

Занятие 10

**Имунопатология. Иммунодефицит.
Реакция гиперчувствительности.
Аутоиммунные заболевания. Принципы
имунопрофилактики и иммунотерапии.
Вакцины и иммунные сыворотки.**

prof. A.Qurbanov

Иммуннопатология

- **Аутоиммунные заболевания**
- **Иммунодефициты**
- **Реакции гиперчувствительности**

Аутоиммунные заболевания

- Иммунная система должна различать «свое» и «чужое», атаковать чужеродные антигены, не повреждая при этом собственные. Иммунный ответ против собственных тканей организма в нормальных условиях не развивается, т.е. *иммунная система толерантна к собственным антигенам и не толерантна к чужеродным.*
- При нарушении толерантности иммунная система начинает реагировать с собственными антигенами, в результате чего развиваются **аутоиммунные заболевания.**
- При аутоиммунных заболеваниях аутоантитела и аутореактивные лимфоциты направлены против аутологичных антигенов одного органа или различных органов и тканей (*аутоиммунный тиреоидит, гломерулонефрит, ревматоидный артрит, системная красная волчанка и пр.*)

Аутоиммунные заболевания

В основе аутоиммунных болезней лежит нарушение механизмов, поддерживающих состояние аутоотолерантности:

- генетическая предрасположенность (аутоиммунные болезни во многих случаях носят семейный характер);
- влияние половых гормонов (отмечена высокая частота аутоиммунных заболеваний у женщин);
- влияние факторов внешней среды: микробных (молекулярная мимикрия – антитела к антигенам микробов могут реагировать с собственными антигенами организма) и немикробных.
- аутоиммунные реакции с забарьерными перекрестно реагирующими антигенами;
- расстройства регуляции иммунной системы – дефицит или функциональная недостаточность супрессорных клеток, атипичная экспрессия молекул MCH II на клетках, не экспрессирующих эти антигены в нормальных условиях

Иммунодефициты

Различают *первичные* (врожденные) и *вторичные* (приобретенные) иммунодефициты

- Иммунодефициты могут проявляться в виде:
 - 1) недостаточности гуморального иммунитета**
 - 2) недостаточности клеточного иммунитета**
 - 3) недостаточности комплемента**
 - 4) недостаточности фагоцитоза**

По клиническим симптомам они проявляются в виде оппортунистических инфекций, аллергий, опухолей, пороков развития и т.д.

- При недостаточности гуморального иммунитета в первую очередь нарушается антитоксический и антибактериальный иммунитет
- У лиц с Т-клеточным иммунодефицитом страдает противогрибковый, противовирусный, противоопухолевый и трансплантационный иммунитет

Реакции гиперчувствительности

- В ряде случаев введение антигена в организм может индуцировать аномальную гиперергическую реакцию, которая носит черты патологического процесса и получила название **аллергия** (от греч. *alios* – иной и *ergon*– действие).
- На первичный контакт с антигеном организм отвечает образованием антител и лимфоцитов (**сенсibilизация**). При повторном контакте антиген вступает в реакцию с антителами и сенсibilизированными лимфоцитами. Эти реакции направлены на устранение антигена, но при определенных условиях могут привести к патологическим последствиям.

Реакции гиперчувствительности

- Различают четыре основных типа аллергии:
- Первые три типа относятся к гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ), четвертый – к гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ): ведущую роль в запуске ГНТ играют антитела (IgE, G и M), а ГЗТ – осуществляется при участии сенсibilизированных Т-лимфоцитов (лимфоидно-макрофагальная реакция)

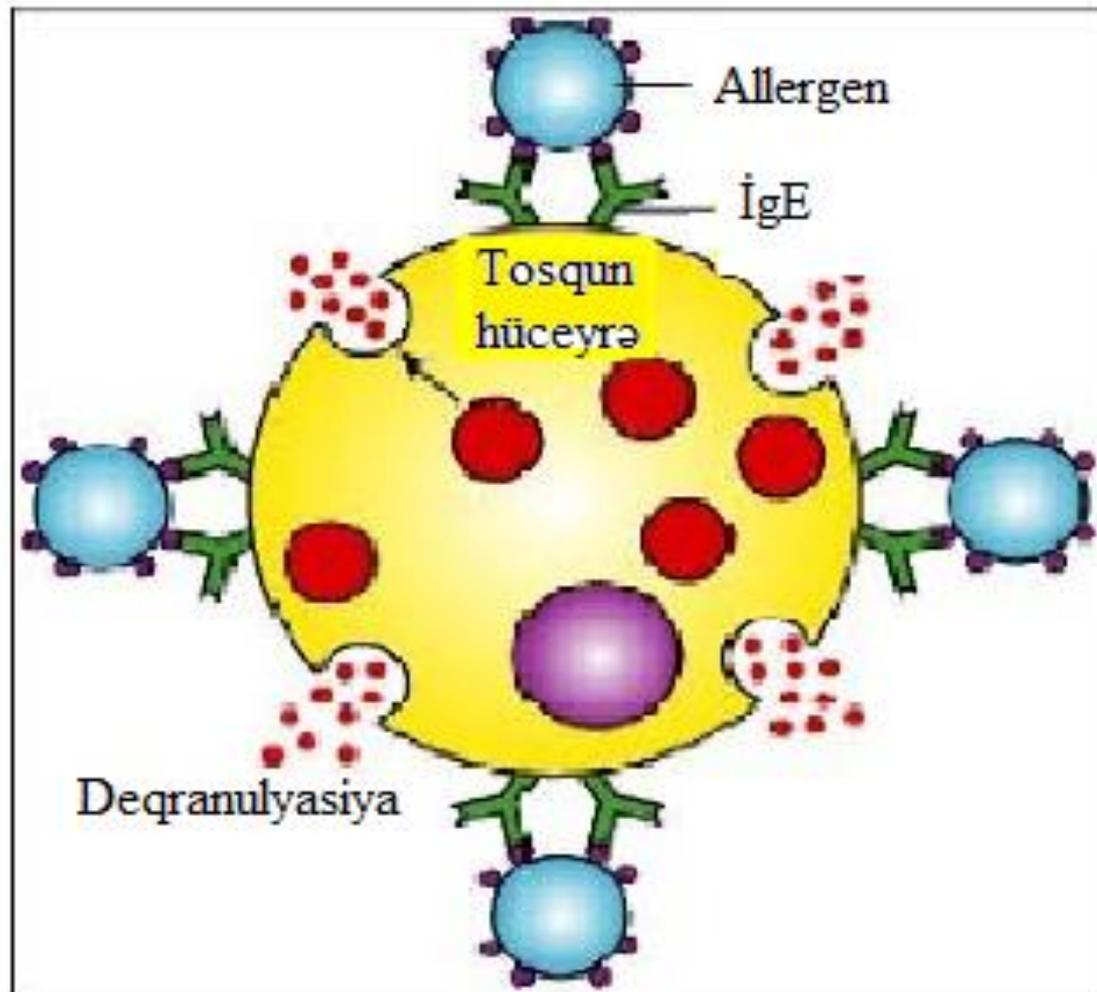
Классификация аллергических реакций (по Джеллу и Кумбсу)

Тип реакции	Фактор патогенеза	Механизм патогенеза	Клинический пример
Анафилактический (ГНТ)	IgE, IgG4	Образование рецепторного комплекса тучных клеток и базофилов. Взаимодействие эпитопа аллергена с рецепторным комплексом. Активация тучных клеток и базофилов, высвобождение медиаторов и др. БАВ	Анафилаксия. Анафилактический шок, поллинозы, крапивница
Цитотоксический (ГНТ)	IgM, IgG	Выработка цитотоксических антител, активация цитолиза	Лекарственная волчанка, аутоиммунная гемолитическая болезнь, тромбоцитопения
Иммунокомплексный (ГНТ)	IgM, IgG	Образование избытка иммунных комплексов. Отложение ИК на базальных мембранах, эндотелии и соединительнотканной строме. Активация АТКЦТ. Запуск иммунного воспаления.	Сывороточная болезнь. Системные заболевания соединительной ткани. Феномен Артюса, «легкое фермера»
Клеточно-опосредованный (ГЗТ)	Т-лимфоциты	Сенсибилизация Т-лимфоцитов. Активация макрофага. Запуск иммунного воспаления	Кожно-аллергическая проба, контактная аллергия, белковая аллергия

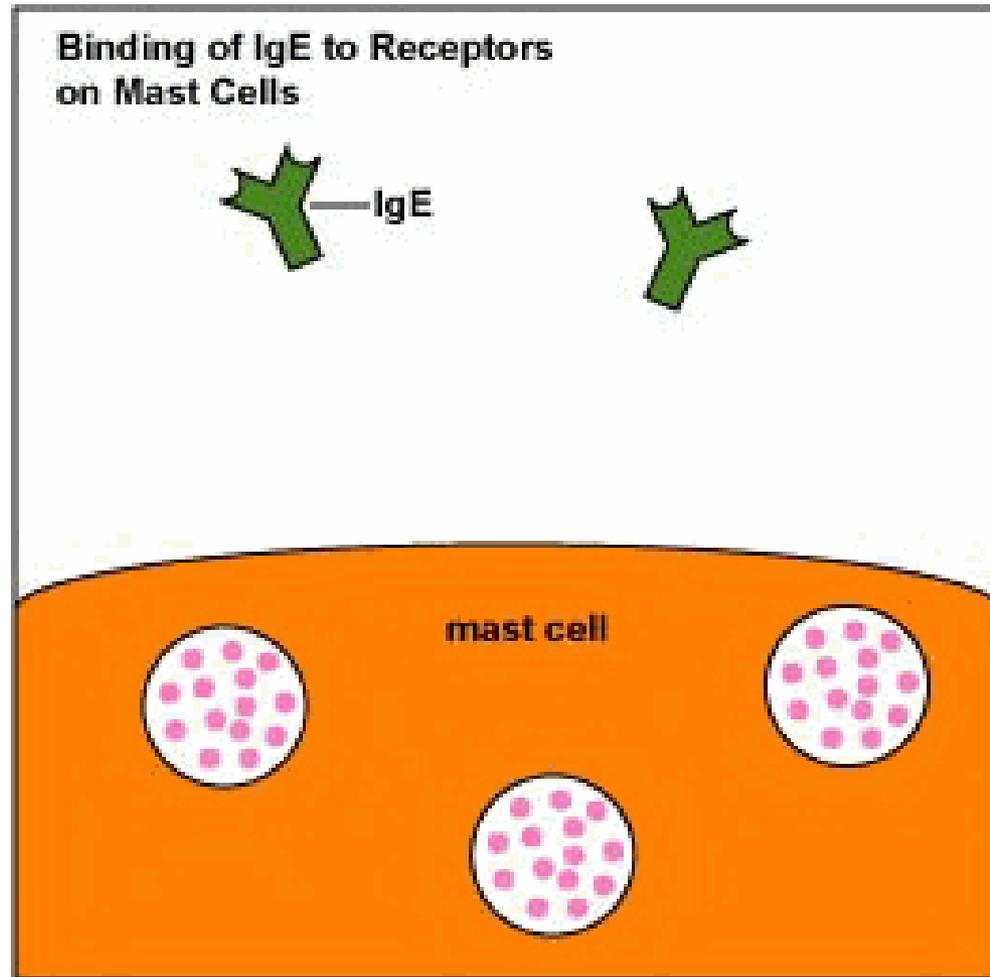
I тип реакций гиперчувствительности – анафилактический

- **Сенсибилизация** (сенсибилизирующая доза)– образование в организме специфического IgE (IgG4) на аллерген (иммунологическая стадия)
- Адсорбция IgE (IgG4) на поверхности тучных клеток и базофилов
- Повторное введение антигена (разрешающая доза) в организм и связывание его с Ig на поверхности клеток
- Дегрануляция базофилов и тучных клеток – залповый выброс биологически активных соединений (гистамин, гепарин и др.)

I тип реакций гиперчувствительности – анафилактический



I тип реакций гиперчувствительности – анафилактический



Клинические проявления I типа гиперчувствительности

- К клиническим проявлениям ГНТ I типа относятся атопия, приступы бронхиальной астмы, сенная лихорадка, крапивница, реакции на укусы ос и пчел, аллергический ринит и конъюнктивит
- Самая тяжелая форма проявления ГНТ I – *анафилаксия*, может проявляться в виде местной (на коже и слизистых) или системной (анафилактический шок) реакции.

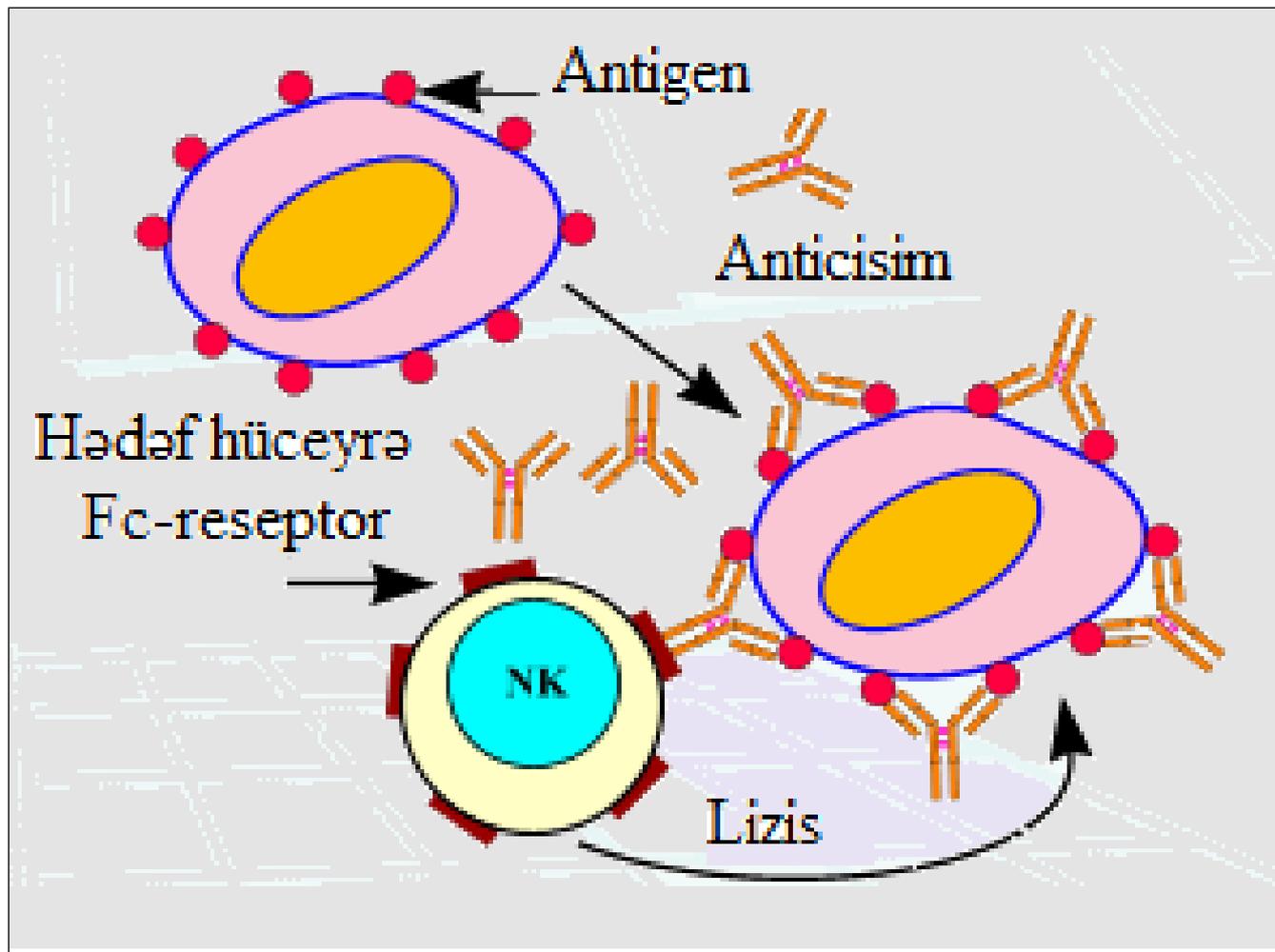
Десенсибилизация

- Установлено что введение низких доз аллергенов способно ослабить состояние гиперчувствительности, либо устранить ее.
- Это объясняется тем, что небольшое количество комплекса антиген –IgE не способно провоцировать выработку большого количества медиаторов, необходимых для развития аллергической реакции.
- Состояние противоположное сенсibilизации называется **десенсибилизация**. С ее помощью можно препятствовать развитию системной анафилаксии
- Данный метод, предложенный Безредко, применяется для предотвращения развития аллергических реакций, которые могут развиваться при введении некоторых лекарственных препаратов, в особенности иммунных сывороток.

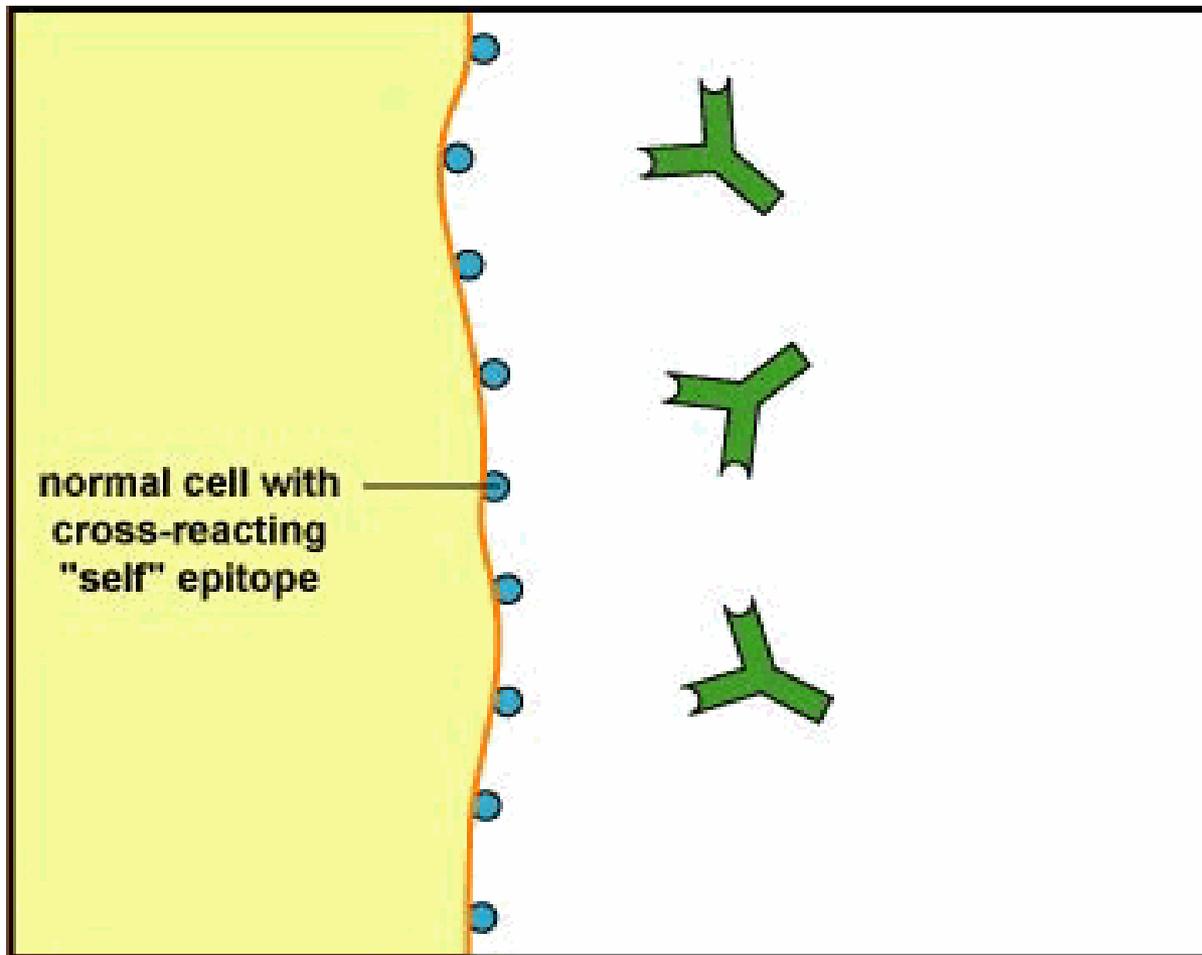
II тип реакций гиперчувствительности - цитотоксический

- Цитотоксические реакции опосредованы антителами к поверхностным антигенам клетки или к вторично связанным с клеточной поверхностью антигенам. Решающую роль в этом случае играют цитотоксические антитела, способные активировать комплемент IgG, IgM.
- Антитело (IgG) связывается с антигеном через Fab-фрагмент и через Fc-фрагмент с комплементом. Это приводит к образованию мембраноатакующего комплекса, повреждающего клеточную мембрану.
- При переливании несовместимой крови эти антитела (изогемагглютинины) вызывают цитотоксическую иммунную реакцию, которая приводит к гемолитической анемии

III тип реакций гиперчувствительности - цитотоксический



II тип реакций гиперчувствительности - ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ



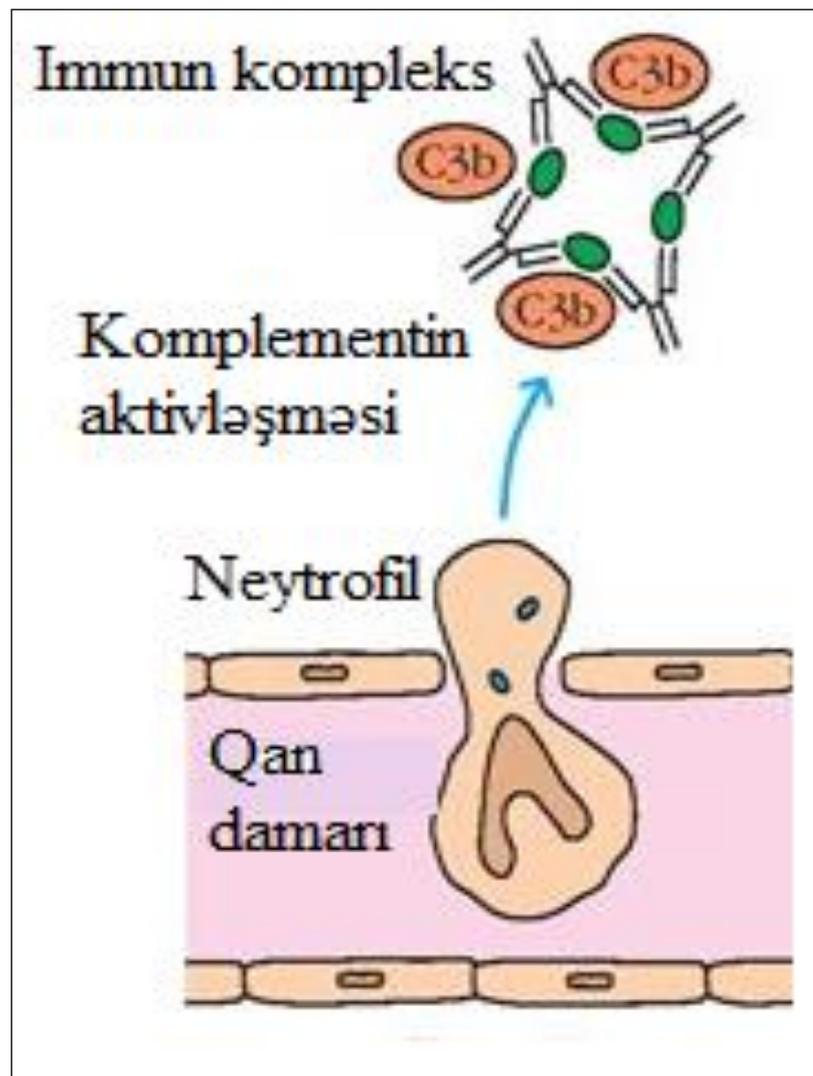
III тип реакций гиперчувствительности - ИММУНОКОМПЛЕКСНЫЙ

- Аллергические реакции III типа опосредованы иммунными комплексами, которые откладываются в тканях вызывая воспалительные процессы
- Обычно иммунные комплексы выводятся из организма через ретикулоэндотелиальную систему, но иногда они остаются в организме и вызывают повреждения в тканях.
- При персистирующих бактериальных и вирусных инфекциях иммунные комплексы могут откладываться в почечных клубочках, вызывая повреждение почек (гломерулонефрит).
- При аутоиммунных заболеваниях «собственные» антигены (аутоантигены) могут индуцировать синтез аутоантител.

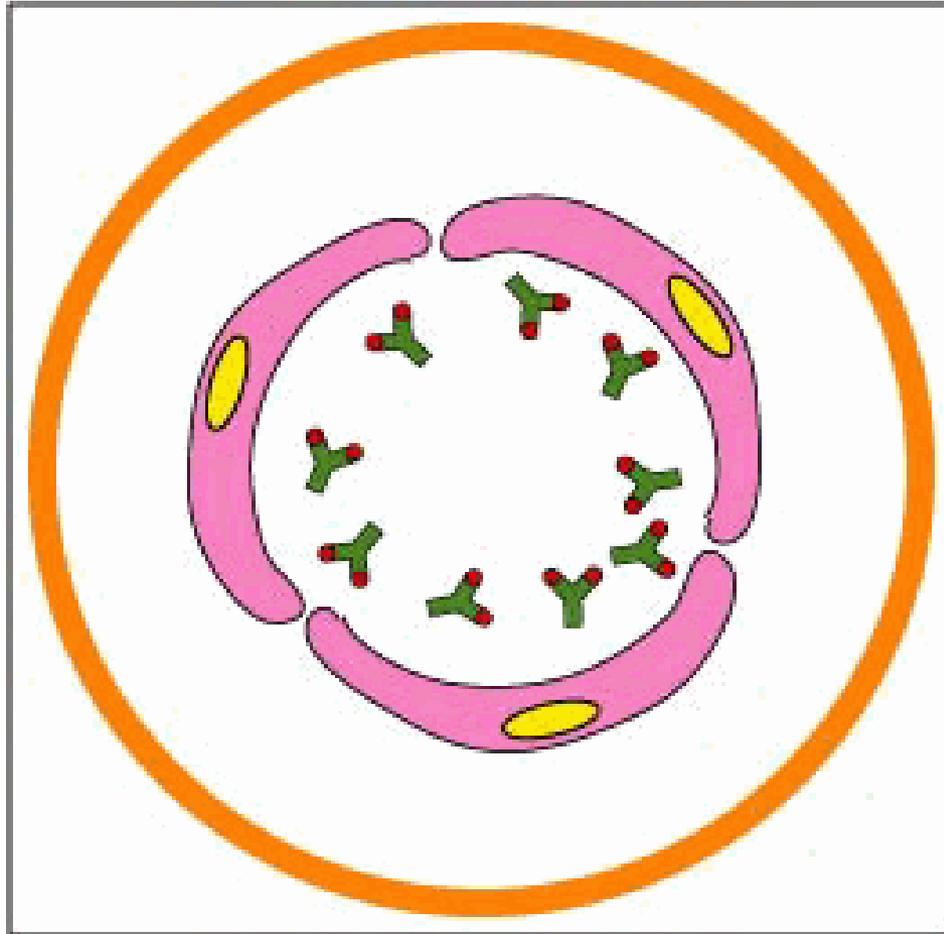
III тип реакций гиперчувствительности - ИММУНОКОМПЛЕКСНЫЙ

- В результате эти антитела связываются с соответствующими антигенами, или происходит отложение иммунных комплексов в органах, н-р, в суставах (артриты), почках (нефриты), эндотелии сосудов (васкулиты), приводящих к повреждениям
- Повреждения обусловлены тромбоцитами, нейтрофилами, комплементом. Привлекаются провоспалительные цитокины, включая ФНО и хемокины.
- Как особый случай васкулита, обусловленного иммунными комплексами, можно рассматривать *сывороточную болезнь*, которая развивается через 8-10 дней после однократного введения чужеродной сыворотки и сопровождается повышением температуры, увеличением селезенки и лимфатических узлов, лейкоцитозом и снижением активности комплемента.

III тип reaksiy гиперчувствительности - ИММУНОКОМПЛЕКСНЫЙ



III тип реакций гиперчувствительности - ИММУНОКОМПЛЕКСНЫЙ



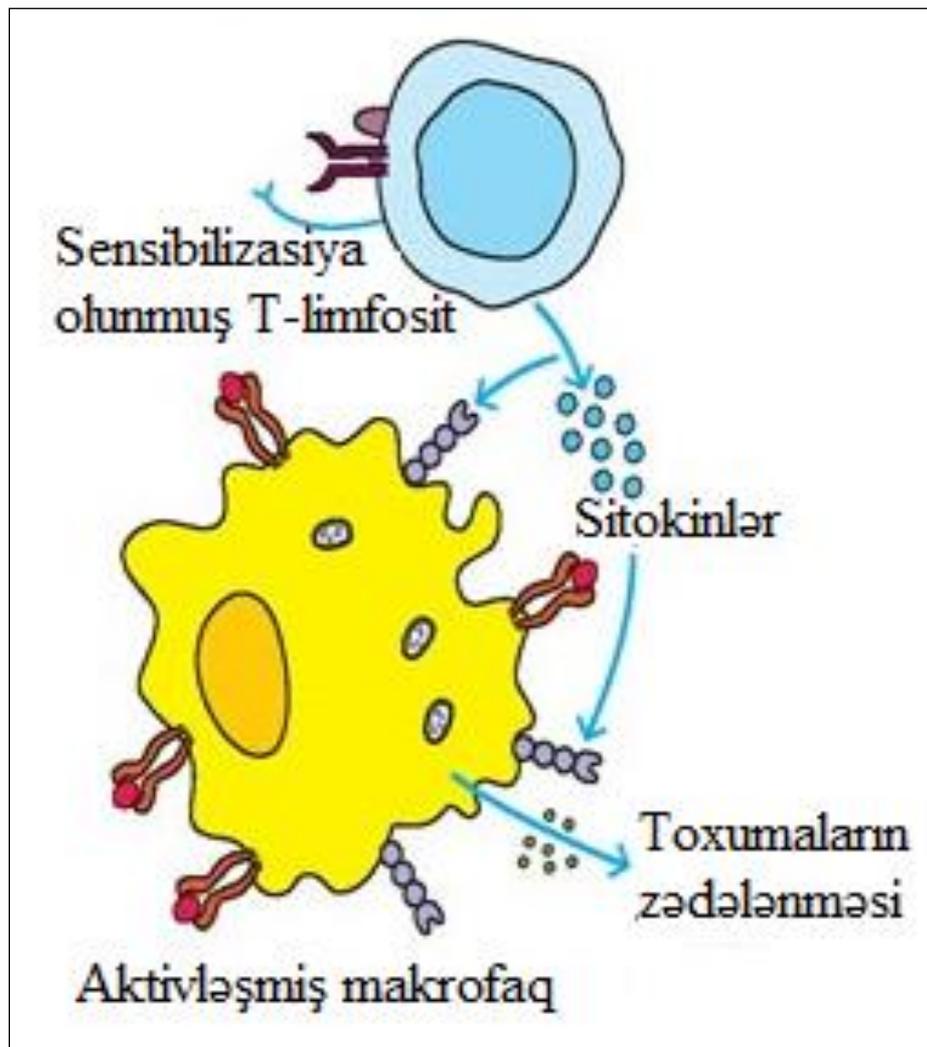
IV тип - реакции гиперчувствительности замедленного типа

- Гиперчувствительность замедленного типа обусловлена Т-хелперами (CD4) и цитотоксическими Т-лимфоцитами. ГЗТ представляет собой лимфоидно-макрофагальную реакцию, которая развивается в результате иммунной активации макрофагов под влиянием лимфоцитов, сенсibilизированных к аллергену.

IV тип реакций гиперчувствительности – клеточный

- **Сенсибилизация** – стимуляция Т-лимфоцитов на аллерген;
- Распознавание аллергена сенсибилизированными Т-лимфоцитами при его повторном введении;
- Активация макрофагов лимфоцитами (выделение IL2 и др.);
- Запуск иммунного воспаления, образование в месте введения аллергена инфильтрата или гранулемы, состоящей из лимфоцитов и макрофагов;
- Разрушение и элиминация антигена лимфоцитами и макрофагами.
- Клинический пример – кожно-аллергическая проба, контактная аллергия, белковая аллергия замедленного типа.

IV тип - реакції гіперчувствительності замедленого типу



Методы аллергодиагностики

- Активация клеточного звена иммунитета при некоторых инфекционных заболеваниях приводит к развитию реакций гиперчувствительности к возбудителям и их токсинам. На этом феномене основываются аллергические тесты, используемые при диагностике инфекционных заболеваний.
- Аллерготесты позволяют выявить повышенную чувствительность организма.
- С этой целью используются **аллергены**, которые получают из фильтрата очищенной бульонной культуры соответствующих микроорганизмов, а иногда из убитых микроорганизмов или их антигенов.

Аллергические тесты

- Аллерготесты специфичны, но могут быть положительными и у людей, перенесших заболевание или у привитых.
- Аллерготесты, используемые при иммунодиагностике подразделяют на *in vivo* и *in vitro* тесты
- К *in vivo* тестам относятся кожные аллергические пробы. Их проводят на обследуемых пациентах для определения гиперчувствительности немедленного и замедленного типов

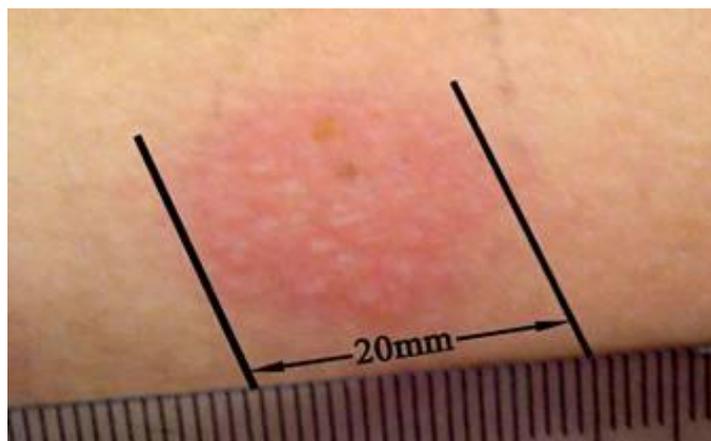
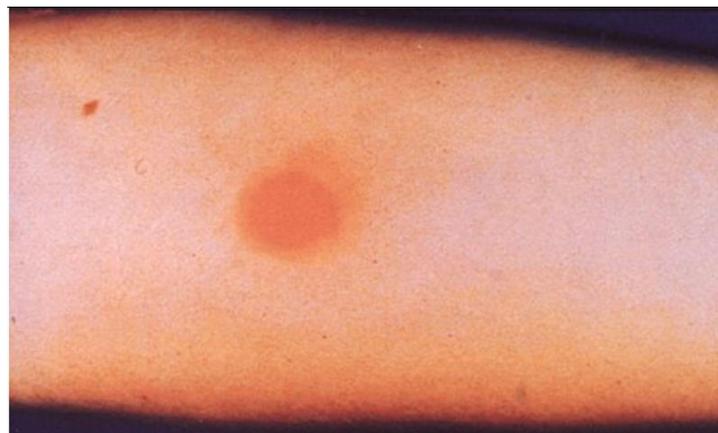
Кожные аллергические тесты

- Аллергены обычно вводят внутрикожно или втиранием на поверхность скарифицированной кожи.
- **При внутрикожном введении** 0,1 мл аллергена вводят в кожу специальной иглой. В случае положительной реакции, через 24-48 часов в месте введения аллергена образуется папула (покраснение и припухлость) (ГЗТ).
- Диаметр папулы указывает на интенсивность реакции

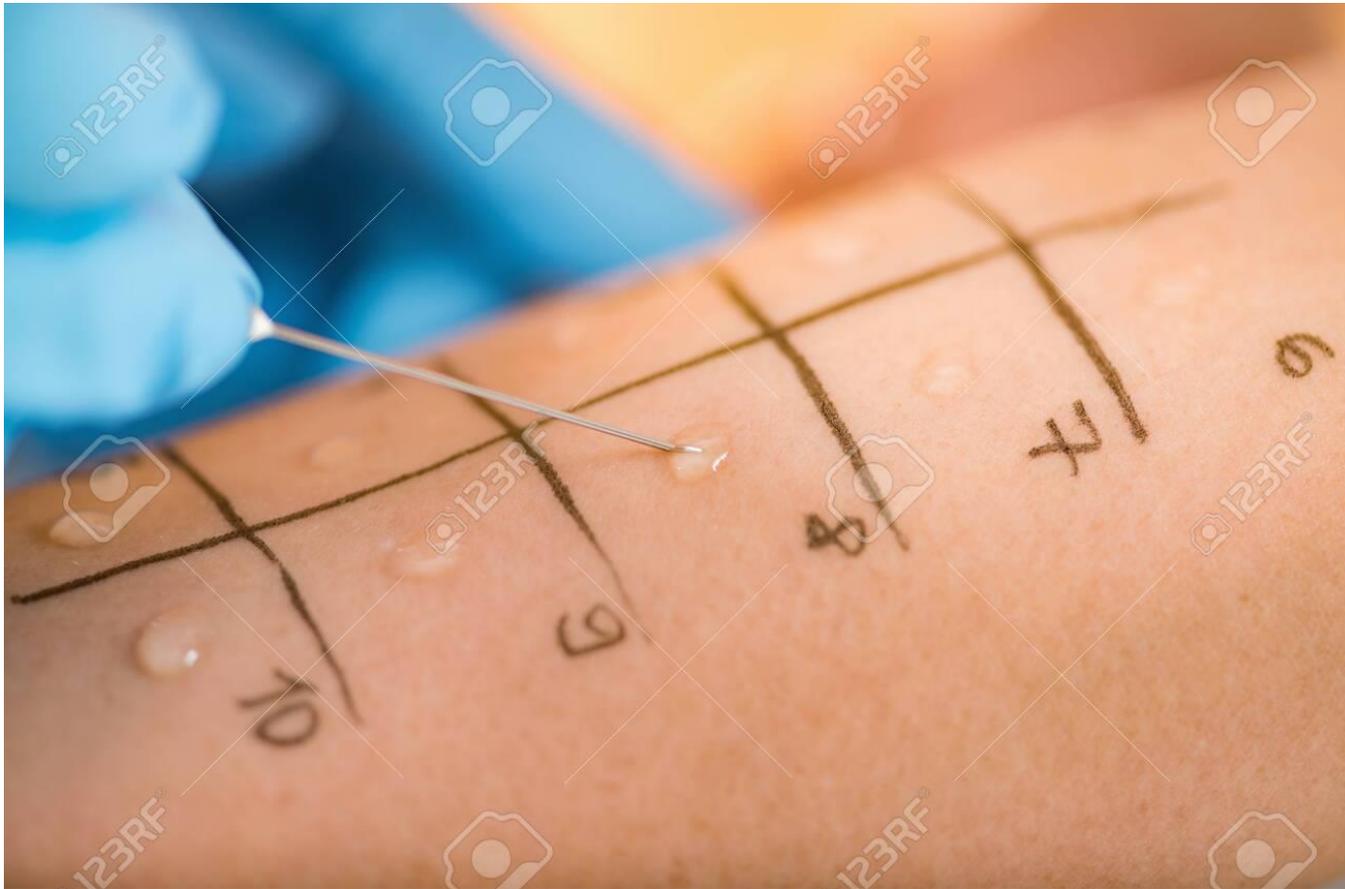
Кожные аллергические тесты

- Скарификационный метод- на чистую кожу предплечья наносят капли аллергенов немикробного происхождения (пыльца растений бытовая пыль и пр.), через них одноразовым скарификатором наносят царапины (размером 5 мм).
- Прик- тест -на чистую кожу предплечья наносят капли аллергенов, через них одноразовыми иглами делают легкие уколы (глубиной 1 мм).
- Результат реакции оценивают через 20 минут (ГНТ) и через 24-48 часов (ГЗТ).
- Кожные аллергические тесты используется при диагностике туберкулеза (тест Манту), бруцеллеза (тест Бюрне), лепры (тест Мицуды), туляремии, актиномикоза и др.

Кожно-аллергические пробы



Кожно-аллергические пробы (прик-тест)

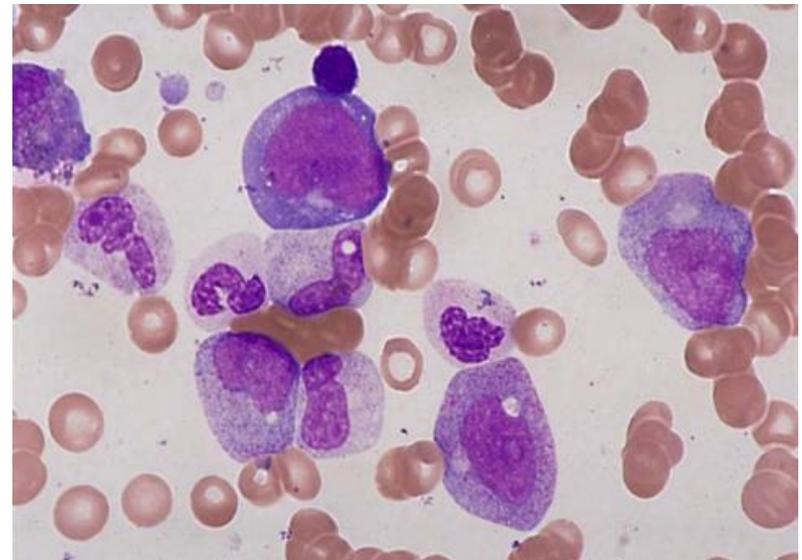


Аллергические тесты *in vitro*

- Тесты *in vitro* достаточно чувствительны, безопасны для пациентов и позволяют количественно оценить уровень аллергизации организма.
- В настоящее время существуют различные тесты для оценки сенсibilизации организма.
- Эти тесты основываются на реакциях с Т- и В-лимфоцитами, тканевыми базофилами, на обнаружении в сыворотке крови специфических IgE

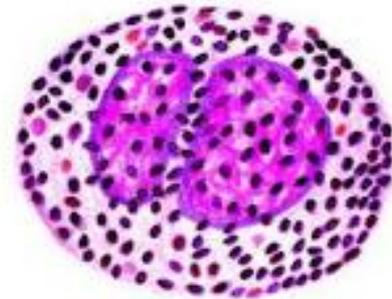
Реакция бласттрансформации лимфоцитов

- **Реакция бласттрансформации лимфоцитов** основана на превращении лимфоцитов периферической крови в делящиеся клетки под воздействием специфических и неспецифических митогенов.
- К специфическим митогенам относятся аллергены, сенсibiliзирующие организм, к неспецифическим относятся конканавалин А, фитогемагглютинин и липополисахарид.
- Для проведения реакции лимфоциты периферической крови пациента инкубируют с митогенами в течение 24-48 при 37⁰С
- **Процент бластных клеток** подсчитывают в мазках , приготовленных из данной смеси и окрашенных по Гимзе



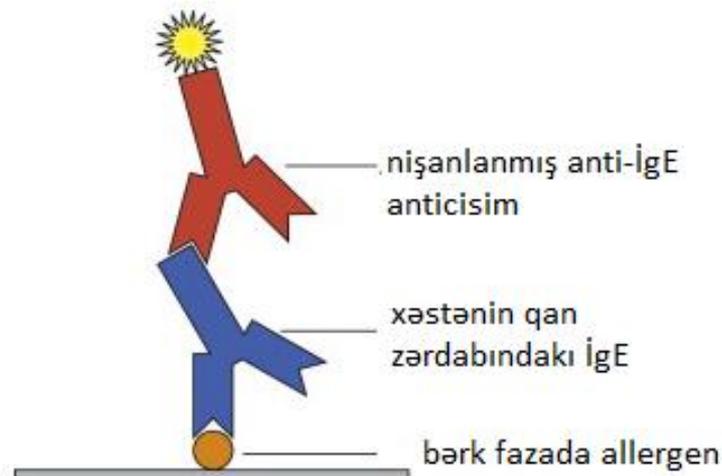
Тест дегрануляции базофилов

- Тест основывается на дегрануляции под действием аллергена базофилов, предварительно сенсibilизированных цитофильными IgE
- Для проведения реакции совместно инкубируют перитонеальные базофилы мышей, сыворотку больного и аллерген
- Затем проводится подсчет дегранулированных базофилов в препаратах, приготовленных из инкубированной смеси и окрашенных нейтральным красным и сравнение результатов с контролем.



Определение IgE *in vitro*

- Определение специфического IgE в сыворотке крови используется при диагностике реакций гиперчувствительности немедленного типа.
- Определение IgE проводится с использованием меченых антител.
- При использовании радиоиммунологического метода реакция называется **радиоаллергосорбентным тестом (RAST)**
- Но из за того что наиболее часто с этой целью используют ИФА и РИФ, тест получил название **энзим-аллергосорбентный тест (EAST):** проводят инкубирование сорбированного на твердом носителе антигена с сывороткой крови пациента, затем добавляют меченую ферментом сыворотку против IgE. Присутствующие в сыворотке крови больного специфические IgE, связанные с сорбированным аллергеном, также связываются с меченой антисывороткой. Оценка реакции проводится так же как и при иммуноферментном анализе



Иммунопрофилактика и иммунотерапия

- Мероприятия по иммунопрофилактике и иммунотерапии направлены на создание **активного или пассивного иммунитета** к возбудителям инфекционных заболеваний и используются для предотвращения развития данных заболеваний
- Индукция активного или пассивного иммунитета в организме развивается в результате **иммунизации**, проводимой с целью защиты от инфекционных заболеваний.

Вакцины

- **Вакцины** - иммунобиологические препараты, предназначенные для активной иммунопрофилактики, то есть для создания активной специфической невосприимчивости организма
- **Вакцины** представляют собой сложный иммунобиологический препарат, в состав которых наряду со специфическим антигеном, исходя из природы и лекарственной формы препарата, включают стабилизаторы, консерванты, адъюванты.

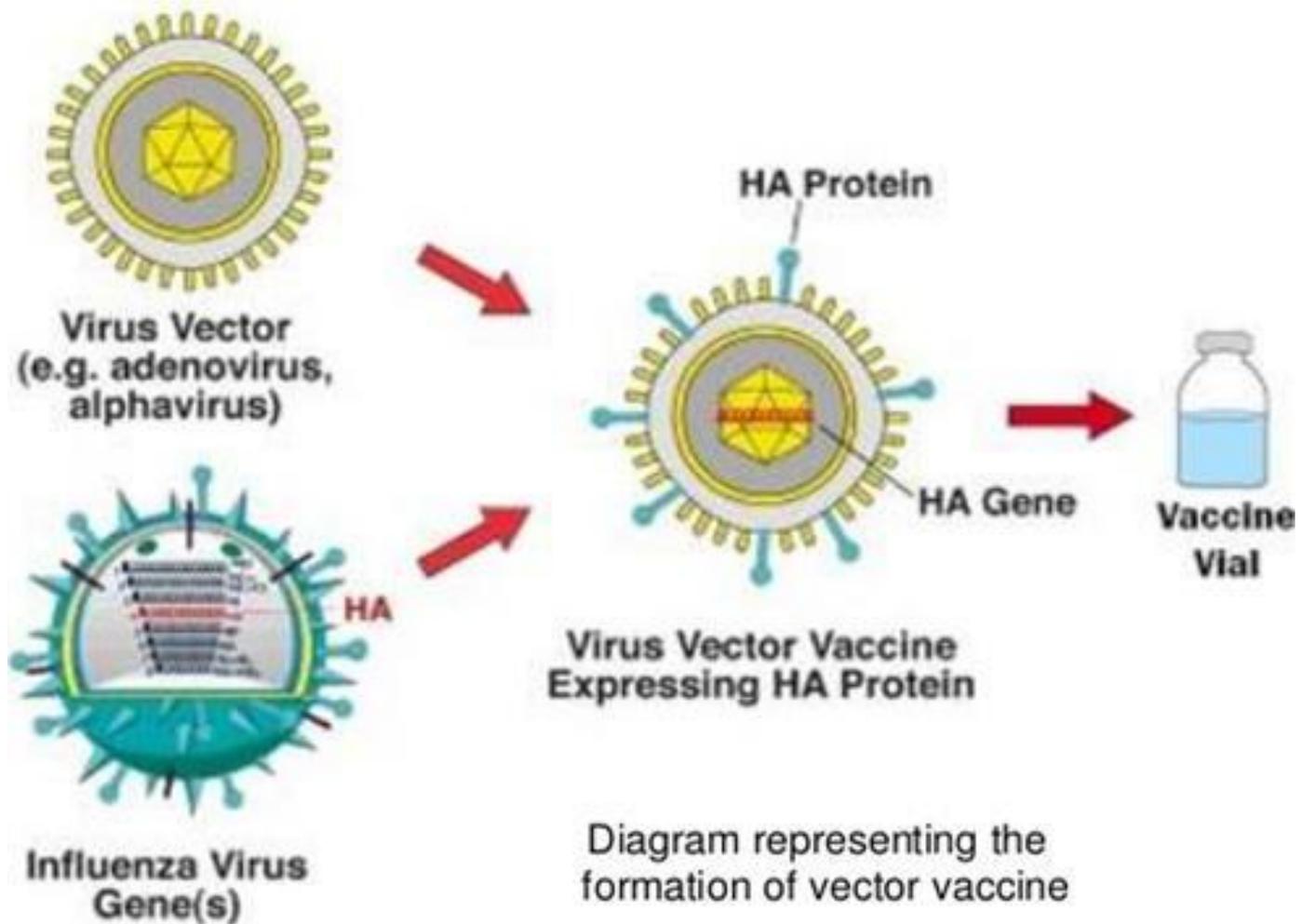
Инактивированные вакцины (убитые)

- Инактивированные (убитые) вакцины включают убитые культуры патогенных бактерий или вирусов (цельноклеточные, цельновирионные вакцины) или же извлеченные из патогенных микробов (иногда вакцинных штаммов) комплексы, содержащие в своем составе протективные антигены (субклеточные, субвирионные вакцины).
- Для инактивации применяют формальдегид, спирт, фенол, температурное воздействие, УФ-облучение, ионизирующую радиацию. Для выделения антигенных комплексов применяют трихлоруксусную кислоту, фенол, ферменты, изоэлектрическое осаждение, ультрацентрифугирование, ультрафильтрацию, хроматографию и другие методы.

Живые (с ослабленной вирулентностью, аттенуированные) вакцины

- **Живые вакцины** – это препараты, в которых действующим началом являются ослабленные, потерявшие вирулентность штаммы патогенных микробов (бактерий, вирусов), получившие название *аттенуированных штаммов*.
- В качестве живых вакцин можно использовать дивергентные штаммы, т. е. непатогенные для человека микробы, имеющие общие протективные антигены с патогенными для человека возбудителями. К дивергентным вакцинам относят вакцину БЦЖ, вакцины против бешенства, кори .
- **К векторным вакцинам** относятся живые вакцины, полученные генно-инженерным способом – они содержат непатогенные для человека рекомбинантные штаммы, несущие гены протективных антигенов патогенных микробов и способных при введении в организм человека размножаться, синтезировать специфический антиген и, таким образом, создавать иммунитет к возбудителю. В качестве векторов чаще используют вирус осповакцины, непатогенные штаммы сальмонелл и другие микробы.

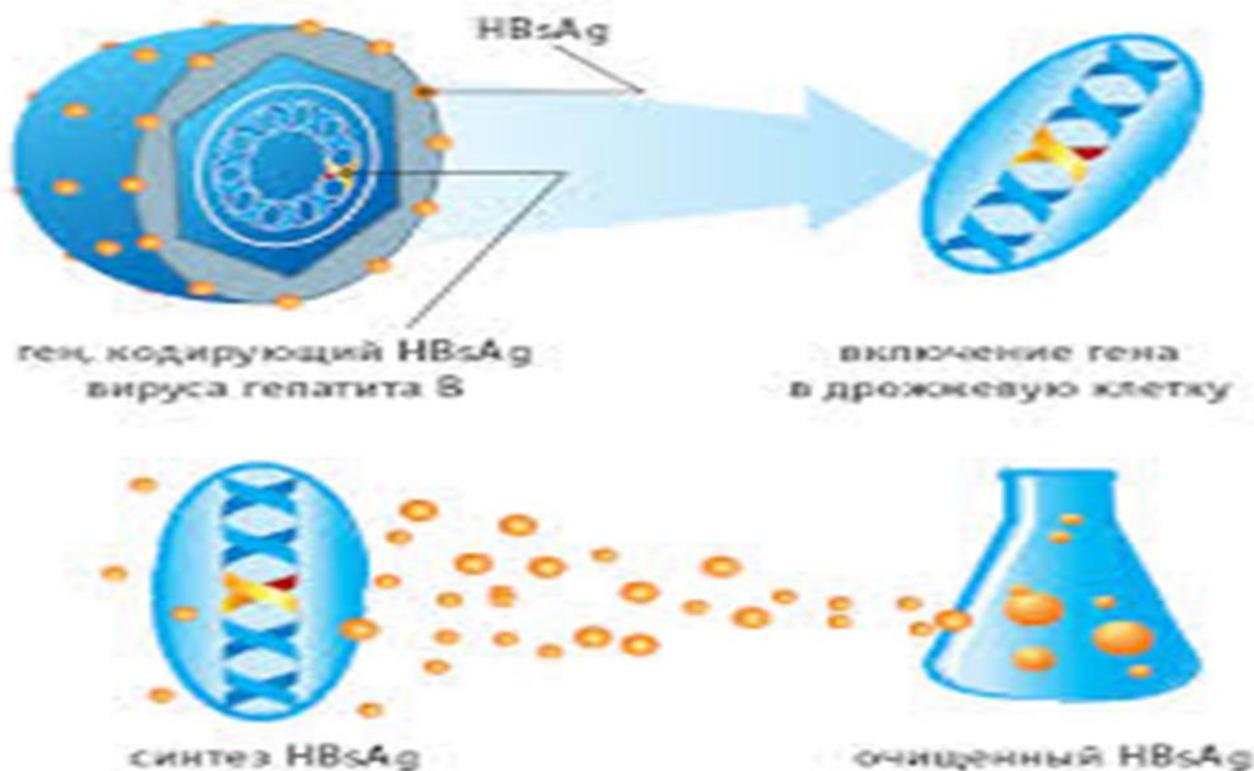
Получение векторных вакцин



Химические вакцины

- Развитие генной инженерии, создание рекомбинантных бактерий и вирусов, способных синтезировать молекулы несвойственных им антигенов, открыли возможности получения молекулярных антигенов в процессе культивирования **рекомбинантных штаммов**. Таким образом можно получить антигены ВИЧ, вирусных гепатитов, малярии, кори, полиомиелита, гриппа, туляремии, бруцеллеза, сифилиса и других возбудителей болезней.
- В медицинской практике уже используется молекулярная вакцина против гепатита В, полученная из антигена вируса, продуцируемого рекомбинантным штаммом дрожжей.

Схема приготовления рекомбинантной вакцины содержащей HBs-антиген вируса гепатита В



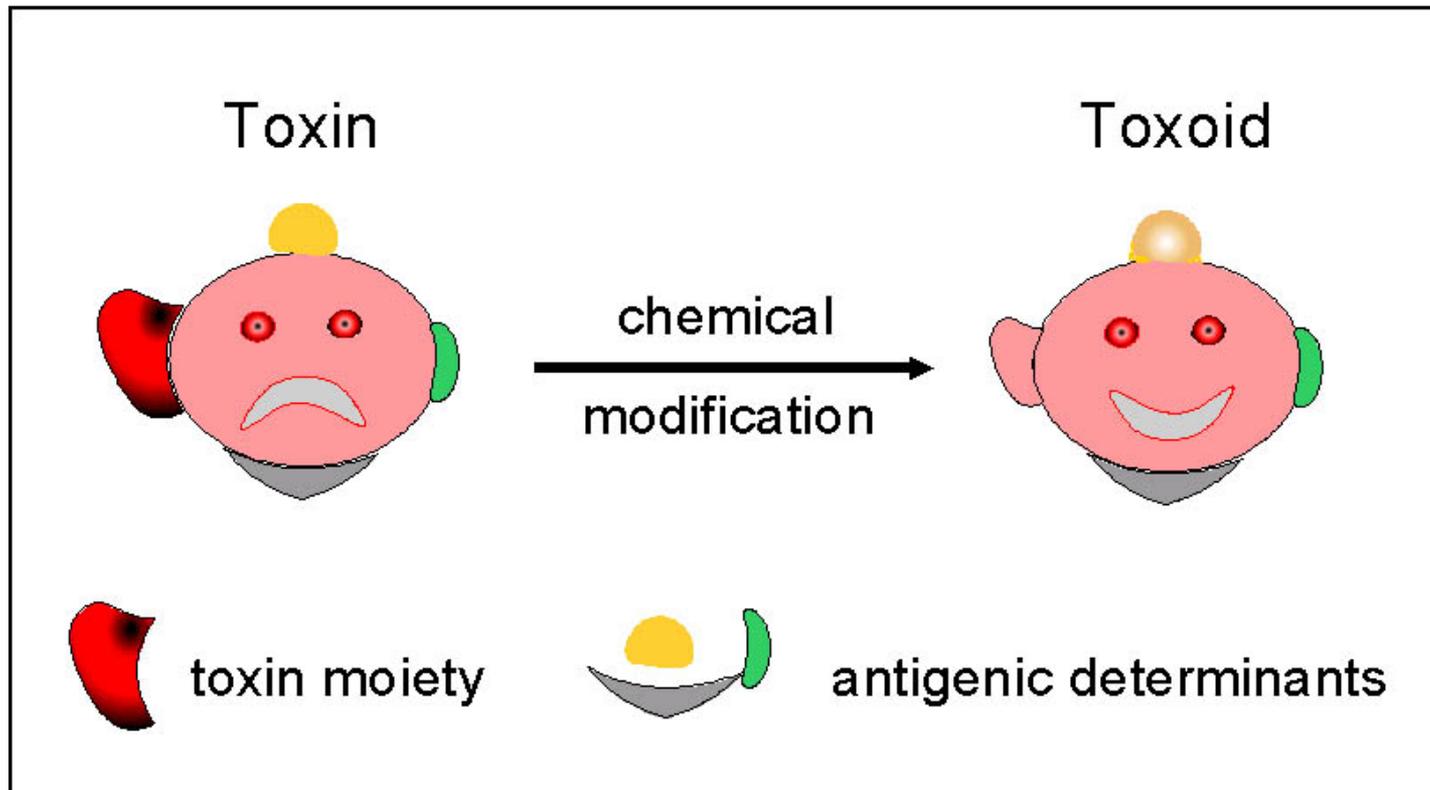
Синтетические вакцины

- Молекулы антигенов или их эпитопы сами по себе обладают низкой иммуногенностью, поэтому ведутся поиски повышения иммуногенности молекулярных антигенов путем искусственного укрупнения их молекул за счет химической или физико-химической связи (сшивки) антигена или его детерминанты с полимерными крупномолекулярными безвредными для организма носителями (типа поливинилпирролидона и других полимеров), который бы играл роль «шлеппера» и адъюванта.
- Таким образом, искусственно создается комплекс, состоящий из: антигена или его детерминанта + полимерный носитель + адъювант. Благодаря такой композиции антигены могут длительно сохраняться в организме и легче адгезироваться иммунокомпетентными клетками. Вакцины, созданные по такому принципу, получили название **синтетических**. Проблема создания синтетических вакцин довольно сложная, но она активно разрабатывается.
- Так, создана вакцина против гриппа с использованием полимера полиоксидония, а также ряд других экспериментальных вакцин.

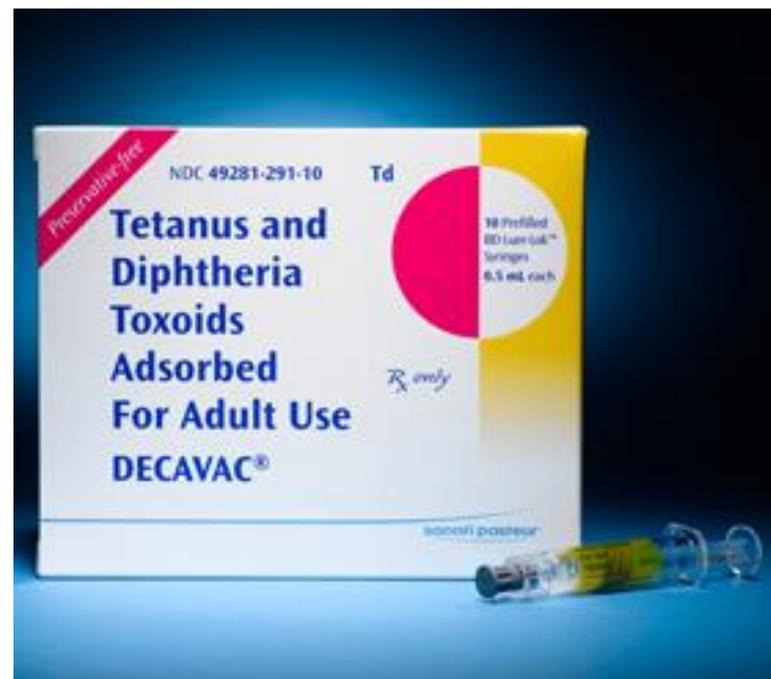
Анатоксины или токсоидные вакцины

- Анатоксины (токсоиды) являются примером молекулярных вакцин: дифтерийный, столбнячный, ботулинический, гангренозный (перфрингенс, нови и др.), стафилококковый, холерный анатоксины.
- Анатоксины получают путем воздействия 0,4% формальдегида и тепла (37°C) в течение 3–4 нед. на токсин, превращая его в нетоксичную, но сохраняющую специфическую антигенность форму. К очищенному и концентрированному анатоксину для повышения его иммуногенности добавляют адъюванты, обычно сорбенты — гели $Al(OH)_3$ и $Al(PO_4)$.

Анатоксины или токсодные вакцины



Наиболее часто применяемые токсоидные вакцины



Адьюванты

- Для усиления иммуногенности вакцин применяют адьюванты (от лат. *adjuvant* — помощник). Большинство адьювантов являются чужеродными для организма веществами, имеют различный химический состав и происхождение; сходство их состоит в том, что все они способны усиливать иммуногенность антигена.
- Действие адьювантов сводится к укрупнению молекулы антигена (сорбция, химическая связь с полимерным носителем), в результате антиген лучше захватывается и активнее представляется фагоцитирующими и другими иммунокомпетентными клетками.
- Кроме того, адьюванты вызывают на месте инъекции воспалительную реакцию с образованием фиброзной капсулы, в результате чего антиген депонируется на месте инъекции и, поступая из депо, длительное время действует по принципу суммации антигенных раздражений (ревакцинирующий эффект).

Наиболее часто используемые адъюванты

- В качестве адъювантов используют: неорганические (фосфаты алюминия и кальция, хлористый кальций и др.) и органические (агар, глицерол, протамины и др.) вещества.
- В настоящее время наиболее широко применяют:
- **Неполный адъювант Фрейнда** - представляет собой водно-жировую эмульсию, содержащую вазелиновое масло, ланолин и эмульгатор. Депонирует антиген и усиливает его захват фагоцитами.
Полный адъювант Фрейнда - включает в себя, кроме вышеперечисленных компонентов, БЦЖ или мурамилдипептид. Это позволяет ему дополнительно активировать макрофаги и костимулировать Т-клетки
- **Алюминиевые квасцы $Al(OH)_3$** (гидроксид алюминия), который благодаря высокой способности к сорбции выполняет функцию антигенного депо, а также неспецифически усиливает фагоцитоз.

Иммунопрофилактика или вакцинация

- Осуществляется в соответствии с плановыми и эпидемиологическими указаниями.
- В каждой стране действует *календарь профилактических прививок* и осуществляется контроль за проведением прививок.
- Обязательное проведение таких прививок регулируется законом.

Иммунные сыворотки

- К сывороточным иммунным препаратам относят **иммунные сыворотки и иммуноглобулины**. Эти препараты обеспечивают пассивную невосприимчивость к возбудителям инфекционных болезней.
- Механизм действия иммунных препаратов сводится к **нейтрализации** соответствующих микроорганизмов или их токсинов антителами, входящими в состав этих препаратов.

Иммунные сыворотки, применяемые с целью иммунопрофилактики и иммунотерапии

- На основе антител создано множество иммунобиологических препаратов, применяемых для профилактики (серофилактика) и терапии (серотерапия)
- Иммунные сыворотки получают путем *гипериммунизации* (т. е. многократной интенсивной иммунизации) животных (лошади, ослы, иногда кролики) специфическим антигеном с последующим, в период максимального антителообразования, кровопусканием и выделением из крови иммунной сыворотки.
- Иммунные сыворотки, полученные от животных, называют *гетерогенными*, так как они содержат чужеродные для человека сывороточные белки
- Для получения *гомологичных* иммунных сывороток используют сыворотки переболевших людей или специально иммунизированных людей-доноров. либо сыворотки из плацентарной, а также абортной крови, содержащие антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней вследствие вакцинации или перенесенного заболевания

Применение иммунных сывороток

- Особенно эффективно применение сывороточных препаратов для лечения токсинемических инфекций (столбняк, ботулизм, дифтерия, газовая гангрена), а также для лечения бактериальных и вирусных инфекций (корь, краснуха, чума, сибирская язва и др.) в комплексе с другими способами лечения.
- С лечебной целью сывороточные препараты вводят как можно раньше внутримышечно (иногда внутривенно) в больших дозах.
- Профилактические дозы сывороточных препаратов значительно меньше лечебных, а препараты вводят внутримышечно обычно лицам, имевшим контакт с больным или иным источником инфекции, для создания пассивного иммунитета. При введении сывороточных препаратов иммунитет наступает через несколько часов и сохраняется в течение нескольких недель.

Диагностические иммунные сыворотки

- *Диагностические иммунные сыворотки* используются для идентификации микроорганизмов в серологических реакциях.
- Эти сыворотки получают путем гипериммунизации лабораторных животных (преимущественно кроликов) культурами микроорганизмов или их антигенами.
- Наиболее часто используется диагностическая сыворотка крови кроликов, поскольку она содержит высокие титры специфических антител