первой попытки, предпринимаются следующие. Клетки, в которых не произошло ни одной продуктивной перестройки в генах тяжёлых и лёгких цепей, погибают по механизму апоптоза - явления, весьма распространённого среди лимфоцитов.

• **Незрелый В-лимфоцит.** Уже экспрессируется дефинитивный BCR, содержащий L-цепь, μ -цепь, + $Ig\alpha$ + $Ig\beta$.

Развитие толерантности. На стадии незрелых В-лимфоцитов начинается также развитие толерантности к собственным тканям организма. Для этого предусмотрено 3 механизма: делеция аутореактивных клонов, ареактивность (анергия) и «редактирование» рецептора по антигенной специфичности. Первые два механизма продолжают действовать и по выходе лимфоцита из костного мозга, т.е. при контакте со значительными количествами аутоантигенов.

• **Негативная селекция и делеция клонов.** Связывание мембранного антигена незрелой В-клеткой (экспрессирует IgM -BCR, но ещё отсутствует IgD -BCR) служит сигналом для её апоптоза. Таким образом, удаляются В-лимфоциты, несущие антигенраспознающие рецепторы, способные связывать белки собственных тканей.

- **Ареактивность.** Связывание незрелым В-лимфоцитом растворимого антигена не приводит к апоптозу, но лимфоцит приходит в состояние анергии, т.е. проведение сигнала от BCR блокируется и лимфоцит не активируется.

- **«Редактирование» рецепторов** происходит в небольшой части незрелых В-клеток, в которых ещё активны рекомбиназы. В этих клетках связывание IgM (в составе BCR на поверхности незрелого В-лимфоцита) с антигеном служит сигналом для запуска повторного процесса рекомбинации VDJ/VJ: образующаяся при этом новая комбинация может не быть аутореактивной.

Маркёр завершения В-лимфопоэза (образования зрелого наивного В-лимфоцита, готового к выходу из костного мозга в периферическую лимфоидную ткань) - одновременная экспрессия (коэкспрессия) на мембране двух типов BCR - с IgM и IgD (причём IgD больше, чем IgM).

Иммуногенез. После распознавания антигена и вступления в иммунный ответ В-лимфоцит проходит в фолликулах периферических лимфоидных органов и тканей ещё 2 стадии додифференцировки, которые называют иммуногенезом.

- **Пролиферация центробластов.** В фолликулах В-лимфоциты, называемые на этой стадии центробластами, интенсивно пролиферируют, удерживаясь связями со специальными клетками стромы - ФДК.

- На ФДК экспрессированы необычные рецепторы для иммуноглобулинов (FcR), способные длительное время (дни, месяцы, возможно, годы) удерживать комплекс антиген-антитело на мембране клетки.

- В центробластах происходит **возрастание аффинности антител** в отношении специфического антигена по механизму гипермутагенеза, так как на этом этапе дифференцировки выживают те из вновь мутировавших В-лимфоцитов, у которых аффинность BCR к антигенам на поверхности ФДК выше. Этот процесс также называют положительной селекцией.

- **Выбор дальнейшего пути.** На второй стадии иммуногенеза происходит выбор: В-лимфоцит становится либо В-лимфоцитом памяти (дифференцированный резерв на случай повторной встречи с тем же антигеном), либо плазмочитом (плазматической клеткой) - продуцентом больших количеств секретируемых антител заданной специфичности (рис. 31).

Описанный путь дифференцировки характерен для В2-лимфоцитов, которые давно известны и хорошо изучены. Однако существует и другая субпопуляция В-лимфоцитов - В1-клетки.

В1-лимфоциты

- В свою очередь, В1-лимфоциты подразделяют на 2 субпопуляции: В1а (CD5⁺) и В1б (CD5⁻).

- Предшественники В1а-лимфоцитов ещё в эмбриональном периоде мигрируют из эмбриональных кроветворных тканей (фетальной печени, оментума) в брюшную и плевральную полости, где существуют как самоподдерживающаяся популяция. В1b-лимфоциты тоже происходят из фетальных предшественников, однако их пул у взрослых может частично пополняться за счёт костного мозга.

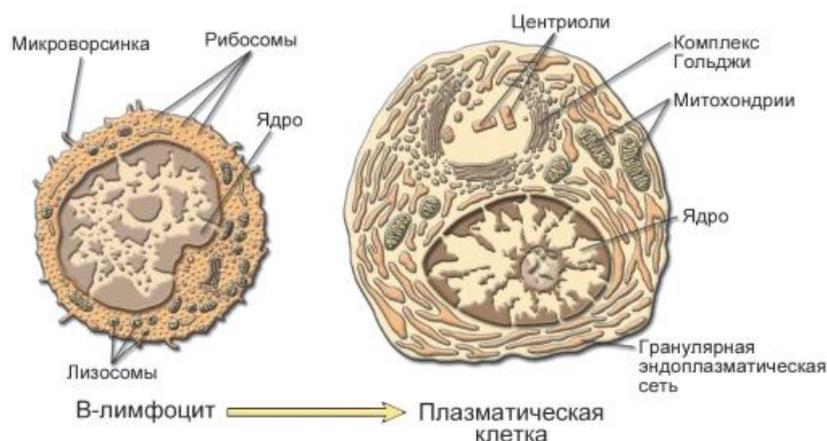


Рис.31. В-лимфоцит и плазматическая клетка. Активированные В-лимфоциты, т.е. распознавшие антигенную детерминанту и получившие сигнал к пролиферации, пролиферируют и заканчивают дифференцировку. Совокупность окончательно дифференцированных потомков В-лимфоцита составляет клон

плазматических клеток, синтезирующих антитела (иммуноглобулины) именно к этой и только к этой антигенной детерминанте. Обратите внимание, что в цитоплазме плазматической клетки присутствует большое количество синтезирующего белок аппарата - гранулярной эндоплазматической сети. На мембране плазматической клетки уже нет ни иммуноглобулинов, ни МНС-II. В этих клетках прекращается переключение классов иммуноглобулинов и гипермутагенез, а образование антител уже не зависит от контакта с антигеном и взаимодействий с Т-лимфоцитами

- Предназначение В1-лимфоцитов - быстрый ответ на проникающие в организм широко распространённые патогены (преимущественно бактерии). Многие В1-клетки продуцируют антитела, специфичные к аутоантигенам.
- Разнообразие антител, продуцируемых В1-лимфоцитами, невелико; как правило, они полиспецифичны. Почти все антитела В1-клеток принадлежат к IgM-изотипу и распознают наиболее распространённые соединения клеточных стенок бактерий.
- Преобладающая часть нормальной IgM сыворотки крови здорового человека синтезируется именно В1-лимфоцитами.
- Предполагают, что основная функция В1а-лимфоцитов - секреция естественных антител, а В1b-лимфоциты участвуют в продукции антител к Т-независимым антигенам.

Естественные (конститутивные) иммуноглобулины

Ещё до встречи с каким бы то ни было внешним антигеном в крови и биологических жидкостях организма уже присутствуют так называемые естественные (конститутивные) иммуноглобулины. У взрослых большинство из них относится к IgG, но есть также IgA и IgM. Эти антитела способны связывать множество антигенов (как эндо-, так и экзогенных). Мишенями для нормальных

иммуноглобулинов могут быть другие иммуноглобулины; TCR; молекулы CD4, CD5 и HLA-I; FcγR; лиганды для молекул межклеточной адгезии и др.

Функции естественных антител. Есть основания полагать, что естественные антитела выполняют ряд весьма важных для здоровья организма функций: «первая линия обороны» против патогенов; удаление из организма погибших клеток и продуктов катаболизма; презентация антигенов Т-лимфоцитам; поддержание гомеостаза аутоиммунной реактивности; противовоспалительное действие (нейтрализация суперантигенов; индукция синтеза противовоспалительных цитокинов; аттенуация комплементзависимого повреждения тканей и др.).

Методы исследования, используемые для оценки состояния гуморального иммунитета (В-системы иммунитета)

К тестам 1-го уровня оценки В-системы иммунитета, позволяющим выявить грубые поломки в иммунной системе (с помощью которых диагностируются наиболее частые нарушения в данном компоненте иммунной системы), относятся:

- Определение содержания иммуноглобулинов основных классов (А, М, G) в сыворотке крови.
- Наиболее распространенный метод радиальной иммунодиффузии в агаре или с помощью нефелометрии;
- Определение содержания IgE в сыворотке крови. Используется ИФА. Причем можно определять суммарное количество IgE в сыворотке крови и уровень аллерген-специфического IgE;
- Определение процентного и абсолютного количества В-лимфоцитов (CD19, CD20, CD72) в периферической крови (**10 – 23%; 150-600 в 1 мкл**).

Все остальные тесты оценки состояния гуморального иммунитета относятся к развернутым тестам 2-го уровня. Наиболее важные из них:

- Определение субклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) в сыворотке крови;
- Определение концентрации sIgA в секретах слизистых. Именно этот иммуноглобулин обеспечивает местную защиту слизистых;
- Определение содержания антител к бактериальным белковым и полисахаридным антигенам в сыворотке крови. Ведь именно конкретные антитела к конкретному возбудителю обеспечивают защиту организма, а не общий уровень антител (иммуноглобулинов);
- Определение способности лимфоцитов давать пролиферативный ответ на митогены (липополисахариды, митоген лаконоса). Позволяет оценить важную патогенетическую способность В-лимфоцитов – пролиферировать при контакте с митогенами, антигенами;
- Определение поверхностных маркеров В-лимфоцитов (рецепторов интерлейкина-2, трансферрина, DR-антигенов HLA и других);

- Определение циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови.
- Другие тесты, позволяющие количественно оценить способность В-лимфоцитов синтезировать иммуноглобулины, функциональные способности В-клеток, полноценность иммуноглобулинов.

Выявлено, что при нормальном уровне иммуноглобулинов в сыворотке крови и даже при высоком титре антител к определенному возбудителю, у человека могут быть хронические, рецидивирующие заболевания, вызванные этим возбудителем. Связано это, в ряде случаев, с низким аффинитетом антител или низким гликозилированием молекул IgG. (Низкий аффинитет приводит к неэффективному связыванию антитела с антигеном и, как следствие, низкая элиминация антигена. Молекула IgG является гликопротеином и степень гликозилирования важна при взаимодействии Ig с Fc-рецепторами фагоцитов. Не полностью гликозилированные молекулы IgG неэффективно вступают во взаимодействие с фагоцитами, с их Fc-рецепторами.).

Самостоятельная работа студентов

I. Ответьте на вопросы.

1. Расположите классы иммуноглобулинов в порядке убывания их концентрации в крови Ig____, Ig____, Ig____, Ig____, Ig_____.
 2. На каких клетках содержатся рецепторы к Fc-фрагменту Ig E?
.....
 3. Концентрация какого класса иммуноглобулина в сыворотке крови наименьшая? Ig
 4. Повышение концентрации какого иммуноглобулина происходит при ряде аллергических реакций немедленного типа? Ig
 5. Какой иммуноглобулин имеет наибольшую молекулярную массу? Ig
 6. Какой Ig имеет десять антигенсвязывающих центров?
 7. Какими доменами формируются активные центры антител?
 8. Что такое секреторный иммуноглобулин А?
- Где он содержится в организме человека в наибольших концентрациях?
9. Что такое Fab ?
 10. Что такое Fc ?
 11. Укажите, что расположено в CH2 домене IgG
 12. Сколько всего доменов в молекуле IgG?
 13. Сколько всего доменов в молекуле IgM ?
 14. Сколько переменных доменов в молекуле IgM ?

15. Наличие какого иммуноглобулина в сыворотке крови новорожденного свидетельствует о внутриутробном инфицировании плода? Почему..... .
16. Какие клетки продуцируют антитела (являются продуцентами антител)? ...
17. Концентрация какого класса Ig в крови наибольшая?
18. Чем важно естественное вскармливание молоком матери грудного ребенка?
19. Что такое моноклональные антитела, как их получают ?
20. Где можно применить МАТ к IgE?
21. Вспомните, что такое ИФА? Принцип постановки.
22. Для чего применяется ИФА?

I. Ответьте на тесты

А. Назовите класс Ig, который проходит через плаценту:

1. IgA.
2. IgG.
3. IgM.
4. IgE.

Б. Назовите класс Ig, который является показателем острой инфекции:

1. IgA.
2. IgG.
3. IgM.
4. IgE.

В. Назовите класс Ig, который обеспечивает местный иммунитет:

1. IgA.
2. IgG.
3. IgM.
4. IgE.

Г. Отметьте свойства, характерные для IgE:

1. Связывает комплемент.
2. Обладает цитотоксичностью к тучным клеткам и базофилам.
3. Участвует в развитии гиперчувствительности I типа.
4. Проходит через плаценту.

Д. Назовите класс Ig, обладающий наибольшей авидностью:

1. IgA.
2. IgG.

3. IgM.

4. IgE.

Е. Назовите клетки, обеспечивающие АЗКЦТ:

1. Кровяные ЕК.

2. Т-киллеры.

3. Эозинофилы.

4. Активированные макрофаги.

Ж. Отметьте типы гиперчувствительности, классифицированные по Джеллу и Кумбсу, в которых принимает участие комплемент:

1. I тип (анафилактический).

2. II тип (цитотоксический).

3. III тип (иммунокомплексный).

4. IV тип (ГЗТ).

З. Назовите процесс, защищающий организм от повторных антигенных интервенций:

1. Иммунная толерантность.

2. Иммунная память.

3. Гиперчувствительность.

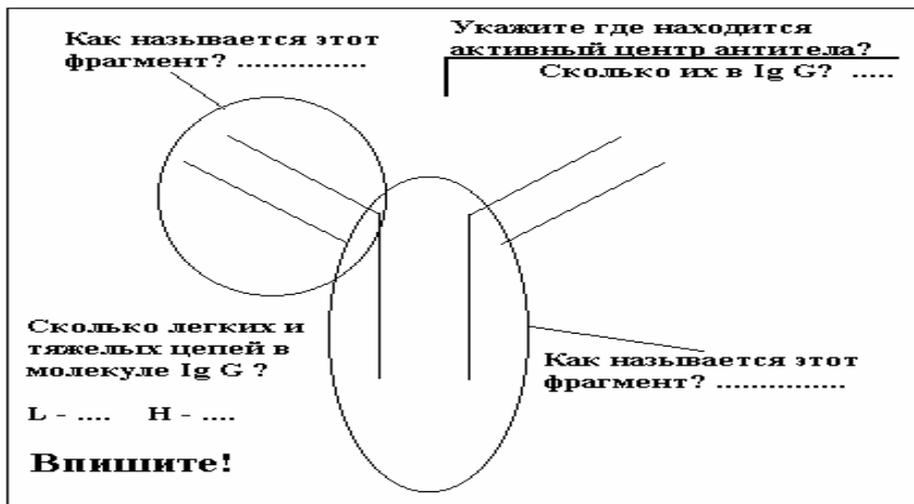
4. Иммунный паралич.

И. К аллергологу обратилась пациентка, у которой через 48 ч после употребления косметического крема кожа лица воспалилась и на ней появились везикулы. Этим кремом пациентка пользовалась и ранее. Врач диагностировал развитие контактной гиперчувствительности. Объясните механизм развития контактной гиперчувствительности. Назовите тип, к которому она относится.

К. Резус-отрицательной матери, беременной первой беременностью резус-положительным плодом, сразу после родов была введена антирезус-сыворотка. Объясните необходимость проведения этой врачебной манипуляции.

Л. Иммунная толерантность проявляется отсутствием специфического продуктивного иммунного ответа на антиген в связи с неспособностью его распознавания. Назовите антигены, к которым легче всего формируется толерантность.

П.



Занятие №6 по теме:

T- ЛИМФОЦИТЫ. АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ, АНТИГЕНЫ, МАРКЕРЫ. ПОЗИТИВНАЯ И НЕГАТИВНАЯ СЕЛЕКЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ.

I. Научно-методическое обоснование темы.

T- и B-лимфоциты являются клетками адаптивного иммунитета. Важным являются знания о клеточном иммунитете, так как именно он обеспечивает защиту от вирусных инфекций, от ряда внутриклеточных бактериальных инфекций, играет ведущую роль в отторжении трансплантата, в противоопухолевой резистентности. T-лимфоциты хелперы являются важными регуляторными клетками, как в клеточном, так и в гуморальном иммунном ответе. Изучение их онтогенеза необходимо для понимания механизмов иммунитета в норме и при патологии. Необходимо уметь оценить состояние клеточного иммунитета для направленной иммунокоррекции.

II. Цель деятельности студентов.

Общая цель: изучение темы направлено на формирование компетенций по ФГОС-03 по специальности Педиатрия (ОК1, ПК16, ПП19, ПК31, ПК32): формировать способность и готовность использовать на практике методы гуманитарных, естественнонаучных, медико-биологических и клинических наук в различных видах профессиональной и социальной деятельности, формировать умение работать с научной литературой, анализировать информацию, вести поиск, выделять основные

положения, делать выводы, развивать личностные качества. Активно использовать современные достижения науки, особенно подчеркивая роль отечественных ученых в разработке данной темы.

Студент должен знать:

- развитие лимфоцитов, характеристику основных кластеров дифференцировки,
- строение Т- и В-систем иммунитета,
- популяции и субпопуляции Т-клеток, их функции,
- строение антигенраспознающих рецепторов TCR,
- особенности распознавания антигенов Т-клетками,
- виды патологии в Т-системе иммунитета
- типы клеточной цитотоксичности
- методы оценки клеточного иммунитета.

Студент должен уметь:

- применить полученные знания в клинической практике;
- оценить состояние клеточного иммунитета.

III. Содержание обучения:

1. Этапы антигеннезависимой и антигензависимой дифференцировки Т- и В-лимфоцитов.
2. Строение TCR-рецептора.
3. Особенности распознавания антигенов.
4. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов.

IV. Учебно-материальное обеспечение.

1. Наглядные пособия: таблицы, схемы, мультимедийные презентации, видеофильмы, аудиограммы.
2. Учебная медицинская документация (истории болезни, лабораторные исследования, иммунограммы).
3. Технические средства обучения.
4. Литература.

V. Список рекомендуемой литературы.

Основная литература:

1. Хаитов, Р.М. Иммунология: учеб. Для студентов мед. ВУЗов. Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2006, 2009, 2011.-311 с.: ил. Гриф УМО. CD-ROM прилагается. Глава 3. Доиммунные механизмы резистентности. С.35-52.

2. Хаитов, Р.М. Иммунология. Норма и патология : учеб. Для студентов мед. ВУЗов и ун-тов/ Р.М.Хаитов, Г.А. Игнатъева, И.Г.Сидорович.-3-е изд., перераб. И доп.- М. : Медицина, 2010. – 750 с. : ил. – (Учеб. Лит. Для студентов мед. Вузов и ун-тов).Глава 4. Врожденный иммунитет С.293-400.

Дополнительная литература:

1. Электронная библиотека медицинского вуза «Консультант студента» www.studmedlib.ru:
2. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 640 с. : ил.
3. Иммунология : практикум : учеб. пособие / [Ковальчук Л. В. и др.]; под ред. Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатъевой, Л. В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 176 с. : ил.
4. Иммунология: учебник / А. А. Ярилин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с. : ил.
5. Лекции по иммунологии.
6. Методические указания для внеаудиторной работы студентов 5 курса педиатрического факультета по дисциплине "Клиническая иммунология".

VI. БАЗИСНЫЕ РАЗДЕЛЫ ДЛЯ ПОВТОРЕНИЯ: к практическому занятию студент должен повторить:

- Гистология, эмбриология, цитология: учебник / под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – 6-е изд., перераб.и доп. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2012. – 800 с.: ил. Глава 2. Методы исследования в гистологии, цитологии и эмбриологии. с. 20-36. Глава 7. Кровь и лимфа. Кроветворения. с. 159-179. Глава 14. Система кроветворения и иммунной защиты. с. 450-451.
- Сапин М.Р., Билич Г.Л. Анатомия человека: учебник: в 3 т. – изд. 3-е испр., доп. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2009. – Т. 2. – 496 с.: ил. Органы кроветворения и иммунной системы, с. 267-276.
- Биология: учебник: в 2 т. / под ред. В.Н. Ярыгина. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2011. – Т. 2. – 560 с.: ил. Радел V, глава 14.7. Защита и поддержание целостности организма, постоянства его внутренней среды, оптимальных условий для процессов жизнедеятельности. Эволюция иммунной системы. с. 238-244.
- Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В.Н. Царева. – М.: Практическая медицина, 2010. – 581 с.: ил. Радел 7.7. Иммунная система организма.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Что понимают под фенотипом клетки?
2. Охарактеризуйте лимфоцит как основной клеточный элемент иммунной системы.
3. Что включает в себя Т-система иммунитета?
4. Назовите морфологические особенности Т-клеток.
5. Перечислите и кратко охарактеризуйте этапы лимфопоэза Т-клеток.
6. Дайте характеристику дубль позитивных и дубль негативных Т-клеток.
7. Что понимают под позитивной и негативной селекцией Т-лимфоцитов, где она происходит?
8. Охарактеризуйте популяцию и субпопуляции Т-хелперов.
9. Охарактеризуйте наивные Т-клетки.
10. Что понимают под термином «примирование»?
11. Укажите механизмы цитотоксичности Т-киллеров.
12. Назовите и охарактеризуйте варианты регуляторных Т-клеток (Т- reg), их функцию.
13. Дайте характеристику популяции Т γ δ-лимфоцитов.
14. Назовите особенности НКТ-клеток.
15. Охарактеризуйте строение антигенраспознающего рецептора Т-лимфоцитов (TCR).
16. Назовите особенности распознавания антигена TCR-рецептором.
17. Что такое феномен двойного распознавания?
18. Что такое «иммунологическая память»? Охарактеризуйте особенности Т- и В-клеток памяти.
19. Назовите виды патологии в Т-системе иммунитета.
20. Перечислите методы определения Т-клеток.

БЛОК ИНФОРМАЦИИ

Иммунная система млекопитающих обеспечивает защиту организма двумя основными специфическими способами. Во-первых, это образование **специфических антител**, а во-вторых, образование и функционирование **клеточных факторов приобретенного иммунитета**, не только оказывающих **ЭФФЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ** (разрушение клеток мишеней: опухолевых, мутировавших, и др.), но и осуществляющих **РЕГУЛЯЦИЮ** иммунного ответа. А так же участвующих в формировании иммунологической памяти, распознавании антигена и индукции иммунного ответа. Клетками, выполняющими такие многообразные функции, являются в первую очередь **Т - Л И М Ф О Ц И Т Ы**. Основная роль Т-лимфоцитов - распознавание изменённых поверхностных структур

собственных клеток организма. Если на поверхности своих клеток будут представлены чужеродные или изменённые свои молекулы, Т-лимфоцит организует уничтожение повреждённой клетки.

- В отличие от В-лимфоцитов, Т-лимфоциты не продуцируют растворимых форм антигенраспознающих молекул. Более того, большинство Т-лимфоцитов не способно распознавать и связывать растворимые антигены.
- Для того чтобы Т-лимфоцит «обратил своё внимание на антиген», другие клетки должны каким-то образом «пропустить» антиген через себя и выставить его на своей мембране в комплексе с МНС-I или МНС-II. Это и есть феномен презентации антигена Т-лимфоциту. Распознавание такого комплекса Т-лимфоцитом - двойное распознавание, или МНС-рестрикция Т-лимфоцитов.

АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЙ РЕЦЕПТОР Т-ЛИМФОЦИТОВ

Антигенраспознающие рецепторы Т-клеток (TCR) состоят из цепей, принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов (см. рис.32). Выступающий над поверхностью клетки антигенраспознающий участок TCR - гетеродимер (т.е. состоит из двух разных полипептидных цепей). Известны два варианта TCR, обозначаемые как $\alpha\beta$ TCR и $\gamma\delta$ TCR. Эти варианты различаются составом полипептидных цепей антигенраспознающего участка. Каждый Т-лимфоцит экспрессирует только 1 вариант рецептора. арТ-клетки были открыты раньше и изучены подробнее, чем у δ Т-клетки; поэтому строение антигенраспознающего рецептора Т-лимфоцитов (TCR) удобнее описывать на примере арТCR. Полностью трансмембранно расположенный TCR состоит из 8 или 10 полипептидных цепей (одна или две пары α/β и комплекс из двух ϵ , двух ζ и по одной δ и γ цепей; рис. 1-1).

• **Трансмембранные цепи α и β TCR.** Это 2 примерно одинаковые по размеру полипептидные цепи - α (молекулярная масса 40-60 кДа, кислый гликопротеин) и β (молекулярная масса 40-50 кДа, нейтральный или основной гликопротеин). Каждая из этих цепей содержит по 2 гликозилированных домена во внеклеточной части рецептора, гидрофобную (положительно заряженную за счёт остатков лизина и аргинина) трансмембранную часть и короткий (из 5-12 остатков аминокислот) цитоплазматический участок. Внеклеточные части обеих цепей соединены одной дисульфидной связью.

◇ **V-область.** Наружные внеклеточные (дистальные) домены обеих цепей имеют переменный аминокислотный состав. Они гомологичны V-области молекул иммуноглобулинов и составляют V-область TCR. Именно V-области α - и β -цепей вступают в связь с комплексом МНС-пептид.

◇ **C-область.** Проксимальные домены обеих цепей гомологичны константным областям иммуноглобулинов; это C-области TCR.

◇ **Короткий цитоплазматический участок** (как α -, так и β -цепи) не может самостоятельно обеспечить проведение сигнала внутрь клетки. Для этого служат 6 дополнительных полипептидных цепей: γ , δ , 2 ϵ и 2 ζ

- **Комплекс CD3.** Цепи γ , δ , ϵ (вместе их называют комплексом CD3) необходимы для экспрессии α - и β -цепей, их стабилизации и проведения сигнала внутрь клетки. Комплекс CD3 состоит из внеклеточной, трансмембранной (отрицательно заряженной и потому электростатически связанной с трансмембранными участками α - и β -цепей) и цитоплазматической частей.

- **ζ -Цепи** соединены между собой дисульфидным мостиком и, будучи по большей части расположенными в цитоплазме, осуществляют проведение сигнала внутрь клетки.

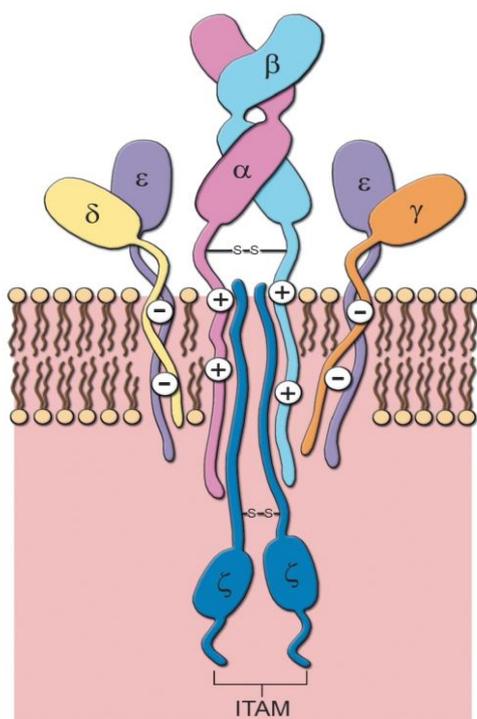


Рис.32. $\alpha\beta$ T-клеточный рецептор.

Антигенсвязывающая область рецептора формируется α - и β -цепями; цепи γ , δ , ϵ (вместе их называют комплексом CD3) необходимы для экспрессии α - и β -цепей, их стабилизации и проведения сигнала внутрь клетки; передачу сигнала обеспечивает ζ -цепь - самая «внутриклеточная». ITAM (Immunoreceptor-Tyrosin-based Activation Motif) - тирозинсодержащие активационные последовательности аминокислот в иммунорецепторах

- **ITAM-последовательности.** Цитоплазматические участки полипептидных цепей γ , δ , ϵ и ζ содержат последовательности ITAM (1 последовательность в γ - и δ -цепях, 2 - в ϵ -цепях и 3 - в каждой ζ -цепи), взаимодействующие с тирозинкиназами цитозоля (активация этих ферментов и составляет начало биохимических реакций по проведению сигнала). В связывании антигена участвуют ионные, водородные, ван-дер-ваальсовы и гидрофобные силы, конформация рецептора при этом существенно изменяется. Каждый TCR потенциально способен связывать порядка 10^5 разных антигенов, причём не только родственные по строению (перекрёстно реагирующие), но и негомологичные по структуре.

Гены T-клеточного рецептора

Гены α -, β -, γ - и δ -цепей (рис. 33) гомологичны генам иммуноглобулинов и претерпевают при дифференцировке T-лимфоцитов соматическую рекомбинацию

ДНК, что теоретически обеспечивает генерацию порядка 10^{16} - 10^{18} вариантов антигенсвязывающих рецепторов (реально это разнообразие ограничено числом лимфоцитов в организме до 10^9).

- **Гены α-цепи** имеют 70-80 V-сегментов, 61 J-и один C-сегмент.
- **Гены γ-цепи** содержат 52 V-сегмента, 2 D-сегмента, 13 J-сегментов и 2 C-сегмента.
- **Гены δ-цепи.** Между V- и J-сегментами α-цепи расположены гены D-, J- и C-сегментов δ-цепи у5TCR. V-сегменты δ-цепи «вкраплены» среди V-сегментов α-цепи.
- **Гены ε-цепи** у5TCR имеют 2 C-сегмента, 3 J-сегмента перед первым C-сегментом и 2 J-сегмента перед вторым C-сегментом, 12 V-сегментов.

Перестройка генов

- Рекомбинация ДНК происходит при объединении V-, D- и J-сегментов и катализируется тем же комплексом рекомбиназ, что и при дифференцировке В-лимфоцитов.
- После перестройки VJ в генах α-цепи и VDJ в генах γ-цепи, а также присоединения некодируемых N- и P-нуклеотидов с ДНК транскрибируется РНК. Объединение с C-сегментом и удаление лишних (неиспользуемых) J-сегментов происходит при сплайсинге первичного транскрипта.
- Гены α-цепи могут перестраиваться неоднократно при уже правильно перестроенных и экспрессированных генах γ-цепи.

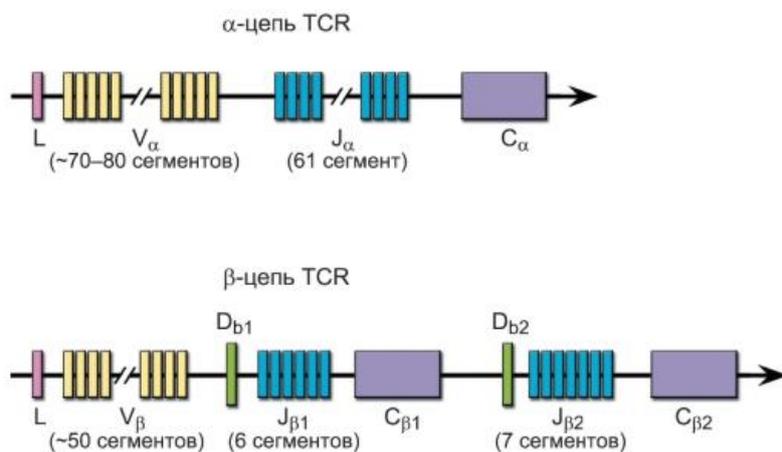


Рис. 33. Гены α- и γ-цепей антигенраспознающего рецептора Т-лимфоцитов

Именно поэтому есть некоторая вероятность того, что одна клетка может нести более одного варианта TCR.

- Соматическому гипермутагенезу гены TCR не подвергаются.

Корецепторные молекулы CD4 и CD8

Помимо самого TCR, каждый зрелый Т-лимфоцит экспрессирует одну из так называемых корецепторных молекул - CD4 или CD8, которые также взаимодействуют с молекулами МНС на АПК или клетках-мишенях. Каждая из них имеет цитоплазматический участок, связанный с тирозинкиназой Lck, и, вероятно, вносит свой вклад в проведение сигнала внутрь клетки при распознавании антигена.

- **CD4** связывается с инвариантной частью (p2-доменом) молекулы МНС-II (принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов, см. рис. 5-1, б). CD4 имеет молекулярную массу 55 кДа и 4 домена во внеклеточной части. При активации Т-лимфоцита одну молекулу TCR «обслуживают» 2 молекулы CD4 (вероятно, происходит димеризация молекул CD4).

- **CD8** связывается с инвариантной частью (a3-доменом) молекулы МНС-I (принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов, см. рис. 5-1, а). CD8 - гетеродимер цепей a и p, соединённых дисульфидной связью. В некоторых случаях обнаруживают гомодимер из двух a-цепей, который также может взаимодействовать с МНС-I. Во внеклеточной части каждая из цепей имеет по одному иммуноглобулиноподобному домену.

ПРОВЕДЕНИЕ СИГНАЛА С АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ ЛИМФОЦИТОВ

TCR и BCR имеют ряд общих закономерностей регистрации и проведения в клетку активационных сигналов (см. рис. 5-8).

- **Кластеризация рецепторов.** Для активации лимфоцита необходима кластеризация антигенраспознающих рецепторов и корецепторов, т.е. «сшивка» нескольких рецепторов одним антигеном.

- **Тирозинкиназы.** В проведении сигнала значительную роль играют процессы фосфорилирования/дефосфорилирования белков по остатку тирозина под действием тирозинкиназ и тирозинфосфатаз, ведущие к активации или инактивации этих белков. Эти процессы легко обратимы и «удобны» для быстрых и гибких реакций клетки на внешние сигналы.

- **Киназы Src.** Богатые тирозином ITAM-последовательности цитоплазматических участков иммунорецепторов подвергаются фосфорилированию под действием нерецепторных (цитоплазматических) тирозинкиназ семейства Src (Fyn, Blk, Lyn в В-лимфоцитах, Lck и Fyn - в Т-лимфоцитах).

◇ Активность киназ Src зависит от состояния С-концевого участка молекулы: его фосфорилирование под действием киназы Csk инактивирует, а дефосфорилирование трансмембранной тирозинфосфатазой CD45 - активирует фермент.

◇ Другой механизм регуляции активности киназ Src - их ковалентное связывание с убиквитином через адапторный белок Cbl. Связывание с убиквитином «направляет» белки на деградацию в протеосомах.

- **Другие киназы.** Киназы ZAP-70 (в Т-лимфоцитах) и Syk (в В-лимфоцитах), связываясь с фосфорилированными ITAM-последовательностями, активируются и начинают фосфорилировать адапторные белки: LAT (*Linker for Activation of T cells*) (киназой ZAP-70), SLP-76 (киназой Syk) и SLP-65 (киназой Syk).
- **Фосфолипаза Cy** (см. рис. 4-3). Киназы семейства Tec (Btk в В-лимфоцитах, Itk - в Т-лимфоцитах) связывают адапторные белки и активируют фосфолипазу Cy (PLCy).
 - ◊ PLCy расщепляет фосфатидилинозитдифосфат (PIP2) клеточной мембраны на фосфатидилинозиттрифосфат (PIP3) и диацилглицерин (DAG).
 - ◊ DAG остаётся в мембране и активирует протеинкиназу C (PKC) - серин/треониновую киназу, которая активирует эволюционно «древний» фактор транскрипции NF-κB.
 - ◊ PIP3 связывается со своим рецептором в эндоплазматическом ретикулуме и высвобождает ионы кальция из депо в цитозоль.
 - ◊ Свободный кальций активирует кальцийсвязывающие белки - кальмодулин, регулирующий активность ряда других белков, и кальциневрин, дефосфорилирующий и тем самым активирующий ядерный фактор активированных Т-лимфоцитов NFAT (*Nuclear Factor of Activated T cells*).
- **Ras и другие малые G-белки** в неактивном состоянии связаны с ГДФ, но адапторные белки заменяют последний на ГТФ, чем переводят Ras в активное состояние.
 - ◊ Ras обладает собственной ГТФазной активностью и быстро отщепляет третий фосфат, чем возвращает себя в неактивное состояние (самоинактивируется).
 - ◊ В состоянии кратковременной активации Ras успевает активировать очередной каскад киназ, называемых MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), которые в итоге активируют фактор транскрипции AP-1 в ядре клетки.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-ЛИМФОЦИТОВ

Процессы дифференцировки, происходящие в тимусе, изучены достаточно подробно.

- Тимоциты дифференцируются из общей клетки-предшественника, которая ещё вне тимуса экспрессирует такие мембранные маркёры, как CD7, CD2, CD34 и цитоплазматическую форму CD3.
- Коммутированные к дифференцировке в Т-лимфоциты клетки-предшественники мигрируют из костного мозга в субкапсулярную зону коры тимуса, где примерно в течение 1 нед медленно пролиферируют. На тимоцитах появляются новые мембранные молекулы CD44 и CD25.
- Затем клетки перемещаются вглубь коры тимуса, молекулы CD44 и CD25 исчезают с их мембраны. В этой стадии начинается перестройка генов α -, γ - и δ -цепей TCR. Если гены γ - и δ -цепей успевают продуктивно (т.е. без сдвига рамки

считывания) перестроиться раньше, чем гены β -цепи, то лимфоцит дифференцируется далее как $\gamma\delta$ T. В противном случае происходит экспрессия β -цепи на мембране в комплексе с β T α (инвариантной суррогатной цепью, заменяющей на этом этапе настоящую α -цепь) и CD3. Это служит сигналом к прекращению перестройки генов γ - и δ -цепей. Клетки начинают пролиферировать и экспрессировать одновременно CD4 и CD8 (**дважды позитивные** тимоциты). При этом накапливается масса клеток с уже готовой β -цепью, но с ещё не перестроенными генами α -цепи, что вносит свой вклад в разнообразие ар-гетеродимеров.

- На следующем этапе клетки перестают делиться и начинают перестраивать V α -гены, причём несколько раз в течение 3-4 сут. Перестройка генов α -цепи приводит к необратимой делеции 5-локуса, расположенного между сегментами генов α -цепи.

- Происходит экспрессия TCR с каждым новым вариантом α -цепи и отбор (селекция) тимоцитов по силе связывания с комплексом МНС-пептид на мембранах эпителиальных клеток тимуса.

- ◊ **Позитивная селекция:** погибают тимоциты, не связавшие ни одного из доступных комплексов МНС-пептид. В результате позитивной селекции в тимусе погибает около 90% тимоцитов.

- ◊ **Негативная селекция** уничтожает клоны тимоцитов, связывающих комплексы МНС-пептид со **слишком высокой аффинностью**. Негативная селекция элиминирует от 10 до 70% клеток, прошедших позитивную селекцию.

- ◊ Тимоциты, связавшие какой-либо из комплексов МНС- пептид с правильной (т.е. средней по силе) аффинностью, получают сигнал к выживанию и продолжают дифференцировку.

- На короткое время с мембраны тимоцитов исчезают обе корцепторные молекулы, а затем экспрессируется одна из них: тимоциты, распознавшие пептид в комплексе с МНС-I, экспрессируют корцептор CD8, а с МНС-II - корцептор CD4. Соответственно на периферию выходят (в соотношении около 2:1) Т-лимфоциты двух типов: CD8⁺ и CD4⁺, функции которых в предстоящих иммунных ответах различны.

- ◊ **CD8⁺ Т-клетки** играют роль **цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ)** - они распознают и непосредственно убивают клетки, модифицированные вирусом, опухолевые и другие «изменённые» клетки (рис. 34).

- ◊ **CD4⁺ Т-клетки.** Функциональная специализация CD4⁺ Т-лимфоцитов более разнообразна. Значительная часть CD4⁺ Т-лимфоцитов в процессе развития иммунного ответа становится Т-хелперами (помощниками), взаимодействующими с В-лимфоцитами, Т-лимфоцитами и другими клетками при прямом контакте или через растворимые факторы (цитокины). В определённых случаях из них могут

развиться CD4⁺ ЦТЛ (в частности, такие Т-лимфоциты обнаружены в значительных количествах в коже больных с синдромом Лайелла).

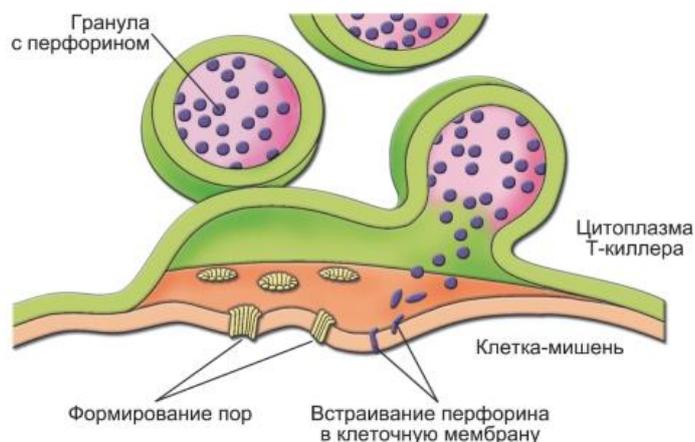


Рис. 34. Механизм воздействия цитотоксического Т-лимфоцита на клетку-мишень. В киллере гранулы с перфорином в ответ на увеличение концентрации Ca²⁺ сливаются с клеточной мембраной. Освободившийся перфорин встраивается в мембрану клетки-мишени с последующим образованием пор, пронизываемых для гранзимов, воды и ионов. В результате клетка-мишень лизируется

Субпопуляции Т-хелперов

С конца 80-х гг. XX в. было принято выделять 2 субпопуляции Т-хелперов (в зависимости от того, какой набор цитокинов они продуцируют) - Th1 и Th2. В последние годы спектр субпопуляций CD4 Т-клеток продолжает расширяться. Так, обнаружены субпопуляции Th17, Т-регуляторы, Tr1, Th3, Tfh и др.

Основные субпопуляции CD4 Т-клеток.

- **Th0** - CD4⁺ Т-лимфоциты на ранних стадиях развития иммунного ответа, они продуцируют только ИЛ-2 (митоген для всех лимфоцитов).
- **Th1** - дифференцированная субпопуляция CD4⁺ Т-лимфоцитов, специализирующаяся на продукции ИФН γ , ФНО β и ИЛ-2. Эта субпопуляция осуществляет регуляцию многих реакций клеточного иммунитета, включая гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) и активацию ЦТЛ. Кроме того, Th1 стимулируют продукцию В-лимфоцитами опсонизирующих антител класса IgG, запускающих каскад активации комплемента. Развитие избыточного воспаления с последующим повреждением тканей напрямую связано с активностью Th1 субпопуляции.
- **Th2** - дифференцированная субпопуляция CD4⁺ Т-лимфоцитов, специализирующаяся на продукции ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-13. Эта субпопуляция участвует в активации В-лимфоцитов и способствует секреции ими больших количеств антител разных классов, особенно IgE. Кроме того, Th2 субпопуляция участвует в активации эозинофилов и развитии аллергических реакций.
- **Th17** - субпопуляция CD4⁺ Т-лимфоцитов, специализирующаяся на продукции ИЛ-17. Эти клетки играют ключевую роль при аутоиммунных заболеваниях.
- **Т-регуляторы** - CD4⁺ Т-лимфоциты, подавляющие активность других клеток иммунной системы посредством секреции иммуносупрессорных цитокинов - ИЛ-10

(ингибитора активности макрофагов и Th1) и ТФРβ - ингибитора пролиферации лимфоцитов. Ингибиторный эффект может также достигаться при непосредственном межклеточном взаимодействии, поскольку на мембране некоторых Т-регуляторов экспрессированы индукторы апоптоза активированных и «отработавших» лимфоцитов - FasL (Fas-лиганд). Существует несколько популяций CD4⁺ регуляторных Т-лимфоцитов: **естественные** (Treg), созревающие в тимусе (CD4⁺ CD25⁺, экспрессируют фактор транскрипции Foxp3), и **индуцированные** - CD4⁺ Т-лимфоциты, локализованные преимущественно в слизистых оболочках пищеварительного тракта и переключившиеся на продукцию ТФРβ (**Th3**) или ИЛ-10 (Tr1). Нормальное функционирование Т-регуляторов необходимо для поддержания гомеостаза иммунной системы и предотвращения аутоиммунных заболеваний.

• **Дополнительные хелперные популяции.** В последнее время появляется описание всё новых популяций CD4⁺ Т-лимфоцитов, классифицированных по типу преимущественно продуцируемого ими цитокина. Так, как оказалось, одной из важнейших популяций являются Tfh (от англ. *follicular helper* - фолликулярный хелпер). Эта популяция CD4⁺ Т-лимфоцитов преимущественно расположена в лимфоидных фолликулах и осуществляет хелперную функцию для В-лимфоцитов посредством продукции ИЛ-21, вызывая их созревание и терминальную дифференцировку в плазматические клетки. Кроме ИЛ-21, Tfh могут также продуцировать ИЛ-6 и ИЛ-10, необходимые для дифференцировки В-лимфоцитов. Нарушение функций этой популяции приводит к развитию аутоиммунных заболеваний или иммунодефицитов. Другой «новоявленной» популяцией являются Th9 - продуценты ИЛ-9. По-видимому, это Th2, переключившиеся на секрецию ИЛ-9, который способен вызывать пролиферацию Т-хелперных клеток при отсутствии антигенной стимуляции, а также усиливать секрецию В-лимфоцитами IgM, IgG и IgE. Основные субпопуляции Т-хелперов представлены на рис. 35.

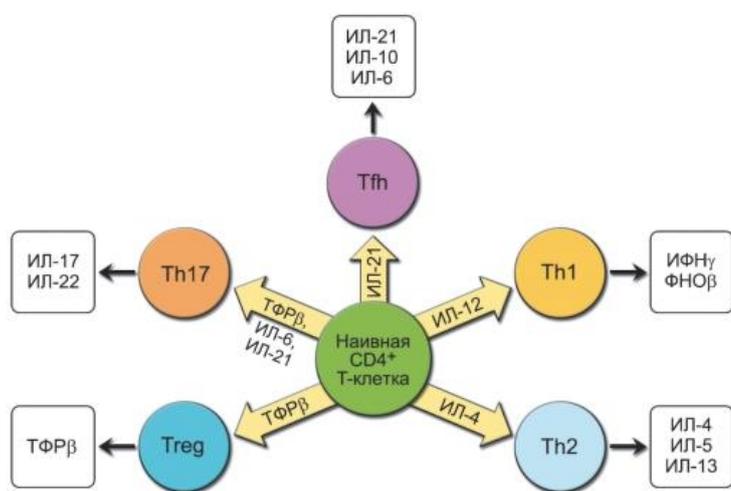


Рис. 35. Основные субпопуляции хелперных Т-лимфоцитов. Дифференцировка наивных Т-лимфоцитов в специализированные популяции происходит при их активации в результате контакта с антигенпрезентирующими клетками и под действием секретируемых ими цитокинов. Направление дифференцировки также зависит от типа антигена, запускающего иммунный ответ. Так, вирусные антигены усиливают продукцию ИФНу, приводящего к

преимущественному накоплению Th1 лимфоцитов. В свою очередь, бактериальные токсины и гельминты стимулируют образование Th2 лимфоцитов. При отсутствии ассоциации антигенов с

инфекционными агентами дендритные клетки могут направлять дифференцировку Т-хелперов в Treg

γδТ-лимфоциты

Подавляющее большинство (99%) Т-лимфоцитов, проходящих лимфопоэз в тимусе, составляют αβТ-клетки; менее 1% - γδТ-клетки. Последние в большинстве дифференцируются вне тимуса, в первую очередь в слизистых оболочках пищеварительного тракта. В коже, лёгких, пищеварительном и репродуктивном трактах они являются доминирующей субпопуляцией внутриэпителиальных лимфоцитов. Среди всех Т-лимфоцитов организма γδТ-клетки составляют от 10 до 50%. В эмбриогенезе γδТ-клетки появляются раньше, чем αβТ-лимфоциты.

- **γδТ-клетки не экспрессируют CD4.** Молекула CD8 экспрессирована на части γδТ-клеток, но не в виде αβ-гетеродимера, как на Tαβ CD8⁺ клетках, а в виде гомодимера из двух α-цепей.

- **Антигенраспознающие свойства:** γδTCR в большей степени напоминают иммуноглобулины, чем αβTCR, т.е. способны связывать нативные антигены независимо от классических молекул МНС - для γδТ-клеток не обязателен или вовсе не нужен предварительный процессинг антигена АПК.

- **Разнообразие γδTCR** меньше, чем αβTCR или иммуноглобулинов, хотя в целом αβТ-клетки способны распознавать широкий спектр антигенов (в основном это фосфолипидные антигены микобактерий, углеводы, белки теплового шока).

- **Функции γδТ-клеток** ещё до конца не изучены, хотя становится преобладающим мнение, что они служат одним из связующих компонентов между врождённым и приобретённым иммунитетом. γδТ-клетки - один из первых барьеров на пути патогенов. Кроме того, эти клетки, секретировав цитокины, играют важную иммунорегуляторную роль и способны дифференцироваться в ЦТЛ.

Тимуснезависимые антигены. Некоторые антигены способны вызывать иммунный ответ с участием В-лимфоцитов, но без помощи Т-лимфоцитов. Этот тип иммунного ответа характеризуется рядом особенностей: вырабатываются антитела только IgM изотипа (обычно переключения изотипов нет, однако у мыши выявляют IgG3, специфичные к таким антигенам), иммунологической памяти обычно нет, а также не происходит «созревания» аффинности. Но у подобного ответа есть и преимущество: он развивается уже в первые двое суток после проникновения антигена и начинает защищать организм в ранние сроки инфекции, пока тимусзависимый ответ ещё не сформировался.

Антигены такого типа называют тимуснезависимыми и подразделяют на 2 класса.

- ◇ **Тимуснезависимые антигены 1-го класса (ТН-1)** в достаточно высоких концентрациях способны индуцировать поликлональную активацию В-лимфоцитов

и продукцию **поликлональных иммуноглобулинов**. Эти вещества ещё называют В-клеточными митогенами. Бактериальный ЛПС - классический пример ТН-1.

◇ **Тимуснезависимые антигены 2-го класса (ТН-2)** представлены достаточно длинными молекулами с повторяющимися структурами (полисахариды бактериальных стенок, фиколл). Эти антигены мультивалентны и могут вызывать перекрёстную сшивку иммуноглобулиновых рецепторов. ТН-2 (в отличие от ТН-1) способны активировать только зрелые В-лимфоциты (преимущественно В1-лимфоциты). В незрелых В-лимфоцитах повторяющиеся антигенные эпитопы индуцируют анергию или апоптоз.

Самостоятельная работа студентов.

I. Ответьте на вопросы:

1. Как и где происходит антигеннезависимая дифференцировка Т-лимфоцитов?
2. Как и где происходит антигензависимая дифференцировка Т-лимфоцитов?
3. Какова основная функция: Т-хелперов I типа, Т-хелперов 2 типа, Т-киллеров
4. Какие лимфоциты называют «нулевые клетки»?
5. Назовите основные рецепторы Т-лимфоцитов.
6. Назовите основные дифференцировочные антигены (CD антигены) на поверхности: Т-цитотоксических, Т-хелперов.
7. Укажите методы выявления Т-лимфоцитов.
8. К каким органам и тканям не развивается естественной иммунологической толерантности?
9. Напишите все синонимы Тк.
10. Какова роль естественных киллеров?
11. Какие маркеры ЕК Вы знаете?.
12. Вспомните, какова миграция и рециркуляция лимфоцитов?
13. Что такое ТсR? Где он имеется?
14. Что такое апоптоз? В каких физиологических и патологических процессах он играет большую роль?
15. Какой иммунный ответ индуцируют Th1?
16. Какой иммунный ответ индуцируют Th2 ?
17. Маркером каких лимфоцитов является CD8?
18. Маркером каких клеток являются CD16?
19. В крови у обследуемого пациента большое количество CD 19+ клеток (70-80%). О чем это может свидетельствовать?
20. Какие клетки могут осуществлять АЗКЦ?
21. Что такое положительная и отрицательная селекция Т-лимфоцитов?

II. Нарисуйте схемы:

- дифференцировки Т – клеток
- дифференцировки В – клеток
- строения TCR, BCR рецепторов

III. Заполните таблицу «Сравнительная характеристика антигенраспознающих рецепторов Т- и В-лимфоцитов»

Свойства рецепторов	TCR	BCR
подвижность по поверхности клетки		
распознавание антигена		
способность к эндоцитозу (транспорт антигена внутрь клетки)		
секреция в окружающую среду		

Занятие №9 по теме:

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ. МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ В-ЛИМФОЦИТОВ. КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ. ПЕРФОРИН-ГРАНЗИМОВЫЙ МЕХАНИЗМ. АНТИТЕЛОЗАВИСИМАЯ КЛЕТОЧНАЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ИММУННОГО ОТВЕТА. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ.

I. Научно-методическое обоснование темы.

Важно знать строение и функцию основных классов иммуноглобулинов и их роль в иммунологических реакциях. Это связано с тем, что физико-химические свойства и структура иммуноглобулинов обуславливает их биологические особенности. Иммуноглобулины обеспечивают гуморальный иммунный ответ, но, кроме того, фиксированные на поверхности мембран макрофагов и лимфоцитов, они функционируют в качестве антигенных рецепторов, т.е. участвуют и в клеточном иммунном ответе. Врач должен знать основные методы оценки гуморального иммунитета.

II. Цель деятельности студентов.

Общая цель: изучение темы направлено на формирование компетенций по ФГОС-03 по специальности педиатрия (ОК1, ПК16, ПП19, ПК31, ПК32): формировать способность и готовность использовать на практике методы гуманитарных, естественнонаучных, медико-биологических и клинических наук в различных видах профессиональной и социальной деятельности, формировать умение работать с научной литературой, анализировать информацию, вести поиск, выделять основные положения, делать выводы, развивать личностные качества. Активно использовать современные достижения науки, особенно подчеркивая роль отечественных ученых в разработке данной темы.

Студент должен знать:

- Гуморальный иммунитет и роль его в иммунологических реакциях.
- Основные этапы дифференцировки В-лимфоцитов, а также рецепторы и антигены на их поверхности.
- Структуру и характеристику различных классов иммуноглобулинов.
- Роль иммуноглобулинов в иммунологических реакциях.
- Методы оценки В-системы иммунитета.

Студент должен уметь:

- Применить полученные знания для оценки гуморального иммунитета.

III. Содержание обучения:

1. Гуморальный иммунный ответ на тимусзависимые и тимуснезависимые антигены. Динамика продукции антител при первичном и вторичном иммунном ответе.
2. Иммунный ответ клеточного типа.
3. Механизмы взаимодействия клеток в иммунном ответе. Иммунологическая память.
4. Регуляция иммунного ответа (антитела, регуляторные Т-лимфоциты).

IV. Учебно-материальное обеспечение.

1. Наглядные пособия: таблицы, схемы, мультимедийные презентации, видеофильмы, аудиограммы.
2. Учебная медицинская документация (истории болезни, лабораторные исследования, иммунограммы).
3. Технические средства обучения.
4. Литература.

V. Список рекомендуемой литературы.

Основная литература:

1. Хаитов, Р.М. Иммунология: учеб. Для студентов мед. ВУЗов. Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2006, 2009, 2011.-311 с.: ил. Гриф УМО. CD-ROM прилагается. Глава 3. Доиммунные механизмы резистентности. С.35-52.
2. Хаитов, Р.М. Иммунология. Норма и патология : учеб. Для студентов мед. ВУЗов и ун-тов/ Р.М.Хаитов, Г.А. Игнатъева, И.Г.Сидорович.-3-е изд., перераб. И доп.- М. : Медицина, 2010. – 750 с. : ил. – (Учеб. Лит. Для студентов мед. Вузов и ун-тов).Глава 4. Врожденный иммунитет С.293-400.

Дополнительная литература:

1. Электронная библиотека медицинского вуза «Консультант студента» www.studmedlib.ru:
2. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 640 с. : ил.
3. Иммунология : практикум : учеб. пособие / [Ковальчук Л. В. и др.]; под ред. Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатъевой, Л. В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 176 с. : ил.
4. Иммунология: учебник / А. А. Ярилин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.
5. Лекции по иммунологии.
6. Методические указания для внеаудиторной работы студентов 5 курса педиатрического факультета по дисциплине "Клиническая иммунология".

VI. БАЗИСНЫЕ РАЗДЕЛЫ ДЛЯ ПОВТОРЕНИЯ: к практическому занятию

студент должен повторить:

- Биология: учебник: в 2 т. / под ред. В.Н. Ярыгина. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2011. – Т. 1. – 710 с.: ил. Радел III, глава 5.2.2.3. Цитогенетический метод генетического анализа человека. с. 379-390; 5.2.2.5. Биохимический подход в генетическом анализе человека. с. 392; 5.2.2.6. Иммунохимический подход в генетическом анализе человека. с. 392.
- Гистология, эмбриология, цитология: учебник / под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – 6-е изд., перераб.и доп. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2012. – 800 с.: ил. Глава 2. Методы исследования в гистологии, цитологии и эмбриологии. с. 20-36. Глава 7. Кровь и лимфа. Кроветворения. с. 159-179. Глава 14. Система кроветворения и иммунной защиты. с. 450-451. Глава 16. Пищеварительная система. с. 527-529 (Лимфоэпителиальное глоточное кольцо Пирогова. Миндалины.). Глава 18. Кожа и ее производные. с. 637-645.

- Сапин М.Р., Билич Г.Л. Анатомия человека: учебник: в 3 т. – изд. 3-е испр., доп. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2009. – Т. 2. – 496 с.: ил. Органы кроветворения и иммунной системы, с. 267-276.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Дайте понятие гуморального иммунитета.
2. Какова его роль в иммунологических реакциях?
3. Каковы основные этапы дифференцировки В-лимфоцитов?
4. Как взаимодействуют В-лимфоциты с тимусзависимыми и тимуснезависимыми антигенами?
5. Какие рецепторы имеются на поверхности В-лимфоцитов?
6. Дайте характеристику различных классов Ig. Какова их структура?
7. Строение и функции Fab и Fc-фрагментов.
8. Роль основных классов Ig в иммунологических реакциях.
9. Какие есть методы исследования В-системы иммунитета? (Реакция Манчини).

БЛОК ИНФОРМАЦИИ

Эффекторные механизмы иммунитета направлены на связывание и элиминацию патогенов.

Существует 2 типа антигенсвязывающих рецепторов. В связи с этим выделяют 2 типа эффекторных механизмов.

- **Антителозависимый, или гуморальный иммунитет.** Осуществляется за счёт гуморальных (растворимых) факторов - антител, связывающих антиген и удаляющих его с использованием ряда механизмов: преципитации, агглютинации, нейтрализации, лизиса, блокады и опсонизации.

- **Опосредованный клетками (антителонезависимый), или клеточный иммунитет.** Клеточный иммунитет реализуется за счёт клеток иммунной системы, в первую очередь Т-лимфоцитов, а также активированных макрофагов и НК-клеток, непосредственно разрушающих генетически чужеродные клетки или инфицированные вирусами и другими внутриклеточными патогенами, и опухолевые клетки.

АНТИТЕЛОЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ

Опсонизация и запуск системы комплемента

Само по себе связывание антител с антигеном является защитным, по крайней мере, в двух случаях:

- если антиген - сильный яд, антитело при связывании нейтрализует его токсичность;
- если антиген представлен на поверхности патогена (вирус, прион, бактерия), антитело, связав его, препятствует распространению патогена в организме.

Однако в этих случаях защитная реакция не заканчивается на образовании макромолекулярных комплексов антиген-антитело. Эти комплексы необходимо расщепить до мелких метаболитов. Это происходит при связывании образовавшихся иммунных комплексов с компонентами комплемента. Способность связывать комплемент у иммуноглобулинов разных классов различается ($IgM > IgG3 > IgG1$). Комплексы антиген-антитело-компоненты комплемента транспортируются эритроцитами, имеющими рецепторы для компонентов комплемента, в синусоиды селезёнки и печени, где их фагоцитируют и расщепят макрофаги.

Fc-рецепторы

Fc-рецепторы (FcR) - семейство мембранных рецепторов клеток иммунной системы, главной функцией которой является распознавание и связывание Fc-фрагмента иммуноглобулинов, находящихся в свободном состоянии и в составе иммунного комплекса. FcR, наряду с TCR и BCR, можно отнести к иммунорецепторам, поскольку клетка-носитель FcR способна связать антиген (пусть и посредством антител) и отвечать на него. FcR выявлены не только на лимфоцитах, но и на всех известных лейкоцитах.

Типы и разновидности FcR. По изотипу связываемых тяжёлых цепей иммуноглобулинов выделяют 4 разновидности FcR: γ , ϵ , α , μ ; а по аффинности связывания с лигандом - 3 типа FcR: I, II и III. FcR типа I способны связывать свободные молекулы антител (это особенно характерно для IgE), FcR типов II и III - только комплексы антиген-антитело.

Fc γ -рецепторы (Fc γ R) различаются по строению и родству к Fc-части IgG, а также специфичности к различным подклассам IgG (рис.1). Fc γ RI содержит в своём составе 2 полипептидные цепи, из которых α -цепь отвечает за связывание IgG, а γ -цепь - за передачу сигнала (эту функцию осуществляет внутриклеточный γ -домен). Рецепторы типа Fc γ RII образованы единственной цепью. В зависимости от структуры их внутриклеточной части различают две разновидности этих рецепторов - Fc γ RIIA и Fc γ RIIB.

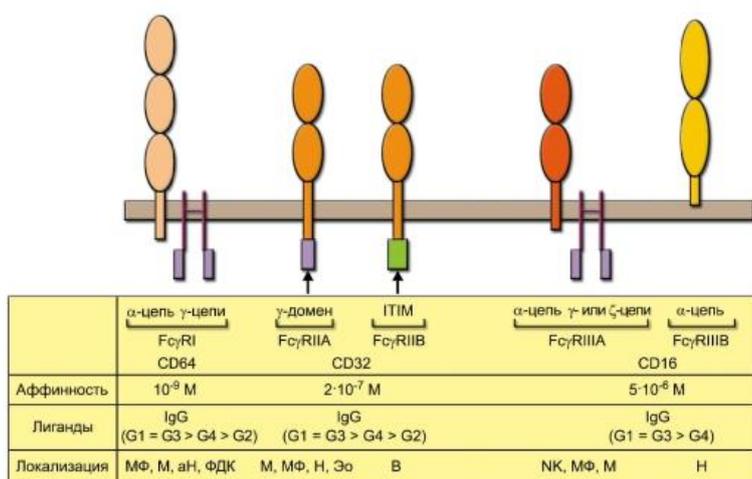


Рис. 1. Строение и свойства основных разновидностей Fc γ -рецепторов. Овальными символами обозначены домены, принадлежащие к суперсемейству иммуноглобулинов; ITIM - ингибирующая последовательность иммунорецепторов, содержащая тирозин. В нижней части рисунка в строке «Лиганды» в скобках представлены подклассы IgG, расположенные по убыванию их родства к данному типу Fc γ R. Клетки,

на которых локализуются Fcγ-рецепторы: Н - нейтрофил, аН - активированный нейтрофил, М - моноцит, МФ - макрофаг, Эо - эозинофил, NK - NK-клетка, В - В-лимфоцит, ФДК - фолликулярная дендритная клетка

В первом случае во внутриклеточной части содержится γ-домен, во второй - последовательность ITIM (*Immunoreceptor-Tyrosin-based Inhibitory Motif* - тирозинсодержащие ингибирующие последовательности аминокислот в иммунорецепторах). Эти особенности определяют функцию рецепторов: FcγRIIA передаёт стимулирующий, а FcγRIIB - ингибирующий сигнал. FcγRIII тоже существует в двух вариантах. Вариант FcγRIIIA, подобно FcγRI, содержит IgG-связывающую α- и сигнальную γ- (или ζ-) цепи. FcγRIIIB не обладает сигнальной функцией: его единственная α-цепь закорена в фосфолипидный слой мембраны и лишена цитоплазматической части.

Внеклеточные домены α-цепей рецепторов и единственных цепей FcγRII относятся к суперсемейству иммуноглобулинов.

Известны две разновидности Fcε-рецепторов, отличающиеся по структуре, сродству к Fc-части IgE и по биологической роли (рис. 8-2). FcεI-рецептор построен аналогично FcγRIIIA, но имеет дополнительную β-цепь, четырёхкратно пронизывающую мембрану. Этому рецептору принадлежит основная роль в запуске дегрануляции тучных клеток (ТК) - ключевого события в развитии реакций гиперчувствительности немедленного типа. FcεII-рецептор структурно не имеет сродства к FcεI-рецептору. Он играет роль в регуляции синтеза IgE, а также в регуляции роста и дифференцировки В-лимфоцитов. FcεII-рецептор также существует в виде секретируемой формы, играя роль цитокина с широким спектром действия.

Fcα-рецептор структурно сходен с рецепторами FcγRIIIA и FcεIR, его α-цепь принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов (рис.2). Функция этого рецептора практически не изучена.

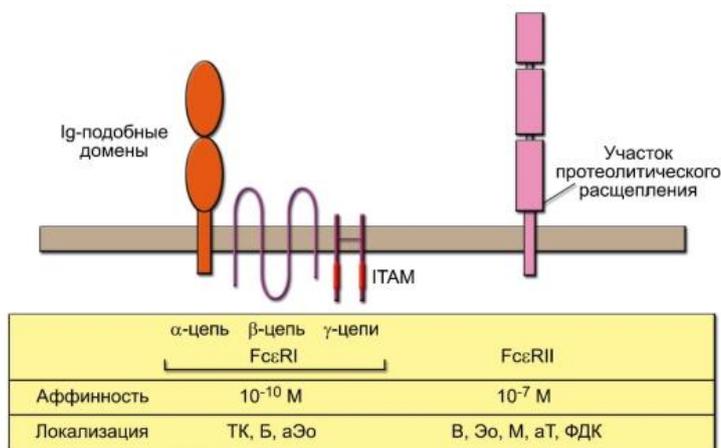


Рис. 2. Строение и свойства Fcε-рецепторов. Овальными символами обозначены домены, принадлежащие к суперсемейству иммуноглобулинов; ITAM - активационная последовательность иммунорецепторов, содержащая тирозин. Клетки, на которых локализуются Fcε-рецепторы: ТК - тучная клетка; Б - базофил, М - моноцит, Эо - эозинофил, В и Т - В- и Т-лимфоциты соответственно, ФДК - фолликулярная дендритная клетка. Буква «а» обозначает активированные клетки

Рецептор Poly-IgR предназначен для транспорта полимерных иммуноглобулинов (IgA, IgM) через стенку слизистых оболочек. Его фрагмент, связанный с этими молекулами, обозначают как секреторный компонент (SC).

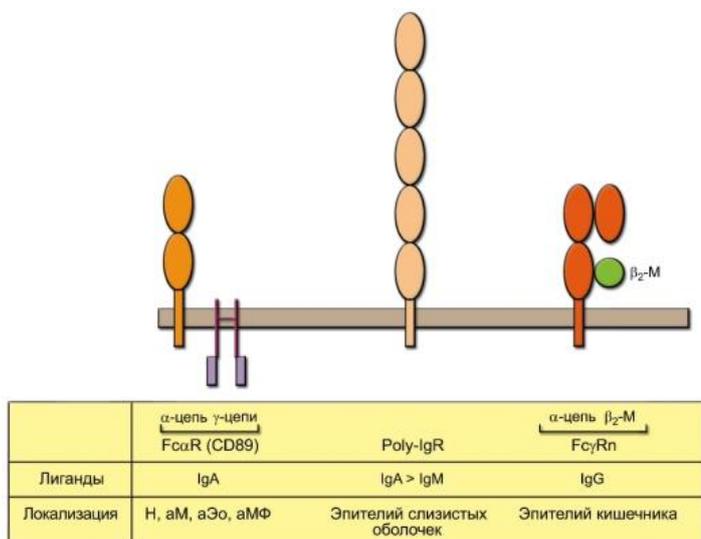


Рис. 3. Fc α -рецептор и Fc-рецепторы, ответственные за транспорт иммуноглобулинов. Клетки, на которых локализуются Fc γ -рецепторы: Н - нейтрофил, М - моноцит, МФ - макрофаг, Эо - эозинофил. Буква «а» обозначает активированные клетки нековалентно связанный с α -цепью. Кроме того, Fc γ Rn повышает срок жизни IgG в организме, защищая его от деградации в эндосомах.

Неонатальный рецептор Fc γ Rn (n - *neonatal*) отвечает за транспорт IgG,

поступающего в кишечник ребёнка с молозивом или молоком, а затем - через кишечную стенку в кровотоки ребёнка. Он также отвечает за трансплацентарный транспорт IgG. По структуре он аналогичен молекулам МНС-I (см. рис.3) и содержит в своем составе β_2 -микроглобулин,

На рис.4 схематично представлены основные пути передачи сигналов с FcR. При перекрестном связывании FcR с лигандом (например, опсонизированным микроорганизмом) ITAM-мотив γ -цепи или α -цепи Fc γ RIIA фосфорилируется Src-киназами. Это приводит к взаимодействию SH2-доменов Syk-киназы с ITAM-мотивом FcR, его активации и фосфорилированию Src-киназами. Активированная Syk-киназа фосфорилирует адапторный белок SLP-76, вовлекая в сигнальный процесс белок Vav из семейства GEF (*Guanine nucleotide Exchange Factor*).

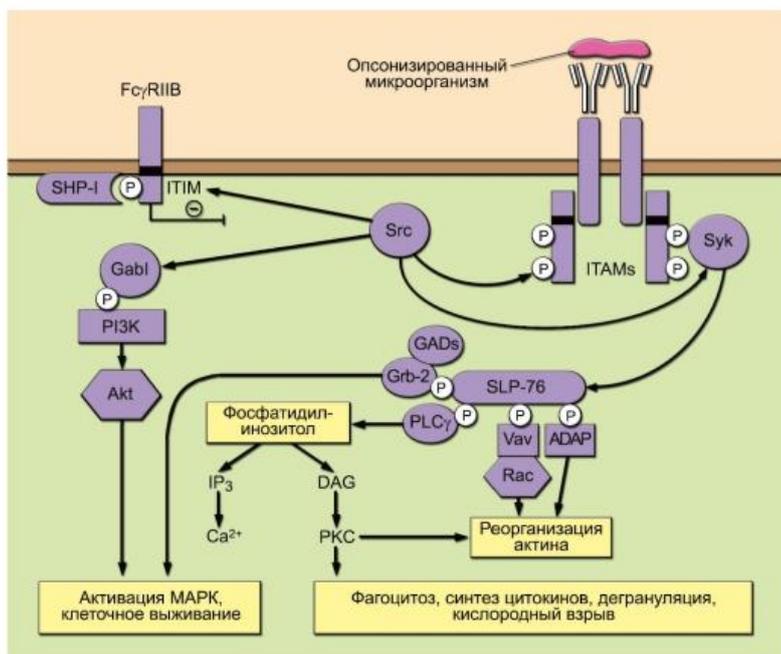


Рис.4. Сигнальные пути, идущие от Fc-рецептора.

Он активирует ГТФазу Rac и адапторный белок ADAP, что вызывает реорганизацию актина, необходимую для образования фагоцитарной чаши и поглощения микроорганизма. С

помощью адаптора SLP-76 фосфорилируется фосфолипаза C (PLC γ), расщепляющая фосфатидилинозитол на инозитолтрифосфат (IP $_3$; активатор Ca $^{2+}$) и диацилглицерол (DAG) - активатор протеинкиназы C (PKC).

Эти события определяют развитие процессов поглощения антигена, дегрануляции и кислородного взрыва. Src-киназы через адапторный белок Gab1 фосфорилируют фосфоинозитид-3-киназу (PI3K), активируя белок Akt, киназу MAP и поддерживают выживание клеток - ингибирование апоптоза. Srcкиназы также могут инициировать ингибиторный путь. В покоящейся клетке фосфатазы SHP-1 или SHIP-1 ассоциированы с ITIM-мотивом. Фосфорилирование ITIM-мотива приводит к активации фосфатаз. Последние дефосфорилируют активированные ферменты и адапторные белки и прерывают развитие сигнального пути.

Антителозависимая клеточная цитотоксичность

Феномен Антителозависимой Клеточной Цитотоксичности (АЗКЦТ) проявляется, когда антитело связывает антиген на поверхности какой-либо клетки-мишени и через Fc-фрагмент привлекает для ее разрушения эффекторные клетки (NK-клетки, макрофаги, эозинофилы и др.).

• **Естественные киллеры.** NK-клетки имеют рецептор (Fc γ RIII) для Fc-фрагментов IgG. Механизм собственно киллерного действия NK-лимфоцитов на клетку-мишень такой же, как и киллерный механизм ЦТЛ - перфорин-гранзимовый.

Таблица 8-1. Биологически активные продукты эозинофилов

Класс	Вещество	Биологические эффекты
Ферменты	Пероксидаза эозинофилов	Индукцирует выброс гистамина из тучных клеток; токсичные свойства реализуются через катализ галогенизации субстратов
	Коллагеназа эозинофилов	Участвует в перестройке («ремоделировании») межклеточного вещества соединительной ткани
Токсичные белки	Главный щелочной белок (МВР)	Токсичен для гельминтов и собственных клеток; индуцирует выброс гистамина из тучных клеток
	Катионный белок эозинофилов (ЕСР)	Токсичен для гельминтов и нейронов
	Нейротоксин эозинофилов	Токсичен для нейронов

Класс	Вещество	Биологические эффекты
Цитокины	ИЛ-3, ИЛ-5, GM-CSF	Стимулируют эозинофилопоз в костном мозге; активируют эозинофилы на периферии
Хемокины	ИЛ-8	Обеспечивает миграцию лейкоцитов в очаг воспаления
Липидные медиаторы	Лейкотриены C ₄ и D ₄	Вызывают сокращение гладких мышц; повышают проницаемость сосудов, усиливают секрецию слизи
	Фактор активации тромбоцитов (ФАТ)	Усиливает продукцию липидных медиаторов; активирует нейтрофилы, эозинофилы и тромбоциты; выступает в роли хемотрактанта для лейкоцитов

- **Эозинофилы.** Механизм санации от гельминтов - вариант антителозависимой клеточной цитотоксичности, где в качестве эффекторных клеток выступают эозинофилы, имеющие низкоаффинные рецепторы для IgE - FcεRII и для IgA - FcαRII. Связывание этих рецепторов с лигандами в сочетании с сигналом от цитокина ИЛ-5 стимулирует синтез и секрецию эозинофилом высокотоксичных белков, направленных на уничтожение гельминтов. Другими словами, активированный эозинофил секретирует ряд биологически активных веществ, действие которых объясняют симптоматику так называемых эозинофильных воспалительных процессов (табл. 8-1).

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА

Сосудистые и миоконстрикторные реакции, опосредованные медиаторами тучных клеток и базофилов, приводят к развитию гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ). Цитокины тучных клеток и базофилов поддерживают иммунный сдвиг в дифференцировке субпопуляций CD4⁺ Т-лимфоцитов в сторону Th2 (ИЛ-4, ИЛ-13), а также поддерживают дифференцировку и активацию эозинофилов (ИЛ-5, ИЛ-3, GM-CSF). В случае патологии именно эти клетки (Th2, тучные клетки, базофилы, эозинофилы) и IgE составляют самоподдерживающийся ансамбль, ответственный за реакции ГНТ. Мишени для цитокинов - клетки гладкой мускулатуры и эндотелия (следовательно, сосуды, бронхи, органы пищеварения). Системная реакция ГНТ - анафилактический шок.

Базофильные лейкоциты и тучные клетки. В этих реакциях антитела вовлекают в ответ базофилы и тучные клетки. Существенные функциональные признаки этих клеток схожи: наличие на мембране высокоаффинного рецептора для IgE (FcεRI) и одинаковый набор биологически активных медиаторов.

- **Тучные клетки** локализованы в соединительной ткани собственного слоя слизистых оболочек (*lamina propria mucosae*), в подкожной соединительной ткани и

соединительной ткани, расположенной по ходу всех кровеносных сосудов. Выделяют, по крайней мере, 2 тканевые разновидности тучных клеток.

- **Тучные клетки слизистых оболочек** из сериновых протеаз экспрессируют триптазу и химазу, секретируют минимум гистамина; из протеогликанов в них преобладает хондроитинсульфат; из метаболитов арахидоновой кислоты - лейкотриен C4 (LTC4). По-видимому, дифференцировка этих клеток зависит от Т-лимфоцитов, а именно от местной стимуляции клеток-предшественников цитокином ИЛ-3.

- **Тучные клетки соединительной ткани** локализованы в серозных оболочках полостей тела и в лёгких. Из сериновых протеаз экспрессируют преимущественно триптазу, из протеогликанов - гепарин, секретируют много гистамина, из метаболитов арахидоновой кислоты в них преобладает простагландин D2. Дифференцировку этих тучных клеток стимулируют фибробласты.

• **Базофилы** циркулируют в крови и мигрируют в ткани только в очаг воспаления (как нейтрофилы). На базофилах экспрессированы молекулы адгезии, важные для хоминга в очаг: LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18), CD44.

Активация. Сигналы, активирующие как тучные клетки, так и базофилы.

• **Гомотипная агрегация FcεRI.** Клетки активируются комплексом IgE с антигеном или антителами к рецептору. FcεRI способен связывать свободные IgE-антитела - до того, как они свяжут свой антиген. Клетки с комплексом IgE-FcεRI на мембране тучных клеток находятся в состоянии готовности в считанные секунды и минуты осуществить дегрануляцию в ответ на распознавание поступившего антигена (рис.5). Ход событий: антиген взаимодействует с Fabфрагментами IgE и активированная этим сигналом тучная клетка подвергается дегрануляции.

• **Анафилатоксины** - фрагменты компонентов системы комплемента, образующиеся при развитии каскада.

• **Медиаторы** из активированных нейтрофилов.

• **Нейромедиаторы** (норадреналин, вещество P).

Медиаторы тучных клеток и базофилов различны по биохимическим свойствам, по предназначению и по срокам выброса из активированной клетки. Медиаторы, депонируемые в гранулах, первыми выбрасываются из клетки в ответ на активирующий сигнал. Другие медиаторы синтезируются *de novo* и вступают в процесс позже.

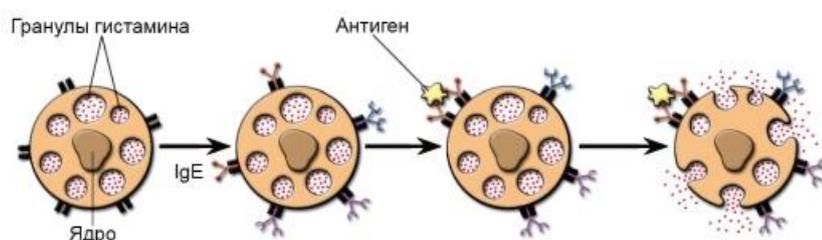


Рис.5. Дегрануляция тучных клеток

• **Гистамин.** На разных клетках есть разные

рецепторы для гистамина - H_1 , H_2 и H_3 . Гистамин проявляет вазоактивные эффекты: вызывает констрикцию эндотелиальных клеток, контакты между эндотелиоцитами становятся менее плотными, и сыворотка выходит из сосуда в ткани; стимулирует синтез в клетках эндотелия простаглицлина и радикала оксида азота (NO'), вызывающих расслабление гладких мышц сосудистой стенки и, следовательно, вазодилатацию.

- Если процесс происходит в коже, клинически он проявляется в виде волдырей и покраснения (крапивница). В случае аллергической патологии снять симптомы помогают лекарственные средства - блокаторы H_1 -рецепторов гистамина.

- При выделении достаточно большого количества гистамина он вызывает клинически значимые сокращения гладких мышц кишечника (перистальтику) и бронхов (бронхоспазм), однако этот эффект непродолжителен, поскольку гистамин быстро распадается во внеклеточной среде.

• **Липидные медиаторы.** При стимуляции тучных клеток в них активируются ферменты метаболизма липидов, а именно фосфолипаза А2. Этот фермент участвует в образовании биологически активных медиаторов, используя в качестве субстратов фосфолипиды клеточных мембран и липиды (в первую очередь арахидоновую кислоту).

- **Простаглицдин D_2** - действует как вазодилататор и бронхоконстриктор. В биосинтезе простаглицдина D_2 из арахидоновой кислоты участвует циклооксигеназа. Фармакологическим ингибитором этого фермента является ацетилсалициловая кислота.

- **Лейкотриены (LTC_4 , LTD_4 , LTE_4)** - альтернативные продукты метаболизма арахидоновой кислоты, образуемые под воздействием **5-липооксигеназы**. Комплекс лейкотриенов - медленно реагирующий компонент анафилаксии. Именно он в наибольшей мере ответственен за бронхоконстрикцию при бронхиальной астме. Это объясняет усугубление астматических приступов ацетилсалициловой кислотой: блокируя синтез простаглицдина D_2 , ацетилсалициловая кислота высвобождает метаболический шунт арахидоновой кислоты в пользу лейкотриенов.

- **Фактор активации тромбоцитов (ФАТ)** вызывает бронхоконстрикцию, а также релаксацию гладких мышц сосудов и ретракцию эндотелия. ФАТ продуцируют не только (а может быть, и не столько) тучные клетки, но и клетки эндотелия, стимулированные гистамином и лейкотриенами.

- **Ферменты** тучных клеток и базофилов [сериновые протеазы (триптаза и химаза), катепсин G, карбоксипептидаза] способствуют перестройке матрикса соединительной ткани.

- **Цитокины** тучных клеток и базофилов. К ним относят интерлейкины, GM-CSF и др.

ЭФФЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПОСРЕДОВАННЫЕ КЛЕТКАМИ

Антителонезависимые эффекторные механизмы иммунитета в первую очередь реализуют ЦТЛ. К ним относят $CD8^+$ $T\alpha\beta$ -лимфоциты и НКТ-клетки - лимфоциты, одновременно экспрессирующие рецепторы НК- и Т-клеток. Есть Т-киллеры и среди $T\gamma\delta$ -лимфоцитов.

Главное назначение ЦТЛ - санация организма от внутриклеточных патогенов, опухолевых и других изменённых клеток, реализуемая киллерной функцией ЦТЛ и цитокинами.

- **Киллерная функция.** ЦТЛ осуществляют киллерную функцию (см. рис. 1-5 и рис. 6-7) с помощью особых белков - цитотоксинов, к которым относят перфорин, гранзимы и недостаточно изученный цитолизин.

- **Синтез цитотоксинов** происходит *de novo* после вовлечения ЦТЛ в иммунный ответ и распознавания ими специфического антигена.

- **Накопление цитотоксинов.** В виде функционально неактивных молекул-предшественников цитотоксины накапливаются в гранулах, сконцентрированных в клетке вблизи TCR.

- **Дегрануляция ЦТЛ** происходит в области межклеточного контакта, образующегося при связывании TCR с антигеном на поверхности клетки-мишени. Этот процесс облигатно зависит от Ca^{2+} .

- **Перфорин** накапливается в гранулах в виде растворимого предшественника. При высвобождении из гранул и в присутствии Ca^{2+} перфорин быстро полимеризуется в мембране клетки-мишени, образуя цилиндрическую структуру. При этом липофильные участки молекул перфорины ориентируются в сторону клеточной мембраны, а гидрофильные - в сторону канала внутрь клетки. В результате образуется пора диаметром около 16 нм.

- **Гранзимы и апоптоз.** Через пору, образованную перфорином, внутрь клетки-мишени попадают выделенные ЦТЛ-гранзимы. Охарактеризовано 3 гранзима ЦТЛ - А, В и С. Это специализированные сериновые протеазы, субстратами которых служат ферменты, иницирующие в клетке-мишени программу апоптоза. При этом происходит разрушение ДНК и белков клетки, а в случае, если она поражена вирусом, то и инфицировавшего её патогена.

- **Лизис мишени.** Если механизмы апоптоза клетки-мишени по какой-либо причине нарушаются, ЦТЛ всё равно разрушает клетку путём осмотического лизиса через сформированные перфорином поры. Однако в этом случае неповреждённые вирусные частицы и нуклеиновые кислоты могут инфицировать другие клетки, что и происходит в случае некоторых инфекционных заболеваний.

- **Цитокины.** $CD8^+$ ЦТЛ продуцируют цитокины - ИФН γ , ФНО α и ФНО β (лимфотоксин). Эффекты ИФН γ перечислены ниже:

- непосредственно подавляет репликацию вирусов;
- индуцирует в клетках-мишенях повышенную экспрессию молекул МНС-I и МНС-II, способствуя более эффективной презентации вирусных антигенов Т-лимфоцитам: и для распознавания, и для киллинга;
- активирует макрофаги и НК-клетки;
- служит кофактором при индукции дифференцировки наивных CD4⁺ Т-лимфоцитов в Th1-клетки. Это означает, что CD8⁺ ЦТЛ вносят вклад в развитие других эффекторных механизмов иммунного ответа - с участием Th1-лимфоцитов.

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) - воспаление тканей, «организуемое» CD4⁺ Т-лимфоцитами субпопуляции Th1 - продуцентами ИФНу. Клетками-исполнителями служат активированные макрофаги. Если в очаге инфекции происходит активация макрофага CD4⁺ Th1-лимфоцитом, микробицидные возможности макрофага существенно увеличиваются, и он более эффективно разрушает поглощённые патогены. К сожалению, в макрофаге погибают не все патогены, особенно жизнеспособны вирусы, например ВИЧ, а также микобактерии.

Активация макрофага. Для активации макрофага необходимы 2 типа воздействия со стороны лимфоцитов:

- **контактное** - молекула CD40L на Th1-лимфоците связывается с молекулой CD40 на макрофаге;
- **цитокинное** - ИФНу, продуцируемый Th1-клеткой, CD8⁺ ЦТЛ или НК-клеткой, связывается с рецептором на макрофаге;
- **инфицированный макрофаг** имеет больше шансов вступить во взаимодействие с Th1-клеткой, что обусловлено распознаванием Т-клеткой антигена на поверхности макрофага. В результате именно этот макрофаг получит активирующие сигналы от Т-клетки через интерферон и CD40L.

Ингибитор активации макрофагов - ИЛ-10.

Характеристики активированного макрофага. Макрофаг, активированный взаимодействием с Th1-клеткой, приобретает следующие признаки и функциональные способности.

- Увеличивается число рецепторов FcγR, при помощи которых макрофаг связывает комплексы антиген-антитело и фагоцитирует их.
- ИФНу в макрофагах индуцирует биосинтез ферментов, образующих радикалы активных форм кислорода, которые окисляют фагоцитированный антиген.
- В макрофагах под действием ИФНу, ФНОα и, возможно, ИЛ-1 индуцируется экспрессия NO-синтазы, продуцирующей радикал NO*, который тоже окисляет фагоцитированный материал.

- В макрофагах индуцируется синтез липидных медиаторов воспаления - ФАТ, простагландинов и лейкотриенов (LTE₄).
- Макрофаг синтезирует тканевой фактор коагуляции. В начавшемся процессе коагуляции активируется сывороточный тромбин - протеаза, стимулирующая клетки эндотелия сосудов, а также нейтрофилы к синтезу ФАТ, что ещё больше способствует прогрессированию воспалительного процесса.
- ИФН γ служит самым сильным из известных индукторов синтеза и экспрессии молекул МНС-II. Кроме того, на активированных макрофагах, в отличие от неактивированных, индуцируется экспрессия костимуляторной молекулы B7, что делает активированные макрофаги более эффективными АПК. А также на активированных макрофагах возрастает экспрессия молекул адгезии ICAM-1 и LFA-3.
- Активированные макрофаги продуцируют ИЛ-12, способствующий дифференцировке Th1-лимфоцитов.

Очаг воспаления. Цитокины активированных макрофагов - ФНО α , ИЛ-1 и хемокины - создают очаг воспаления в виде плотных на ощупь узелков разного размера (симптом индурации). Плотность очага обусловлена выпотом из сосудов фибриногена и полимеризацией его в фибрин. Среди клеток, присутствующих в очаге, в первые 6-8 ч преобладают нейтрофилы, затем макрофаги и Th1-лимфоциты. Плотность клеток в свежем очаге ГЗТ невелика.

Сроки развития реакции. ГЗТ получила такое название, поскольку между моментом проникновения антигена в ткань и развитием характерного очага плотного воспаления проходит не менее 24-48 ч. После связывания антигена Th1-клетке требуется примерно 1 ч для индукции биосинтеза цитокинов, а также для синтеза и экспрессии на мембране молекулы CD40L.

Эффекты факторов роста. Среди цитокинов, продуцируемых активированными макрофагами, присутствуют факторы роста, что может значительно изменить состояние прилегающих к очагу тканей. Стандартная защитная реакция - развитие очага воспаления по типу ГЗТ, однако в патологических случаях цитокины, выделяемые активированными макрофагами, вызывают **фиброзное перерождение тканей**: тромбоцитарный фактор роста PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) стимулирует пролиферацию фибробластов, а вырабатываемый CD4⁺ Т-лимфоцитами и макрофагами ТФР- β стимулирует синтез коллагена. Кроме того, факторы роста, вырабатываемые макрофагами, вызывают образование дополнительных кровеносных сосудов - **ангиогенез**.

Для нормальной жизнедеятельности организма процессы торможения в иммунной системе так же необходимы, как и процессы её активации. Поясним на нескольких примерах: после уничтожения и выведения патогена из организма иммунный ответ

естественным образом останавливается - развивается **супрессия иммунного ответа**, а иммунный ответ на собственные ткани организма предотвращает **иммунная толерантность**. Наконец, чрезвычайно важно торможение иммунной системы и при таких антропогенных вмешательствах, как **трансплантация** органов и тканей. Ключевые роли в торможении иммунной системы принадлежат двум механизмам: ингибирующим межклеточным взаимодействиям и апоптозу.

АПОПТОЗ

Апоптоз (от греч. *apoptosis* - листопад) - программированная (регулируемая) гибель клеток путём деградации её компонентов, включая конденсацию хроматина и фрагментацию ДНК, с последующим фагоцитозом макрофагами. Необходимые для апоптоза гены («программа смерти») есть в каждой клетке, но их транскрипция начинается только при получении клеткой сигнала к апоптозу.

• Апоптоз в иммунной системе

- В иммунной системе апоптоз развивается при удалении аутореактивных клонов иммунокомпетентных клеток, регуляции численности пролиферирующих клеточных популяций, повреждении генома клеток.

- Аномально повышенная устойчивость (резистентность) клеток к апоптозу играет важную роль в патогенезе аутоиммунных нарушений и злокачественных новообразований за счёт подавления процесса гибели дефектных и мутантных клеток: например, при аутоиммунном лимфопролиферативном синдроме угнетён апоптоз лимфоцитов, что вызвано мутацией гена, кодирующего «рецептор смерти» - гликопротеин Fas.

- Аномально повышенная гибель клеток путём апоптоза сопровождает острые (инфекционные заболевания, ишемические повреждения), а также ряд хронических патологий (нейродегенеративные заболевания, синдром приобретённого иммунодефицита).

- В иммунной системе известны рецепторы, связывание которых с лигандами индуцирует апоптоз в клетке-носителе рецептора.

◇ **Рецепторы DR** (от *Death Receptor*), относящиеся к семейству рецепторов фактора некроза опухоли (TNFR). Известно 5 разновидностей молекул группы DR. Их лигандами являются мембранные или растворимые молекулы семейства фактора некроза опухоли:

- **Fas** (CD95, DR1), лиганд которого - FasL - экспрессирован на ДК тимуса и индуцирует апоптоз тимоцитов при негативной селекции. Тот же лиганд

присутствует на мембране ЦТЛ и естественных киллеров и вызывает гибель клеток-мишеней;

- **TNFR1** (*TNF Receptor-1*, CD120a, DR2) - рецептор типа 1 для фактора некроза опухоли;

- **DR3-DR6**. Их лигандами являются: TRAIL (*TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand*) - для DR4 и DR5, TL1A и Tweak (*TNF-related weak inducer of apoptosis*) - для DR3 и N-APP -

для DR6.

◇ **CD30** на тимоцитах или Т-лимфоцитах. Эта молекула тоже участвует в негативной селекции, связываясь с лигандом CD30L на эпителии и ДК мозговой зоны тимуса.

◇ **Ядерный рецептор для глюкокортикоидов**, индуцирующих апоптоз тимоцитов при позитивной селекции в тимусе и, вероятно, апоптоз активированных лимфоцитов в периферических тканях.

• **Факторы транскрипции**, образующиеся при активации лимфоцитов, - AP-1, NFAT - способствуют экспрессии рецепторов, индуцирующих апоптоз, что приводит к гибели лимфоцитов после выполнения ими своих функций. Этот феномен получил название «индуцированной активацией смерти клеток» (*AICD - ActivationInduced Cell Death*).

• **Гены, продукты которых предотвращают апоптоз:** Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1, ALG-3 и др. Транскрипция этих генов происходит при получении клеткой «сигнала на выживание». Для В-лимфоцитов таким сигналом служит связывание BCR с антигеном, для тимоцитов - удовлетворительное связывание TCR с МНС при позитивной селекции, для периферических Т-лимфоцитов - постоянное узнавание эндогенных пептидов в комплексе с МНС.

• **Макрофаги и ДК** сорбируют и поглощают апоптозные тельца с помощью интегринов, молекул CD36 и рецепторов-«мусорщиков», а затем разрушают их содержимое до мелких метаболитов. При этом ДК способны экспрессировать на мембране комплексы этих метаболитов с молекулами МНС-I и МНС-II - это лежит в основе развития иммунного ответа на собственные повреждённые ткани и тканевые антигены чужеродных трансплантатов.

В зависимости от механизмов запуска выделяют митохондриальный (эндогенный) и рецепторный (экзогенный) апоптоз. Развитие или защита от апоптоза определяется балансом про- и противоапоптотических факторов семейства Bcl-2 в мембранах митохондрий (рис.6). Bcl-2 и Bcl-xL являются противоапоптотическими факторами, постоянно связанными с мембранами митохондрий, а Bax, Bim, Bik, Bak и т.д. - проапоптотическими факторами, способными циркулировать в цитоплазме. Включение программы митохондриального апоптоза индуцируется определёнными сигналами из цитоскелета, в результате чего противоапоптотические факторы релокализуются, димеризуясь с молекулой Bcl-2 в митохондриальной мембране и

нейтрализуют её антиапоптотический потенциал. Проапоптотические факторы формируют димеры, образующие пору в митохондриальной мембране, через которую из митохондрии в цитозоль поступает цитохром С. Араф-1 (Apoptotic peptidase activating factor 1) связывает цитохром С, и к этому комплексу подсоединяется димер прокаспазы 9. Формирующаяся надмолекулярная структура называется апоптосомой. В составе апоптосомы прокаспаса 9 превращается в активную каспазу 9 путём аутокаталитического отщепления N-концевого участка.

Каспазы - это сериновые протеазы, разрывающие полипептидную связь после остатка Asp (отсюда их название). Выделяют инициаторные и эффекторные каспазы. Каспаза 9 относится к инициаторным каспазам. Она, как и другие инициаторные каспазы, отщепляет фрагменты эффекторных каспаз (чаще всего каспазы 3), переводя их в активную форму. Митохондриальная форма апоптоза играет основную роль в процессах морфогенеза, в том числе при положительной селекции Т-лимфоцитов.

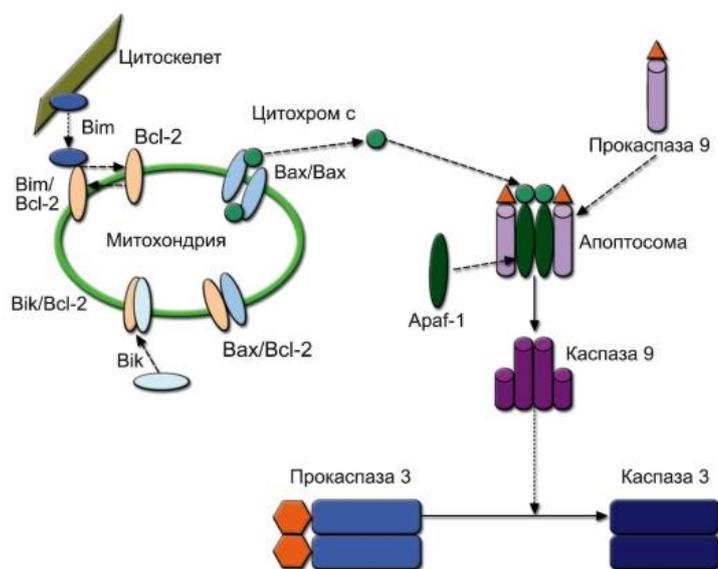


Рис.6. Митохондриальный механизм запуска апоптоза.

Запуск апоптоза под влиянием внешних факторов (рецепторный апоптоз) обеспечивают рецепторы DR (от *Death Receptor*) - рис.7. Следует отметить, что все рецепторы DR за исключением Fas могут также вызывать активацию NF-κB (индукция пролиферации и

выживания). Рецепторы DR в цитоплазматической части содержат домен смерти DD (*Death Domain*), активация которого и запуск апоптотического сигнала происходят при тримеризации рецептора, вызываемой связыванием лигандов. Тримеризация рецепторов и их внутриклеточных DD придаёт последним способность образовывать так называемый «сигнальный комплекс». В случае рецепторов Fas и TRAIL это DISC (*Death Initiating Signaling Complex*), образуемый при взаимодействии с гомологичным DD доменом цитоплазматического адаптерного белка FADD (*Fas-Associated*

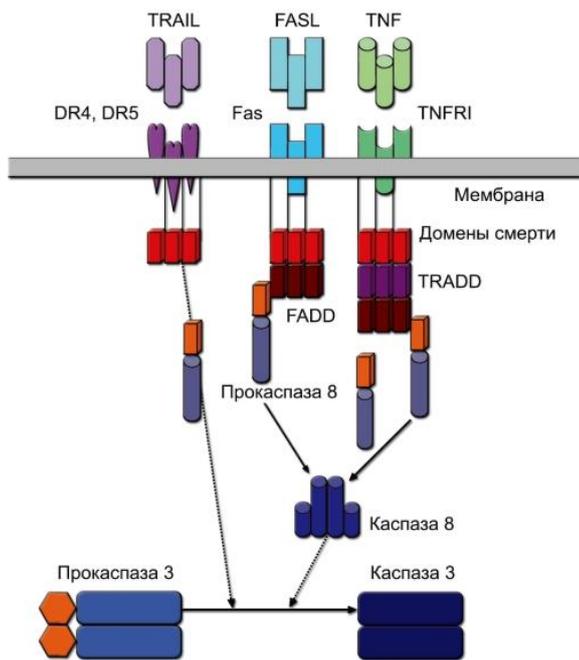


Рис. 7. Рецепторный механизм запуска апоптоза. Пояснения см. в тексте

Death Domain protein). В случае рецептора TNFRI, чтобы сформировать сигнальный комплекс 1 и обеспечить связывание с белком FADD, необходимо вначале рекрутировать белок TRADD (*TNF-Related Death Domain protein*). FADD кроме DD домена также содержит эффекторный DED-домен (*Death Effector Domain*), который приобретает сродство к гомологичному участку некоторых инициаторных прокаспаз, в типичном случае - прокаспазы 8 (а также

каспазы 10). Связывание этих молекул приводит к аутокаталитическому отщеплению от каспазы 8 гомолога DED и формированию активной каспазы 8, способной активировать каспазу 3 и другие эффекторные каспазы. В некоторых клетках каспа-

за 8 может также запускать митохондриальный путь апоптоза через активацию фактора Bid.

Каспаза 3 и другие эффекторные каспазы имеют многочисленные молекулы-мишени, локализующиеся в ядре и цитоплазме. Расщепление этих мишеней определяет многообразные изменения морфологии и функции клетки, которые проявляются в процессе апоптоза. Основной мишенью эффекторных каспаз является $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -зависимая эндонуклеаза - CAD (от *Caspase-Activated DNase*). Этот фермент обуславливает разрывы ДНК между нуклеосомами. Конечным результатом многообразных изменений в клетке является её гибель, как полагают, наступающая в результате истощения энергетических ресурсов, которые тратятся на неэффективную репарацию разрывов ДНК. Гибель по механизму апоптоза проявляется в сморщивании клетки, конденсации хроматина, образовании отростков клеточной мембраны и, наконец, фрагментации ядра и всей клетки с образованием апоптотических телец.

Рецепторная форма апоптоза свойственна зрелым лимфоцитам при их взаимодействии с лигандами апоптоза, локализующимися на активированных клетках, а также с антигеном, цитокинами и т.д. Рецепторный апоптоз реализуется при отрицательной селекции тимоцитов и незрелых В-клеток.

СУПРЕССИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

Супрессия иммунного ответа в норме развивается по мере элиминации антигенов из организма. Элиминация антигенов означает устранение исходного причинного фактора активации лимфоцитов через TCR и BCR, в результате новые (наивные) лимфоциты становятся «нечем» активировать.

Супрессия лимфоцитов

- **Терминально дифференцированные лимфоциты** имеют ограниченное время жизни и погибают по механизму апоптоза, «отработав» свою программу. В таких лимфоцитах снижается экспрессия генов, защищающих лимфоцит от апоптоза на время иммуногенеза, но экспрессируются индуцирующие апоптоз рецепторы, а именно: молекула Fas (CD95), рецепторы для глюкокортикоидов и ФНО α . Следовательно, глюкокортикоидные гормоны, ФНО α и FasL в определённое время от начала развития иммунного ответа становятся факторами физиологической иммуносупрессии.

- **Механизмы торможения.** Известно несколько конкретных механизмов торможения активности лимфоцитов.

- **Т-лимфоциты-регуляторы.** В первую очередь это активность регуляторных Т-лимфоцитов (Treg), продуцирующих значительные количества иммуносупрессорных цитокинов - ИЛ-10 и ТФР β .

- **Th1-лимфоциты** подавляют активированные В-лимфоциты той же специфичности через взаимодействие FasL-Fas.

- **ИЛ-4** и **ИЛ-13**, продуцируемые тучными клетками, CD4⁺/CD8⁻ Т-лимфоцитами, а также дифференцированными Th2клетками, подавляют дифференцировку Th1 из Th0.

- **ИФН γ** - продукт дифференцированных Th1-лимфоцитов - угнетает дифференцировку Th2 из Th0.

- **IgG-антитела**, при достижении определённых концентраций в жидких средах организма через специальный ингибирующий рецептор Fc γ RIIb, экспрессированный на дифференцированных В-лимфоцитах, подавляют биосинтез иммуноглобулинов в данном лимфоците и его дифференцировку в плазматическую клетку. В клинической практике это явление используют для профилактики резус-конфликта: если резус-отрицательной женщине ввести антирезус-антитела до того, как эритроциты плода успеют попасть в кровь матери, иммунный ответ матери на резус-антиген будет подавлен.

- **«Аутокиллеры».** В организме образуются особые Т-лимфоциты-киллеры с признаками НК-клеток, на которых экспрессировано много Fas-лиганда. Связывая Fas на активированных Т-лимфоцитах, эти «аутокиллеры» индуцируют апоптоз активированных Т-лимфоцитов.

- Таких «аутокиллеров» много в печени. Вероятно, их природная роль - ликвидировать приносимые с кровью воротной вены лимфоциты, активированные в тканях кишечника пищевыми антигенами.

- Печень как иммуносупрессорный орган. В печени локализовано большинство всех естественных киллеров организма, причём преобладает одна из двух больших субпопуляций НК-клеток, а именно $CD56^{high} CD16^{-}$, тогда как в крови и красной пульпе селезёнки преобладают естественные киллеры с фенотипом $CD56^{low} CD16^{+}$.

- На НК-клетках печени экспрессировано много Fas-лиганда, а на клетках эндотелия синусоидов печени - особого лектина, называемого галектин-1, который, возможно, тоже служит индуктором апоптоза активированных лимфоцитов. Не исключено, что это объясняет неотторжение чужеродных трансплантатов печени.

• **Ингибирующие рецепторы.** Известно не менее 22 мембранных молекул, функционирующих как негативные корецепторы, т.е. способных подавлять активацию клетки, вызванную через другие рецепторы. Ингибирующие рецепторы объединили в семейство молекул SIRP (*Signal-Regulatory Proteins*) суперсемейства иммуноглобулинов. Рецепторы семейства SIRP в цитоплазматической части содержат от 1 до 4 тирозинсодержащих аминокислотных ингибирующих последовательностей ITIM (*Immunoreceptor Tyrosinebased Inhibitory Motif*). Эти негативные корецепторы связаны со всеми рецепторами факторов роста, а также обнаружены при рецепторах гормонов (например, инсулина), взаимодействующих внутри клетки с тирозинкиназами.

- **PIR-B** (*Paired Immunoglobulin-like Receptor* - парные иммуноглобулиноподобные рецепторы В-лимфоцитов) на В-лимфоцитах мыши, **PD-1** (*Programmed cell Death* - запрограммированная смерть клетки, CD279) и **CTLA-4** (*Cytotoxic T-lymphocyte Associated protein* - белок, ассоциированный с ЦТЛ, CD152) на Т-лимфоцитах связаны с ингибиторными фосфатазами SHP-1 и SHP-2, блокирующими активацию киназ семейства Tec и фосфолипазы PLC γ

- **KIR** (*Killer cell Immunoglobulin-like Receptor* - иммуноглобулиноподобные рецепторы клеток-киллеров). Рецепторы семейства KIR на ЦТЛ и НК-клетках человека распознают молекулы MHC-I и подавляют тот или иной тип цитотоксичности.

- **Fc γ RIIB-1/2** на В-лимфоцитах и лейкоцитах миелоидного ряда распознают комплексы IgG с антигеном и подавляют образование антител и активацию лейкоцитов.

- На В-лимфоцитах есть ещё один ингибирующий рецептор - CD22. Это димерная молекула семейства лектинов, экспрессируемая только зрелыми В-лимфоцитами.

В табл. 9-1 приведена краткая характеристика некоторых ингибирующих рецепторов.

Таблица 9-1. Функции ингибирующих рецепторов лимфоцитов

Рецептор	Экспрессия	Число мотивов ITIM	Ассоциированные фосфатазы	Лиганды
FcγRIIB (CD32)	В-лимфоциты, миелоидные клетки, тучные клетки	1	SHP-1, SHP-2	Иммунный комплекс с IgG
Семейство SIGLEC (CD22, CD33)	Все гемопоэтические клетки	1–4	SHP-1, SHP-2	Сиаловая кислота
PIR-B	В-лимфоциты, миелоидные клетки мыши	3	SHP-1, SHP-2	HLA-G
CTLA-4 (CD152)	Т-лимфоциты	0	SHP-2	CD80, CD86
PD-1 (CD279)	Активированные Т- и В-лимфоциты, NK	1	SHP-2	PD-L1, PD-L2
BTLA (CD272)	Т- и В-лимфоциты, ДК	2	SHP-2	TNFRSF14
MAFA	Миелоидные клетки, тучные клетки, NK	1	SHP-1	Неизвестен
Gp49B1	Тучные клетки, NK мыши	2	SHP-1	Интегрин $\alpha_3\beta_3$
CD72	В-лимфоциты	2	SHP-1	CD100
PECAM-1 (CD31)	Эндотелиальные клетки, миелоидные клетки, тромбоциты, Т-лимфоциты, NK	1	SHP-1, SHP-2	CD38, интегрин $\alpha_3\beta_3$
SAECAM (CD66)	Все гемопоэтические клетки, эпителиальные клетки	2	SHP-1, SHP-2	CD66
PILR α	Миелоидные клетки	2	SHP-1	Неизвестен
SHP-1 (CD172a)	Макрофаги, ДК	2	SHP-1, SHP-2	CD47
NKG2A (CD159a)	NK, CD8 ⁺ Т-лимфоциты	2	SHP-1, SHP-2	HLA-E
KIR (CD158)	NK, CD8 ⁺ Т-лимфоциты человека	2	SHP-1	HLA-A, B, C

Рецептор	Экспрессия	Число мотивов ITIM	Ассоциированные фосфатазы	Лиганды
Ly49A-1	NK, CD8 ⁺ Т-лимфоциты мыши	1	SHP-1, SHP-2	MHC-I

Супрессия лейкоцитов

Супрессия лейкоцитов достигается теми же двумя путями, что и в случае лимфоцитов: апоптозом и подавлением их активности при помощи сигналов через определённые рецепторы.

- Самые короткоживущие лейкоциты - **нейтрофилы**. Они погибают физиологическим апоптозом через 4-12 ч после выхода из костного мозга в циркуляцию. В очагах воспаления в тканях нейтрофилы погибают ещё быстрее.
- **Эозинофилы** и **базофилы** погибают вскоре после дегрануляции.
- Другие клетки, особенно **тканевые макрофаги**, живут несколько дольше. Именно поэтому для них (по крайней мере, макрофагов и тучных клеток) существуют биологические механизмы подавления активности. Однако после активного проявления деструктивной функции такие клетки тоже погибают и заменяются новыми, мигрировавшими из кровотока: в случае макрофагов - это моноциты, в случае тучных клеток - предшественники тучных клеток.

Известно несколько **факторов и механизмов** подавления активности лейкоцитов.

- **ИЛ-10**, продуцируемый дифференцированными естественными регуляторными Т-лимфоцитами, подавляет активность макрофагов.
- **ИЛ-4/STAT6** индуцирует в макрофагах биосинтез антагониста рецептора для ИЛ-1.
- **Ингибирующие рецепторы**. На тучных клетках выявлено, по крайней мере, 3 ингибирующих рецептора. Один из них у мышей - gp49B1, лигандом которого служит интегрин Второй - уже известный по В-лимфоцитам FcγRIIB, связывающий иммунные комплексы антиген-IgG. Третий - MAFA (*Mast cell-Associated Function Antigen*) впервые идентифицирован на тучных клетках крысы. Лиганд для MAFA неизвестен, но этот рецептор конститутивно ассоциирован в мембране клетки с FcεRI - высокоаффинным активирующим рецептором для IgE.

ИММУННАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ

Иммунная толерантность - отсутствие активации лимфоцитов (и, следовательно, выработки ими эффекторных молекул) при наличии доступного специфического антигена. В природе толерантность лимфоцитов как отсутствие ответа на доступный антиген нужна только по отношению к антигенам собственных неповреждённых тканей организма.

- Следует отличать иммунную толерантность от супрессии уже состоявшегося иммунного ответа:
 - **супрессия** - продуктивная активация клона начинается, реализуется, затем подавляется;
 - **толерантность** - продуктивной активации антигенспецифического клона лимфоцитов не происходит.

Механизмы супрессии и толерантности одинаковы - апоптоз и подавление внутриклеточного метаболизма сигналами с ингибирующих рецепторов, однако эти механизмы реализуются на разных этапах лимфопоэза и иммуногенеза лимфоцитов.

- **Делеция клона.** Делеция аутореактивных клонов на стадии лимфогенеза приводит к установлению центральной толерантности. По механизму делеции клона, т.е. путём апоптоза лимфоцитов, связавших антиген, происходит элиминация аутореактивных В-лимфоцитов в костном мозге и негативная селекция тимоцитов в тимусе.

- **Анергия клона.** Анергией клона называют отсутствие полной активации лимфоцитов, распознавших антиген, но не получивших при этом полноценных костимуляторных сигналов. Это один из основных механизмов развития периферической толерантности лимфоцитов после их выхода из центральных органов иммунной системы в периферические для прохождения иммуногенеза. Анергия, вероятно, имеет несколько разных механизмов реализации.

Продуктивная активация аутореактивного лимфоцита может развиваться, если он распознаёт комплексы собственных пептидов со «своими» МНС и получает дополнительный сигнал от корецепторов при взаимодействии с активированной АПК. Сверхпороговый уровень экспрессии костимулирующих молекул достигается только при внешней стимуляции АПК, наиболее очевидный фактор которой - воспаление покровных тканей, повреждённых внедрившимся внешним патогеном (в естественных условиях - инфекционным). Таким образом, если организм не травмирован и инфекция не индуцировала развитие воспаления, **иммунная толерантность** лимфоцитов к собственным антигенам - единственно возможное их состояние.

ИММУННАЯ ПАМЯТЬ

Феномен иммунной памяти проявляется в том, что в случае успешной реализации иммунного ответа на патоген при его повторных попаданиях в организм санация осуществляется существенно быстрее и эффективнее, а патоген не успевает вызвать патологический инфекционный процесс. Это состояние известно как **протективный иммунитет**, т.е. иммунитет, защищающий от заболевания.

В основе феномена иммунной памяти лежит следующий факт: часть лимфоцитов (единицы процентов) антигенспецифичного клона, вовлечённого в первый иммунный ответ, «замораживается» и циркулирует в организме в течение неопределённого времени (для разных антигенов время очень различается - вплоть до продолжительности жизни всего организма).

В настоящее время неизвестно, какие именно молекулы и взаимодействия и на каком точно этапе иммуногенеза определяют формирование популяции лимфоцитов

памяти. В то же время установлены различия лимфоцитов памяти от других субпопуляций тех же лимфоцитов.

- **В-лимфоциты.** В-лимфоциты памяти отличаются от плазматических клеток (терминальной стадии дифференцировки В-лимфоцитов) по ряду признаков.

- **В-лимфоциты памяти** несут поверхностные иммуноглобулины, экспрессируют молекулы МНС-II; способны к пролиферации, переключению изотипов иммуноглобулинов, гипермутированию гипервариабельных участков молекулы иммуноглобулина - CDR (*Complementarity Determining Region*), расположенных в V-домене (см. главу 5), но не способны к интенсивному образованию иммуноглобулинов. В-лимфоциты памяти находятся в покое (неактивированном) состоянии.

- **Плазматические клетки**, напротив, способны к интенсивному синтезу/секреции иммуноглобулинов, но не несут поверхностные иммуноглобулины, не экспрессируют молекулы МНС-II; не способны к пролиферации, переключению между изотипами иммуноглобулинов, гипермутированию CDR V-доменов иммуноглобулинов.

- **Т-лимфоциты памяти** отличаются от зрелых Т-клеток и по частоте встречаемости антигенспецифичных клонов в лимфоидной ткани, и по экспрессии ряда мембранных молекул [LFA-3 (CD58); CD2; LFA-1 (CD11a/CD18); CD44; CD45RO] более чем в 10-100 раз. В отличие от наивных лимфоцитов, Т-клетки памяти испытывают

существенно меньшую потребность в медиаторах воспаления и в костимулирующих сигналах для запуска иммунного ответа на специфический антиген и могут отвечать при минимальных симптомах воспаления или даже при их отсутствии. В то же время наивные Т-клетки, в отличие от Т-лимфоцитов памяти, экспрессируют на поверхности CD45RA и большие количества молекул L-селектина, обеспечивающие хоминг Т-лимфоцитов в лимфатические узлы.

ВАКЦИНЫ

Целью вакцинации является индукция образования клеток памяти, специфичных к возбудителю. Это достигается посредством активации врождённого иммунитета и клонов В- и/или Т-клеточного звена адаптивного иммунитета. Основные проблемы вакцинации состоят в обеспечении безвредности вакцинного препарата при сохранении его иммуногенности. Тенденция заменить природные препараты антигенов (убитые, ослабленные патогены, экстракты активных субстанций) синтетическими препаратами или кодирующими их генами наталкивается на проблемы, связанные с недостаточной силой иммунного сигнала. Разновидности вакцин представлены на рис.8.

Тип вакцины	Характеристика	Примеры
Живые ослабленные	Вирулентность снижена культивированием или пассированием в неадекватных условиях. Эффективны, но сохраняют опасность реверсии	Вакцины против оспы, краснухи, кори, полиомиелита (Сабина), герпеса, БЦЖ
Убитые	Патогены для вакцин убивают различными способами (формалином и т.д.). Менее эффективны, чем живые	Вакцины против бешенства, тифа, холеры, полиомиелита (Солка), коклюша
Антитоксические	Токсоид (инактивированный токсин) в сочетании с адьювантом	Вакцины против дифтерии, столбняка
Синтетические	Синтетический эпитоп конъюгируется с иммуногенным носителем или адьювантом	Вакцины против сальмонеллёза, йерсиниоза, ящура, гриппа
Рекомбинантные	Основаны на использовании методов молекулярной генетики. Выделенный ген протективного антигена вводят в безопасный вектор. Гены вирулентности удаляют с сохранением протективных генов и т.д.	Вакцины против гриппа, герпеса, везикулярного стоматита и т.д.
ДНК-вакцины	Плазмида, содержащая ген протективного антигена, вводится в мышцу, где экспрессируется	Вакцины против гепатита В
Идиотипические	Вместо антигена используют антиидиотипические антитела, воспроизводящие конфигурацию эпитопа	Экспериментальные вакцины
Конъюгированные	Белки инфекционного агента (полученные разными методами) конъюгируются с иммуностимулятором контролируемой структуры	Вакцины против гриппа

Рис. 8. Разновидности вакцин

Занятие №11 по теме:

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЯ И ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛЕРГИИ.
 ВЗАИМООТНОШЕНИЯ АЛЛЕРГИИ, ИММУНИТЕТА И ВОСПАЛЕНИЯ.
 АЛЛЕРГЕНЫ И ИХ ВИДЫ. КЛАССИФИКАЦИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ
 (ПО GELL, COOMBS). СТАДИИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ.

I. Научно-методическое обоснование темы.

Аллергические заболевания с каждым годом привлекают все более пристальное внимание. Несмотря на то, что аллергические болезни известны человеку более двух с половиной тысяч лет, в современном мире проблемы, связанные с вопросами диагностики, терапии и профилактики аллергопатологий остаются весьма актуальными. За последние же десятилетия проблема аллергии приняла масштаб глобальной медико-социальной проблемы. Аллергию называют «болезнью цивилизации». В высокоразвитых странах процент страдающих аллергией, преимущественно среди молодого населения, значительно выше, чем в развивающихся и слаборазвитых странах. Загрязнение окружающей среды

отходами промышленного производства, неблагоприятные социальные условия, интенсивное использование средств дезинфекции в быту и на производстве, применение пестицидов и гербицидов в сельском хозяйстве, изменение качества питания, использование генетически измененных продуктов – сочетанное воздействие данных факторов на организм современного человека создает условия для высоких аллергенных нагрузок. Знание основных механизмов развития аллергических реакций и их профилактики составляют основу подготовки врача любой специальности.

II. Цель деятельности студентов.

Общая цель: изучение темы направлено на формирование компетенций по ФГОС-03 по специальности педиатрия (ОК1, ПК16, ПП19, ПК31, ПК32): формировать способность и готовность использовать на практике методы гуманитарных, естественнонаучных, медико-биологических и клинических наук в различных видах профессиональной и социальной деятельности, формировать умение работать с научной литературой, анализировать информацию, вести поиск, выделять основные положения, делать выводы, развивать личностные качества. Активно использовать современные достижения науки, особенно подчеркивая роль отечественных ученых в разработке данной темы.

Студент должен знать:

- определение понятий иммунологической реактивности, аллергии;
- основные механизмы развития аллергических реакций;
- принципы десенсибилизации при аллергии немедленного и замедленного типов.

Студент должен уметь:

- объяснить механизм защитного характера реактивности в сохранении гомеостаза методы предотвращения отторжения трансплантата,
- объяснить патогенез аллергических реакций разных типов;

III. Содержание обучения:

1. Аллергия, определение. Этиология (причины и условия) аллергии, классификация аллергенов, их характеристика.
2. Классификация аллергических реакций по Куку, Джеллу и Р.Кумбсу.

3. Стадии аллергических реакций (иммунных реакций, патохимических изменений, патофизиологических изменений), их патогенез.
4. Сенсibilизация, виды, патогенез.
5. Особенности патогенеза аллергических реакций I, II, III, IV типов;
 - а) природа аллергенов, механизмы сенсibilизации;
 - б) основные медиаторы, их происхождение и биологические эффекты;
6. Гипосенсibilизация, виды, патогенез.
7. Псевдоаллергические реакции, понятие, патогенез.

IV. Учебно-материальное обеспечение.

1. Наглядные пособия: таблицы, схемы, мультимедийные презентации, видеофильмы, аудиограммы.
2. Учебная медицинская документация (истории болезни, лабораторные исследования, иммунограммы).
3. Технические средства обучения.
4. Литература.

V. Список рекомендуемой литературы.

Основная литература:

1. Хаитов, Р.М. Иммунология: учеб. Для студентов мед. ВУЗов. Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2006, 2009, 2011.-311 с.: ил. Гриф УМО. CD-ROM прилагается. Глава 3. Доиммунные механизмы резистентности. С.35-52.
2. Хаитов, Р.М. Иммунология. Норма и патология : учеб. Для студентов мед. ВУЗов и ун-тов/ Р.М.Хаитов, Г.А. Игнатъева, И.Г.Сидорович.-3-е изд., перераб. И доп.- М. : Медицина, 2010. – 750 с. : ил. – (Учеб. Лит. Для студентов мед. Вузов и ун-тов).Глава 4. Врожденный иммунитет С.293-400.

Дополнительная литература:

Электронная библиотека медицинского вуза «Консультант студента»
www.studmedlib.ru:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 640 с. : ил.
2. Иммунология : практикум : учеб. пособие / [Ковальчук Л. В. и др.]; под ред. Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатъевой, Л. В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 176 с. : ил.
3. Иммунология: учебник / А. А. Ярилин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с. : ил.
4. Лекции по иммунологии.

5. Методические указания для внеаудиторной работы студентов 5 курса педиатрического факультета по дисциплине "Клиническая иммунология".

VI. БАЗИСНЫЕ РАЗДЕЛЫ ДЛЯ ПОВТОРЕНИЯ: к практическому занятию студент должен повторить:

- Сапин М.Р., Билич Г.Л. Анатомия человека: учебник: в 3 т. – изд. 3-е испр., доп. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2009. – Т. 2. – 496 с.: ил. Органы кроветворения и иммунной системы, с. 246-308.
- Биология: учебник: в 2 т. / под ред. В.Н. Ярыгина. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2011. – Т. 2. – 560 с.: ил. Раздел V, глава 14.7. Защита и поддержание целостности организма, постоянства его внутренней среды, оптимальных условий для процессов жизнедеятельности. Эволюция иммунной системы. с. 238-244.
- Гистология, эмбриология, цитология: учебник / под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – 6-е изд., перераб.и доп. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2012. – 800 с.: ил. Глава 7. Кровь и лимфа. Кроветворения. с. 159-179. Глава 14. Система кроветворения и иммунной защиты. с. 423-450
- Микробиология, вирусология и иммунология: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В.Н. Царева. – М.: Практическая медицина, 2010. – 581 с.: ил. Раздел 7.7. Иммунная система организма.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Определение реактивности и резистентности.
2. Классификация резистентности. Физиологическая и патологическая, ичес-кая реактивность
3. Механизмы специфической и неспецифической, активной и пассивной резистентности.
4. Понятия об аллергии и аллергены. Классификация аллергенов.
5. Характеристика аллергических реакций немедленного и замедленного типов. Их отличия.
2. Стадии аллергических реакций и их характеристика.
3. Классификация аллергических реакций по Кумбсу и Джелу.
4. Анафилактические реакции, патогенез анафилактического шока.
5. Цитотоксические реакции, механизм цитолиза, роль комплемента.
6. Реакции гиперчувствительности замедленного типа. Роль лимфокинов.
7. Основные принципы предупреждения и лечения аллергических реакций. Десенсибилизация. Виды, механизмы.
8. Аутоаллергические реакции. Роль аутоаллергического компонента в патогенезе заболеваний. Механизмы развития лекарственной аллергии.

БЛОК ИНФОРМАЦИИ

Определенные формы антигена при повторном контакте с организмом могут вызвать реакцию, специфическую в своей основе, но включающую неспецифические клеточные и молекулярные факторы острого воспалительного ответа. Известны две формы повышенной реактивности: **гиперчувствительность немедленного типа** и **гиперчувствительность замедленного типа** .

Аллергия есть реакция повышенной чувствительности немедленного типа в ответ на ряд веществ внешней среды с антигенными свойствами. В связи с характером индуцируемой этими антигенами реакции их называют **аллергенами** . Аллергические реакции имеют широкое проявление - от воспаления слизистой носа и чихания до анафилактического шока, приводящего нередко к летальному исходу.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМИНОВ

Термин «**аллергия**» в 1906 г. ввёл австрийский педиатр К. Пирке для обозначения состояний необычно повышенной реактивности у детей, которые он иногда наблюдал при инфекционных заболеваниях или при сывороточной болезни (от греч. *allos* - другой, иной, не такой, как все). Аллергические реакции - реакции гиперчувствительности иммунной системы, не имеющие защитного значения для организма и развивающиеся в ответ на воздействие антигенов, называемых аллергенами.

Остро развивающееся и часто угрожающее жизни состояние гиперчувствительности - **анафилаксия** (*anaphylaxis* как противоположность *prophylaxis*).

Если «профилактический» - защитный, то «анафилактический» - противоположный защитному, т.е. разрушающий. Аллергические реакции лежат в основе патогенеза **аллергических заболеваний**. Организм, ткани и клетки, способные отвечать реакциями гиперчувствительности, принято называть **сенсibilизированными**, т.е. имеющими «подготовленную» чувствительность к данному агенту.

Поскольку в основе **аллергической реакции** лежит иммунологический механизм, то она является высокоспецифичной. Такой сенсibilизированный организм отвечает аллергической реакцией исключительно на антигенные структуры (детерминанты), использованные для иммунизации (сенсibilизации), или же на родственные им молекулы.

В классической аллергологии **истинной аллергией** (или **атопией**) принято называть антигензависимую дегрануляцию тучных клеток и базофилов и её патофизиологические последствия. При истинной аллергии [IgE-опосредованной,

или ГНТ (рис. 13-1)] происходит перекрёстная сшивка FcεRI комплексами IgE-антиген, т.е. атопия - IgE-опосредованная аллергия, относящаяся по этой классификации к I типу иммунологических реакций. Большинство аллергических заболеваний относят именно к атопии. **Антигеннезависимую** дегрануляцию с теми же патофизиологическими последствиями, что и при истинной аллергии (атопии), называют **псевдоаллергией**. При псевдоаллергических реакциях (**IgE-независимая** реакция гиперчувствительности) происходит перекрёстная сшивка FcεRI аутоантителами к этому рецептору или перекрёстная сшивка FcγRIII агрегированными IgG. Эти IgE-независимые реакции гиперчувствительности могут развиваться под влиянием вещества P, продуктов деградации коллагена, хемокинов (ИЛ-8, MCP-1, MIP-1a, RANTES), цитокинов (ИЛ-3, GM-CSF), продуктов активированного комплемента - анафилатоксинов (C5a, C3a), лекарственных средств (опиатов, ацетилсалициловой кислоты и других НПВС, цитостатиков, рентгеноконтрастных веществ и др.), пищевых продуктов (гистаминолибераторов: рыбы, копчёностей, специй, некоторых овощей, фруктов и др.), физических факторов (физических нагрузок, переохлаждения, перегревания, инсоляции и т.д.).

АЛЛЕРГЕНЫ

Аллергены - вещества белковой и полисахаридной природы с определённой молекулярной массой: 10-70 кДа. Хотя в некоторых контекстах термины «аллерген» и «антиген» употребляют как синонимы, следует иметь в виду, что не всякий антиген может вызвать аллергическую реакцию. Аллергены отличаются некоторыми физическими и химическими свойствами, а также особенностями проникновения в организм. Ниже перечислены некоторые свойства аллергенов.

- Относительно невысокая молекулярная масса.
- Способность сорбироваться или агрегироваться в мелкие частицы и в таком виде проникать (диффундировать) в секреты слизистых оболочек и покровные ткани, **без видимого травмирования покровных тканей**.
- Высокая растворимость и способность легко эмульгировать в жидкие среды организма.
- Химическая стабильность *in vivo* (аллергены не метаболизируются, по крайней мере, быстро).
- Среди белков аллергенами чаще всего становятся ферменты протеазы. Небелковые вещества сами по себе не являются аллергенами, однако они способны образовывать химические соединения с собственными белками организма, приобретая тем самым свойства полноценных аллергенов.
- Аллергены проявляют своё действие в крайне малых дозах. Например, клинически значимая суммарная доза аллергенов пыльцы амброзии может составлять всего 1 мкг за год.

Классификация

Существует несколько классификаций аллергенов.

Классификация, основанная на способе попадания аллергена в организм.

- **Ингаляционные аллергены** (бытовая и производственная пыль, клещи домашней пыли, пыльца растений, частицы эпидермиса и шерсть животных, эпидермис и волосы человека, продукты химического производства, частицы тел насекомых, споры непатогенных микроскопических грибов).
- **Пищевые аллергены** (белок куриного яйца и коровьего молока, пищевые злаки, рыба и т.д.), некоторые пищевые добавки - консерванты, красители, эмульгаторы.
- **Парентеральные** (лекарственные средства, сыворотки, вакцины, яд перепончатокрылых насекомых, слюна кровососущих насекомых - комаров, клопов, мошек и др.).

Классификация, основанная на происхождении экзогенных аллергенов.

- **Аллергены неинфекционного происхождения** (бытовые, эпидермальные, пыльцевые, инсектные, пищевые, промышленные).
- Аллергены инфекционного происхождения:
 - ◇ **Бактериальные** (непатогенные и патогенные бактерии, а также продукты их жизнедеятельности).
 - ◇ **Грибковые** (непатогенные и патогенные грибы, а также продукты их жизнедеятельности).
 - ◇ **Вирусные** (различные виды риновирусов и продукты их взаимодействия с тканями).
 - ◇ **Паразитарные** (экзогенные и эндогенные антигены гельминтов).

Классификация по химическим группам.

- Белки
 - ◇ Компоненты пищи (яйца, молоко, орехи, ракообразные, моллюски, бобовые и т.д.).
 - ◇ Яд пчёл, ос, шершней и других перепончатокрылых.
 - ◇ Компоненты вакцин (против кори, гриппа; столбнячный анатоксин и др.).
 - ◇ Гормоны (инсулин, адренкортикотропный гормон, тиреотропный гормон и др.).
 - ◇ Компоненты сывороток и препаратов крови.
 - ◇ Ферментные препараты (стрептокиназа и др.).
 - ◇ Латекс (хирургические перчатки, эндотрахеальные трубки, презервативы и др.).
 - ◇ Белковые компоненты клещей домашней пыли, тараканов, пыльцы растений, выделений животных и др.
- Гаптены
 - ◇ Антибиотики (пенициллины, цефалоспорины и др.).
 - ◇ Миорелаксанты.
 - ◇ Витамины (тиамин и др.).

◇ Цитостатики (цисплатин, циклофосфамид, цитарабин и др.).

◇ Опиаты и т.д.

• Полисахариды

◇ Декстраны.

◇ Декстран-железо.

Номенклатура аллергенов. Подкомитет по номенклатуре аллергенов Международного союза иммунологических обществ [IUIS - *International Union of Immunological Societies (Allergen Nomenclature Sub-Committee)*] постоянно пополняет официальный список аллергенов и изоаллергенов (<http://www.allergen.org>). Таблица аллергенов и изоаллергенов полностью воспроизведена на диске, приложенном к учебнику. Первые 3 буквы в названии аллергена обозначают род, следующая за ними буква - вид, арабские цифры указывают порядок открытия, последующие цифры - код изоаллергена. Так, *Amb a 8.0101* кодирует изоаллерген 0101 восьмого из очищенных аллергенов, полученных из *Ambrosia artemisifolia*.

Бытовые аллергены. Главную роль среди них играет домашняя пыль. Это сложный по своему составу аллерген, в который входят пылевые частицы (одежды, постельного белья, мебели, книг), плесневые и дрожжевые грибы, частицы домашних насекомых (отрядов таракановых, чешуекрылых, прямокрылых, перепончатокрылых, ручейников), бактерии (непатогенные стафилококки и др.). Основной аллергенный компонент домашней пыли - клещи (живые, мёртвые, их линные шкурки и экскременты), среди которых большинство составляют клещи вида *Dermatophagoides: D. pteronissinus, D. farinae, D. microceras*. Они обитают в постелях, подушках, где питаются чешуйками рогового слоя эпидермиса человека. Бытовые аллергены вызывают чаще всего аллергические заболевания органов дыхания - аллергический ринит (АР) и бронхиальную астму (БА), а также АТД.

Эпидермальные аллергены: перхоть, шерсть, эпидермис животных, перья птиц, чешуя рыб. Так же как и бытовые аллергены, они могут быть причиной развития АР и БА. Профессиональная сенсibilизация описана у ветеринаров, парикмахеров, работников вивариев, птицеферм, овцеводов, коневодов и др.

Пыльцевые аллергены. Аллергенными свойствами чаще обладает пыльца ветроопыляемых растений, она должна быть летучей и присутствовать в воздухе в значительных количествах. Аллергены пыльцы растений - гликопротеины молекулярной массой 10-50 кДа. Диаметр пыльцевых зёрен аллергенных растений составляет 20-60 мкм. Пыльца большего диаметра (60-100 мкм и более) задерживается при вдыхании на слизистой оболочке полости носа, пыльца диаметром 20-30 мкм достигает уровня средних и мелких бронхов, а менее 3 мкм - альвеол. Пыльца растений имеет специфические для разных видов морфологические особенности, однако в пределах рода есть общие перекрёстные антигены. В каждой климатогеографической зоне есть свои виды растений, пыльца которых чаще всего

вызывает развитие сезонной аллергии - поллиноза. Для каждого региона характерен свой «график» пыления.

Для средней полосы России характерны 3 основных пика пыления растений, ответственных за развитие аллергических реакций:

- **весенний** период (апрель - май), когда происходит пыление **деревьев** (среди них наиболее выраженной аллергенной активностью обладает пыльца берёзы, ольхи, орешника, дуба, ясеня);
- **ранний летний** период (июнь - середина июля), когда пылят **злаковые травы** (тимофеевка, ежа, овсяница, райграс, мятлик, костёр, рожь, кукуруза и др.);
- **поздний летний и осенний** (середина июля - середина сентября), когда пылят **сорные травы** (полынь, амброзия, лебеда, одуванчик, подсолнечник и др.).

Пищевые аллергены. Наибольшими аллергенными свойствами обладают продукты, содержащие животные и растительные белки: молоко, мясо различных животных и птиц, яйца, рыба и морепродукты, пищевые злаки, бобовые, орехи, овощи и фрукты и др. В качестве аллергенов могут выступать и добавленные к пищевым продуктам химические вещества (антиокислители, красители, ароматические и другие вещества).

Инсектные аллергены. К ним относят аллергены яда жалящих и слюны кусающих насекомых, пыль из частиц насекомых. Они вызывают как местные, так и общие аллергические реакции.

Лекарственные аллергены. Любое лекарственное средство (за исключением некоторых составных частей биологических жидкостей - натрия хлорида, глюкозы и др.) может привести к развитию ЛА. Лекарственные средства или их метаболиты служат, как правило, **гаптенами**. В молекуле лекарственного средства роль антигенной детерминанты может выполнять не вся молекула, а только определённая её часть. Эти участки могут быть одинаковыми у различных препаратов - общие, перекрёстно-реагирующие детерминанты (табл. 13-1). При возникновении аллергической реакции на один препарат необходимо исключать применение всех средств, имеющих общую с ним детерминанту.

Промышленные аллергены. Промышленные аллергены, как правило, гаптены, которые соединяются с белками через свою реакционноспособную группу. Чем выше способность гаптена образовывать химическую связь с белком, тем выше его аллергенная активность. Наиболее часто встречающиеся промышленные аллергены - скипидар, масла, никель, хром, мышьяк, дёготь, смолы, дубильные вещества, азоксифеноловые и другие красители, танин, пирогаллол, лаки, шеллак, инсектофунгициды, фенопласты и аминопласты; вещества, содержащие бакелит, формалин, мочевины, эпоксидные смолы (аралдит), гексаметилентетрамин, гунидины, тиазолы и другие детергенты, аминобензолы, производные хинолина, гидрохинона, хлорбензола, соединения нафталина и др. В быту аллергенами могут

быть компоненты моющих, чистящих, косметических средств, парфюмерные вещества, краски для волос, бровей и др. Чаще всего промышленные аллергены вызывают аллергические реакции, в основе которых лежит ГЗТ (IV тип), например, контактный дерматит.

Аллергены инфекционного происхождения. Самые различные возбудители инфекционных заболеваний (бактериальных, грибковых, вирусных) и продукты их жизнедеятельности могут вызывать развитие аллергических процессов. Аллергические заболевания, в патогенезе которых инфекционное поражение играет ведущую роль, получили название инфекционно-аллергических. Сенсibilизация антигенами условно-патогенной и сапрофитной флоры из очагов хронического воспаления (придаточные пазухи носа, среднее ухо, кариозные зубы, миндалины, желчный пузырь и др.) может приводить к развитию некоторых форм БА, АО (отёка Квинке), крапивницы и других заболеваний. Особую роль в развитии аллергии играют грибы и их споры. Среди них есть патогенные для человека виды, вызывающие инфекционные заболевания, при которых аллергия становится частью патогенеза (аспергиллёз, актиномикоз и др.), и непатогенные, которые, попадая в организм человека в виде спор, вызывают сенсibilизацию и развитие различных аллергических заболеваний (АР, бронхиальная астма). Такие грибомикроорганизмы (*Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.*, *Candida spp.* и др.) содержатся в атмосферном воздухе, жилищах, домашней пыли, заплесневелых продуктах. Их концентрация зависит от времени года, влажности, температуры и других условий.

ТИПЫ РЕАКЦИЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Наиболее широко используется в настоящее время классификация реакций гиперчувствительности по П. Джеллу (*P. Gell*) и Р. Кумбсу (*R. Coombs*) (1969 г.), предусматривающая 4 типа таких реакций. Позже был выделен 5-й тип.

В основе механизма I, II, III и V типов гиперчувствительности лежит взаимодействие антигена с антителом. Тип IV гиперчувствительности зависит от наличия сенсibilизированных лимфоцитов, несущих на своей поверхности рецепторы, специфически распознающие антиген. Этот тип реакции относят к замедленной гиперчувствительности. Ниже приведена краткая характеристика разных типов реакций гиперчувствительности по упомянутой классификации (рис. 13-1).

• **Тип I (анафилактический, IgE-зависимый).** Обусловлен образованием особого типа антител, имеющих высокое сродство к определённым клеткам (например, тучным клеткам, базофилам). Эти антитела называют гомоцитотропными [к ним относят реагины (IgE и IgG4) человека], поскольку у них выражена тропность к клеткам (тканям) того же вида животного, от которого они

получены. Попадая в организм, аллерген фрагментируется в АПК до пептидов, презентуемых затем этими клетками Th2-лимфоцитам. Th2-клетки, в свою очередь, активизируясь, продуцируют ряд лимфокинов, в частности ИЛ-4 (и/или альтернативную молекулу - ИЛ-13), ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, а также экспрессируют на своей поверхности лиганд для CD40 (CD40L или CD154), что обеспечивает необходимый сигнал для В-клеток к индукции синтеза IgE. Образовавшийся аллергенспецифический IgE взаимодействует с имеющими к ним очень высокое сродство специализированными рецепторами FcεRI (расположены на тучных клетках слизистых оболочек и соединительной ткани, базофилах), а также низкоаффинных FcεRII (CD23).

CD23 может отделяться с клеточных мембран и попадать в циркуляцию, стимулируя продукцию IgE В-лимфоцитами. При повторном поступлении аллерген связывается IgE-антителами, что вызывает цепь биохимических превращений мембранных липидов (патохимическую фазу), следствием которых является секреция медиаторов, таких как гистамин, метаболиты арахидоновой кислоты (простагландин D2, сульфидопептидные лейкотриены: C4, D4, E4), ФАТ и происходит активация плазменных кининов. Медиаторы, взаимодействуя с рецепторами органов-мишеней, индуцируют патофизиологическую фазу атопической реакции: повышение сосудистой проницаемости и отёк ткани, сокращение гладкой мускулатуры, гиперсекрецию слизистых желёз, раздражение периферических нервных окончаний. Эти изменения составляют основу быстрой (**ранней**) фазы аллергической реакции, развивающейся в течение первых минут после контакта с аллергеном. Подготовка миграции клеток из сосудов в ткань обеспечивается изменением кровотока в микрососудах и экспрессией молекул клеточной адгезии на эндотелии и лейкоцитах.

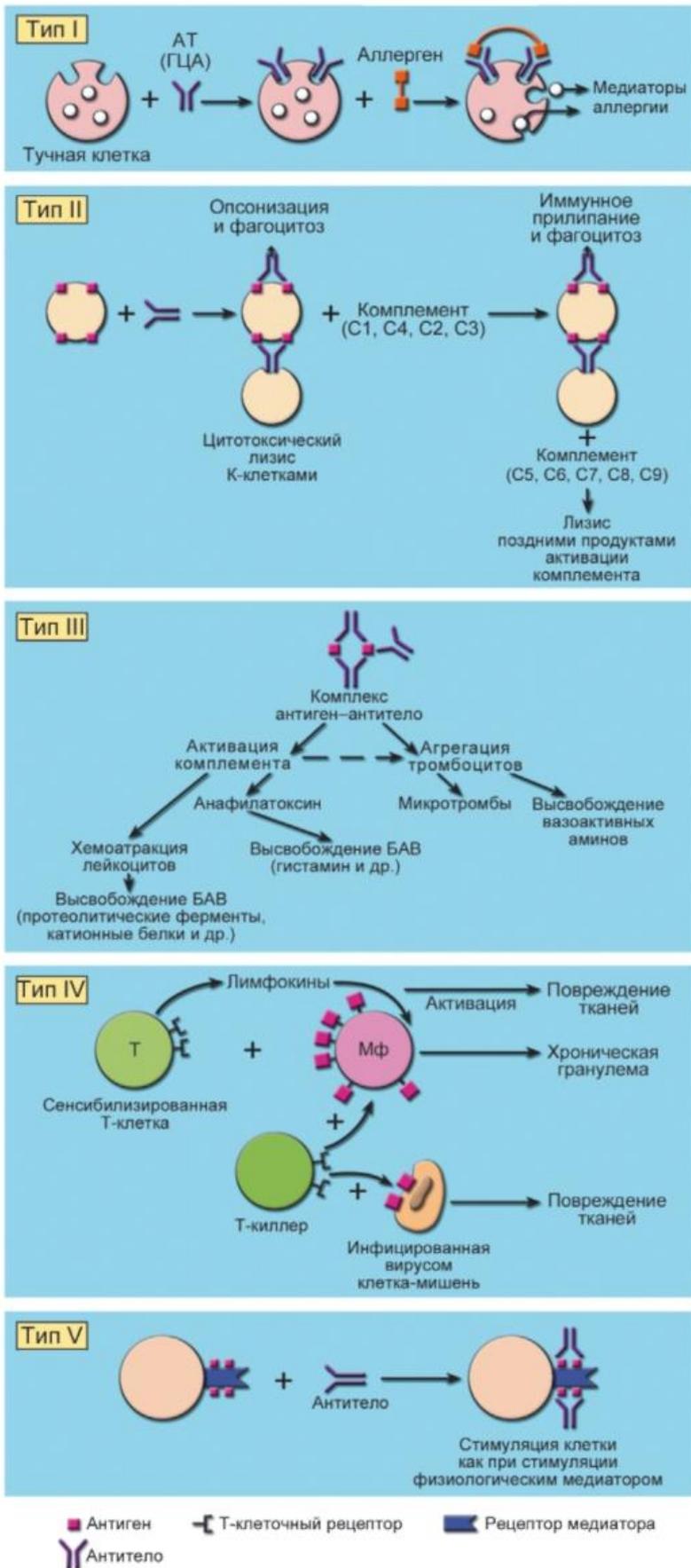


Рис.9. Типы реакций гиперчувствительности: ГЦА - гомоцитотропные антитела; Мф - макрофаг; БАВ - биологически активные вещества поверхности В-лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и, возможно, Т-лимфоцитов).

Последовательное вовлечение в процесс молекул адгезии и хемокинов приводит к инфильтрации тканей базофилами, эозинофилами, Т-лимфоцитами, тучными клетками, клетками Лангерганса. После активации они тоже секретируют проаллергические (провоспалительные) медиаторы, что формирует позднюю (или отсроченную) фазу аллергической реакции.

Типичные примеры этого вида реакций - атопическая БА, АР, аллергический конъюнктивит (АК), аллергическая крапивница, АШ и др.

• **Тип II (цитотоксический, или цитолитический) - антителозависимая цитотоксическая гиперчувствительность.** При этом виде реакции антитела взаимодействуют с естественными антигенами клеточных поверхностей или же с антигенами, вторично

сорбированными на клеточной поверхности. Повреждение и лизис клеток происходят вследствие активации образующимся комплексом антиген-антитело

системы комплемента по классическому пути. Пример такого типа цитотоксической реакции - гемотрансфузионные реакции, возникающие вследствие несовместимости групп крови. В этом случае в качестве антигенов, с которыми взаимодействуют антитела, выступают естественные клеточные структуры. Антигены, служащие мишенью для антител, могут быть представлены внеклеточными структурами. Такая ситуация возникает при нефротоксическом нефрите, когда антитела взаимодействуют с антигенами базальной мембраны почечных клубочков. В других случаях (например, при лекарственной тромбоцитопенической пурпуре) антитела взаимодействуют с антигенами (лекарственное средство или продукт его метаболизма), включёнными в состав клеточной поверхности.

◇ К этому же типу гиперчувствительности могут быть отнесены реакции, при которых в результате взаимодействия антигенов с антителами происходит опсонизация клеточной поверхности (Fc-фрагментом антител, ориентированным наружу) или **иммунная адгезия** (за счёт фиксации C3-компонента комплемента), что подготавливает фагоцитоз.

◇ Наконец, к типу II гиперчувствительности может быть отнесена и антителозависимая опосредованная клетками цитотоксичность (АЗКЦ). В этом случае лизис клеток наступает в результате действия на них клеток-киллеров (К-клеток, например ЦТЛ, НК-клеток), вовлекаемых в реакцию молекулами антител, соединёнными антигенсвязывающим участком с поверхностью клетки-мишени, а Fc-фрагментом - с соответствующим FcR клетки-киллера. В этом случае лизис осуществляется **без участия комплемента**.

• **Тип III гиперчувствительности - опосредованная образованием иммунных комплексов.** При этом типе реакции растворимые антигены взаимодействуют с антителами (преципитирующие антитела) не на клеточных поверхностях, а в растворимой форме. В результате образуются иммунные комплексы, что приводит к активации комплемента и агрегации тромбоцитов со всеми последующими событиями, приводящими к повреждению тканей. Примеры таких реакций - сывороточная болезнь и феномен Артюса.

• **Тип IV - ГЗТ** (опосредованная клетками или антителонезависимая). В основе этого типа гиперчувствительности лежит взаимодействие Т-лимфоцитов, несущих на своей поверхности специфические рецепторы (сенсibilизированные Т-лимфоциты), с презентированным на макрофаге антигеном, что стимулирует Т-клетку и вызывает высвобождение ею цитокинов, опосредующих внешние проявления замедленной гиперчувствительности. Классические примеры таких реакций - туберкулиновая реакция, контактная аллергия. Если действие лимфоцитов направлено против вирусов, инфицирующих клетки, или против трансплантационных антигенов, стимулированные лимфоциты трансформируются в бластные клетки, обладающие свойствами клеток-киллеров по отношению к

клеткам-мишеням, несущим данный антиген. К этим реакциям относят аллергию, формирующуюся при некоторых инфекционных заболеваниях, реакцию отторжения трансплантата, некоторые виды аутоиммунных поражений. Невозможность элиминации антигена приводит к накоплению в ткани макрофагов и образованию характерных гранулём.

• **Тип V гиперчувствительности** (этот тип выделяют не во всех классификациях). В отличие от типа II в реакциях типа V участвуют антитела, не обладающие комплементсвязывающей активностью и направленные против рецепторов на клеточной поверхности. Связывание этих антител вызывает либо блокаду, либо активацию рецепторов, приводящую к нарушению физиологических путей передачи сигнала от них. Если задействованы рецепторы, участвующие в физиологической активации клетки, то можно ожидать, что будет происходить стимуляция данного типа клеток со всеми вытекающими последствиями. Такие реакции развиваются при действии на клетку антител, направленных против рецепторов физиологических медиаторов. Примером могут быть антитела, взаимодействующие с антигенными структурами, расположенными вблизи или в самом рецепторе тиреотропного гормона. Воздействие таких антител на тиреоидные клетки приводит к реакции, аналогичной действию самого гормона: к активации аденилатциклазы клеточной мембраны и затем - к стимуляции цАМФ в тиреоидных клетках. В этом случае развивается тиреотоксикоз, сопровождающий аутоиммунное заболевание - болезнь Грейвса.

Блокада передачи сигнала с рецепторов также приводит к развитию патологических процессов. Пример такого рода - аутоиммунное заболевание *myasthenia gravis*. В этом случае антитела нарушают передачу с ацетилхолиновых рецепторов, что приводит к прогрессирующей мышечной слабости.

В формирование клинических проявлений аллергии и развитие отдельных нозологических форм вовлечены, как правило, не один, а несколько типов гиперчувствительности. Например, в анафилактических реакциях (помимо основного, ведущего - типа I) может участвовать и тип II, а при ЛА удаётся выявить признаки всех 4 типов гиперчувствительности.

Все реакции гиперчувствительности можно разделить на 3 типа в зависимости от временного интервала между моментом контакта сенсibilизированного организма с антигеном и возникновением внешних (клинических) проявлений аллергической реакции. Это реакции немедленные, поздние (отсроченные) и замедленные.

• **Немедленные реакции** возникают через несколько минут (или быстрее) после контакта с антигеном. К немедленным реакциям относят гладкомышечные и сосудистые реакции, обусловленные выбросом в ограниченный участок тканей (при

местном процессе) или в кровь (при системном процессе) биологически активных медиаторов тучных клеток и базофилов при их активации и дегрануляции.

- Поздние реакции (отсроченные реакции) развиваются через несколько часов.
- **Замедленные реакции** развиваются через 2-3 сут. Замедленные реакции гиперчувствительности проявляются воспалением с участием лимфоцитов: ГЗТ (Th1-клетки, макрофаги), ЦТЛ, антителозависимой клеточной цитотоксичности и др. (типы II, III и IV по классификации Джелла и Кумбса).

◇ В развитие реакций **немедленного и позднего типа** вовлечены различные виды антител, присутствующие в сыворотке крови, и соответственно которые могут быть перенесены от одного (сенсibilизированного) организма другому (несенсibilизированному) с сывороткой.

◇ **Реакции замедленного типа** связаны с присутствием сенсibilизированных клеток, и потому их возможно перенести реципиенту не с сывороткой крови, а только с клетками.

В развитии аллергических реакций разных типов выделяют **3 стадии**.

- **Иммунологическая стадия**, во время которой происходит ответ на внедрение аллергена (образование антител и/или сенсibilизированных лимфоцитов и соединение их с повторно поступившим или персистирующим в организме аллергеном).
- **Патохимическая стадия**, состоящая в образовании и высвобождении теми или иными активированными клетками медиаторов аллергических реакций.
- **Патофизиологическая стадия** заключается в действии этих медиаторов на различные периферические ткани и клетки, а также в развитии внешних (клинических) проявлений гиперчувствительности.

ИММУНОГЛОБУЛИН E. РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА И СЕКРЕЦИИ

IgE - гликопротеин с молекулярной массой 190 кДа и коэффициентом седиментации 8S. Аналогично другим иммуноглобулинам молекула IgE состоит из 4 цепей - 2 лёгких и 2 тяжёлых. Тяжёлые цепи е-типа, определяющие изотипическую принадлежность этого белка, содержат 5 доменов (1 вариабельный и 4 константных). При расщеплении папаином образуются Fc-фрагмент, содержащий 2 е-антигенные детерминанты, и 2 Fab-фрагмента, в которые входят связывающие антиген участки. Третичная структура Fc-фрагмента обеспечивает способность молекулы фиксироваться на высокоаффинном FcεRI-рецепторе мембраны тучных клеток и базофилов.

Высокоаффинный рецептор FcεRI для IgE состоит из α-, β и двух γ-цепей, из которых только α-цепь связывает IgE, α β- и γ-цепи участвуют в передаче сигнала при связывании IgE с аллергеном, что приводит в конечном итоге к высвобождению медиаторов из клетки. Низкоаффинный FcεRII-рецептор (CD23) экспрессирован на

поверхности В-лимфоцитов, моноцитов/макрофагов, тромбоцитов и эозинофилов. Экспрессию рецептора усиливает ИЛ-4. Рецептор FcεRII расщепляется с образованием растворимой формы (sCD23), сохраняющей способность связывать IgE и играющей регуляторную роль в образовании IgE. Естественные лиганды sCD23 - CD21, рецептор для вируса Эпштейна-Барр, известный также как рецептор для компонента CR2, представленный на В-клетках, ДК и Т-лимфоцитах.

В результате всесторонних исследований регуляции образования IgE получены данные, позволившие раскрыть иммунологические механизмы atopического фенотипа. Основную роль в переключении синтеза тяжёлых цепей иммуноглобулинов на тип ε играет растворимый медиатор ИЛ-4. Кроме того, наряду с ИЛ-4 также необходим второй сигнал, обеспечиваемый прямым контактом с CD4⁺ Т-хелпером, а именно взаимодействие CD40 на активированных Т-клетках с рецептором для CD40 на В-клетках. Функциональный антагонист ИЛ-4 - ИФНγ. Действуя на те же самые механизмы, он угнетает выработку IgE. Подавляют синтез IgE также ИФНα, ТФРβ, ИЛ-8, ИЛ-12.

Известны 2 типа Т-хелперных клеток (Th1 и Th2), различающиеся по спектру вырабатываемых цитокинов: Th1-клетки вырабатывают ИЛ-2, ФНОα и ИФНγ, тогда как Th2-клетки продуцируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6 и ИЛ-10. Th2-клеткам отводят ведущую роль в поддержании хронического воспаления. Именно с преобладанием у atopических индивидуумов Th2-клеток и образованием ИЛ-4 ассоциирована способность к гиперпродукции IgE, а с выработкой ИЛ-5 - пролиферация и активация эозинофилов.

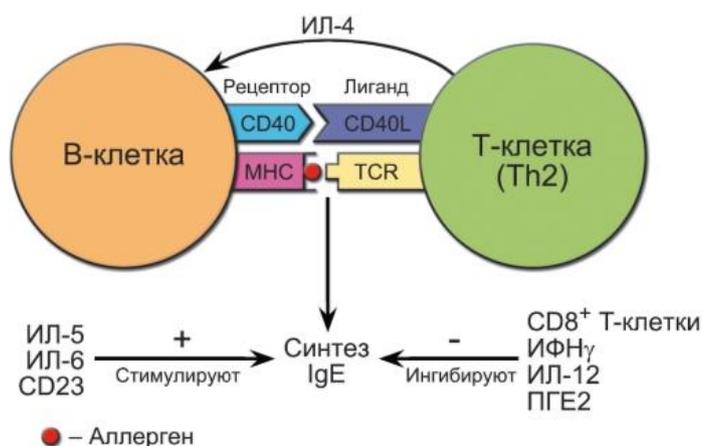


Рис.10. Регуляция образования IgE у человека

Образуемые активированными Th2-клетками ИЛ-4 и ИЛ-10 наряду со стимуляцией IgE-ответа оказывают угнетающее действие на Th1-хелперы. При этом отменяется контроль Th1-клеток за активностью

Th2-лимфоцитов, осуществляемый посредством реципрокного действия ИФНγ. Вместе с выработкой ИЛ-4 это приводит к персистирующей гиперпродукции IgE при продолжающемся воздействии аллергена, что замыкает порочный круг заболевания. В норме IgE-антитела играют важную роль в противогельминтной защите человека. В качестве эффекторных клеток в этом процессе участвуют эозинофилы, макрофаги и тромбоциты. Они связывают IgE и IgE-содержащие

иммунные комплексы посредством FcεRII-рецепторов и выделяют при этом активные метаболиты кислорода, лизосомальные ферменты, лейкотриены (LT) и ФАТ, атакующие возбудитель.

Уровень общего IgE в сыворотке может быть значительно повышен при АД, коррелируя с тяжестью заболевания, при аллергическом бронхолёгочном аспергиллёзе (АБЛА), глистных инвазиях, микозах, некоторых лимфопролиферативных заболеваниях и др. У больных АР, БА или поллинозом содержание IgE может не превышать нормальных значений, в связи с чем уровень общего IgE в сыворотке не может служить специфическим чувствительным диагностическим тестом на наличие этих заболеваний.

МЕДИАТОРЫ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА

Высвобождаемые из активированных тучных клеток и базофилов медиаторы условно можно разделить на две группы. Первую группу составляют вещества, предсуществующие в клетке до её активации и находящиеся в связанном с гранулярным матриксом состоянии. В ходе активации клетки происходит вытеснение этих медиаторов с гранулярного матрикса и высвобождение их во внеклеточную среду. По видам функциональных свойств медиаторы могут быть веществами, обладающими вазоактивным действием, способностью вызывать сокращение гладкой мускулатуры и стимулировать периферические нервные окончания, ферментативной активностью, хемотаксическим и иммуотропным действием и др. Один и тот же медиатор может проявлять несколько видов активности.

Основные **предсуществующие**, быстро высвобождаемые при активации клеток медиаторы и их действие:

- **гистамин**: повышение сосудистой проницаемости; гиперсекреция слизи; сокращение гладкой мускулатуры; зуд (H_1); образование простагландинов; повышение уровня цАМФ (H_2), или цГМФ (H_1), или торможение (H_2) хемотаксиса нейтрофилов и эозинофилов, [ингибиторами/инактиваторами служат блокаторы H_1 - и H_2 -рецепторов гистамина; гистаминаза (диаминоксидаза); гистамин-метилтрансфераза];
- **эозинофильный хемотаксический фактор анафилаксии (ЭХФА)**: хемоаттракция и инактивация эозинофилов и нейтрофилов (ингибиторами/инактиваторами служат аминопептидаза; карбоксипептидаза А);
- **ЭХФА-олигопептиды**: хемоаттракция эозинофилов и мононуклеарных лейкоцитов; инактивация эозинофилов;
- **нейтрофильный хемотаксический фактор**: хемоаттракция и инактивация нейтрофилов;
- **арилсульфатаза А**: гидролиз ароматических сульфатных эфиров (ионы PO_4 , SO_4).

Предсуществующие, прочно связанные с гранулами медиаторы:

- **гепарин:** антикоагуляция; торможение активации комплемента; высвобождение липопротеинлипазы и фосфолипазы (протамин, гепариназа);
- **химаза:** гидролиз протеогликанов; повышение сосудистой проницаемости;
- **триптаза:** генерация С3а анафилатоксина; протеолиз; деградация кининогена;
- **пероксидаза:** инактивация лейкотриенов;
- **супероксиддисмутаза:** дисмутация O_2 в пероксид водорода [диэтилдитиокарбамат (имутиол)].

Помимо предсуществующих медиаторов, из активированных клеток высвобождаются продукты, образуемые (преимущественно из липидных предшественников) в ходе активации клеток. Кроме того, тучные клетки и базофилы являются источниками образования и секреции цитокинов, в частности ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-13. Базофилы также синтезируют, содержат и секретируют ИЛ-4 (но не ИЛ-3, ИЛ-5, ИЛ-10, GM-CSF), ИЛ-13, макрофагальный белок воспаления MIP-1 α .

Образуемые в ходе активации клетки и высвобождаемые из неё медиаторы составляют вторую обширную группу посредников аллергической реакции:

- **лейкотриены С4, D4, E4:** сокращение гладкой мускулатуры, повышение проницаемости стенок сосудов; синергизм с гистамином; генерация простагландинов; сокращение сосудов (С4); расширение сосудов (D4, E4) (арилсульфатаза А и В, пероксидаза, пероксиды);
- **простагландин D₂:** сокращение гладкой мускулатуры; повышение артериального давления; повышение уровня цАМФ (блокада синтеза НПВС, специфическая дегидрогеназа);
- **тромбоксан А₂:** сокращение гладкой мускулатуры; стимуляция агрегации тромбоцитов;
- **эндопероксиды (G2, H2):** сокращение гладкой мускулатуры;
- **фактор, активации тромбоцитов (ФАТ):** агрегация тромбоцитов, высвобождение из них аминов; повышение проницаемости стенок сосудов;
- **простагландингенерирующий фактор:** индукция образования простагландинов, тромбоксана В₂;
- **базофильный калликреин анафилаксии** (в базофилах): бронхоспазм; расширение сосудов; повышение сосудистой проницаемости; боль (ингибиторами/инактиваторами служат карбоксипептидаза, химотрипсин).

ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Диагностика направлена на выявление причин и факторов, способствующих формированию и манифестации аллергических заболеваний. Для этого применяют **специфические** и **неспецифические** методы обследования.

Начинают диагностику всегда с выяснения жалоб и сбора аллергологического анамнеза, особенности которых нередко позволяют предположить предварительный диагноз, изучения истории жизни и болезни, которые осуществляет врач во время осмотра пациента.

Клинические методы обследования включают врачебный осмотр, клинко-лабораторные, рентгенологические, инструментальные, функциональные и другие методы исследования (по показаниям).

Основной принцип **специфической** диагностики аллергических заболеваний - выявление причинно-значимого аллергена, для чего определяют аллергические антитела (специфические IgE) или сенсibilизированные лимфоциты и продукты специфического взаимодействия антигенов и антител.

Специфическое аллергологическое обследование включает:

- сбор аллергологического анамнеза;
- проведение кожных тестов;
- проведение провокационных тестов;
- лабораторную диагностику.

Сбор аллергологического анамнеза

При опросе больного особое внимание обращают на особенности развития первых симптомов заболевания, их интенсивность, динамику развития, длительность и чувствительность к назначаемым фармакотерапевтическим средствам.

Выясняют семейный анамнез аллергии, поскольку известно, что у 30-70% больных с аллергическими заболеваниями близкие родственники страдают аллергией.

При сборе анамнеза отмечают наличие или отсутствие сезонности заболевания, его связь с простудой, изменением климатических, жилищных или рабочих условий. Например, указание на ежегодное развитие респираторных проявлений (ринорея, заложенность носа, приступы удушья и др.) и/или зуда век, слезотечения в одни и те же периоды времени (весенние или летние месяцы, в сезон цветения определённых растений) характерно для поллиноза, и в план обследования таких больных включают методы тестирования с пыльцевыми аллергенами. Для больных с инфекционно-аллергической формой БА характерно обострение аллергического заболевания на фоне острых респираторных вирусных или бактериальных инфекционных заболеваний, особенно в холодное время года.

Необходимо выяснить жилищно-бытовые условия больного, наличие в квартире мягкой мебели, ковров, книг, домашних животных, рыб, птиц, а также вызывает ли контакт больного с домашней пылью, животными и другими аллергенами обострение заболевания.

Отдельно собирают пищевой анамнез (связь симптомов с употреблением каких-либо пищевых продуктов) и фармакологический анамнез (связь развития реакции с приёмом препаратов, её длительность, объём лечения и его эффективность).

Анализ пищевого дневника. Для диагностики пищевой аллергии больного просят вести пищевой дневник, в котором указывается дата, время приёма пищи, название продукта с учётом объёма и способа приготовления, характер симптомов с указанием времени их появления и динамикой состояния в течение дня, характер стула, а также применяемые медикаменты и их эффективность.

Правильно собранный анамнез позволяет не только выяснить характер заболевания, но и предположить его этиологию, т.е. виновный аллерген или группу аллергенов.

Эти предположения должны быть подтверждены специфическими методами обследования - кожными, провокационными и другими тестами.

Кожные тесты

Существуют разные методы кожного тестирования с аллергенами *in vivo*: *prick-тесты* (тесты уколом), скарификационные тесты, аппликационные тесты, внутрикожные тесты. Кожное тестирование с ингаляционными и пищевыми аллергенами проводят для диагностики только IgE-зависимых аллергических заболеваний.

Для кожного тестирования используют стандартные серийные, содержащие 10 тыс. единиц белкового азота (PNU - *Protein Nitrogen Unit*) в 1 мл, водно-солевые экстракты аллергенов. Эти экстракты готовят из пыльцы растений, домашней пыли, клещей домашней пыли, шерсти, пуха, эпидермиса животных и птиц, пищевых и других продуктов.

Противопоказания для проведения кожных тестов.

- Обострение основного заболевания.
- Острые интеркуррентные инфекционные заболевания.
- Туберкулёз и ревматизм в период обострения.
- Нервные и психические заболевания в период обострения.
- Болезни сердца, печени, почек и системы крови в стадии декомпенсации.
- АШ в анамнезе.
- Беременность и период лактации.

Не рекомендуется проведение аллергологического обследования в полном объёме детям до 3-летнего возраста, больным в период лечения глюкокортикоидами и блокаторами H₁-рецепторов гистамина (снижают кожную чувствительность), а также после острой аллергической реакции, поскольку в этот период пробы могут оказаться отрицательными из-за истощения в коже сенсibiliзирующих антител.

Наиболее часто применяют *prick*-тесты или скарификационные тесты, которые ставят на внутренней поверхности предплечий на расстоянии 3-5 см друг от друга. Обязательны тесты на отрицательный (с тест-контрольной жидкостью) и положительный контроль (с гистамином). Оценку проб проводят через 20 мин, учитывая при этом наличие/отсутствие гиперемии и размер волдыря.

Внутрикожные пробы более чувствительны, но отличаются меньшей специфичностью, их используют главным образом для выявления сенсibilизации к аллергенам бактериального и грибкового происхождения.

Аппликационные пробы (*patch-тесты*) проводят с помощью стандартных наборов химических аллергенов для тестирования для диагностики аллергического контактного дерматита (определение ГЗТ - IV тип реакций).

Провокационные тесты

Провокационные тесты используют при расхождении данных анамнеза и результатов кожного тестирования. Противопоказания для проведения провокационных тестов те же, что и для кожного тестирования.

В зависимости от вида аллергена и способа его введения в организм выделяют провокационные тесты: **конъюнктивальный, назальный, ингаляционный, подъязычный и пероральный**. Для диагностики ЛА применяют **тест торможения естественной эмиграции лейкоцитов *in vivo*** (ТТЕЭЛ), разработанный А.Д. Адо.

Методы лабораторной диагностики

Основные показания для назначения лабораторных методов специфической аллергодиагностики, проводимых *in vitro*:

- ранний детский возраст;
- высокая степень сенсibilизации пациента;
- наличие противопоказаний к проведению кожного тестирования;
- непрерывно рецидивирующее течение заболевания без периодов ремиссии;
- невозможность отмены антигистаминных и других препаратов, влияющих на кожную чувствительность;
- поливалентная сенсibilизация, когда невозможно провести тестирование *in vivo* сразу со всеми предполагаемыми аллергенами в ограниченные сроки обследования;
- резко изменённая реактивность кожи;
- ложноположительный или ложноотрицательный результат при кожном тестировании;
- уртикарный дермографизм.

В клинической практике наиболее широко применяют следующие методы специфической диагностики аллергии, проводимые *in vitro*:

- иммуноферментные методы анализа для выявления специфических IgE с колориметрическим, флюориметрическим и хемилюминесцентным способом регистрации результатов;
- радиоаллергосорбентный тест (РАСТ) для выявления специфических IgE;
- непрямой базофильный тест (тест Шелли);
- прямой базофильный тест (тест Шелли);
- реакция специфического высвобождения гистамина из базофилов периферической крови пациента.

Данные методы лабораторной диагностики позволяют выявить только состояние сенсибилизации (наличие или отсутствие специфических IgE-антител к аллергенам без учёта клинических проявлений). Методы лабораторной диагностики рассматривают в качестве дополнительных мер, позволяющих уточнить сомнительные результаты тестирования *in vivo*.

При постановке диагноза нужно опираться главным образом на жалобы пациента, данные аллергоанамнеза, осмотра больного, кожного тестирования, а также на результаты общеклинического обследования пациента.

Самостоятельная работа студентов.

Задание 1. Продолжите заполнение таблицы «Классификация аллергенов».

АЛЛЕРГЕНЫ

1. Эндогенные (образуются в самом организме).
2. Экзогенные: неинфекционные и инфекционные.

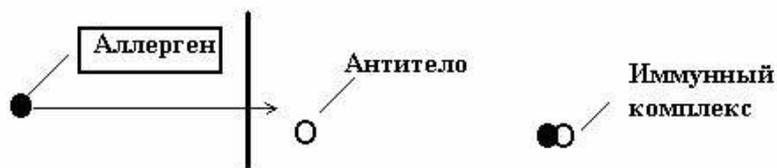
Название групп аллергенов	Что к ним относится
Биологические	
Лекарственные	
Бытовые	
Пыльцевые	
Эпидермальные	
Пищевые	
Промышленные	
Физические	

Несмотря на разнообразную симптоматику, в основе аллергических проявлений лежит общий механизм -

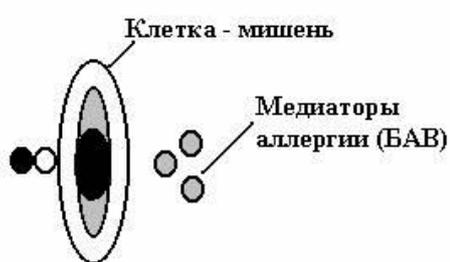
Задание 2. Объясните с помощью нижеприведенной схемы механизм развития аллергического процесса.

МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

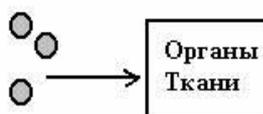
Первая стадия



Вторая стадия



Третья стадия



Эти стадии при различных заболеваниях протекают не совсем одинаково, что определяет особенности их проявлений и сложности лечения.

Задание 3. Приготовить сообщения об особенностях аллергических заболеваний:

А/ аллергический ринит

Б/ бронхиальная астма

В/ крапивница

Г/ аллергический дерматит