**Занятие 18**

**Приобретенный (специфический иммунитет). Антигены, их виды. Антигенное строение микроорганизмов. Антигены организма человека. Иммунная система человек, органы и ткани иммунной системы, иммунокомпетентные клетки. Виды иммунного ответа. Антитела. Серологические реакции, их применение в микробиологической диагностике.**

**Специфический иммунитет**

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

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

**Свойства антигенов**.

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

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

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

**Свойства антигенов.**

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

**Свойства антигенов.**

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

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

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

***Иммуногены*** при попадании в организм спо­собны индуцировать продуктивную реакцию иммунной системы, которая заканчивается выработкой факторов иммунитета (антите­л, антигенреактивных клонов лимфоци­тов).

* *- Т-зависимые*
* *- Т-независимые*

***Толероген*** является полной противополож­ностью иммуногену. Толерогену присуща мономер­ность, низкая молекулярная масса, высокая эпитопная плотность и высокая дисперсность (безагрегатность) коллоидных растворов.

***Аллерген* -** формирует патологическую реакцию организ­ма в виде гиперчувствительности немедлен­ного или замедленного типа.

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

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

**Антигены микроорганизмов.**

**Антигены бактерий**

* *Жгутиковый, или Н-антиген,*
* *Соматический, или О- антиген,*
* *Капсульный* , или *К- антиген,*
* *Антиген вирулентнос­ти, или Vi-антиген,*
* *Экзотоксины, ферменты*

**Антигены вирусов**

* *вирусоспе­цифические*

**Антигены организма человека.**

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

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

**MHC.**

* У человека МНС был ассоциирован с лейкоци­тами, поэтому его обозначи­ли как HLА (аббр. от англ. *Human Leukocyte Antigen).* Биосинтез HLA определяется генами, локализованными сразу в нескольких локусах короткого плеча 6-й хромосомы.
* Гены HLА-А, HLА-B и HLА-C кодируют белки **MHC I класса** Некоторые HLА-D локусы кодируют белки **MHC II класса** (DP, DQ DR)
* Между локусами I и II классов располагается III локус. К **МНС ΙΙΙ** класса относят­ся некоторые компоненты комплемента (С2, С4), белки теплового шока, факторы некроза опухоли и др.
* Каждый человек строго уникален по набору антигенов гистосовместимости, исключение составляют только однояйцевые близнецы, которые абсолютно похожи по набору генов.
* Антигены гистосовместимости играют ключевую роль в осуществлении специфичес­кого распознавания «свой-чужой» и индук­ции приобретенного иммунного ответа. Они определяют совместимость органов и тканей при трансплантации в пределах одного вида, генетическую рестрикцию (ограничение) им­мунного реагирования и другие эффекты.
* МНС I класса индуцирует преиму­щественно клеточный иммунный ответ, а МНС II класса – гуморальный.

**Особенности строения и функции MHC.**

* МНС имеет сложную структуру и высокую полиморфность. По химической природе анти­гены гистосовместимости представляют собой гликопротеиды, прочно связанные с цитоплаз­матической мембраной клеток.
* Их отдельные фрагменты имеют структурную гомологию с молекулами иммуноглобулинов и поэтому от­носятся к единому суперсемейству.

**MHC II класса.**

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

**В структуре и функции МНС II класса есть ряд принципиальных отличий от МНС I класса**

* МНС II участвует в индукции приобретенного им­мунного ответа. Фрагменты молекулы анти­гена экспрессируются на цитоплазматичес­кой мембране особой группы клеток, которая получила название антигенпрезентирующих клеток (АПК).
* МНС II класса включает в себя пептид, захваченный из внеклеточной среды путем эндоцитоза, а не синтезированный са­мой клеткой(н-р, внутриклеточные вирусы)

**Участие MHC II класса в индукции приобретенного им­мунного ответа п**роисходит следующим образом:

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

**CD- антигены.**

* На мембране клеток обнаруживаются груп­повые антигены, объединяющие клетки, име­ющие сходные морфофункциональные харак­теристики или находящиеся на определенной стадии развития
* Эти маркерные молекулы получили название антигенов кластеров дифференцировки клетки, или ***CD-антигенов*** (аббр. от англ. **Cell Differentiation Antigens, или Claster Definition).** По структуре они пред­ставляют собой гликопротеиды, многие из которых относятся к суперсемейству имму­ноглобулинов.
* На­иболее широкое распространение получи­ли маркеры иммунокомпетентных клеток.

**Иммунная система организма**

Для защиты от чужеродных веществ и поддержания гомеостаза в организме существует сложная система защиты, получившая название ***иммунной системы*** - совокупности органов, лимфоидной ткани, а также отдельных клеток. Иммунная система эго специализирован­ная, анатомически обособленная ткань разбросанная по всему организму в виде различных лимфоидных образований и отдельных клеток. Наиболее важная функция иммунной системы – иммунитет: защита организма от генетически чужеродных веществ экзогенного и эндогенного происхождения. К свойствам иммунной системы также относятся специфичность, чувствительность, толерантность.

**Органы иммунной системы.**

* **Центральные органы иммунной системы** принимают участие в процессах антигеннезависимой дифференцировки и созревания клеток иммунной системы-костный мозг, тимус
* **Периферические органы иммунной системы** участвуют в антигензависимой дифференцировке лимфоцитов, презентации антигена и иммуногенезе Т- и В-лимфоцитов-селезенка, лимфатические узлы, лимфоидные фолликулы.

**Лимфоциты.**

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

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

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

**T-лимфоциты.**

* Т- хелперы(CD4) распознают антиген, передают информацию от антигенпрезентирующих клеток иммунокомпетентным клеткам
* **Т-киллеры (CD8)** лизируют клетки-мишени, несущие чужеродные или видоизмененные аутоантигены
* **Т-супрессоры** регулируют интенсивность иммунного ответа, предотвращают развитие аутоиммунных реакций

**NК-клетки *(англ. «natural killer»- естественные киллеры).***

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

**Иммуноглобулины, антитела.**

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

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

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

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

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

**Разнообразие антител**.

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

**Неполные, или блокирующие антитела.** Неполные АТ содержат один активный центр и поэтому одновалентны. Второй антигенсвязывающий центр у них экранирован различными структурами либо обладает низкой авидностью. Неполные антитела функционально дефектны, так как не способны агрегировать антигены. В связи с этим их еще называют *непреципитирующими* или *блокирующими* *антителами*. Выявить неполные антитела можно при помощи реакции Кумбса – путем использования «вторых», антииммуноглобулиновых антител.

**Динамика образования антител.**

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

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

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

**Применение серологических реакций.**

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

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

**Типы серологических реакций.**

Оценка результатов серологических реакций проводится на основании образования комплекса антиген-антитело. Реакции различаются по регистрируемому эффекту и технике постановки, однако, все они основаны на реакции взаимодействия антигена с антителом и применяются для выявления как антител, так и антигенов. Различают :

 - простые серологические реакции (с участием двух компонентов)

 - сложные серологические реакции (с участием трех и более компонентов).

* С целью иммунодиагностики широко применяются реакции *агглютинации*, *преципитации*, *нейтрализации*, *реакции* с *участием* *комплемента*, с *использованием* *меченых* *антител* и *антигенов* (радиоиммунологический, иммуноферментный, иммунофлюоресцентный методы).
* Реакции иммунитета характеризуются высокой чувствительностью и специфичностью.

**Фазы серологических реакций.**

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

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