

# МИКРОБНЫЙ РОМАН

**Часть 2: Иммунология**

**МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ**

*ОТ СТУДЕНТОВ СТУДЕНТАМ  
С ЛЮБОВЬЮ  
(И НАВЕРНЯКА С КУЧЕЙ ОШИБОК)*

БГМУ, 2018  
Редакция первая



## Предисловие

– Не бейте меня по голове, это мое больное место!

– Это ваше пустое место!

Толчком к созданию этого студенческого методического пособия послужила нехватка литературных и электронных источников, которые бы в довольно сжатом виде содержали весь или почти весь требуемый от студентов материал. Все предлагаемые для изучения пособия либо перегружены откровенно лишней для студента лечебного (или педиатрического) факультета информацией, либо имеют существенные пробелы в тех или иных областях, изучаемых в соответствии с учебной программой БГМУ.

В результате значительная часть времени затрачивается на поиск подходящих источников, а сама подготовка (если она основательна) предполагает постоянное смещение фокуса с одного источника на другой.

При создании предлагаемого вашему вниманию пособия акцент делался на лаконичном, но при этом достаточно полном изложении именно той информации, которая необходима для подготовки к занятиям, коллоквиумам и экзамену. С целью упрощения восприятия и запоминания в пособии широко используются списки, таблицы и схемы. Некоторая не слишком важная, но особенно непростая для запоминания информация сознательно опущена.

К сожалению, обратной стороной любой компиляции (и особенно той, что выполняется студентами) являются неизбежные ошибки, неточности и потеря значимой информации. Это пособие никем не рецензировалось, поэтому мы призываем относиться ко всему изложенному с толикой подозрения и при любых сомнениях обращаться к авторитетным источникам.

Обращаем ваше внимание на то, что содержание интерактивно: по нажатию на название вопроса осуществляется переход на соответствующую страницу.

Свои замечания можно присылать на электронную почту: [violinm@yandex.ru](mailto:violinm@yandex.ru).

## Составители

Белорусский государственный медицинский университет, выпуск (надеемся) 2021 г.:

**Лера Кисейка** (лечебный факультет).

## Основные материалы

1. Курс лекций по иммунологии доцента кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ Шабан Ж. Г.

2. Новиков Д. К., Новиков П. Д. Клиническая иммунология : учеб. пособие / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков. – Витебск: ВГМУ, 2006. – 392 с.

3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология : учеб. для вузов / О. К. Поздеев; под ред. В. И. Покровского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2001 – 768 с.

4. Иммунология : учебник / А. А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.

5. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб : в 2 т. / под ред. В. В. Зверева – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Т. 1 – 448 с.

6. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для студентов медицинских вузов / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 236 с.: ил.

7. Микробиология, вирусология, иммунология : практикум для лечебного и педиатрического факультетов / Т. А. Канашкова [и др.]. – Минск: БГМУ, 2017. – 120 с.

8. ЭУМК кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ.

## СОДЕРЖАНИЕ

43. Иммунология. Критические периоды развития иммунной системы.....	5
44. Иммунная система организма. Имунокомпетентные клетки.....	7
45. Молекулы иммунной системы. Адгезивные молекулы.....	9
46. Молекулы I, II, III классов ГКГС. CD-номенклатура мембранных молекул.....	10
47. Цитокины. Колонистимулирующие факторы.....	12
48. Иммунная система плода. Материнский иммунитет.....	14
49. Иммунитет. Система врожденного иммунитета.....	16
50. Система комплемента.....	19
51. Регуляция активации системы комплемента. Методы определения активности.....	22
52. Фагоциты. Фагоцитарная реакция.....	23
53. Методы изучения фагоцитоза.....	25
54. Антигенпрезентирующие клетки. Дендритные клетки. Естественные киллеры.....	26
55. Иммунный ответ организма. Антигены.....	28
56. Антигены микроорганизмов. Антигенная структура бактерий.....	30
57. В-лимфоциты. Методы определения количества и функциональной активности.....	31
58. Гуморальный иммунный ответ.....	33
59. Антитела (иммуноглобулины).....	36
60. Методы определения концентрации иммуноглобулинов.....	39
61. Контроль биосинтеза иммуноглобулинов. Взаимодействие антител с антигенами.....	41
62. Серологический метод исследования.....	42
63. Реакция агглютинации.....	44
64. Реакция пассивной гемагглютинации. Реакции латекс- и коагглютинации.....	45
65. Реакция иммунопреципитации.....	47
66. Реакции иммунного лизиса. Реакция связывания комплемента.....	49
67. Реакции твердофазного иммунологического анализа. РИФ, РИА, ИЭМ.....	50
68. Иммуноферментный анализ. Иммуноблоттинг.....	52
69. Т-лимфоциты. Методы определения количества и функциональной активности.....	54
70. Т-клеточный рецептор. Т-зависимые антигены. Активация Т-лимфоцитов.....	56
71. Клеточный иммунный ответ.....	57
72. Трансплантационный иммунитет. Иммунологическая толерантность.....	59
73. Противоинфекционный иммунитет.....	61
74. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний.....	63
75. Ассоциированные вакцины. Побочные явления при вакцинации.....	66
76. Поствакцинальный иммунитет. Календарь прививок.....	68
77. Пассивная иммунопрофилактика и иммунотерапия. Моноклональные антитела.....	70
78. Коллективный иммунитет к инфекционным заболеваниям.....	72
79. Аллергология. Аллергены и аллергия.....	73
80. Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ). Медиаторный тип (I) ГНТ.....	74
81. Цитотоксический (II) тип ГНТ. Имунокомплексный (III) тип ГНТ.....	76
82. Гиперчувствительность замедленного (IV) типа.....	78
83. Лекарственная аллергия.....	80
84. Пищевая аллергия. Парааллергия. Идиосинкразия.....	81
85. Аллергологический метод исследования.....	82
86-90. Вопросы клинической иммунологии не рассматриваются в данном пособии	
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Национальный календарь профилактических прививок РБ.....	84

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – антиген  
АД – артериальное давление  
АК – аминокислота  
АПК – антигенпрезентирующие клетки  
АТ – антитело  
БАВ – биологически-активные вещества  
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека  
ВКР – В-клеточный рецептор  
ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа  
ГИО – гуморальный иммунный ответ  
ГКГС – главный комплекс гистосовместимости  
ГНТ – гиперчувствительность немедленного типа  
ИЛ – интерлейкин  
ИО – иммунный ответ  
ИППП – инфекции, передающиеся половым путем  
ИС – иммунная система  
ИТ – иммунологическая толерантность  
ИФА – иммуноферментный анализ  
ИЭМ – иммунная электронная микроскопия  
КИО – клеточный иммунный ответ  
ККМ – красный костный мозг  
КСФ – колониестимулирующий фактор  
ЛПС – липополисахарид  
л/у – лимфоузлы  
ПС – полисахарид  
РА – реакция агглютинации  
РИА – радиоиммунный анализ  
РИФ – реакция иммунофлюоресценции  
РНГА – реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации  
РОНГА – реакция обратной непрямой (пассивной) гемагглютинации  
РП – реакция преципитации  
РПГА – реакция пассивной (непрямой) гемагглютинации  
СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита  
СТГ – соматотропный гормон  
ТКР – Т-клеточный рецептор  
ТТГ – тиреотропный гормон  
ФНО – фактор некроза опухоли  
ЭПР – эндоплазматический ретикулум

## 43. Иммунология: определение, задачи, методы, история развития, направления. Роль иммунологии в деятельности врача. Критические периоды внутриутробного и постнатального развития иммунной системы

### 43.1. Иммунология: история, определение, методы, задачи

**Иммунология** – это наука, изучающая строение, функционирование и эволюцию иммунной системы (ИС), а также способы и механизмы защиты организма от генетически чужеродных веществ.

В задачи иммунологии входит изучение:

- структуры молекул, клеток и органов ИС;
- особенностей развития и функционирования ИС;
- роли ИС в возникновении и течение заболеваний;
- методов иммунодиагностики, иммунотерапии и иммунопрофилактики.

**Историю** развития иммунологии можно условно разделить на несколько этапов:

1) **эмпирический** (протоиммунология):

- первое письменное свидетельство, относящееся к иммунологии – сообщение о применении *вариоляции* для профилактики натуральной оспы (1 тыс. лет до н.э., Китай);
- наблюдения о том, что люди, перенесшие некоторые «заразные» болезни, повторно ими не заболели;
- *прививка* коровьей оспы для профилактики натуральной оспы (1796 г., Дженнер, Англия);

2) **инфекционный** (рождение иммунологии – 1880 г.):

- *Пастер* научно обосновал метод Дженнера, разработал метод создания живых вакцин – *аттенуацию* (ослабление возбудителя) и ввел понятие *иммунитета*;
- создание вакцин против сибирской язвы, краснухи свиней и бешенства.

3) **клеточно-гуморальный** (конец IX в.):

- *Мечников* (Россия) исследует фагоцитоз и разрабатывает теорию клеточного иммунитета;
- *Эрлих* (Германия) разрабатывает теорию гуморального иммунитета и вводит понятие *антитела*;

4) **неинфекционный** (начало XX в.):

- в 1901 г. Ландштейнер открывает изоантигены эритроцитов человека системы АВ0;
- в 1902 г. была открыта аллергия, описан феномен анафилаксии;

5) **молекулярно-генетический** (со второй половины XX в.):

- изучение молекул, клеток ИС и механизмов их регуляции;
- исследование генетических основ иммунного ответа;
- разработка современных методов иммунологии;
- создание вакцин нового типа, развитие иммуноонкологии и т.д.

Основными методами иммунологии являются:

- *иммунобиологические* (серологические, алергологические);
- *иммунохимический* (связывание антителами определенных хим. соединений);
- *иммуноморфологический* (обнаружение антигенов при помощи меченых антител);
- *экспериментальный*;
- *молекулярно-генетический*.

### 43.2. Критические периоды развития иммунной системы

К критическим периодам развития иммунной системы относятся:

а) *внутриутробные*:

- 8–12 нед. – дифференцировка органов и клеток ИС;

б) *постнатальные*:

- первые **30 сут.** жизни – встреча организма с огромным количеством антигенов; фагоциты малоактивны; велика роль материнских антител;
- **3–6 мес.** – постепенное исчезновение материнских антител; увеличивается восприимчивость к вирусным респираторным инфекциям (мало секреторного IgA), проявление ранних наследственных дефектов ИС;
- **2-й год** – расширение контактов ребенка, употребление более разнообразной пищи; все еще наблюдается дефицит местных факторов защиты;
- **4–6-й годы** – завершение формирования системы местного иммунитета, проявление поздних наследственных дефектов ИС;
- **подростковый возраст** – угнетение иммунных реакций половыми гормонами, повышенная восприимчивость к инфекциям и увеличенная частота развития аутоиммунных и лимфопролиферативных болезней.

## 44. Иммунная система организма. Центральные и периферические органы иммунной системы. Иммунокомпетентные клетки: классификация, функции

### 44.1. Иммунная система

**Иммунная система** – это совокупность лимфоидных органов, клеток и молекул, обеспечивающих адаптационные, защитные и репарационные механизмы иммунитета, индивидуальность и целостность организма.

Иммунная система реализует генетическую программу индивидуального развития организма от рождения до смерти в условиях чужеродного окружения путем:

- защиты от «чужого» (инфекции, трансплантата);
- элиминации измененного «своего» (опухолевых, поврежденных, стареющих клеток);
- регуляции роста и развития клеток и тканей.

Иммунная система **характеризуется** следующим:

- представлена преимущественно специализированной лимфоидной тканью;
- распределена по всему организму в виде лимфоидных образований;
- иерархичность (соподчиненность ее элементов);
- кооперативность;
- интеллектуальность (сложные распознавательные и запоминательные механизмы);
- как правило, высокая чувствительность и специфичность реагирования.

### 44.2. Органы иммунной системы

Среди **органов иммунной системы** различают *центральные* (красный костный мозг, тимус) и *периферические* (селезенка, лимфатические узлы, лимфоидная ткань различной локализации и отдельные лимфоидные и миелоидные клетки).

**Центральные органы** = образование + антиген-независимая дифференцировка:

а) **красный костный мозг**:

- располагается в губчатом веществе костей (ребра, грудина, трубчатые кости);
- содержит *полипотентные стволовые клетки* ( $CD34^+$ ), которые дают начало всем клеткам крови;
- созревание и дифференцировка всех клеток крови, кроме Т-лимфоцитов;

б) **тимус** (*вилочковая железа*):

- парный орган, располагающийся в переднем средостении;
- выделяют *корковую* и *медуллярную* зоны тимуса;
- после достижения половой зрелости начинается его постепенная *инволюция* – атрофия и замещение жировой тканью;
- созревание и окончательная дифференцировка Т-лимфоцитов;

**Периферические органы** = антиген-зависимая дифференцировка:

а) **селезенка**:

- располагается в левой подвздошной области, разделена на дольки;
- в белой пульпе селезенки выделяют *В-зоны*, *Т-зоны* и *краевую зону*, которую занимают фагоциты и ретикулярные клетки;

б) **лимфатические узлы** (*л/у*):

- мелкие образования бобовидной формы по ходу лимфатических сосудов;
- выделяют *В-зону* (кортикальную, состоит из фолликулов), *Т-зону* (паракортикальную) и *медуллярную зону*;

в) **лимфоидная ткань слизистых оболочек** (носоглоточное кольцо Пирогова, пейерovy бляшки, фолликулы аппендикса) и **кожи** (отдельные клетки лимфоидного ряда).

### 44.3. Иммунокомпетентные клетки

**Клетками иммунной системы** принято называть некоторые клетки миелоидного и лимфоидного рядов, хотя в реакции иммунной системы могут вовлекаться и другие клетки (эндотелий, эпителий, фибробласты). На поверхности этих клеток есть особые молекулы, служащие их маркерами и называемые **CD-антигенами** (см. подробнее 46.4).

По **функциональной активности** различают клетки:

- а) **регуляторные** – управляют компонентами иммунной системы путем выработки особых медиаторов:
  - Т-хелперы 1, 2 и 3 типов;
- б) **эффекторные** – непосредственные исполнители иммунной защиты:
  - *миелоидный ряд*: нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, тучные клетки, макрофаги;
  - *лимфоидный ряд*: НК-клетки, плазматические клетки (из В-лимфоцитов), цитотоксические Т-лимфоциты и эффекторные Т-клетки воспаления (из Т-лимфоцитов);
- в) **клетки памяти** – хранят информацию о ранее действовавших антигенах и обеспечивают вторичный иммунный ответ:
  - Т-клетки памяти  $CD4^+$  и  $CD8^+$ ;
  - В-клетки памяти;
- г) **антигенпрезентирующие клетки** – захватывают, перерабатывают и представляют антигены иммунокомпетентным клеткам:
  - «*профессиональные*»: дендритные клетки, макрофаги, моноциты, В-лимфоциты;
  - «*непрофессиональные*»: эндотелиоциты, эпителиоциты, фибробласты.

Подробнее свойства и функции этих клеток описываются далее.

## 45. Молекулы иммунной системы. Адгезивные молекулы (молекулы суперсемейства иммуноглобулинов, интегрины, селектины, муцины, кадгерины): строение, функции, примеры

### 45.1. Молекулы иммунной системы

К молекулам иммунной системы относятся:

- молекулы *межклеточного взаимодействия*:
  - антиген-неспецифические рецепторы (Toll-рецепторы, рецепторы к белкам комплемента, иммуноглобулинам, цитокинам и др.);
  - суперсемейство иммуноглобулинов;
  - адгезины;
- молекулы *дистантного взаимодействия*:
  - цитокины;
  - гормоны (тимуса, миелопептиды красного костного мозга);
  - белки комплемента;
  - белки острой фазы воспаления;
  - лейктуриены и др.

### 45.2. Адгезивные молекулы

**Адгезины** – это молекулы, осуществляющие прямой контакт и взаимодействие клеток путем прилипания. Они характеризуются следующим:

- представляют собой *гликопротеины*, которые экспрессируются на мембранах клеток;
- имеют внешний, трансмембранный и цитоплазматический *домены*;
- обеспечивают контакты между клетками иммунной системы и лигандами, в том числе играют ключевую роль в проникновении клеток иммунной системы в ткани;
- могут *активироваться* с обеих сторон:
  - лиганд из внешней среды изменяет конформацию цитоплазматического домена, что в конечном счете приводит к экспрессии генов, изменениям цитоскелета;
  - молекулярный сигнал из клетки также изменяет конформацию цитоплазматического домена, что приводит к увеличению сродства внешнего домена к лиганду.

Выделяют пять основных **групп** адгезинов. Информация о них представлена в таблице:

<i>Адгезины</i>	<i>Локализация, типы</i>	<i>Функция</i>
<b>Суперсемейства иммуноглобулинов</b>	<i>эндотелиоциты, лейкоциты</i> : PECAM-1, молекулы межклеточной адгезии 1 и 2 типа (ICAM-1,2), молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM-1)	- миграция лейкоцитов через стенки сосудов; - активация В- и Т-лимфоцитов
<b>Селектины</b>	<i>активированные тромбоциты</i> (CD62P); <i>эндотелиоциты</i> (CD62E); <i>лейкоциты</i> (CD62L)	- взаимодействие с муцинами; - остановка клеток и качение ( <i>роллинг</i> ) на эндотелии
<b>Интегрины</b>	<i>внеклеточный матрикс</i> ( $\beta_1$ ); <i>эндотелий</i> ( $\beta_2$ ); <i>лейкоциты</i> ( $\beta_3$ )	- связь с внеклеточным матриксом; - адгезия к эндотелию сосудов; - склеивание лейкоцитов
<b>Муцины</b>	<i>эндотелиоциты</i>	- взаимодействие с селектинами
<b>Кадгерины</b>	<i>эпителиоциты</i> (E); <i>нейроны</i> (N); <i>клетки плаценты</i> (P)	- адгезия между клетками тканей; - на иммунокомпетентных клетках <b>отсутствуют</b>

## 46. Молекулы I, II, III классов главного комплекса гистосовместимости: строение, функции. CD-номенклатура мембранных молекул клеток

### 46.1. Главный комплекс гистосовместимости. Молекулы ГКГС III класса

На ЦПМ практически всех клеток обнаруживаются *антигены совместимости*, большая часть которых относится к системе **главного комплекса гистосовместимости** (ГКГС, или МНС от англ. *Main Hystocompatibility Complex*). Он также имеет историческое название **HLA** (*Human Leukocyte Antigens*).

Антигены ГКГС представляют собой *гликопротеины*, прочно связанные с мембраной клеток. Их относят к *суперсемейству иммуноглобулинов*, поскольку они схожи с иммуноглобулинами по строению.

ГКГС закодирован в коротком плече 6 хромосомы. Его антигены **обеспечивают**:

- иммунологическую индивидуальность человека;
- отторжение трансплантата, в высокой степени не соответствующего по ГКГС;
- межклеточные взаимодействия и генетический контроль иммунного ответа.

Различают **три класса** молекул ГКГС:

- молекулы **I и II классов**:
  - являются трансмембранными гликопротеинами;
  - играют ключевую роль в распознавании антигенов;
  - нарушение экспрессии ассоциировано с такими заболеваниями, как системная красная волчанка, псориаз, болезнь Бехтерева, рассеянный склероз и др.
- молекулы **III класса**:
  - большей частью являются свободными белками (белки комплемента C2, C4, белки теплового шока, факторы некроза опухоли и др.);
  - не участвуют в распознавании антигенов.

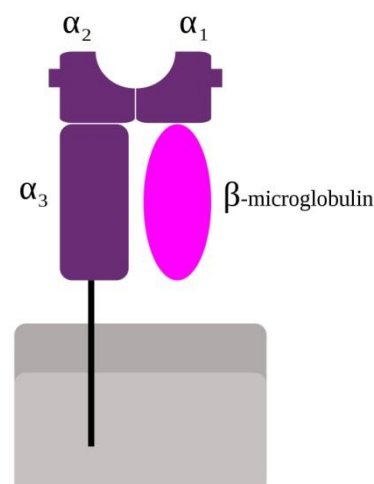
### 46.2. Молекулы ГКГС I класса

**Антигены ГКГС I класса** состоят из двух нековалентно связанных полипептидных цепей:  $\alpha$  (тяжелая) и  $\beta$  (легкая). Цепь  $\alpha$  имеет три участка: цитоплазматический, трансмембранный и внеклеточный. В свою очередь, внеклеточный участок состоит из трех доменов:  $\alpha_3$  (соединен с трансмембранным участком),  $\alpha_2$  и  $\alpha_1$  (вместе формируют *щель Бьоркмана*, в которой связываются и презентуются пептиды антигенов).

Цепь  $\beta$  представляет собой  **$\beta_2$ -микроглобулин** и участвует в узнавании и связывании антигена, а также в транспорте всей молекулы ГКГС к ЦПМ.

Антигены I класса включают в себя синтезированные клеткой пептиды, маркируют «свои» клетки и обеспечивают иммунологическую индивидуальность. Заражение клетки вирусом или ее мутация изменяют структуру этих антигенов (за счет чужеродного пептида), что становится сигналом для активации Т-киллеров ( $CD8^+$ ) к ее уничтожению.

Антигены I класса имеются на всех ядерных клетках.

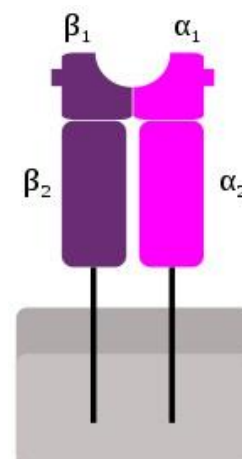


### 46.3. Молекулы ГКГС II класса

**Антигены ГКГС II класса** также состоят из двух нековалентно связанных полипептидных цепей ( $\alpha$  и  $\beta$ ). Однако в этом случае каждая из цепей имеет три участка, а внеклеточный участок каждой цепи состоит из двух доменов:  $\alpha_2/\beta_2$  (соединены с трансмембранным участком) и  $\alpha_1/\beta_1$  соответственно.

Молекулы ГКГС II класса включают в себя пептид из антигена, захваченного из внеклеточной среды путем эндоцитоза. Этот комплекс воспринимается и анализируется Т-хелперами (CD4<sup>+</sup>). Подробно процесс переработки, презентации и распознавания антигенов описан далее.

Антигены II класса экспрессируются на поверхности ограниченного числа клеток: дендритных, В-лимфоцитах, Т-хелперах, активированных макрофагов, тучных, эпителиальных и эндотелиальных клетках.



#### 46.4. CD-номенклатура мембранных молекул клеток

В ходе дифференцировки иммунокомпетентных клеток на их мембранах появляются различные гликопротеиновые рецепторы. Те из них, которые более или менее характерны для определенных клеток (то есть являются их *маркерами*), называют **CD-антигенами**, или **CD-молекулами** (от англ. *cluster of differentiation – кластер дифференцировки*).

Определение CD-антигенов позволяет осуществлять **иммунофенотипирование** клеток, то есть получать информацию об их происхождении, стадии дифференцировки и функциональном состоянии.

В настоящее время выделяют 371 CD-антиген (Вуллонгонг, 2014). Наиболее важные идентификационные CD-маркеры приведены в следующей таблице:

<b>CD10, CD34</b>	лимфоидная стволовая клетка	<b>CD19, CD20</b>	В-лимфоцит
<b>CD3</b>	Т-лимфоциты (все)	<b>CD16, CD56</b>	Натуральный киллер
<b>CD4</b>	Т-хелпер	<b>CD14, CD64</b>	Моноцит (макрофаг)
<b>CD8</b>	Т-киллер		

## 47. Цитокины: определение, клетки-продуценты, группы, функции. Интерлейкины, хемокины, факторы некроза опухолей: строение, функции. Колонистимулирующие факторы

### 47.1. Цитокины: определение, группы, функции

**Цитокины** – это гликопротеины и пептиды, секретируемые активированными клетками иммунной системы (и некоторыми другими клетками) и осуществляющие регуляцию взаимодействий и активацию всех звеньев иммунной системы, а также влияющие на другие органы и ткани.

Цитокины имеют следующие **особенности**:

- большинство не синтезируется в отсутствие иммунного ответа;
- активны в очень низких концентрациях (благодаря системам вторичных посредников);
- могут вызывать рост, пролиферацию, дифференцировку, активацию или апоптоз;
- зачастую выделяются в ходе цепных цитокиновых реакций (*цитокиновые каскады*);
- могут действовать по **интракринному** (воздействие внутри клетки), **аутокринному** (на мембранные рецепторы этой же клетки), **паракринному** (на близлежащие клетки) и **эндокринному** (дистантно на клетки любых органов и тканей) механизмам;
- разные цитокины могут оказывать одинаковое действие на одну клетку (*перекрываемость*), а один цитокин может оказывать разное действие на разные клетки (*плейотропность*).

К основным **группам** цитокинов относят:

- **интерлейкины** – опосредуют межклеточные взаимодействия;
- **интерфероны** – противовирусная, противоопухолевая и иммуномодулирующая активность; *подробнее см. 128.2 в части четвертой «Вирусология»*;
- **факторы некроза опухолей** – провоспалительная активность, индукция апоптоза;
- **трансформирующие ростовые факторы** – регуляция воспаления и ангиогенеза;
- **хемокины** – хемотаксис и активация клеток иммунной системы;
- **колонистимулирующие факторы** – пролиферация кроветворных клеток.

### 47.2. Интерлейкины

**Интерлейкины** (ИЛ) представляют собой гликопротеиды, которые синтезируются активированными (стимулированными антигенами) клетками иммунной системы. Они обеспечивают разнообразные взаимодействия между клетками иммунной системы.

В настоящее время выделяют 36 интерлейкинов. Основные эффекты отдельных интерлейкинов представлены в таблице:

<i>ИЛ</i>	<i>Продуценты</i>	<i>Биоэффекты</i>
<b>РЕГУЛЯТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ</b>		
<b>ИЛ-1</b>	макрофаги	пироген, индукция воспаления
<b>ИЛ-8</b>	макрофаги, эндотелициты	хемотаксис нейтрофилов
<b>РЕГУЛЯТОРЫ Т-КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА</b>		
<b>ИЛ-2</b>	Т-хелперы	пролиферация и дифференцировка Т-лимфоцитов
<b>ИЛ-10</b>	Т-хелп., В-лимф., макрофаги	↓ активности Т-хелперов и Т-киллеров, ↓ИЛ-2
<b>ИЛ-12</b>	макрофаги, НК-клетки	↑ дифференцировку в Т-хелперы 1-го типа
<b>РЕГУЛЯТОРЫ В-КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА</b>		
<b>ИЛ-4</b>	Т-хелперы 2-го типа, тучные клетки, эозинофилы	пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов
<b>ИЛ-5</b>	<i>те же</i>	дифференцировка В-лимфоцитов, ↑ синтез Ig
<b>ИЛ-6</b>	Т-лимфоциты, макрофаги	дифференцировка В-лимф. в плазматические клетки
<b>РЕГУЛЯТОРЫ ГЕМОПОЭЗА</b>		
<b>ИЛ-3</b>	Т-лимф., В-лимф.	стимулирует гемопоэз в широком смысле

### 47.3. Факторы некроза опухолей. Трансформирующий ростовой фактор $\beta$

**Факторы некроза опухолей (ФНО)** – это провоспалительные цитокины, рецепторы к которым имеются на большинстве клеток. Они выделены в отдельную группу цитокинов, так как могут вызывать апоптоз клеток. Выделяют два типа ФНО:

- **ФНО- $\alpha$  (кахексин):**

- продуцируется Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами и макрофагами;
- вызывает лихорадку, синдром септического шока, апоптоз клеток (в т.ч. опухолевых), увеличение продукции **ИЛ-1** и **ИЛ-6**, а в больших концентрациях – кахексию;

- **ФНО- $\beta$  (лимфотоксин):**

- продуцируется Т-лимфоцитами и В-лимфоцитами;
- вызывает апоптоз клеток.

**Трансформирующий ростовой фактор  $\beta$  (TGF- $\beta$ )** синтезируется Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами и макрофагами и подавляет пролиферацию и активацию лейкоцитов и макрофагов, то есть обладает иммуносупрессивным действием.

### 47.4. Хемокины. Колонистимулирующие факторы

**Хемокины** – это большая группа полипептидных цитокинов, которые продуцируются широким рядом клеток: гранулоцитами, моноцитами, лимфоцитами, тромбоцитами, фибробластами и эпителиоцитами. Их синтез в перечисленных клетках начинается либо при повреждении, либо при стимуляции отдельными цитокинами (ИЛ-1, ИЛ-6).

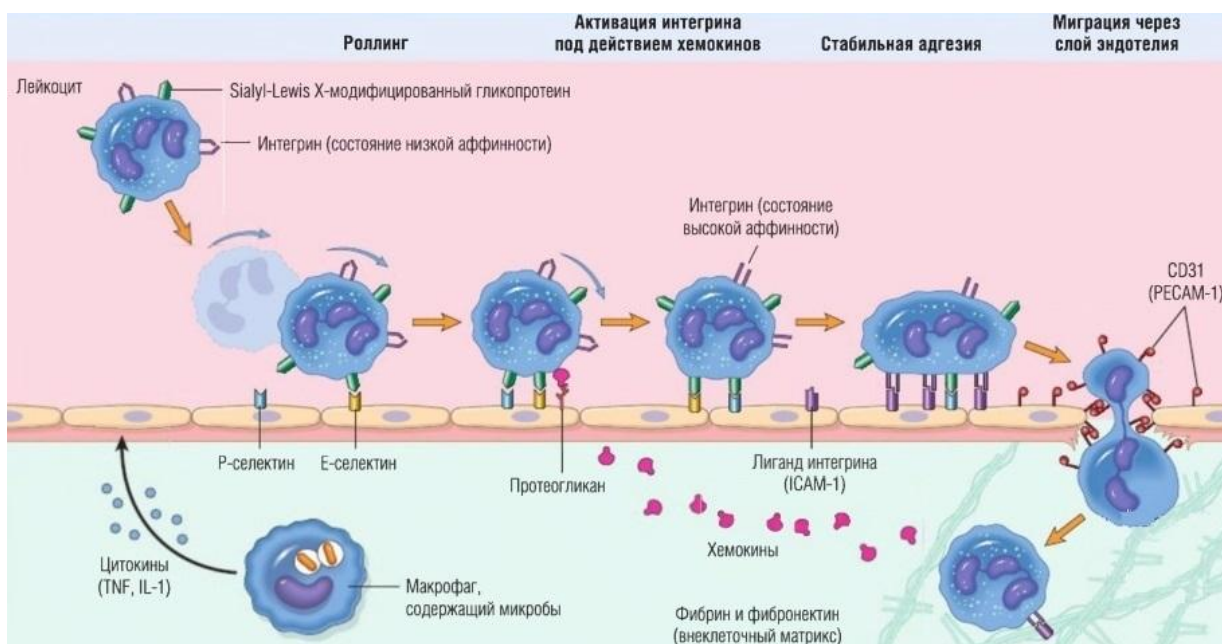
Хемокины опосредуют хемотаксис – направленное движение иммунокомпетентных клеток к очагу воспаления по градиенту их концентрации. Они способствуют как выходу иммунных клеток из сосудистого русла, так и их движению во внеклеточном матриксе.

**Колонистимулирующие факторы (КСФ)** синтезируются Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами, моноцитами и стромальными клетками кроветворных и лимфоидных органов. Они стимулируют образование колоний клеток миелоидного ряда и моноцитов в красном костном мозге, их дифференцировку и активацию. Соответственно, выделяют:

- КСФ-Г (гранулоцитов);
- КСФ-М (моноцитов);
- КСФ-ГМ (гранулоцитов и моноцитов).

Среди интерлейкинов схожее действие оказывает **ИЛ-3**.

### 47.5. Участие молекул иммунной системы в процессе миграции лейкоцитов



## 48. Иммунная система плода, новорождённого, детей различных возрастных групп. Материнский иммунитет: механизмы, значение. Иммунология лактации

### 48.1. Иммунная система плода, новорожденных, детей. Материнский иммунитет

В антенатальном периоде (у плода) с 6-8 недели происходит закладка и дифференцировка основных органов и клеток иммунной системы, а затем – постепенное функциональное совершенствование Т- и В-систем иммунитета.

С 10-й недели начинается синтез иммуноглобулинов класса IgM, с 12-й – IgG, с 30-й – IgA, однако их концентрация очень мала. При попадании чужеродных антигенов иммунная система плода отвечает усиленной выработкой **IgM**, однако их протективное значение невелико. К моменту рождения ребенка подавляющая масса антител в его организме представлена материнскими IgG (подробнее об иммуноглобулинах см. в вопросе 59).

Имуноглобулины класса **IgG** свободно проникают через плаценту и формируют у плода (и далее у младенца) естественный пассивный иммунитет, или **материнский иммунитет**. Антитела других классов (IgM, IgA, IgE, IgD) не проникают через плаценту, поскольку их *Fc-фрагменты* неспособны связываться с клетками трофобласта.

**Т-система иммунитета** у плода функционально не развита, а иммунные клетки системы клеточного иммунитета матери также неспособны к проникновению через плаценту.

**Неспецифические факторы** резистентности появляются в онтогенезе рано (некоторые фракции комплемента, фагоцитирующие клетки – уже к 8-й неделе), однако функционально они также несовершенны и существенные защитные свойства не проявляют.

### 48.2. Иммунная система новорожденных, детей и подростков

**Новорожденные** дети впервые встречаются с огромным количеством чужеродных антигенов, происходит колонизация микрофлорой ЖКТ, дыхательных путей, кожи. Адекватная (не чрезмерная и не ограниченная) **антигенная стимуляция** является необходимым условием для правильного развития иммунитета.

К моменту рождения количество Т- и В-клеток в крови соответствует их содержанию у взрослых, однако функционально они являются незрелыми. Это в совокупности с низкой фагоцитарной активностью, слабой цитокиновой регуляцией, недоразвитостью НК-клеток объясняет слабость как клеточного, так и гуморального иммунного ответа у новорожденных. На протяжении первых шести месяцев постепенно ослабляется **материнский иммунитет**, а к полутора годам его эффект полностью исчезает.

У **младенцев** (до года) наиболее активно работающим звеном адаптивного иммунитета является **гуморальное** с выработкой почти исключительно **IgM без** формирования иммунологической памяти. Этим объясняется особая восприимчивость детей к вирусным инфекциям (очень слабый клеточный иммунитет) и необходимость ревакцинаций против столбняка, дифтерии, коклюша и др. (отсутствие клеток памяти).

Способность к синтезу антител класса **IgG** появляется к концу первого года, однако полноценный в количественном и функциональном отношении синтез налаживается только к 4-6 годам. Местный иммунитет, обеспечиваемый **sIgA**, созревает к 7-8 годам.

С наступлением **пубертатного периода** и повышенной секреции **половых гормонов** связывают уменьшение массы лимфоидных органов, подавление функции клеточного иммунитета и стимуляция гуморального. В этот период иммунная система особенно чувствительна к действию внешних факторов, наблюдается подъем **лимфопролиферативных** и **аутоиммунных** заболеваний. В то же время аллергические реакции чаще становятся менее яркими.

С завершением гормональной перестройки полностью формируется «взрослый» фенотипический вариант иммунного статуса.

См. также **критические периоды развития** иммунной системы в 43.2.

### 48.3. Иммунобиология лактации

В молочных железах матери происходит секреция иммуноглобулинов из сыворотки крови, а также локальный биосинтез антител, поэтому грудное молоко играет важную роль в обеспечении иммунологической защиты новорожденного.

**Грудное молоко** содержит все классы иммуноглобулинов, при этом содержание **IgA** существенно выше, чем других классов. Более 90% из них составляет **секреторный IgA (sIgA)**. Также в молоке имеются **нейтрофилы, моноциты** и **макрофаги**, способные к фагоцитозу и уничтожению бактерий, грибов и проявлению **антителозависимой цитотоксичности**. Макрофаги продуцируют и содержат внутриклеточно **лизоцим, лактоферрин**, компоненты **комплемента, цитокины**. В молоке присутствуют эффекторные и регуляторные **T-лимфоциты, T-клетки памяти**.

Молоко содержит также множество неспецифических протективных факторов:

- **полисахариды** и **гликопротеиды**, предотвращающие адгезию патогенов к эпителию слизистой (ротавирусы, ВИЧ, кишечная палочка, пневмококк, кампилобактер);
- **лактоферрин**, обладающий бактерицидной активностью;
- **K-казеин**, ингибирующий адгезию хеликобактера;
- **жирные кислоты** и **моноглицериды**, вызывающие литический эффект в отношении простейших, вирусов и бактерий;
- **гормоны** и **ростовые факторы** молока, способствующие созреванию желудочно-кишечного и респираторного тракта, снижающие потенциальную инвазивность широко распространенных патогенов.

Молекулы и клетки иммунной системы матери, содержащиеся в молоке, компенсируют незрелость иммунной системы новорожденного. **sIgA** взаимодействуют с пневмококками, стрептококками, энтеровирусами, а также нейтрализуют эндо- и экзотоксины грамотрицательных бактерий. Показано, что вскармливание детей грудью значительно снижает частоту кишечных и респираторных инфекций.

## 49. Иммуни́тет: определение, виды иммунитета. Врождённый и приобретённый иммунитет. Факторы иммунной и неиммунной природы врождённого иммунитета. Механизмы распознавания в системе врождённого иммунитета

### 49.1. Иммуни́тет. Виды иммунитета

**Иммуни́тет** (лат. *immunitas* – избавление) – совокупность защитно-приспособительных реакций организма, направленных на защиту от инфекций и генетически чужеродных агентов или, иначе говоря, на поддержание **антигенного гомеостаза**.

Виды иммунитета различают по нескольким признакам. Классификация приведена в следующей таблице:

<b>Врожденный</b> (видовой, конституционный)	<b>Приобретенный</b> (адаптивный)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• выработан в процессе <u>филогенеза</u> вида;</li> <li>• передается по наследству;</li> <li>• возникает в результате <u>реализации генома</u>;</li> <li>• <u>неспецифичен</u>;</li> <li>• проявляется <u>немедленно</u> после попадания чужеродного агента;</li> <li>• иммунная память <u>не</u> формируется</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• вырабатывается в процессе <u>онтогенеза</u> (индивидуального развития);</li> <li>• <u>не</u> передается по наследству;</li> <li>• возникает после встречи с <u>антигенами</u>;</li> <li>• специфичен;</li> <li>• проявляется через некоторое время;</li> <li>• формируется иммунная память</li> </ul>
<b>Гуморальный</b>	<b>Клеточный</b>
• защита обеспечивается антителами	• защита обеспечивается клеточными реакциями (в особенности лимфоцитарными и макрофагальными)
<b>Общий</b>	<b>Местный</b>
• распространяется на весь организм	• более выраженная резистентность отдельных органов и тканей
<b>ПРИБРЕТЕННЫЙ ИММУНИТЕТ</b>	
<b>Активный</b>	<b>Пассивный</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• обусловлен <u>непосредственным</u> вовлечением иммунитета;</li> <li>• может быть <i>естественным</i> (постинфекционный) и <i>искусственным</i> (поствакцинальный)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• обусловлен введением в организм <u>готовых</u> защитных иммунореагентов;</li> <li>• также может быть <i>естественным</i> (материнские антитела) и <i>искусственным</i> (иммунные сыворотки)</li> </ul>
<b>Стерильный</b>	<b>Нестерильный</b>
• сохраняется и поддерживается в отсутствие чужеродного агента	• поддерживается только в присутствии чужеродного агента
<b>ПО НАПРАВЛЕННОСТИ ИММУНИТЕТА</b>	
Противобактериальный, -вирусный, -грибковый, -опухолевый, -гельминтный, -протозойный, антитоксический и трансплантационный	

### 49.2. Факторы иммунной и неиммунной природы врождённого иммунитета

**I. Неиммунные факторы** – не связаны непосредственно с иммунной системой:

1) **механические факторы:**

- барьерные свойства кожи и слизистых;
- гистогематические барьеры (мозг, глаза, тимус, половые железы, плод);
- реснитчатый эпителий дыхательных путей;
- механические выделительные реакции (кашель, чихание, рвота, диарея);

2) **физико-химические факторы:**

- бактерицидные секреты потовых и сальных желез;
- соляная кислота желудочного сока;
- рибонуклеаза (расщепление вирусных РНК);

3) **физиологические факторы:**

- ареактивность клеток и тканей (отсутствие мишеней для микроорганизмов);
- клеточная гетерохрония (неодновременность развития клеток в тканях);
- температурная и воспалительная реакция;
- состояние нервной, эндокринной систем и обмена вещества;
- мутации (серповидно-клеточная анемия обеспечивает иммунитет к малярии);
- состав пищи;

4) **биологические факторы:**

- конкурентная роль нормальной микрофлоры (бифидумбактерии в толстом кишечнике, палочки Дедерлейна во влагалище).

**II. Иммунные факторы** – неспецифические факторы иммунной системы:

1) **клеточные** (подробно обсуждаются далее):

- макрофаги;
- нейтрофилы;
- дендритные клетки;
- НК-клетки (естественные киллеры);
- тучные клетки;

2) **гуморальные:**

- система комплемента – см. далее;
- лизоцим – фермент секретов слизистых и лизосом фагоцитов, расщепляющий пептидогликан (*муреин*) клеточных стенок **грамположительных** бактерий;
- $\beta$ -лизины – катионные белки сыворотки крови, особенно эффективные против аэробных спорообразующих бактерий (например, *B. anthracis*);
- интерфероны – см. 128.2 в части четвертой «Вирусология»;
- белки острой фазы воспаления (С-реактивный белок, фибриноген, маннозо-связывающий белок,  $\alpha$ 1-антитрипсин) – белки, концентрация которых в крови при воспалении увеличивается на порядки; имеют различные механизмы действия: активируют комплемент, работают как *опсонины*, *хемоаттрактанты* и др.
- транспортные белки (лактоферрин, трансферрин, церуллоплазмин) – конкурируют с микроорганизмами за факторы роста – Fe и Cu.

### 49.3. Механизмы распознавания в системе врождённого иммунитета

В настоящее время считается, что клетки миелоидного ряда (нейтрофилы и макрофаги) отличают «чужое» благодаря **распознаванию образов** (*пэттернов*) чужеродных молекул. В процессе эволюции эти образы закрепились генетически, причем всех их объединяют следующие свойства: чужеродность для данного вида, консервативность и патогенность.

Эта комбинация свойств создает для иммунной системы возможность, распознавая ограниченное число молекул, выявлять опасность, представляемую организмом-носителем такого паттерна, задолго до ее реального проявления.

Примерами распознаваемых образов могут служить пептидогликан и липополисахариды клеточной стенки, структуры на основе тейхоевых кислот, двуцепочечные РНК (характерны только для вирусов), N-формил-метионин (структура, с которой начинается большинство бактериальных белков) и др.

На фагоцитах имеются рецепторы, распознающие такие образы. По последствиям их активации они объединяются в три большие группы:

- **сигнальные** (Toll-подобные рецепторы, рецептор маннозы, формил-метиониновый рецептор и др.) – дают сигнал к развитию иммунного ответа и воспаления;
- рецепторы для **фагоцитоза** (рецептор пептидогликана, CD14 – рецептор ЛПС и др.);
- рецепторы для **опсонизации** (FcR, CR3).

Особую роль играют **Toll-подобные рецепторы**, которые представляют собой очень древние и консервативные молекулярные структуры. Они характеризуются следующим:

- представляют собой трансмембранные гликопротеиды;
- экспрессируются на многих иммунных клетках, но особенно много их на макрофагах;
- выделяют 11 типов, каждый из которых присоединяет группу определенных лигандов (а значит, реагирует на определенные патогены); например, лигандом для TLR-5, который активирует иммунный ответ против жгутиковых бактерий, служит жгутиковый белок *флагеллин*;
- активационный сигнал приводит к синтезу клеткой провоспалительных цитокинов, защитных молекул и факторов, блокирующих апоптоз.

## 50. Система комплемента: характеристика компонентов и факторов, активаторы и пути активации, функции компонентов и фрагментов

### 50.1. Общая характеристика системы комплемента

Система комплемента (от лат. *complementum* – дополнение [к антителам]) – это сложная система сывороточных белков, которые:

- синтезируются гепатоцитами, макрофагами и нейтрофилами;
- циркулируют в крови в неактивном состоянии (*проферменты*);
- неспецифически распознают активаторы (микроорганизмы, комплексы АГ-АТ);
- активируются путем каскадного протеолиза.

В состав системы комплемента входят:

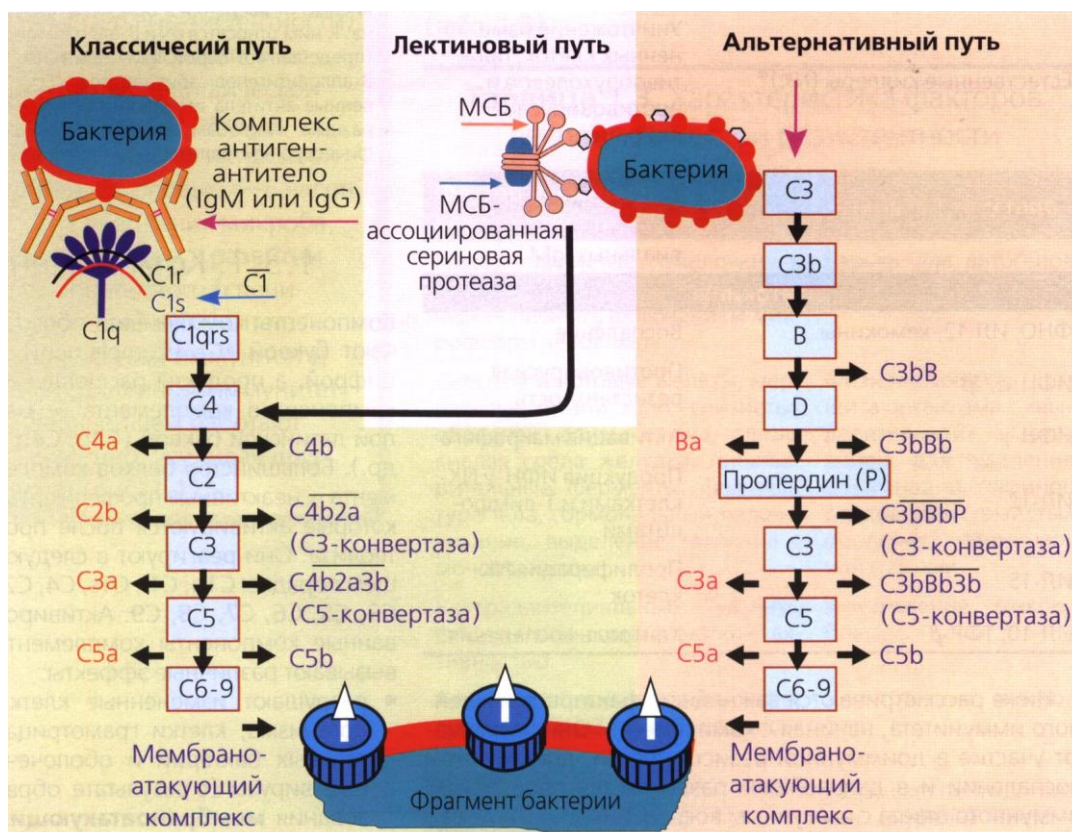
- **11 протеаз:** C1 (субъединицы q, r, s), C2-C9;
- **4 фактора:** В, D, H, P;
- **регуляторные белки:** C1-ингибитор, C3b-активатор и др.
- **рецепторы белков комплемента на клетках:** CR1-CR4.

### 50.2. Пути активации системы комплемента

Активация комплемента происходит на мембране клетки путем протеолиза белков на 2 фрагмента: **а** и **в**. Например, продукты протеолиза белка C3 называются C3a и C3b. Фрагмент **а** имеет меньшую молекулярную массу и выделяется в кровь, а фрагмент **в** остается на мембране клетки и участвует в последующих реакциях (это правило действует для всех белков, за исключением C2).

Каскадный характер реакции приводит к тому, что каждый активированный фермент работает как усилитель, расщепляя много молекул следующего профермента.

Различают **три пути** активации комплемента. Все они в конечном счете приводят к образованию фермента **C5-конвертазы**, после чего активация продолжается одинаковым образом.



## I. Классический путь:

- эволюционно наиболее новый путь;
- активатором является **комплекс антиген-антитело** (с **Ig M** и **G**, но не A, D, E);
- участвуют все протеазы;
- высокая скорость протекания реакций;
- связывание **C1q** с комплексом АГ-АТ приводит к изменению конформации **C1** и активации **C1r** и **C1s**;
- активированный **C1s** расщепляет **C4**, при этом **C4b** связывается с **C2**;
- **C1s** расщепляет **C2**, в результате чего к **C4b** присоединяется **C2a** (исключение!);
- образуется фермент **C4bC2a**, который является **C3-конвертазой**;
- **C3-конвертаза** расщепляет **C3** с присоединением **C3b**;
- образуется фермент **C4bC2aC3b**, который является **C5-конвертазой**;
- краткая запись:  $АГ-АТ + C1q \Rightarrow C1s \rightarrow C4$  и  $C1r \rightarrow C2 \Rightarrow C4bC2a \rightarrow C3 \Rightarrow C4bC2aC3b$ .

## II. Лектиновый путь:

- играет важную роль у людей с врожденным дефицитом **C1**;
- роль **C1q** выполняет **маннозо-связывающий лектин** (МСЛ), а **C1r** и **C1s** – ассоциированная с ним **сериновая протеаза**;
- активируется при соединении МСЛ с **маннозой** на поверхности микробных клеток;
- комплекс манноза-МСЛ активирует **C2** и **C4**, после чего активация идет по классическому пути;
- $МСЛ + М \Rightarrow МСЛ-М \rightarrow C4$  и  $МСЛ-М \rightarrow C2 \Rightarrow C4bC2a \rightarrow C3 \Rightarrow C4bC2aC3b$ .

## III. Альтернативный путь:

- эволюционно наиболее древний путь;
- активаторами являются **полисахариды микроорганизмов**;
- ранние протеазы (**C1**, **C4**, **C2**) не участвуют;
- участвуют факторы **B**, **D**, и **P**, а также ионы  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$ ;
- маленькая скорость протекания реакций;
- связывание **C3** с полисахаридом клеточной стенки стимулирует его распад;
- образовавшийся **C3b** взаимодействует с фактором **D**, в результате чего происходит расщепление фактора **B** (на **Ba** и **Bb**);
- **C3b** вместе с **Bb** образует фермент **C3bBb**, который является **C3-конвертазой**;
- связывание с фактором **P** (**пропердин**) стабилизирует **C3-конвертазу**;
- стабилизированная **C3-конвертаза** расщепляет еще больше **C3**, усиливая реакцию;
- **C3-конвертаза** (**C3bBb**) может присоединять к себе **C3b**, образуя фермент **C3bBbC3b**, который является **C5-конвертазой**;
- краткая запись:  $C3 + ЛПС \rightarrow C3 \Rightarrow C3b + D \rightarrow B \Rightarrow Bb + C3b + P \rightarrow C3 \Rightarrow \dots \Rightarrow C3b'Bb'C3b$ .

## 50.3. Завершающие этапы активации системы комплемента

Конечными продуктами активации классического и лектинового путей является фермент **C4bC2aC3b**, альтернативного пути – **C3bBbC3b**. Оба они являются **C5-конвертазами**, то есть расщепляют **C5** на **C5a** и **C5b**. Фрагмент **C5b** по очереди связывает белки **C6**–**C9**, образуя в конечном счете **мембраноатакующий комплекс** (**C5bC6C7C8C9**). Его активной частью является **C9** – **белок-перфорин**, образующий пору в мембране клетки.

Активация комплемента приводит к следующим **эффектам**:

### 1) усиление фагоцитоза:

- хемотаксины: **C5a**, **C3a**, **C6**, **C7**;
- опсонины: **C3b**, **C4b**, **C5b**;

### 2) индукция острого воспаления (дегрануляция тучных клеток и базофилов):

- анафилотоксины: **C5a**, **C3a**, **C4a**;

- 3) *участие в аллергических реакциях* (за счет содержимого гранул тучных клеток);
- 4) *цитолитическое действие* (за счет **C9**);
- 5) *удаление иммунных комплексов* антиген-антитело из организма;
- 6) *регуляция иммунного ответа* (взаимодействия лимфоцитов с рецепторами):
  - стимуляторы: C5a;
  - ингибиторы: C3a.

## 51. Регуляция активации системы комплемента. Комплемент и заболевания. Методы определения активности системы комплемента

### 51.1. Регуляция активации системы комплемента

Система комплемента при длительном сохранении активности является опасной для тканей хозяина, поскольку ее *цитолитическое действие* может проявляться и в отношении клеток организма.

Регуляторные механизмы системы комплемента, с одной стороны, разделяют **по происхождению** (ферменты плазмы крови [1], неферментные белки плазмы крови [2] и белки клеточных мембран [3]), а с другой стороны, **по точкам приложения**:

#### I. Регуляция начальных этапов активации:

- *C1-ингибитор* [2] – инактивирует C1r, C1s (КП) и ассоциированные протеазы (ЛП);
- *C4-связывающий белок* [2] – присоединяет свободный C4 и связывает C4b из C4bC2a;
- *фактор I* [1] – инактивирует C3-конвертазы и C5-конвертазы;
- *фактор H* [2] – кофактор фактора I;
- *инактиватор анафилотоксинов* [1] – разрушение C3a, C4a, C5a.

#### II. Защита клеток на начальных этапах:

- *DAF* [3] – препятствует образованию C3-конвертаз;
- *MCP* [3] – усиливает активность фактора I;
- *CR1* (рецептор комплемента 1 типа на эритроцитах) – действие DAF + MCP.

#### III. Защита клеток на поздних этапах:

- *S-белок* [2] – связывает комплекс C5bC6C7;
- *C8-связывающий белок* [3] – ингибирует присоединение C8;
- *CD59* [3] – ингибирует присоединение C9.

### 51.2. Дефекты системы комплемента

#### I. Дефекты (дефициты) компонентов системы комплемента:

- **C1, C2, C4** – преимущественно *аутоиммунные заболевания* (васкулиты, системная красная волчанка, сахарный диабет 1-го типа, синдром Шегрена и др.), сопротивляемость инфекциям несколько снижена;
- **C3** – резкое снижение сопротивляемости инфекциям, рецидивирующие пневмонии, флегмоны, менингиты, перитониты, дерматиты и др.
- **C5-C9** – тяжелое, генерализованное течение многих инфекций, и особенно вызванных *N. meningitidis* и *N. Gonorrhoeae* (гонорея и менингиты, устойчивые к лечению).

#### II. Дефекты (дефициты) ингибиторов компонентов системы комплемента:

- *C1-ингибитор* – пароксизмальное возникновение серьезных отеков (*наследственный ангионевротический отек*), сопротивляемость инфекциям значительно не страдает;
- *DAF* – внутрисосудистый гемолиз эритроцитов, мембрана которых из-за дефицита DAF легко подвергается атаке мембраноатакующего комплекса (*пароксизмальная ночная гемоглобинурия*).

### 51.3. Методы определения активности комплемента

1) **Определение гемолитической активности** комплемента – к разным разведениям сыворотки пациента и нормальной сыворотки добавляются эритроциты барана, гемолиз оценивается фотометрически, регистрируют разведение (а значит, и объем сыворотки), в котором лизировалось 50% клеток (*условная гемолитическая единица* – CH<sub>50</sub>). Норма для 1 мл сыворотки: 40-60 CH<sub>50</sub>. Реакцию можно проводить в геле, содержащем эритроциты барана, в этом случае активность комплемента оценивают по диаметру зон гемолиза.

2) **Количественное определение продуктов расщепления** комплемента в сыворотке при помощи *простой радиальной иммунодиффузии* (см. 60.2).

## 52. Фагоциты, классификация. Распознавание микроорганизмов. Фагоцитарная реакция: этапы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы

### 52.1. Фагоциты, классификация

**Фагоциты** – это клетки иммунной системы, которые защищают организм путем поглощения (*фагоцитоза*) чужеродных частиц и мертвых клеток.

Фагоциты условно подразделяют на **профессиональные**, то есть имеющие специальные рецепторы для распознавания чужеродных объектов, и **непрофессиональные**, не имеющие таких рецепторов и не образующие *кислород-содержащих молекул* для фагоцитоза. Все **профессиональные** фагоциты имеют **миелоидное** происхождение. В скобках указываются органы, в которых содержание данных фагоцитов наиболее велико.

#### I. Профессиональные:

- 1) **моноциты** (кровь, костный мозг, селезенка, тимус, печень);
- 2) **тканевые макрофаги**:
  - гистиоциты (соединительная ткань);
  - клетки Купфера (печень);
  - остеокласты (костная ткань);
  - клетки микроглии (нервная ткань);
  - макрофаги других органов и тканей;
- 3) **нейтрофильные гранулоциты** (кровь);
- 4) **дендритные клетки** (кожа – клетки Лангерганса, лимфатическая ткань, легкие, соединительная ткань);
- 5) **тучные клетки** (кожа, легкие, ЖКТ) – активны в отношении Грам– бактерий.

#### II. Непрофессиональные:

- 1) **лимфоциты** (кровь, лимфоидная ткань);
- 2) **НК-клетки** (там же);
- 3) **эпителиоциты** (кожа);
- 4) **эндотелиоциты** (сосуды);
- 5) **фибробласты** (соединительная ткань).

**Эозинофилы** обеспечивают **внеклеточный** цитолиз крупных живых объектов (например, паразитов), которые фагоцитировать нельзя, и сами к фагоцитам **не относятся**.

### 52.2. Распознавание микроорганизмов

Обязательным условием *адгезии* фагоцита служит **распознавание** объекта фагоцитоза. Механизмы распознавания различаются в случаях фагоцитоза *опсонизированного* и *неопсонизированного* объектов. **Опсонизация** – это связывание с поверхностью чужеродного объекта особых молекул – **опсонинов** – которые являются лигандами для рецепторов фагоцитов, облегчают их адгезию и тем самым усиливают фагоцитоз.

Основными опсонинами являются активированный C3b комплемента и IgG (иммуноглобулин класса G). Соответственно, у **профессиональных** фагоцитов имеются **рецепторы** к **C3b** и к *Fc-фрагменту IgG*. Свойства опсонинов также присущи *фибронектину* и *C-реактивному белку*. Таким образом, при **опсонизированном фагоцитозе** клетки распознают не сами объекты фагоцитоза, а **присоединившиеся к ним опсонины**.

При **неопсонизированном фагоцитозе** молекулярное распознавание осуществляется тремя основными группами рецепторов:

- 1) рецепторы к маннозе, N-ацетилглюкозамину, маннам и β-глюканам – составляющим липополисахарида и пептидогликана бактерий;
- 2) рецепторы-мусорщики к ЛПНП, но также липидам некоторых бактерий (особенно кокков);
- 3) рецепторы для апоптотических клеток.

### 52.3. Фагоцитарная реакция

**Фагоцитоз** – это процесс узнавания, поглощения и биodeградации чужеродных частиц (в т.ч. микроорганизмов) и макромолекул, осуществляемый фагоцитами.

Фагоцитоз осуществляется в несколько стадий:

**I. Хемотаксис** – направленное движение по градиенту *хемоаттрактантов*:

- к *хемоаттрактантам* относятся продукты деградации бактерий, цитокины (ИЛ-8), продукты активации комплемента (С3а, С5а), фибринолизин и др.;
- *ингибиторы хемотаксиса* (интерферон) задерживают фагоцит в очаге воспаления.

**II. Адгезия** (в т.ч. при помощи рецепторов к опсонинам) и **активация**:

- фагоцит активируют лиганды Toll-подобных рецепторов, интегрин, хемокины, активированные факторы комплемента,  $\gamma$ -интерферон и др. вещества;
- активированный фагоцит усиленно экспрессирует адгезины, молекулы ГКГС, различные цитокины.

**III. Поглощение:**

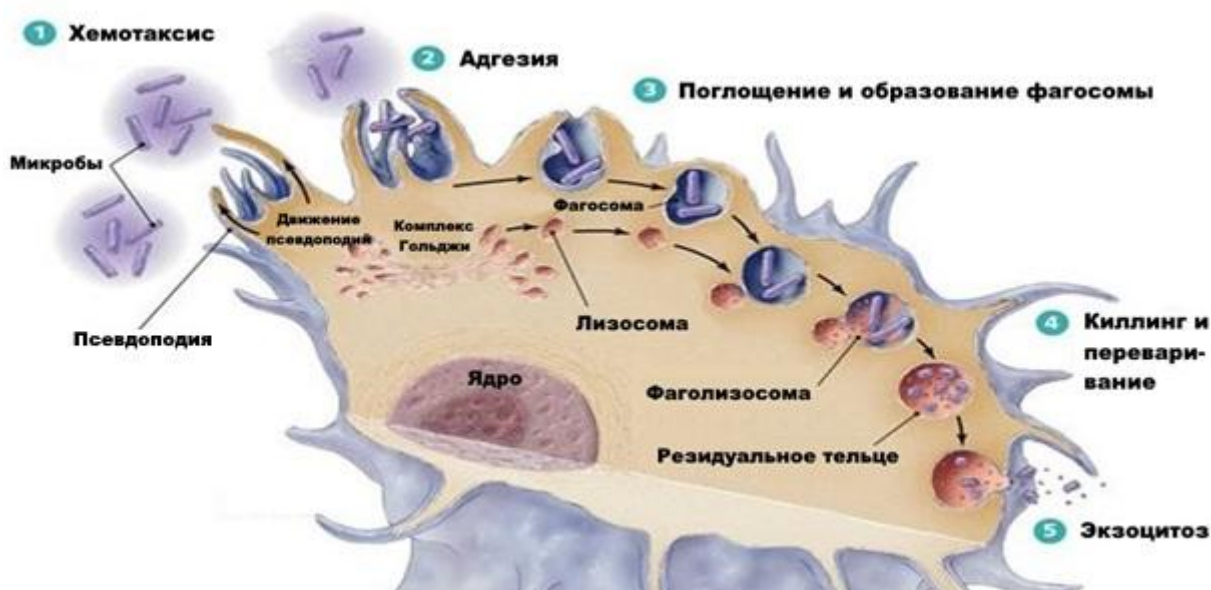
- обволакивание объекта *псевдоподиями*;
- при погружении частицы в цитоплазму образуется вакуоль – *фагосома*;
- одновременно в клетке резко активируется метаболизм: образуются многочисленные *лизосомы* и запускаются реакции выработки *кислород-содержащих молекул*.

**IV. Киллинг и переваривание:**

- *кислородзависимые механизмы* («кислородный взрыв») включают образование супероксидного аниона  $O_2^-$  (*цитохромы*), образование перекисей, гидроксильного радикала  $OH^-$  и одноатомного кислорода (спонтанные реакции  $O_2^-$  с водой и протонами) и образование активных соединений хлора (фермент *миелопероксидаза*);
- *кислороднезависимые механизмы* включают действие гидролитических ферментов (при слиянии фагосомы с лизосомой и образовании *фаголизосомы*), катионных белков (*дефензины*) и оксида азота.

**V. Исход фагоцитоза:**

- *завершенный* – полное переваривание и экзоцитоз низкомолекулярных остатков;
- *незавершенный*:
  - гибель фагоцита с высвобождением микроорганизма;
  - персистенция микроорганизма (гонококки, микобактерии и др.) в фагоците благодаря блокаде слияния фагосомы с лизосомой, резистентностью к лизосомальным ферментам или способности покидать фагосому до ее слияния с лизосомой.



## 53. Методы изучения фагоцитоза. Показатели фагоцитарной реакции, их определение и значение в клинической практике

### 53.1. Прямой метод изучения фагоцитоза. Показатели фагоцитарной реакции

В **прямом методе** микробы смешиваются с фагоцитами в пробирке или в организме лабораторных животных, через 15 и 120 минут из смеси приготавливаются микропрепараты на предметных стеклах и окрашиваются по Романовскому-Гимзе. Микроскопически подсчитывается число **фагоцитирующих клеток** и число **фагоцитированных микробов**. По ним производят расчет следующих **показателей**:

(Какой процент фагоцитов принимает участие в фагоцитозе?)

$$\bullet \text{ фагоцитарный показатель} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\% \quad (N = 40-60\%);$$

(Сколько микробов в среднем захватил один «работающий» фагоцит?)

$$\bullet \text{ фагоцитарное число (ФЧ)} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}} \quad (N = 4-7);$$

(Какой процент фагоцитов завершили фагоцитоз через 2 часа?)

$$\bullet \text{ показатель завершенности фагоцитоза} = \frac{\text{ФЧ (15 мин)} - \text{ФЧ (120 мин)}}{\text{ФЧ (15 мин)}} \times 100\% \quad (N \rightarrow 100\%);$$

### 53.2. Непрямые методы изучения фагоцитоза

В **непрямых методах** изучается функциональная активность фагоцитов на различных стадиях фагоцитарной реакции. К таким методам относятся:

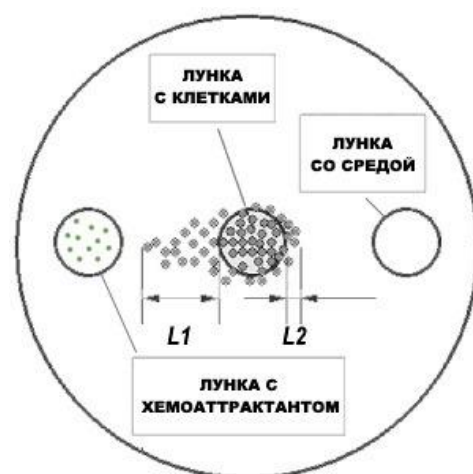
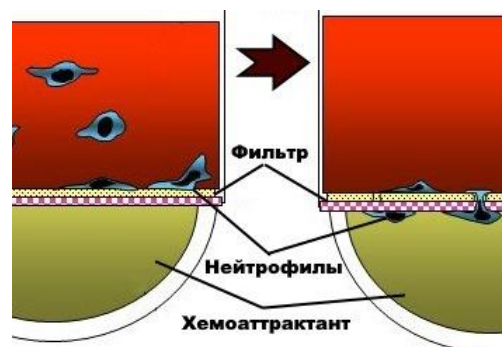
1) **определение хемотаксической активности** нейтрофилов:

а) разделение нейтрофилов и хемоаттрактанта (например, **С5а**) фильтром в **камере Бойдена** (рис. сверху): хемоаттрактант помещается в нижний отсек, нейтрофилы – в верхний; спустя некоторое время подсчитывается число нейтрофилов на нижней стороне фильтра (то есть проникших сквозь него по градиенту концентрации хемоаттрактанта);

б) оценка клеточной миграции в **агарозном геле** (рис. снизу): мигрирующие в сторону лунки с хемоаттрактантом фагоциты образуют характерный «клин»; интенсивность хемотаксиса оценивают по разности расстояний L1 и L2, где L2 – расстояние, пройденное в сторону лунки с гелем (контроль опыта);

2) **определение адгезивных свойств фагоцитов** производят при оценке их способности прикрепляться к пластику, стеклу, культуре эпителиальных клеток (в последнем случае клетки метят радиоактивным изотопом и после инкубации и промывки определяют уровень радиоактивности клеточной культуры);

3) **определение переваривающей способности фагоцитов** при помощи **НСТ-теста** (с нитросиним тетразолием), который окрашивается в синий цвет в присутствии активных форм кислорода, а также путем определения активности лизосомальных ферментов.



## 54. Антигенпрезентирующие клетки. Дендритные клетки: субпопуляции, локализация, роль в антигенпрезентации. Естественные киллеры: характеристика, механизмы цитотоксичности, функции

### 54.1. Механизм презентации антигенов

Антигенпрезентирующие клетки (АПК) осуществляют **презентацию** антигенов Т-лимфоцитам. Этот процесс является необходимым, так как лимфоциты могут распознавать антигены только после их предварительной обработки – **процессинга**.

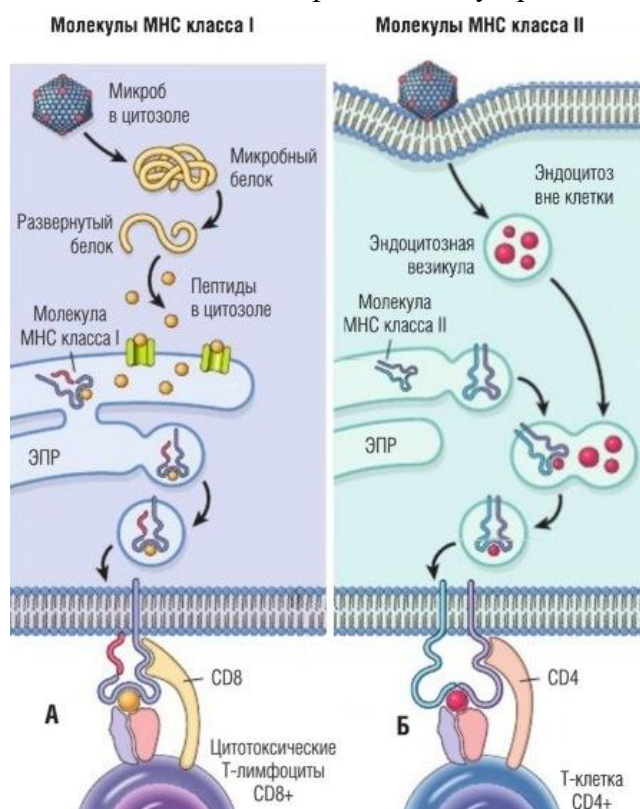
Презентация антигенов проходит в несколько **этапов**:

- 1) **поглощение** антигена АП-клеткой и заключение его в везикулу;
- 2) ферментативное расщепление (**процессинг**) антигена в цитоплазме АПК;
- 3) связывание антигенных пептидов с **молекулами ГКГС II класса**;
- 4) **транспортировка комплекса** на поверхность клеточной мембраны, где происходит их распознавание.

Презентация антигенов, которые находятся **в цитозоле** клетки (а не в эндоцитозной везикуле), осуществляется схожим образом, однако на мембране клетки они экспрессируются в комплексе с **молекулами ГКГС I класса**.

Разница заключается в том, что при экспрессии АП-клетками частиц антигена в комплексе с молекулами ГКГС II класса они способны распознаваться **наивными Т-хелперами** ( $CD4^+$ -лимфоцитами), что приводит к целому каскаду иммунных реакций. Антигены в комплексе с молекулами ГКГС I класса распознаются **Т-киллерами** ( $CD8^+$ -лимфоцитами) и результатом является лизис только лишь одной клетки, экспрессирующей «чужие» антигены.

Поэтому антигенпрезентирующими считают только те клетки, которые способны представлять антигены в комплексе с молекулами ГКГС II класса.



### 54.2. Антигенпрезентирующие клетки. Дендритные клетки

К **антигенпрезентирующим** (антигенпредставляющим) клеткам относятся:

- **профессиональные АПК** (работают с высокой эффективностью и **постоянно** синтезируют молекулы ГКГС II класса):
  - дендритные клетки;
  - В-лимфоциты;
  - макрофаги;
- **непрофессиональные АПК** (работают с низкой эффективностью, синтезируют молекулы ГКГС II класса только **при стимуляции цитокинами**, например  $\gamma$ -интерфероном):
  - фибробласты;
  - эндотелиоциты;
  - глиальные клетки;
  - эпителиоциты тимуса и щитовидной железы и некоторые др.

Самыми эффективными среди антигенпрезентирующих клеток являются **дендритные клетки**. Они характеризуются следующим:

- по морфологии – крупные, с многочисленными разветвленными отростками, которые обеспечивают большую площадь взаимодействия с антигенами;
- распространены во всем организме, но больше в покровных тканях и лимфоидных органах;
- продуцируют цитокины, которые определяют характер иммунного ответа.

Выделяют две **субпопуляции** дендритных клеток:

1) **миелоидные** дендритные клетки:

- образуются из миелоидного гемопоэтического предшественника;
- запускают преимущественно клеточный иммунный ответ (презентируют антигены Т-хелперам 1-го типа и выделяют соответствующие цитокины);
- особенно много в слизистых оболочках и коже (**клетки Лангерганса**);
- клетки Лангерганса действуют особым образом: после связывания и процессинга антигена они перемещаются в Т-зоны лимфоузлов и лишь затем, превращаясь в интердигитальные клетки, экспрессируют антиген вместе с ГКГС II класса;

2) **плазмоцитоподобные** дендритные клетки:

- образуются из лимфоидного гемопоэтического предшественника;
- запускают преимущественно гуморальный иммунный ответ (презентируют антигены Т-хелперам 2-го типа и выделяют соответствующие цитокины);
- являются главными источниками интерферонов;
- располагаются преимущественно в лимфатических узлах и селезенке;
- несут на поверхности не только молекулы ГКГС II, но и комплексы антиген-антитело, которые презентуют при помощи **Fc-рецептора** антитела.

### 54.3. Естественные киллеры (НК-клетки)

**Естественные киллеры** (натуральные киллеры, НК- или ЕК-клетки; CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>) – это клетки лимфоидного происхождения, относящиеся к системе врожденного иммунитета. Они характеризуются следующим:

- крупные клетки с азурофильными гранулами;
- составляют ~10% лимфоцитов крови, накапливаются в печени, легких и селезенке;
- не умеют распознавать ни антигены, ни образы патогенности;
- секретируют некоторые цитокины, особенно γ-интерферон;
- активируются некоторыми цитокинами (ИЛ-12, ИЛ-2), но способны выполнять свои функции и без предварительной активации;
- наибольшую роль играют в противовирусном и противоопухолевом иммунитете.

**Механизм действия** НК-клеток является уникальным для иммунных клеток, поскольку в его основе лежит не распознавание «чужого», а распознавание измененного «своего»:

1) Естественные киллеры постоянно и хаотично «проверяют» встречающиеся на их пути клетки, при этом происходит взаимодействие с двумя видами рецепторов НК-клеток:

- **активирующими рецепторами**, лигандами которых являются особые молекулы клеточного происхождения (не чужеродные), появляющиеся только на инфицированных, трансформированных или подвергшихся стрессорному действию клетках;
- **ингибирующими рецепторами**, лигандами которых являются молекулы ГКГС I.

2) При отсутствии активирующего лиганда ответ НК-клетки отсутствует. При наличии активирующего лиганда и отсутствии нормального ГКГС I, развивается сильный ответ. Если есть и активирующий лиганд, и ГКГС I, сила ответа зависит от баланса сигналов.

3) Основной ответ НК-клетки – цитотоксический: белок **перфорин** образует в мембране атакованной клетки канал, в который впрыскиваются **гранзимы**. Дальнейший каскад выглядит следующим образом: **гранзимы** → **сериновые протеазы** → **эндонуклеазы** → фрагментация ДНК → апоптоз.

4) НК-клетки также способны к проявлению **антителозависимой цитотоксичности**: соединяясь с **Fc-фрагментом** антител, связавшихся с антигеном на поверхности клетки, они обеспечивают лизис этой клетки.

## 55. Иммунный ответ организма: определение, условия развития. Антигены: строение, свойства. Классификации антигенов: по функциональной активности; иммуногенности; степени чужеродности; типу иммунного ответа; связи с тимусом; способу попадания в организм

### 55.1. Иммунный ответ организма

**Иммунный ответ** – это сложная многокомпонентная кооперативная реакция иммунной системы организма, индуцированная антигеном и направленная на его элиминацию и формирование иммунологической памяти. Таким образом, иммунный ответ – это реакция системы **приобретенного иммунитета**. Иммунный ответ характеризуется следующим:

- его развитие зависит от свойств антигена, характера взаимодействия с ним (место, доза и кратность попадания), состояния иммунной системы и факторов внешней среды;
- может быть классифицирован:
  - по *механизму* (клеточный и гуморальный);
  - по *контакту с антигеном* (первичный и вторичный);
  - по *охвату организма* (системный и местный);
  - по *направленности* (антибактериальный, противовирусный и т.д.);
- протекает в две фазы:
  - *индуктивная* (захват, процессинг и презентация антигенов, активация и дифференцировка иммунных клеток);
  - *продуктивная* (быстрое накопление эффекторных клеток и клеток памяти);
- контролируется организмом *генетически* (у разных людей степень реакции на один и тот же антиген будет разной) и *гормонально* (глюкокортикоиды, адреналин и половые гормоны подавляют иммунный ответ; тироксин, СТГ и инсулин – активируют).

### 55.2. Антигены: строение, свойства

**Антигены** – это биополимеры органической природы, генетически чуждые для макроорганизма, которые распознаются его иммунной системой и вызывают иммунный ответ.

По строению различают **полные** и **неполные** антигены. Полные антигены состоят из **носителя** и детерминантной группы – **эпитопа**:

Признак	НОСИТЕЛЬ	ЭПИТОП
Функция	стабилизация эпитопа; индукция иммунного ответа	специфичность иммунного ответа
Доля в антигене по массе	97-99%	1-3%
Химическая природа	макромолекулы (обычно белки или полисахариды), клетки	любое вещество (в составе белка – чаще пептид длиной 5-8 АК)
Строение	сложное	простое
Метаболическая активность	высокая	низкая
Чужеродность	необязательна	обязательна
Комплементарность к распознающим рецепторам	нет	да

Один антиген может нести как один эпитоп (**моновалентный антиген**), так и несколько одинаковых (**мультивалентный**) или несколько разных эпитопов (**поливалентный**). При наличии разных эпитопов один из них является доминирующим. Эпитопы также делят на **линейные** (например, первичная последовательность АК) и **конформационные** (вторичные и более высокие структуры).

Полные антигены обладают следующими **свойствами**:

- 1) **чужеродность** – распознавание антигена как чуждого для данного конкретного организма:
  - заблаговременное выявление всего «чужого» (а не, например, собственно вредных качеств патогена) как способ защиты было закреплено эволюционно;

- является непосредственной причиной активации иммунного ответа;
  - свойство не является абсолютным: *аутоантитела* встречаются как в патологии, так и в норме;
- 2) **иммуногенность** – способность вызывать иммунный ответ вне зависимости от его специфичности:
- зависит от степени чужеродности, молекулярной массы (прямая зависимость) и сложности пространственной структуры антигена (более иммуногенны ПС и ЛПС);
  - иммуногенные антигены обязательно содержат в своем составе либо белок, либо углеводы; липиды, нуклеиновые кислоты и другие вещества могут быть полноценными антигенами только в комплексе с ними;
- 3) **антигенность** – способность взаимодействовать с антителами или клетками, которые образовались в ответ на попадание антигена в макроорганизм;
- 4) **специфичность** – способность антигена индуцировать иммунный ответ к строго определенному эпитопу.

Неполные антигены – *гаптены* – состоят только из эпитопа, то есть не имеют носителя. Для них характерны все перечисленные выше свойства, кроме иммуногенности, то есть они не способны вызывать иммунный ответ.

Гаптены потенциально могут связаться с носителем и превратиться в полный антиген. Таким путем гаптены вызывают *аллергические реакции* после связывания в организме с белками. Также для увеличения иммуногенности вакцин в них могут добавлять специальные носители – *адьюванты*.

### 55.3. Классификация антигенов

#### I. По функциональной активности:

- *полные*;
- *неполные*;

#### II. По иммуногенности:

- *слабые*;
- *сильные*;
- *суперантигены* (стафилококков, стрептококков, некоторых вирусов) – взаимодействуют с ГКГС II и Т-клеточным рецептором вне щели Бьоркмана и вызывают поликлональную активацию (то есть сразу многих клонов) Т-лимфоцитов с развитием *цитокинового шторма* и последующей гибелью Т-лимфоцитов.

#### III. По степени чужеродности:

- *аутоантигены* – нормальные молекулы организма (иммунопатологическая реакция);
- *изоантигены* – от генетически идентичных организмов (однояйцевые близнецы);
- *аллоантигены* – от другой особи того же вида;
- *ксеноантигены* – от особи других видов;
- *комплексные* – результат объединения аутоантигенов и чужеродных молекул.

#### IV. По типу иммунного ответа:

- *иммуногены* – индуцируют нормальный иммунный ответ;
- *аллергены* – увеличивают реактивность организма на повторные попадания антигена;
- *толерогены* – отсутствие реакции на повторные попадания антигена (толерантность);
- *трансплантационные* – обуславливают реакции отторжения трансплантата.

#### V. По связи с тимусом:

- *T-зависимые* – белок или комплекс с белком;
- *T-независимые* – полисахарид или липополисахарид.

#### VI. По способу попадания в организм:

- *экзогенные* – из внешней среды;
- *эндогенные* – из своего организма.

## 56. Антигены микроорганизмов. Антигенная структура бактерий. Типовые, видовые, групповые антигены. Протективные антигены. Перекрёстно-реагирующие антигены: примеры, значение

### 56.1. Антигены микроорганизмов. Антигенная структура бактерий

Количество **инфекционных антигенов** у микроорганизмов возрастает с усложнением их строения. У **простых вирусов** имеется всего несколько антигенов (например, у вируса полиомиелита – 2), у **сложных** может достигать 10 (вирусы герпеса), у **бактерий** – нескольких десятков, у **грибов** – нескольких сотен.

Среди **антигенов бактерий** выделяют следующие группы:

#### 1) структурные антигены:

- **О-антиген** – соматический (липополисахариды);
- **Н-антиген** – жгутиковый (белок);
- **К-антиген** – капсульный (полисахариды, реже белки или пептиды);
- **фимбриальные** антигены;
- **цитоплазматические** антигены;

#### 2) секретлируемые антигены:

- **экзотоксины** (белки);
- **экзоферменты** (белки).

По **специфичности** антигены подразделяют на:

- **гетерофильные** – встречаются у представителей разных семейств;
- **родоспецифические** – у всех представителей рода, и только этого рода;
- **видоспецифические** – у всех особей вида, и только этого вида;
- **группоспецифические** – общие у представителей одной группы внутри вида;
- **типоспецифические** – общие у отдельных представителей группы (сероваров);
- **штаммоспецифические** – характерны для отдельных штаммов одного серовара;
- **стадиоспецифические** – характерны для отдельных стадий развития м/о (боррелии).

Лишь немногие бактерии имеют все перечисленные структурные антигены. Их набор зависит от строения микроорганизма (например, неподвижные бактерии, как правило, не имеют жгутикового Н-антигена).

Антигенная структура бактерии может описываться **антигенной формулой** - символическим отображением сочетаний антигенов у данного штамма (пример: **O111 : K58 : H2**). Для того чтобы отнести штамм к какому-либо **серовару**, необходимо определить его типоспецифический антиген. Для этого используют специфические **антисыворотки**, чаще всего в реакции агглютинации. Для разных видов типоспецифическими могут являться различные антигены: О-антиген, К-антиген, Н-антиген, их комбинация и другие антигены.

### 56.2. Протективные антигены. Перекрёстно-реагирующие антигены

В антигенном составе некоторых бактерий выделяется группа антигенов с сильно выраженной иммуногенностью. В большинстве случаев это одновременно и антигены, биологическая активность которых играет ключевую роль в формировании патогенности возбудителя. Эти антигены, вызывающие сильный и эффективный (в смысле устранения вирулентности микроорганизма) иммунный ответ, называют **протективными антигенами**. Такие антигены широко используются для получения эффективных вакцин.

**Перекрёстно-реагирующие антигены** – это антигены, общие с антигенами тканей и органов другого организма (в частности, человека). Они имеются у многих микроорганизмов и рассматриваются как важный фактор вирулентности и пусковой механизм развития аутоиммунных процессов. Например, стрептококки имеют перекрёстно-реагирующие антигены с белками кардиомиоцитов.

## 57. В-лимфоциты: развитие, субпопуляции, маркёры, антигенспецифический В-клеточный рецептор. Методы определения количества и функциональной активности В-лимфоцитов

### 57.1. В-лимфоциты. В-клеточный рецептор

**В-лимфоциты** происходят из гемопоэтической стволовой клетки и в большинстве своем первоначально дифференцируются в костном мозге (у эмбриона также в печени). Название происходит от наименования *фабрициевой сумки (bursa)*, в которой у птиц происходит дозревание этих клеток.

Всего В-лимфоциты составляют примерно 15-20% от всех лимфоцитов и представлены двумя основными **популяциями**:

1) **В2-лимфоциты** («обычные»):

- *маркеры*: В-клеточный рецептор, CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup>, CD5<sup>-</sup>;
- составляют 80% от всех В-лимфоцитов;
- дифференцируются в красном костном мозге (ККМ);
- ежедневно образуется несколько миллиардов, однако в результате селекции (см. далее) до зрелых форм доходят только десятки миллионов;
- в конечном счете дифференцируются в *плазматические клетки*;
- входят в систему приобретенного иммунитета;

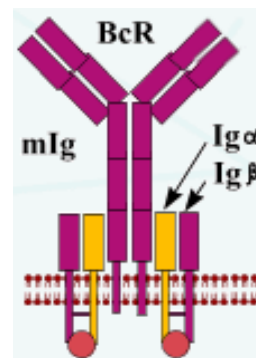
2) **В1-лимфоциты**:

- *маркеры*: В-клеточный рецептор, CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup>, CD5<sup>+</sup>;
- составляют 20% от всех В-лимфоцитов;
- дифференцируются в серозных полостях (брюшной, плевральной);
- самоподдерживающаяся популяция, не зависящая от ККМ;
- локализуются в серозных полостях, миндалинах, селезенке;
- синтезируют небольшой набор «нормальных» антител IgM и IgA к полисахаридам клеточной стенки бактерий, геамагглютиногенам (AB0), некоторым аутоантигенам;
- входят в систему врожденного иммунитета.

Первоначальная дифференцировка В2-лимфоцитов в ККМ называется **антигеннезависимой**, поскольку не зависит от раздражения антигенами. Последующая дифференцировка в периферических органах иммунной системы после контакта с антигенами, в результате которой образуется функционально активная клетка, называется **антигензависимой**.

В процессе антиген-независимой дифференцировки **наивный** (т.е. не встречавшийся еще с антигеном) В-лимфоцит получает мембранный **В-клеточный рецептор** (ВКР), основу которого составляет иммуноглобулин класса М (зрелые и незрелые) или D (только зрелые). На поверхности одной клетки их число превышает 150 000.

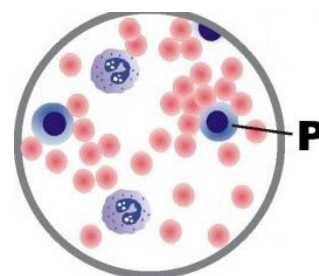
Строение иммуноглобулинов описывается в 59.1. Помимо IgM или IgD в структуру ВКР также входят 2 молекулы CD79, состоящие из Igα и Igβ.



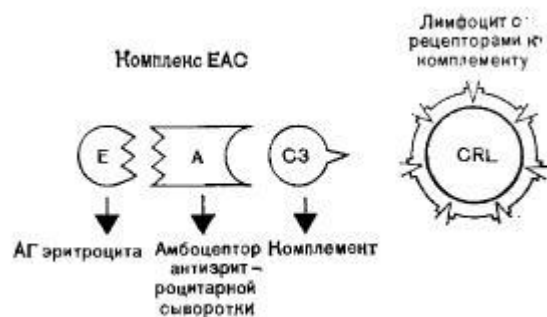
### 57.2. Методы определения количества и функциональной активности В-лимфоцитов

**Количество** В-лимфоцитов оценивается следующими методами:

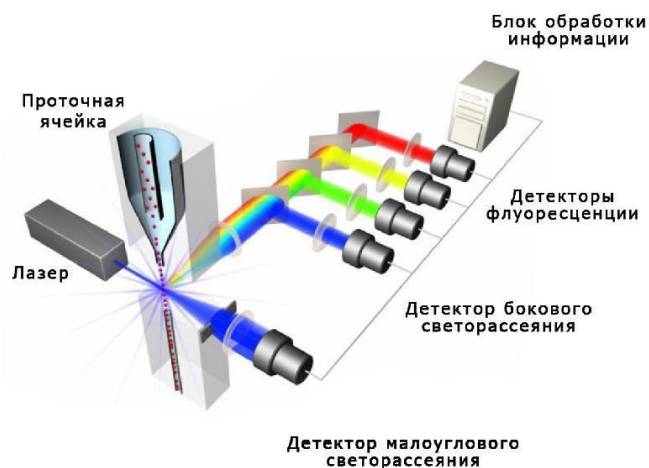
1) **метод розеткообразования** с эритроцитами мыши (М-розетки) – к суспензии клеток добавляют отмытые эритроциты мыши, после чего инкубируют, фиксируют и в мазке подсчитывают количество образовавшихся **розеток** – клеток, к которым присоединилось как минимум 3 эритроцита; в норме на 100 лимфоцитов в разных полях зрения должно быть 8-20 розеток (обычно подсчитывают на 200 лимфоцитов);



2) **метод образования ЕАС-розеток** – похож на предыдущий, однако вместо эритроцитов мыши используют **комплексы ЕАС** (Е – эритроцит, А – амбоцептор, нормальный гемолизин, С – комплемент С3), которые взаимодействуют с рецепторами к комплементу на поверхности лимфоцитов (преимущественно В-лимфоцитов);



3) **проточная цитометрия** (цитфлуориметрия) – наиболее современный метод, в котором к цельной крови или суспензии клеток добавляются меченые **флюорохромами** антитела к CD-антигенам (в случае В-лимфоцитов – к CD19 и др.) и после инкубации и отмывки материал загружают в **проточный цитфлуориметр**; в нем клетки одна за другой проходят через тонкую капиллярную трубку, где на них направлен лазерный луч; детекторы по боковому рассеянию света лазера определяют величину клеток, а по флюоресцентным вспышкам определенного цвета – наличие антигена, а значит и тип клеток; количество вспышек будет соответствовать количеству искомых клеток.



**Функцию** В-лимфоцитов оценивают по феномену антителообразования. В этих целях можно исследовать количество следующих антител:

1) «естественные антитела» (гемагглютинины группы крови, гетерофильные антитела против эритроцитов животных, антистрептолизин и др.);

2) антитела, образовавшиеся после иммунизации (обычно против дифтерии или столбняка, для оценки гуморального ответа на углеводные антигены – полисахаридными вакцинами против пневмококка или менингококка).

Определение количества антител проводят методами радиальной простой иммунодиффузии в геле по Манчини, иммунонефелометрии и ИФА. Все они подробно описываются в 60.2.

## 58. Гуморальный иммунный ответ (ГИО): определение, индукторы, этапы развития. Т-зависимый и Т-независимый ГИО. Плазматические клетки. В-лимфоциты памяти. Проявления первичного и вторичного ГИО

### 58.1. Гуморальный иммунный ответ

Гуморальный иммунный ответ (ГИО) – это комплексная кооперативная многокомпонентная реакция организма, которая индуцируется антигеном и реализуется В-лимфоцитами. В конечном счете, ГИО направлен на элиминацию антигена путем его связывания специфическими антителами.

Индукторами ГИО являются антигены широкого круга: растворимые антигены микроорганизмов (полисахариды, липополисахариды, белки), экзотоксины, антигены внеклеточных паразитов.

ГИО реализуется в несколько **этапов**:

#### I. Распознавание и связывание антигена В-лимфоцитами:

- осуществляется при помощи *В-клеточного рецептора*;
- запускает каскад реакций, который может привести к активации В-лимфоцита.

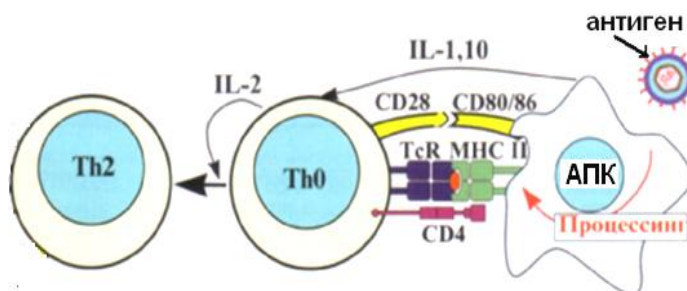
#### II. Активация В-лимфоцитов:

##### а) Т-независимая:

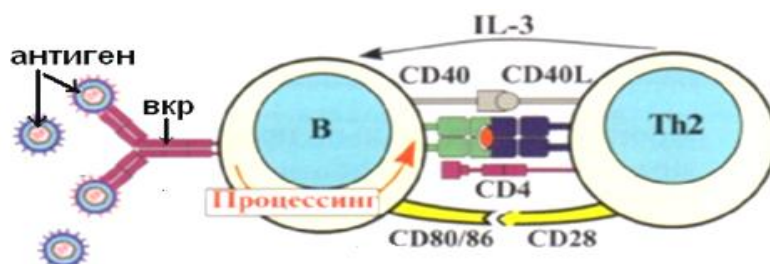
- характерна для ответа на полисахаридные и липополисахаридные антигены (они имеют повторяющиеся структуры);
- пролиферация В-лимфоцитов и их дифференцировка в плазматические клетки;
- может происходить *поликлональная активация* (то есть активация множества разных клонов В-лимфоцитов), что чревато аутоиммунными реакциями;
- иммунные *В-клетки памяти* не образуются;

##### б) Т-зависимая:

- характерна для ответа на белковые антигены;
- происходит при участии Т-хелперов 2-го типа (**Th2**), в которые дифференцируются наивные Т-хелперы (**Th0**) после презентации им антигена;



- параллельно с антигенпрезентирующими клетками В-лимфоциты также распознают антиген при помощи *В-клеточного рецептора*, процессируют его и также экспрессируют вместе с молекулами ГКГС II класса;
- Th2 распознают этот комплекс антигена с ГКГС II при помощи *Т-клеточного рецептора* и корецептора **CD4**;
- обязательным условием активации является одновременная *костимуляция* – лиганд-рецепторное взаимодействие молекул CD40 с CD40L и CD80/86 с CD28;

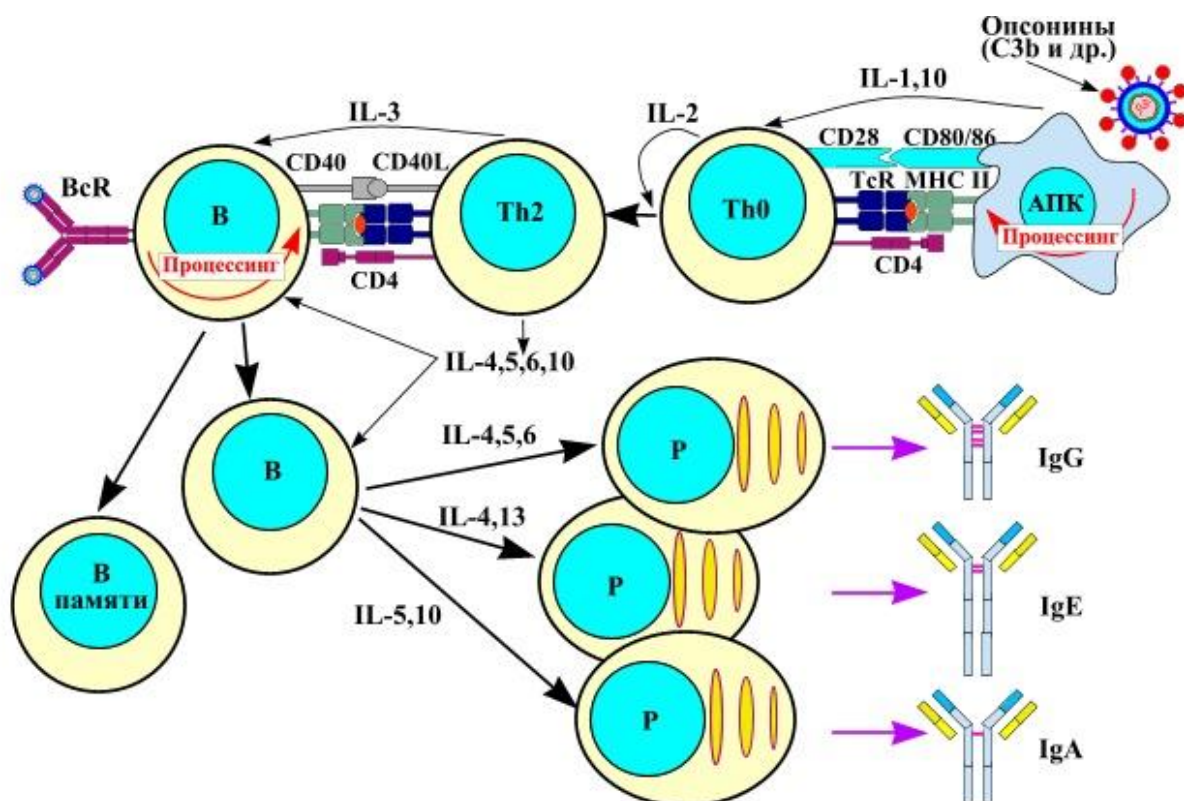


- вместе с В-лимфоцитом активируется и Т-хелпер, который начинает продуцировать **ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ10**, способствующие пролиферации и дифференцировке В-лимфоцитов;
- В-лимфоциты дифференцируются в **плазматические клетки**, а также в **В-клетки памяти**.

### III. Синтез антител и элиминация антигена:

- при **Т-зависимом** ГИО плазматические клетки вырабатывают иммуноглобулины **различных** классов (М, G, A, E), причем при помощи разных интерлейкинов клетки могут «переключаться» между различными классами;
- при **Т-независимом** ГИО плазматические клетки вырабатывают только IgM;
- антитела образуют с антигеном комплекс **антиген-антитело**, который может подвергаться **комплементзависимому лизису** или **фагоцитозу**.

Общая схема гуморального иммунного ответа представлена ниже.



#### 58.2. Плазматические клетки. В-клетки памяти.

После активации В-лимфоциты претерпевают **антиген-зависимую дифференцировку**, в процессе которой они превращаются в **плазмобласты** и, в конечном счете, в **плазматические клетки** (плазмоциты). Плазмоциты в крови практически не циркулируют, а располагаются в селезенке, лимфоузлах, красном костном мозге.

Плазматические клетки **утрачивают** большую часть мембранных маркеров (в том числе В-клеточный рецептор и молекулы ГКГС), их метаболизм переключается на активный белковый синтез (ядро уплотняется, увеличивается объем ЭПР и комплекса Гольджи).

Как правило, после периода синтеза огромного количества иммуноглобулинов они **погибают** в результате апоптоза (**короткоживущая популяция**). Небольшая часть плазматических клеток оседает в красном костном мозге на десятки лет и потенциально может привлекаться для вторичного иммунного ответа (**долгоживущая популяция**).

**В-клетки памяти** также дифференцируются из активированных В-лимфоцитов. В дальнейшем они постоянно мигрируют из лимфоидных органов в кровь и обратно. По морфологии они похожи на наивные В-лимфоциты, однако на мембране несут В-клеточ-

ные рецепторы типа **IgG** (а не IgD). Эти рецепторы обладают очень высокой *аффинностью*, благодаря чему клетки быстро распознают повторное появление антигена, пролиферируют и дифференцируются в плазматические клетки.

### 58.3. Проявления первичного и вторичного ГИО

Основным проявлением первичного и вторичного ГИО является реакция образования комплекса *антиген-антитело*. В результате нее происходит:

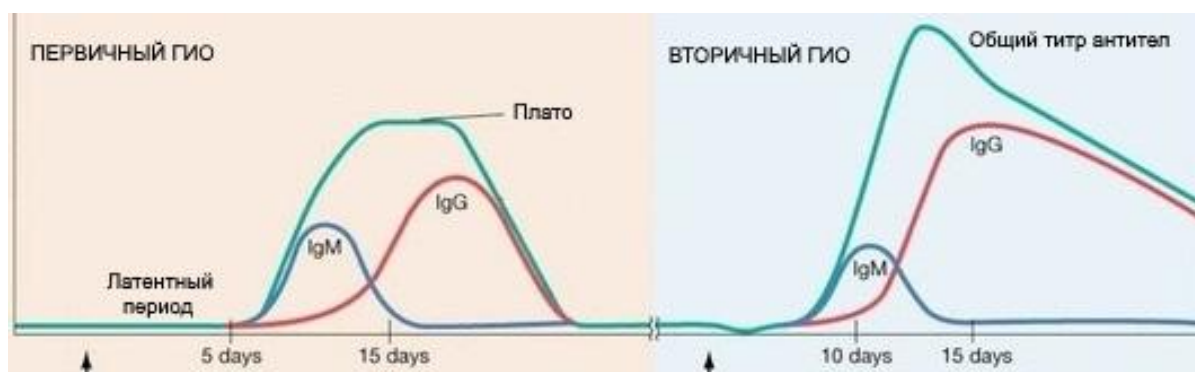
- 1) нейтрализация токсинов и внеклеточных вирусов;
- 2) образование преципитатов и агглютинатов, которые легче и быстрее поглощаются фагоцитами, чем свободный антиген;
- 3) опсонизация и элиминация внеклеточных патогенов;
- 4) бактериолиз и цитолиз клеток-мишеней;
- 5) активация системы комплемента.

Гуморальный иммунный ответ играет важную роль во всех видах иммунитета, за исключением противоопухолевого. Его действие не распространяется на внутриклеточных агентов, поэтому он эффективен только против микроорганизмов и паразитов, находящихся в крови и других биологических жидких средах.

Также ГИО обуславливает такие нежелательные реакции, как *реакции гиперчувствительности I-III типов* и *реакции отторжения трансплантата*.

**Вторичный иммунный ответ** характеризуется следующими признаками:

- более раннее развитие, иногда – молниеносное.
- меньшая доза антигена, необходимая для оптимального иммунного ответа.
- увеличение силы и продолжительности иммунного ответа за счёт более интенсивной продукции цитокинов;
- усиление образования антител за счёт формирования большего количества Т-хелперов 2-го типа и плазматических клеток;
- повышение специфичности синтезируемых антител за счёт изначальной продукции IgG высокой аффинности/авидности (титр IgM увеличивается в меньшей степени);
- формирование еще большего количества *B-клеток памяти*.



## 59. Антитела (иммуноглобулины): структура, классы и субклассы, генетические варианты. Функции антител. Классификации антител: по причине, вызвавшей образование; происхождению; функциональной активности; специфичности

### 59.1. Антитела (иммуноглобулины): структура

**Антитела** (иммуноглобулины, Ig, AT) – это гликопротеиновые соединения плазмы крови, синтезируемые плазматическими клетками в ответ на попадание в организм человека или теплокровных животных антигенов, специфически распознающие эти антигены и связывающие их.

Иммуноглобулины относятся к фракции *гамма-глобулинов* плазмы крови, а по структурному принципу их включают в состав *суперсемейства иммуноглобулинов* (к нему, например, относятся рецепторы CD4 и CD8, молекулы ГКГС I и II класса).

**Мономер** любого иммуноглобулина состоит из 4 полипептидных цепей: двух «легких» *L-цепей* и двух «тяжелых» *H-цепей*, связанных между собой дисульфидными связями.

Каждая из *L-цепей* имеет 2 домена: один *варибельный* (V) и один *константный* (C). Каждая из *H-цепей* имеет 4 домена: один *варибельный* и три константных (за исключением **IgE**, мономер которого имеет 5 доменов за счет еще одного константного).

Обе *L-цепи* мономера любого Ig могут принадлежать к одному из двух **типов**: *каппа* ( $\kappa$ ) или *лямбда* ( $\lambda$ ), причем функционально они совершенно не отличаются.

Обе *H-цепи* мономера определенного Ig могут принадлежать к одному из пяти типов, причем именно тип *H-цепей* определяет тип иммуноглобулина и его биологические свойства:

- 1) *гамма* ( $\gamma$ ) – **IgG**;
- 2) *мю* ( $\mu$ ) – **IgM**;
- 3) *альфа* ( $\alpha$ ) – **IgA**;
- 4) *дельта* ( $\delta$ ) – **IgD**;
- 5) *эпсилон* ( $\epsilon$ ) – **IgE**.

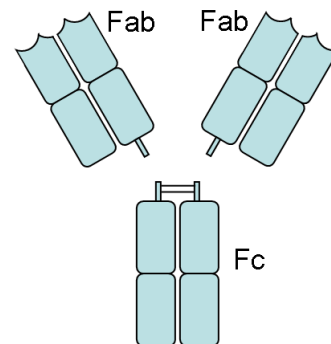
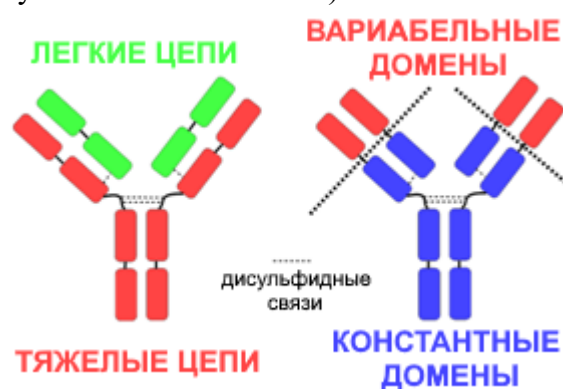
Весь мономер иммуноглобулина разделяют на три **фрагмента**: два *Fab-фрагмента* и один *Fc-фрагмент*. Химически этого можно добиться при помощи фермента *папаина*. Эти фрагменты имеют различное функциональное значение:

• **Fab-фрагменты** на концах имеют *гиперварибельные участки*, которые образуют активный центр молекулы, отвечающий за связывание с эпитопами антигенов – *антиген-связывающий участок*, или *паратоп*;

• **Fc-фрагменты**:

- взаимодействуют со специальными *Fc-рецепторами*, которые имеются на мембране многих иммунных клеток (макрофагов, НК-клеток, дендритных клеток, нейтрофилов, базофилов, тучных клеток, В- и Т-лимфоцитов);
- обеспечивают транспорта **IgG** через плаценту;
- связывают комплемент (**IgG** и **IgM**).

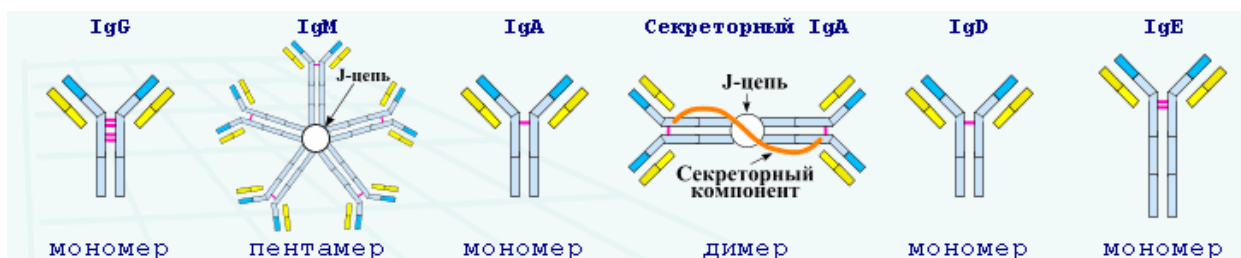
Также выделяют особую область на стыке Fab- и Fc-фрагментов – *шарнирный участок*. Он обеспечивает подвижность молекулы, благодаря чему оба активных центра могут взаимодействовать с эпитопами антигена на разных расстояниях и под разными углами.



## 59.2. Антитела (иммуноглобулины): классы и субклассы, функции

	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
Число мономеров	1	5	1-3	1	1
Валентность*	2	10	2-6	2	2
Молекулярная масса	150	900	160-380	180	190
Содержание в крови	70-80%	1-10%	10-20%	1% (на В-л)	<1%
Период полураспада	21 дн.	7 дн.	5 дн.	3 дн.	2 дн.
<b>Функции:</b>					
• основные функции	вторичный иммунный ответ	первичный иммунный ответ	постоянная защита слизистых	мембранный рецептор (ВКР)	аллергия и защита от паразитов
- опсонизация	++	+	+	-	-
- активация компл-та	++	++	-	-	-
- агглютинация	+	++	-	-	+
- противовирусная активность	++	+	++	-	-
- защита плода	++	-	-	-	-
- сенсibilизация тучных клеток	-	-	-	-	++
- лизис паразитов	-	-	-	-	++
<b>Субклассы</b>	Иммуноглобулины <b>типа G</b> : IgG1 (наилучший опсонин), IgG2 (наименьшее сродство к Fc-рецепторам), IgG3 и IgG4 (не связывает комплемент, участвует в ГНТ I типа). Иммуноглобулины <b>типа M</b> : IgM1 (связывают комплемент) и IgM2 (не связывают комплемент). Иммуноглобулины <b>типа A</b> : IgA1 и IgA2 (более устойчивы к протеазам).				
<b>Особенности IgM</b>	• пять мономеров соединяются <b>J-цепью</b>				
<b>Особенности IgA</b>	• в крови являются <b>мономерами</b> , в секретах – <b>димерами</b> и <b>тримерами</b> ; • имеют две <b>формы</b> : <b>сывороточную</b> (IgA1 и IgA2) и <b>секреторную</b> (sIgA); • секреторная форма, помимо двух или трех мономеров, содержит соединяющую их <b>J-цепь</b> и <b>секреторный компонент</b> , защищающий молекулу от протеаз				
<b>Особенности IgE</b>	• тяжелые цепи имеют дополнительный, четвертый <b>константный домен</b> , благодаря чему имеют большую <b>цитофильность</b> – сродство к базофилам и тучным клеткам				

\* **валентность** молекулы иммуноглобулина – количество активных центров, способных реагировать с антигеном; фактически равна умноженному на два количеству мономеров



## 59.3. Классификация антител

### I. По причине, вызвавшей образование:

- **нормальные** – факторы врожденного иммунитета (система АВО, к некоторым м/о);
- **иммунные** – в ответ на внедрение чужеродного антигена.

### II. По происхождению:

- **аутоантитела** – собственного организма к собственным антигенам;

- **изо**антитела – у генетически идентичных особей (однояйцевые близнецы, клоны);
- **гомо**(алло)антитела – у других особей своего же вида;
- **гетеро**(ксено)антитела – у особей разных видов.

### III. По функциональной активности:

- **полные** – у мономеров действуют оба активных центра;
- **неполные** – один из активных центров мономеров пространственно блокирован.

### IV. По специфичности:

- **полиспецифичные** – специфичны к нескольким антигенным детерминантам;
- **моноспецифичные** – специфичны только к одной антигенной детерминанте, получают методом гибридомной биотехнологии (см. далее).

## 59.4. Механизмы действия антител

Антитела участвуют в реализации иммунной защиты прямо, т.е. действуя непосредственно на антиген, и косвенно, привлекая другие эффекторные механизмы.

**Прямое действие** антител заключается в нейтрализации антигена, то есть прекращении его биологической активности при связывании с ним (например, блокирование адгезии микроорганизма).

Примерами **косвенного действия** являются:

1) связывание с клеточными **рецепторами к Fc-фрагменту**:

- *опсонизация* чужеродных частиц, стимулирующая и облегчающая фагоцитоз;
- *антителозависимая клеточная цитотоксичность* НК-клеток;
- *дегрануляция* тучных клеток при связывании с IgE;

2) активация комплексом антиген-антитело **комплемента** по классическому пути.

## 60. Закономерности биосинтеза антител. Методы определения концентрации иммуноглобулинов: простая радиальная иммунодиффузия по Манчини, нефелометрия, ИФА

### 60.1. Закономерности биосинтеза антител

Индукцированный антигеном биосинтез антител начинается, как правило, с синтеза **IgM-антител**. Это характерно и для тимуснезависимого, и для тимусзависимого иммунного ответа. IgM-антитела обладают менее выраженным, чем IgG-антитела, защитным действием (несмотря на большую валентность) по следующим основным причинам:

- имеют более низкое сродство к антигену;
- не обладают цитофильными свойствами (не адсорбируются на фагоцитах);
- медленно проникают в экстравакулярное пространство (большая М масса).

Через определенный промежуток времени достигает максимума синтез **IgG-антител**, которые являются более эффективными и более «экономичными».

При вторичном иммунном ответе концентрация **IgM** несколько меньшая, чем при первичном, а концентрация **IgG** достигает гораздо больших значений и падает медленнее. Также при вторичном ответе резко возрастает синтез специфических **IgA**.

### 60.2. Методы определения концентрации иммуноглобулинов

#### I. Простая радиальная иммунодиффузия в геле по Манчини:

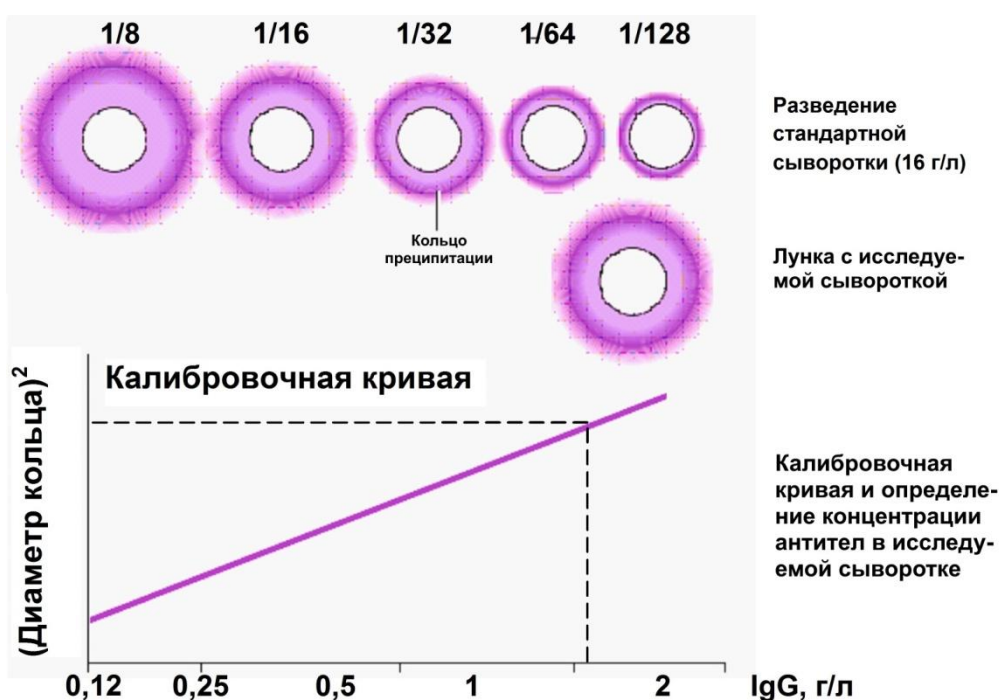
1) в гель вносят **антитела к антителам человека** определенного класса (субкласса), дают гелю застыть и вырезают в нем лунки;

2) в лунки раскапывают исследуемые сыворотки, а также **стандартную сыворотку** с известной концентрацией искомого иммуноглобулина в различных разведениях;

3) при взаимодействии антител, находящихся в сыворотке, и антител к антителам, находящихся в геле, образуется **кольцо преципитации** (помутнение);

4) измерив площади колец преципитации в лунках со стандартными сыворотками, строят **калибровочную кривую** – зависимость между площадью кольца и концентрацией искомого иммуноглобулина;

5) измерив площади колец преципитации в лунках с исследуемыми сыворотками, их значения откладывают на графике и, опуская перпендикуляр на ось абсцисс, находят концентрацию иммуноглобулина в материале.

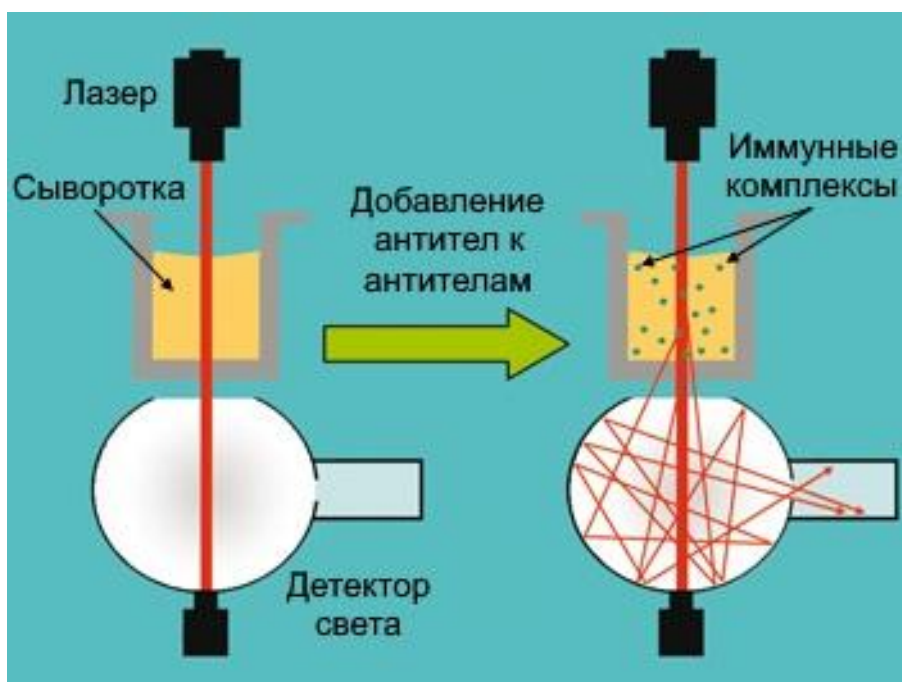


## II. Нефелометрия:

1) в исследуемую сыворотку вносят *антитела к антителам человека* определенного класса (субкласса), в результате чего в ней образуются *иммунные комплексы* с достаточно большой молекулярной массой;

2) через образец пропускают луч лазера, определяя интенсивность рассеянного светового потока (чем больше образовалось комплексов, тем больше рассеяние);

3) концентрацию иммуноглобулинов также определяют по *калибровочной кривой*, по оси ординат которой откладывается интенсивность рассеянного света.



III. Иммуноферментный анализа (ИФА) – подробно рассматривается в 68.1.

## 61. Контроль биосинтеза иммуноглобулинов. Гены иммуноглобулинов. Взаимодействие антител с антигенами: условия взаимодействия, фазы, результат. Аффинность и авидность

### 61.1. Генетический контроль синтеза иммуноглобулинов

Структура молекулы иммуноглобулина характеризуется уникальным генетическим кодированием, основная особенность которого – фрагментарность расположения генов в хромосомах и независимость их наследования. Этот и другие механизмы обуславливают огромное разнообразие образуемых антител.

**L-цепи** кодируются тремя группами генов: **V**, **J** и **C** (всегда один ген). Гены цепей типа **κ** (каппа) находятся во 2-й хромосоме, причем всего имеется 250 V-генов и 5 J-генов, что обуславливает 1250 возможных комбинаций. Аналогично, для  $\lambda$ -цепей в 22-й хромосоме имеется 100 V-генов и 6 J-генов, что дает 600 возможных комбинаций.

**H-цепи** кодируются четырьмя группами генов: **V**, **D** и **J** (все три – *вариабельный домен*), а также **C** (*константный домен*). Эти гены располагаются в 14-й хромосоме, их количество составляет 200, 50, 5 и 5 соответственно с числом комбинаций равным 250 000.

Соединение различных вариантов L- и H-цепей происходит случайным образом, что увеличивает число возможных комбинаций до полумиллиарда ( $10^8$ ).

Однако, в конечном счете количество вариантов иммуноглобулинов может достигать  $10^{17}$ , что обуславливается следующими процессами:

- **мутации** в процессе пролиферации клеток, которые особенно часты в V-генах;
- использование различных **рамок считывания**;
- **реаранжировка** (перестройка) генов иммуноглобулинов.

В конечном счете, можно сказать, что в организме всегда существуют или в любой момент могут появиться В-лимфоциты, специфичные практически к любому антигену.

### 61.2. Взаимодействие антител с антигенами. Аффинность и авидность

Взаимодействие антител с антигенами проходит в две **фазы**:

#### 1) специфическая фаза:

- **эпитоп** антигена комплементарно связывается с **паратопом** антитела;
- протекает очень быстро;
- требует определенных условий: pH~7,  $t\sim 37$  °C, осмолярность физраствора, наличие фосфат-, карбонат- и хлорид-ионов, достаточно малое расстояние между молекулами;
- участвуют нековалентные связи (водородные, электростатические, гидрофобные);
- в результате образуется **иммунный комплекс**, который при определенных условиях (большая  $t$ , высокие концентрации солей) может диссоциировать;

#### 2) неспецифическая фаза:

- укрупнение и, возможно, образование видимого комплекса антиген-антитело;
- проявляется феноменами **агглютинации** (появление зерен или хлопьев при связывании нерастворимых антигенов), **преципитации** (помутнение при связывании растворимых антигенов), **нейтрализации** (прекращение биоактивности вирусов или токсинов) или **лизиса клетки** (взаимодействие с клеточными антигенами).

**Продолжительность существования** комплекса антиген-антитело определяется не только внешними условиями, но также и следующими свойствами антитела:

• **аффинность** – сила (энергия) связи одного активного центра антитела с антигеном; она увеличивается в процессе развития ГИО, т.к. более специфические В-лимфоциты успешнее проходят процесс селекции в процессе дифференцировки в плазмочиты; наибольшую аффинность имеют **IgG**;

• **авидность** – сила (энергия) связи всей молекулы антитела с антигеном; она прямо зависит от аффинности, валентности антитела и пространственного расположения активных центров; наибольшую аффинность имеют **IgM** (за счет большой валентности, равной пяти).

## 62. Серологический метод исследования: определение, задачи, материалы для исследования, оценка метода. Основные понятия (диагностикум, диагностическая сыворотка, титр, диагностический титр, парные сыворотки). Общие закономерности серологических реакций. Использование серологических реакций для определения неинфекционных маркёров

### 62.1. Серологический метод исследования: определение, задачи, материалы, оценка

**Серологический метод исследования** – это метод, в основе которого лежит реакция специфического взаимодействия **антигенов** (АГ) и **антител** (АТ). Для проведения исследования требуются либо известные антигены (поиск антител), либо известные антитела (поиск антигенов).

**Задачи** серологического метода:

- диагностика **инфекционных заболеваний** по обнаружению антител:
  - обнаружение АТ в диагностическом титре;
  - оценка динамики титра АТ;
  - определение антител различных классов (IgG, IgM);
- диагностика **аутоиммунных и аллергических заболеваний** по обнаружению антител;
- диагностика **инфекционных заболеваний** (чаще при помощи РИФ или ИФА) и некоторых **опухолей** по обнаружению антигенов;
- определение активности **поствакцинального иммунитета**;
- определение **групп крови** и **подбор доноров** при пересадке органов;
- определение **титров приготовленных** (диагностических, лечебных) **сывороток**.

**Материалы** для серологического исследования:

- 1) **сыворотка крови**, желательно венозной, взятой утром натощак;
- 2) **чистые культуры** микроорганизмов;
- 3) **патологический материал** от больных (соскобы, пунктаты, биоптаты, секционный материал) для экспресс-обнаружения антигенов.

Достоинства метода	Недостатки метода
+ высокая чувствительность;	– поздний метод при выявлении антител;
+ высокая специфичность;	– частые ложноположительные и ложноотрицательные результаты;
+ ранний метод при выявлении антигенов;	– опасность инфицирования
+ быстрота	

### 62.2. Основные понятия. Общие закономерности серологических реакций

**Диагностическая сыворотка** (известное АТ) – иммунная сыворотка, содержащая АТ известной специфичности в известном титре. Диагностические сыворотки получают путём иммунизации животных соответствующим АГ либо при помощи гибридомной технологии (моноклональные антитела).

**Диагностикум** (известный АГ) – взвесь известных микроорганизмов или извлечённых из них АГ в физрастворе.

**Титр сыворотки** – максимальное разведение сыворотки (или минимальное её количество), в котором обнаруживаются АТ.

**Диагностический титр** – разведение сыворотки, в котором реакция положительна только у больных и отрицательна у здоровых.

**Парные сыворотки** – две сыворотки одного обследуемого, взятые с определённым интервалом для изучения динамики титра АТ. Первую сыворотку берут немедленно, вторую – через 7–14 дней (острые инфекции) или через месяц (хроническая инфекция). Диагностическим считается нарастание титра антител в четыре и более раза.

**Серонегативный период** – стадия заболевания, в которой специфические АТ ещё не обнаруживаются, несмотря на наличие возбудителя («серологическое окно»).

**Серопозитивный период** – стадия заболевания, в которой специфические АТ обнаруживаются.

**Сероконверсия** – переход серонегативности в серопозитивность.

**Общие закономерности серологических реакций:**

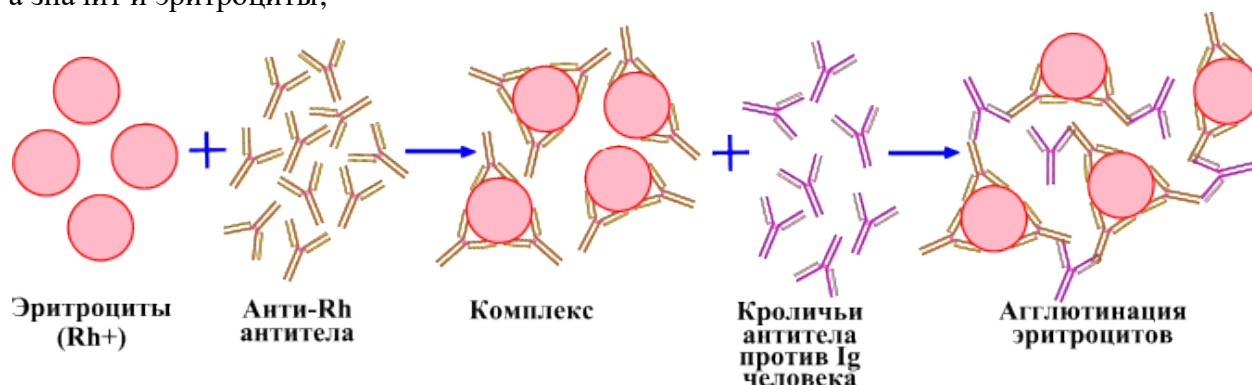
- 1) Ставятся *in vitro* (за исключением некоторых реакций, включаемых также в аллергологический метод, например реакции кожной анафилаксии).
- 2) Проявляются при определенных **условиях**:
  - иммунологическое соответствие (гомологичность) АГ и АТ;
  - присутствие их в эквивалентных соотношениях (недостаток или избыток компонентов препятствует образованию иммунных комплексов);
  - в оптимальных температурных условиях (0–37 °С) и рН среды;
  - в присутствии электролита (0,85%-ный раствор NaCl).
- 3) Все серологические реакции **отличаются по проявлениям** (регистрируемому эффекту) **и технике постановки**.
- 4) Различают однофазные и двухфазные серологические реакции. **Однофазные** реакции имеют только специфическую фазу (например, реакция иммунофлюоресценции). **Двухфазные** реакции завершаются неспецифической фазой, в которой происходят видимые изменения (например, реакция агглютинации или реакция преципитации).

### 62.3. Серологические реакции для определения неинфекционных маркёров

Для определения антител неинфекционной природы, которые чаще всего исследуют для выявления иммунологических процессов, связанных с **групповой несовместимостью** (система гистосовместимости, эритроцитарные системы АВ0, резус и др.), используют следующие **реакции**:

1) **реакция агглютинации в коллоидной среде** для определения неполных антител (например, резус-антител) – проводится как обычная реакция агглютинации (см. далее), однако солевую среду (электролит) заменяют коллоидной (белок), поскольку неполные антитела полностью теряют свою активность в присутствии электролита;

2) **реакция Кумбса** для определения неполных антител – к исследуемой сыворотке, предположительно содержащей неполные (то есть имеющие только один активный центр) антирезусные антитела, добавляют эритроциты; неполные антитела способны связываться с эритроцитами, но не склеивать их (поскольку активный центр только один); при добавлении же антител против иммуноглобулинов человека они склеивают неполные антитела, а значит и эритроциты;



3) **лимфоцитотоксический тест** для типирования антигенов ГКГС – к сывороткам против разных антигенов ГКГС добавляют по 2000 исследуемых лимфоцитов, а затем комплемент, который разрушает лимфоциты, несущие антиген, против которого направлена сыворотка; затем добавляют краситель, окрашивающий только живые клетки, и подсчитывают число погибших лимфоцитов.

### 63. Реакция агглютинации: ингредиенты, механизм, способы постановки, учёт, оценка, практическое применение

**Реакция агглютинации (РА)** относится к простым, поскольку включает только два компонента: АГ и АТ. Она позволяет выявить АГ, расположенные на поверхности сравнительно крупных частиц, путем агглютинации (склеивания) этих частиц. С ее помощью можно также выявлять АТ в сыворотке крови.

Сущность реакции описывается *теорией «решетки»*, согласно которой полные (двухвалентные) антитела, взаимодействуя двумя активными центрами с антигенами на поверхности разных частиц, приводят к их склеиванию в неспецифической фазе взаимодействия.

Для идентификации выделенных микроорганизмов ставят **ориентировочную РА** на предметном стекле. Для этого к капле стандартной диагностической сыворотки (обычно в разведении 1:20) добавляют культуру возбудителя. Реакция считается положительной, если в капле образуется хлопьевидный осадок (обычно это занимает несколько минут).

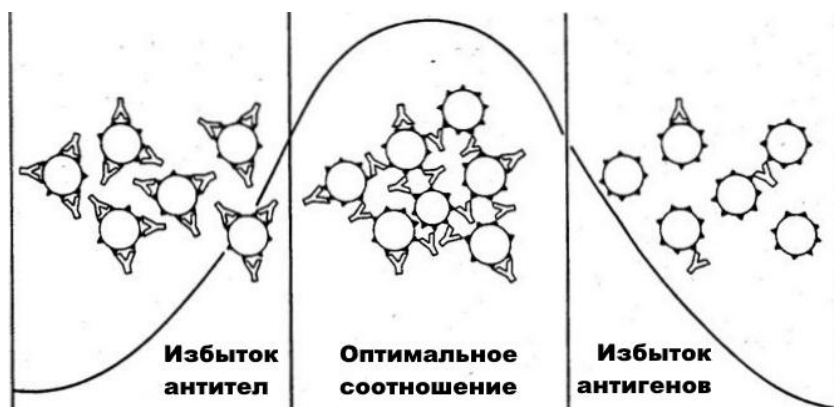
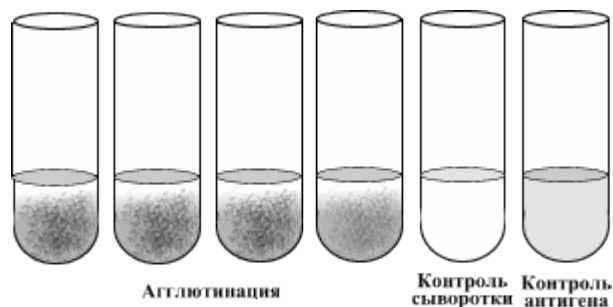
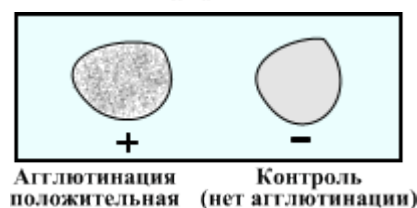
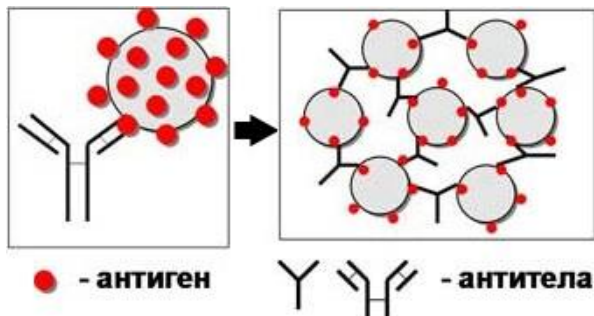
При положительной ориентировочной реакции ставится **развернутая РА**, при которой реакция ставится с несколькими разведениями агглютинирующей сыворотки. При этом определяют *титр сыворотки* – максимальное разведение, дающее агглютинацию – и сравнивают его с *диагностическим титром*.

Развернутая РА также ставится для определения антител в сыворотке больного. В этом случае к нескольким разведениям сыворотки крови больного добавляют диагностикум. Агглютинация с *О-диагностикумом* проходит медленнее и дает мелкозернистую агглютинацию, с *Н-диагностикумом* – быстрее и дает крупнохлопчатую агглютинацию. РА применяется для определения антител у больных брюшным тифом (реакция Видала), бруцеллезом (реакция Райта), туляремией.

Реакцию **прямой гемагглютинации** также используют для определения группы крови.

При проведении реакций агглютинации любых разновидностей важнейшее значение имеет **эквивалентность** количеств антигенов и антител. Добавление слишком большого количества одного из ингредиентов сделает реакцию невозможной, что проиллюстрировано на рисунке ниже. Кроме того, необходимо наличие раствора **электролита** и соответствующая **температура** (желательно  $\sim 37^\circ\text{C}$ , но не меньше комнатной).

Реакция агглютинации является наименее чувствительной и специфичной.

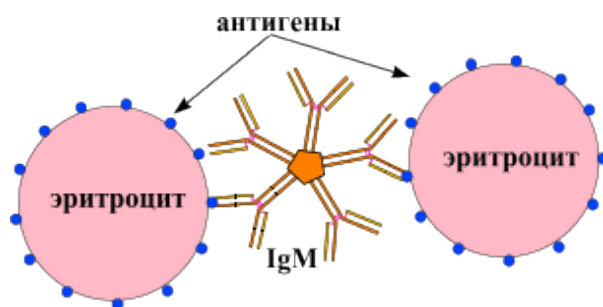


## 64. Реакция пассивной (непрямой) и обратной пассивной гемагглютинации: ингредиенты, механизм, способы постановки, учёт, практическое применение. Реакция латексагглютинации. Реакция коагглютинации

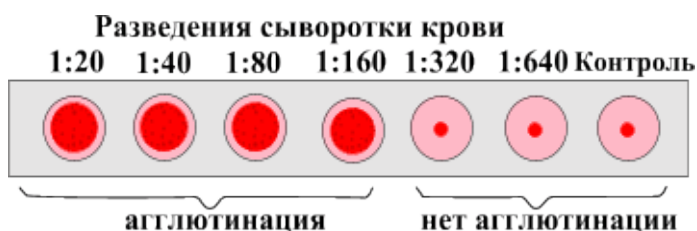
### 64.1. Реакция пассивной и обратной пассивной гемагглютинации

Реакция пассивной (непрямой) агглютинации (РПГА или РНГА) и реакция обратной пассивной (непрямой) агглютинации (РОПГА или РОНГА) относятся к простым, поскольку включают только два компонента: АГ и АТ, один из которых искусственно адсорбирован на поверхности эритроцитов (поэтому они и называются непрямыми или пассивными). Такие эритроциты называются *сенсibilизированными*.

В РНГА используется *антигенный эритроцитарный диагностикум*, то есть эритроциты с сорбированными на их поверхности антигенами. Соответственно, назначение этой реакции – **поиск антител**. Если антитела в сыворотке присутствуют, они несколькими своими активными центрами будут взаимодействовать с разными эритроцитами, что приведет к образованию «решетки».



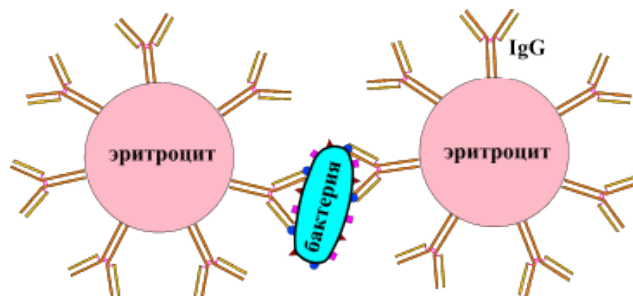
Реакцию ставят в специальных лунках, в которые добавляют несколько разведений сыворотки крови в физрастворе и диагностикум. После инкубации (желательно в течение 2 ч при температуре ~37 °С) проводят оценку: положительной считается реакция, при которой эритроциты оседают на дно лунки равномерно покрывая его в виде перевернутого «зонтика» с неровными краями. При отрицательной реакции эритроциты также оседают, но покрывают дно в виде маленькой «пуговки» (диска) с ровными краями.



РНГА является высокочувствительной и высокоспецифичной, но в то же время достаточно простой в исполнении и недорогой реакцией. Она широко применяется для диагностики инфекционных болезней, установления беременности, выявления повышенной чувствительности к лекарствам.

РОНГА отличается от прямой реакции тем, в ней используется *антительный эритроцитарный диагностикум*, то есть эритроциты с сорбированными на их поверхности антителами. Соответственно, назначение этой реакции – **поиск антигенов**. Механизм этой реакции такой же, только «узлами» решетки становятся не антитела, а антигены. Проводится она аналогично РНГА.

Наиболее часто РОНГА применяют для поиска в крови токсинов – дифтерийного или ботулинического – но ее также можно использовать и для обнаружения антигенов непосредственно в материале при условии их высокой концентрации.



### 64.2. Реакции латексагглютинации и коагглютинации

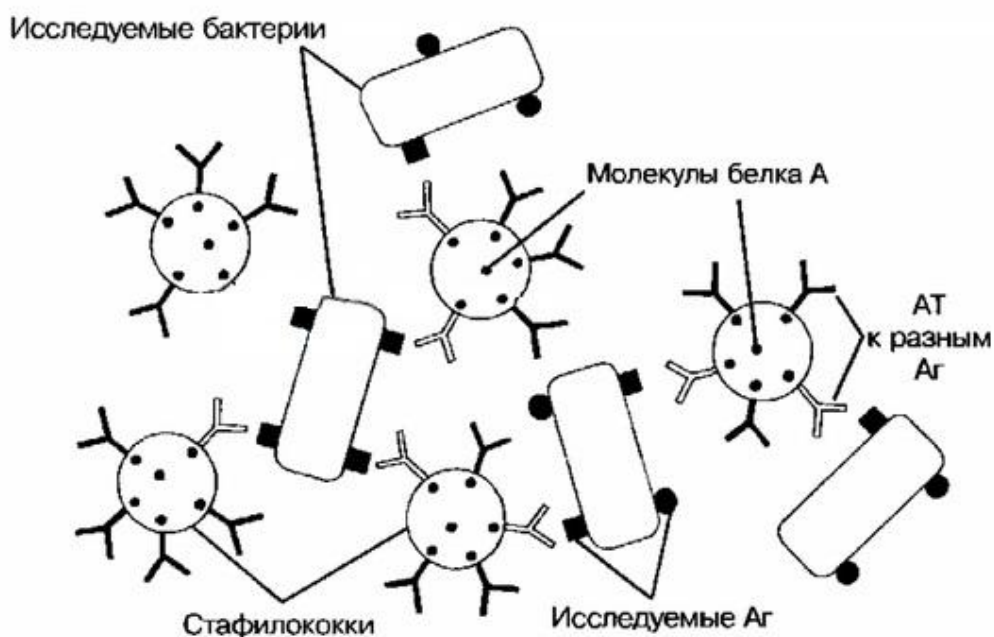
Реакция латексагглютинации по своему механизму очень похожа на РНГА или РОНГА за тем исключением, что диагностические антитела или антигены сорбируются не на эритроцитах, а на частицах латекса. Эту реакцию прежде всего отличает большая ско-

рость образования видимых агрегатов, что позволяет учитывать ее уже через 10-15 минут, при сохранении высокой чувствительности и специфичности.

Наиболее часто реакция применяется для экспресс-диагностики антигенов стрептококков, гемофильной палочки, менингококков в различных тканевых жидкостях (моче, сыворотки крови, спинномозговой жидкости), стрептококков и стафилококков в мазках из зева.

**Реакция коаггутинации** основана на способности белка А золотистого стафилококка связывать *Fc-фрагменты* иммуноглобулинов, что позволяет использовать их как носитель антител. Для проведения реакции на предметное стекло наносят взвесь сенсibilизированных известным антителом стафилококков и добавляют к ним взвесь исследуемых микробов либо материала с высокой концентрацией антигена.

Механизм реакции такой же, как и у РОНГА, только носителями антител выступают не эритроциты, а стафилококки. Преимуществом реакция является высокая скорость: учет можно производить уже по прошествии минуты.



## 65. Реакция иммунопреципитации: ингредиенты, механизм, способы постановки, учёт, практическое применение

### 65.1. Реакция иммунопреципитации: общие сведения

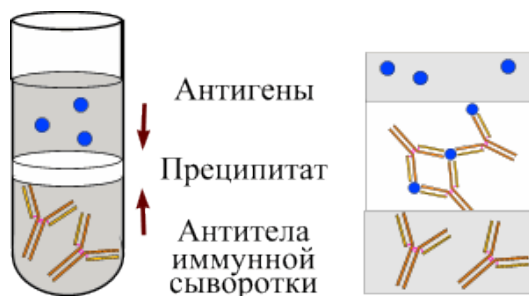
**Реакция иммунопреципитации** (преципитации, РП) очень схожа в своей сути с *реакцией агглютинации*. Ее результатом является образование видимого осадка (*преципитата*) или помутнения среды. Основное отличие заключается в том, что если в реакции агглютинации видимые частицы образуются с участием крупных нерастворимых антигенов, то в реакции преципитации в решетку включаются растворимые антигены (как правило, *гаптены*). Это значит, что склеиванию частиц должен предшествовать их переход в нерастворимую фазу.

Реакция преципитации также относится к простым реакциям, так как требует для постановки только АГ и АТ в том или ином виде. Она проводится несколькими способами, которые можно объединить в две группы: реакции в *жидкой среде* и реакции в *геле* (агаре). Независимо от выбранного способа постановки для этой реакции всегда соблюдается следующее **правило**: в процессе титрования разводят не сыворотку, а антиген. Реакционная среда обязательно должна содержать электролит (подходит физраствор) и иметь нейтральный рН.

РП является высокочувствительной и высокоспецифичной реакцией, превосходя по всем параметрам РА. Ее также отличает быстрота получения результата (в жидкой среде – в течение секунд).

### 65.2. Реакции иммунопреципитации в жидкой среде

I) **Реакция кольцепреципитации** проводится в специальных узких пробирках, в которые вносят сначала иммунную сыворотку, а затем сверху наслаивают (т.е. приливают очень аккуратно, не допуская перемешивания) раствор антигена. В случае положительной реакции на границе двух растворов образуется **кольцо преципитации** молочного цвета. Эта реакция используется для выявления АТ к бруцеллам в молоке.



Также широко распространена ее модификация – **реакция термпреципитации по Асколи**, при которой искомые антигены возбудителя сибирской язвы экстрагируют из различного материала (кожа, мясо, земля, испражнения) кипячением, а затем ставят, как описано выше.

II) **Реакция флоккуляции** проводится в пробирках со смешиванием растворов антител и антигенов (при избытке последних). В результате может образовываться хлопьевидный (лат. *floccus* – хлопья шерсти) осадок или помутнение. Обычно ее применяют для определения активности анатоксина или антитоксина.

III) **Реакция микропреципитации** используется для выявления низких титров АТ, которых недостаточно для образования видимого преципитата. Растворы антител и антигенов смешивают, после чего измеряют изменения оптической плотности смеси. В случае положительного результата (образование микропреципитатов) оптическая плотность повышается.

### 65.3. Реакции иммунопреципитации в геле

I) **Двойная иммунодиффузия** – в геле вырезаются лунки, в которые отдельно помещают антигены и иммунную сыворотку. И антигены, и антитела диффундируют в гель и при условии их гомологичности через сутки или более образуют иммунные комплексы, видимые в геле как **линии преципитации**.

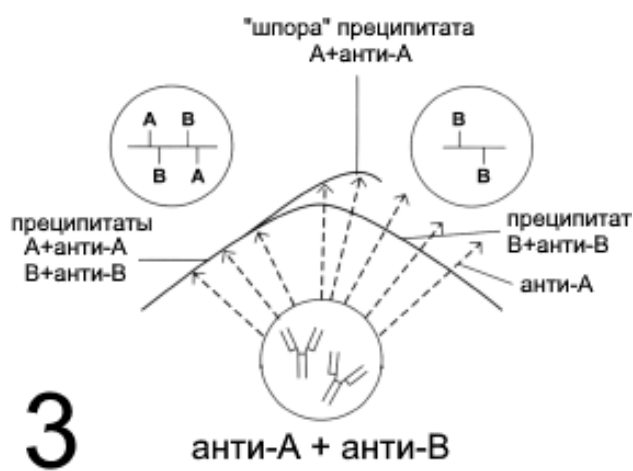
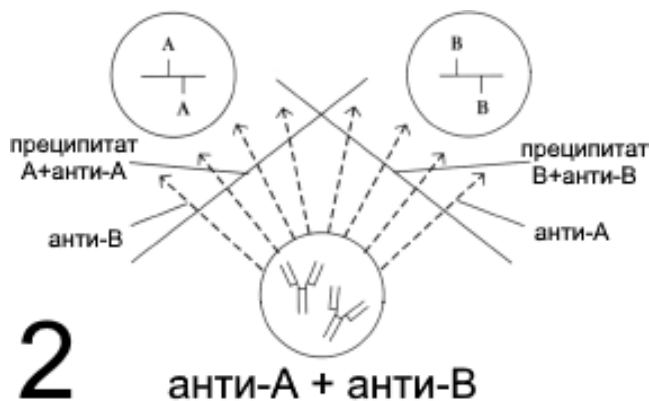
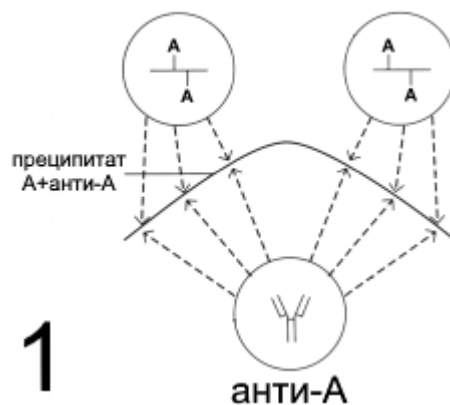
В самом простом варианте этой реакции учитывают появления линии преципитации между двумя лунками с растворами антигена и антитела. Его часто используют в тех случаях, когда производится поиск антигена в различных жидкостях и тканевых экстрактах.

Также эта реакция применяется для сравнения различных антигенов или сывороток. Например, используя не две, а три лунки, по характеру образуемых линий преципитации можно судить об идентичности антигенов. Возможны следующие результаты:

1) антигены полностью **идентичны** – линия преципитации единая, дугообразная;

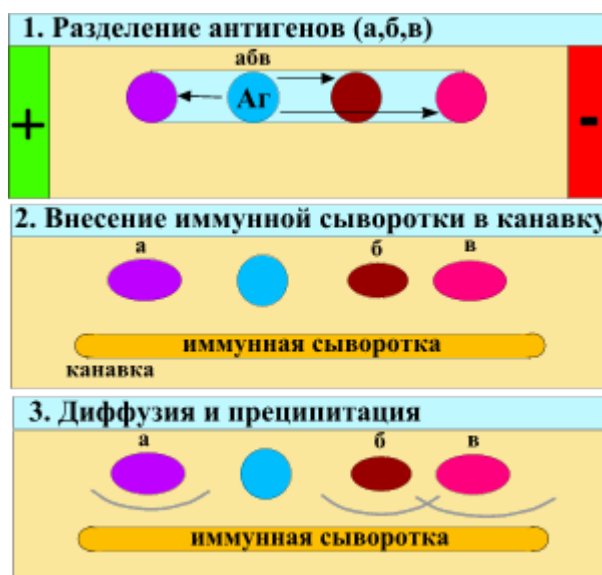
2) антигены совершенно **не совпадают** – линии преципитации пересекаются крест-накрест;

3) антигены **отличаются** друг от друга, но в то же время **имеют общие эпитопы** – линия преципитации дугообразная, со стороны антигена, имеющего несовпадающие эпитопы, отходит «шпора».



II) **Иммуноэлектрофорез** – метод, объединяющий *двойную иммунодиффузию* и *электрофорез*. После внесения смеси антигенов в лунку геля их разделяют методом электрофореза: различные антигены перемещаются между катодом и анодом с разной скоростью. Сыворотку вносят не в лунку, а в канавку (поскольку антигены после электрофореза распределяются по всей длине пластинки геля). В течение нескольких суток происходит диффузия антигенов и антител в гель и образование *линий преципитации*.

Разновидностью этого метода является *встречный иммуноэлектрофорез*, при котором после внесения сыворотки антигены и антитела движутся навстречу друг другу не только в результате свободной диффузии, но и благодаря постоянному электрическому полю, наведенному на пластинку геля. В результате повышается чувствительность метода и его скорость (до нескольких часов).



III) **Простая радиальная иммунодиффузия по Манчини** – см. 60.2.

## 66. Реакции иммунного лизиса. Реакция связывания комплемента: ингредиенты, механизм, практическое применение

### 66.1. Реакции иммунного лизиса

Реакции иммунного лизиса – это реакции, которые проходят с лизисом (растворением) клеток. К ним относятся реакции *гемолиза* (лизис эритроцитов *гемолизинами*) и *бактериолиза* (лизис бактерий *бактериолизинами*). Эти реакции относятся к сложным, поскольку требуют присутствия третьего, помимо антигенов и антител, компонента – *комплемента*, и состоят из нескольких простых реакций.

Реакцию *бактериолиза* используют для диагностики *холеры*. Исследуемую сыворотку каплями наносят на питательную среду, которая засеяна культурой холерного вибриона. При положительной реакции в местах нанесения капель благодаря действию антител и комплемента образуются *стерильные пятна*.

Сыворотка с комплементом и искомыми антителами также используется в *реакции иммобилизации трепонем* (потеря подвижности у живых трепонем) и *реакции агглютинации-лизиса лептоспир* (образование конгломератов набухших, фрагментированных и полностью лизированных лептоспир).

### 66.2. Реакция связывания комплемента

Среди реакций гемолиза наибольшее значение имеет **реакция связывания комплемента**. Она основана на том, что к иммунному комплексу антиген-антитело через *Fc-фрагмент* антитела может присоединиться комплемент, то есть иммунные комплексы обладают способностью связывать комплемент. В отсутствие же комплексов АГ-АТ комплемент остается свободным и функционально активным.

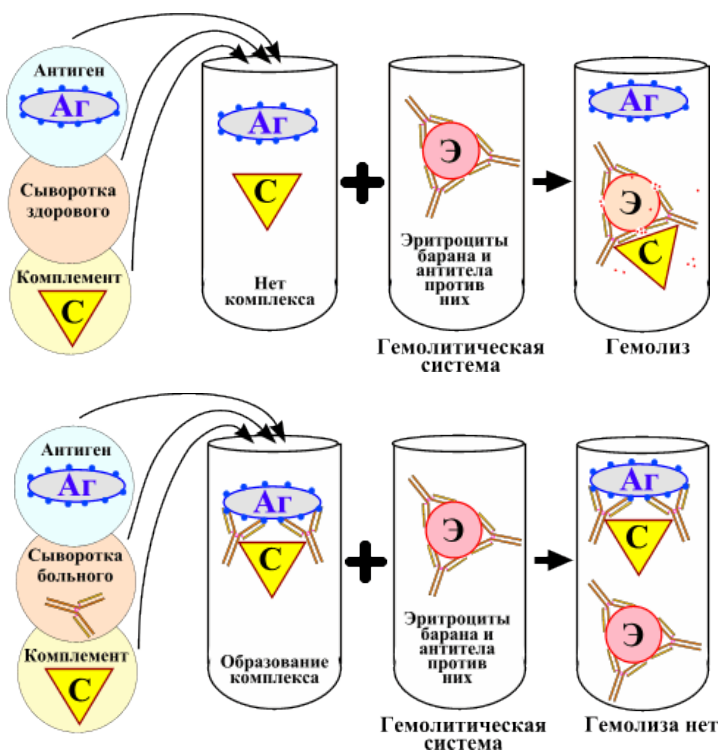
В **первой фазе** реакции (специфической) искомым антигеном (или антителом) реагирует с диагностической сывороткой (или диагностикумом). В случае гомологичности антигенов и антител образуются *иммунные комплексы*. Однако появление этих комплексов исследователем никак не регистрируется.

Во **второй фазе** реакции (индикаторной) в среду вносят *гемолитическую систему* – эритроциты барана и гемолитическую сыворотку, содержащую антитела к этим эритроцитам.

В случае если иммунные комплексы в первой фазе не образовались (**отрицательный** результат), комплемент остается свободным и после добавления гемолитической системы обуславливает лизис эритроцитов (гемолиз), что приводит к появлению в пробирке «лаковой крови».

В случае если иммунные комплексы в первой фазе образовались (**положительный** результат), комплемент будет связан и гемолиз не произойдет – эритроциты выпадут в осадок, жидкость останется прозрачной.

Таким образом, гемолиз эритроцитов и окрашивание пробирки означают **отрицательный** результат (негомологичные антигены и антитела), а отсутствие изменений после добавления гемолитической системы – **положительный**.



## 67. Реакции твёрдофазного иммунологического анализа. Реакция иммунофлюоресценции, варианты. Радиоиммунный анализ. Иммунная электронная микроскопия. Практическое применение РИФ, РИА, ИЭМ

### 67.1. Реакции твердофазного анализа

Под **реакциями твердофазного анализа** понимают такие реакции, при которых известный (стандартизированный) компонент реакции (антиген или антитело) заранее в производственных условиях фиксируется в лунках планшета. При проведении таких исследований первый этап всегда состоит в помещении исследуемого материала в лунку.

Таким образом, реакции твердофазного анализа – это не отдельная группа серологических реакций, а наиболее современное исполнение таких методов, как ИФА, РИФ и РИА (все они подробно рассматриваются далее). Использование сорбированных на твердой фазе антигенов или антител позволяет повысить чувствительность метода и автоматизировать постановку реакции.

### 67.2. Реакция иммунофлюоресценции

**Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)** основана на применении антител, меченных *флюорохромом* – веществом, способным светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Метод преимущественно используют для выявления антигенов.

Основными вариантами являются **прямая РИФ** (добавление меченых антител к искомому антигену с последующей отмывкой, *рис. справа*) и **непрямая РИФ** (добавление антител к искомому антигену, отмывка и последующее добавление меченых антител к иммуноглобулинам человека с окончательной отмывкой, *рис. слева*).



РИФ является одним из основных методов экспресс-диагностики инфекционных заболеваний, который позволяет проводить поиск антигена в любом биологическом материале. Он также используется в иммуногистохимии и онкогематологии.

### 67.3. Радиоиммунный анализ

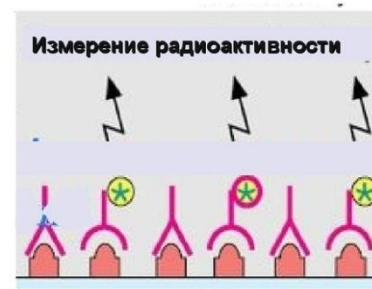
Метод **радиоиммунного анализа (РИА)** заключается в добавлении к сорбированному на твердой фазе антигену сыворотки пациента и меченных радиоактивным изотопом диагностических антител.

Если в сыворотке пациента есть антитела к этому антигену, то они будут конкурировать с диагностическими антителами и снижать вероятность их связывания с антигенами.

В результате измеренная радиоактивность будет тем ниже, чем выше титр антител в сыворотке пациента. В отсутствие антител радиоактивность будет максимальной (все антигены связываются с радиоактивными диагностическими изотопами).



Высокий титр антител - низкая радиоактивность  
Низкий титр антител - высокая радиоактивность



Описанная методика называется **конкурентной**. Кроме нее применяют также «сэндвич-метод», позволяющий производить поиск как антител, так и антигенов. Он аналогичен таковому для ИФА и описывается в 68.1.

Радиоиммунный анализ является самым чувствительным из широко применяемых серологических методов, а также обладает высокой специфичностью. Его используют для диагностики многих вирусных и бактериальных инфекций, определении опухолевых маркеров и концентрации иммуноглобулинов. Основным недостатком метода является необходимость работы с радионуклидами.

#### **67.4. Иммунная электронная микроскопия**

Метод **иммунной электронной микроскопии** (ИЭМ) основывается на обработке препарата специфической *антительной сывороткой*, меченой **электрон-контрастным веществом** (например, ферритином), после чего при положительном результате при электронной микроскопии искомые антигены визуализируются благодаря контрастному веществу.

Ранее метод использовался для диагностики многих вирусов, однако в настоящее время утратил значение в этой области (поскольку разработаны более простые и дешевые методы). Применяется в научных целях и при исследовании неизвестных вирусов.

## 68. Иммуноферментный анализ: ингредиенты, механизмы, способы постановки, учёт. ИФА тестсистемы III и IV поколения. Иммуноблоттинг. Практическое применение ИФА, иммуноблоттинга

### 68.1. Иммуноферментный анализ

**Иммуноферментный анализ (ИФА)** – это наиболее распространенный современный метод, используемый для диагностики вирусных, бактериальных и протозойных инфекций. В частности, это основной метод диагностики вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции, вируса Эпштейна-Барр, герпетических инфекций, ИППП. ИФА также используется для определения множества низкомолекулярных соединений и макромолекул (маркеры аутоиммунных заболеваний, гормоны).

ИФА имеет несколько видов, однако все они предполагают использование антигенов или антител, меченных **ферментом** (например, пероксидазой хрена). После их добавления к исследуемому материалу и отмывки в среду вносят **субстрат**, расщепляемый этим ферментом, и **хромоген**, окрашивающий среду при расщеплении субстрата.

В случае образования иммунного комплекса меченный реагент не удаляется при отмывке, расщепляет субстрат и приводит к **окрашиванию среды** в определенный цвет. Интенсивность окрашивания измеряется колориметрически.

**Гомогенный ИФА** проводится в жидкой фазе, имеет меньшую чувствительность, пригоден только для определения низкомолекулярных веществ и получил небольшое распространение (наборы для определения токсических и наркотических субстанций).

**Гетерогенный ИФА** проводится на твердой фазе, когда известный компонент реакции (антиген или антитело) адсорбированы на твердом носителе – в лунках коммерчески производимых **микрочашиц**. Каждая инкубация в гетерогенном ИФА заканчивается **отмывкой** – удалением свободных (несвязавшихся) реагентов.

Гетерогенный ИФА имеет множество **вариантов**, основными из которых являются:

1) **прямой ИФА** (поиск АГ):

- на поверхности лунок реагенты изначально отсутствуют;
- материал вносят в лунки и инкубируют с целью закрепления в них антигенов;
- в лунки вносят меченые антитела к искомым антигенам;
- **схема:** (пустая лунка) → АГ + АТ\*

2) **непрямой ИФА** (поиск АГ):

- на поверхности лунок сорбированы антигены;
- материал вносят в лунки, после чего антитела связываются с антигенами;
- в лунки вносят меченые антитела к антителам (к иммуноглобулину человека);
- **схема:** АГ + АТ + АТ\*

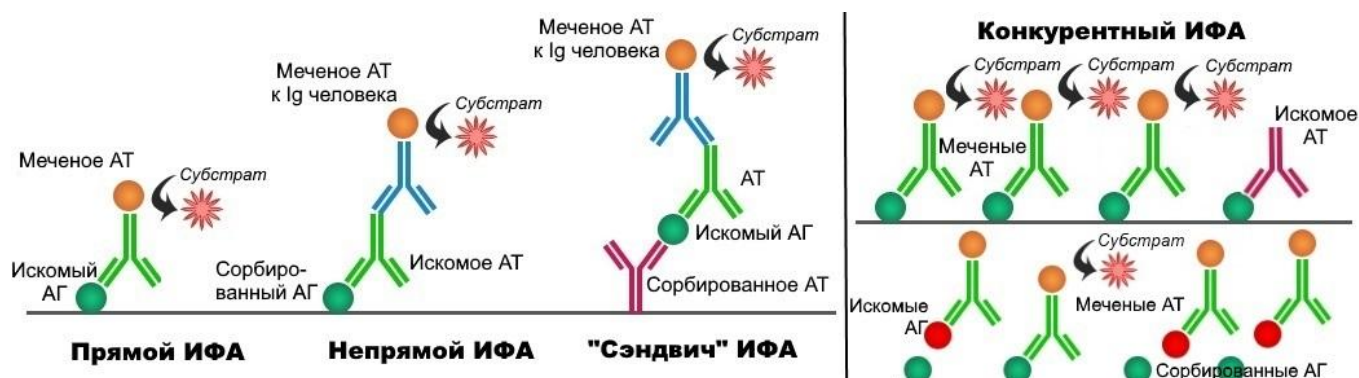
3) **сэндвич ИФА** (поиск АГ):

- на поверхности лунок сорбированы антитела;
- в лунки последовательно вносят и инкубируют материал, диагностические антитела (идентичные сорбированному) и меченые антитела к иммуноглобулину человека;
- **схема:** АТ + АГ + АТ + АТ\*

4) **конкурентный ИФА**:

- используется в нескольких модификациях, однако общий принцип заключается в конкуренции между мечеными АГ или АТ с имеющимися в материале
- оцениваются конкурентные реакции обратным образом: чем интенсивнее изменение цвета, тем меньше искомым АГ или АТ имеется в материале;
- поиск АТ можно производить следующим образом: к сорбированному АГ одновременно добавляются меченые АТ и сыворотка с искомыми АТ, после чего лунка отмывается; чем больше в сыворотке искомым АТ, тем меньше меченых АТ останется после отмывки и тем менее выраженной будет реакция;

- поиск АГ можно производить следующим образом: к сорбированному АГ одновременно добавляются меченые АТ и материал с искомыми АГ, после чего лунка отмывается; чем больше в материале искомых АГ, тем меньше меченых АТ останется после отмывки и тем менее выраженной будет реакция;
- конкурентный поиск АГ также можно проводить с использованием меченых АГ.



Понятие «**поколений**» тест-системы для ИФА применимо только для систем, используемых для диагностики ВИЧ. Использувавшиеся ранее тест-системы I и II поколения содержали лизированный или обработанный ультразвуком вирус. Системы III и IV поколения содержат полученные рекомбинантным способом белки, что резко снизило число ложноположительных результатов и повысило чувствительность.

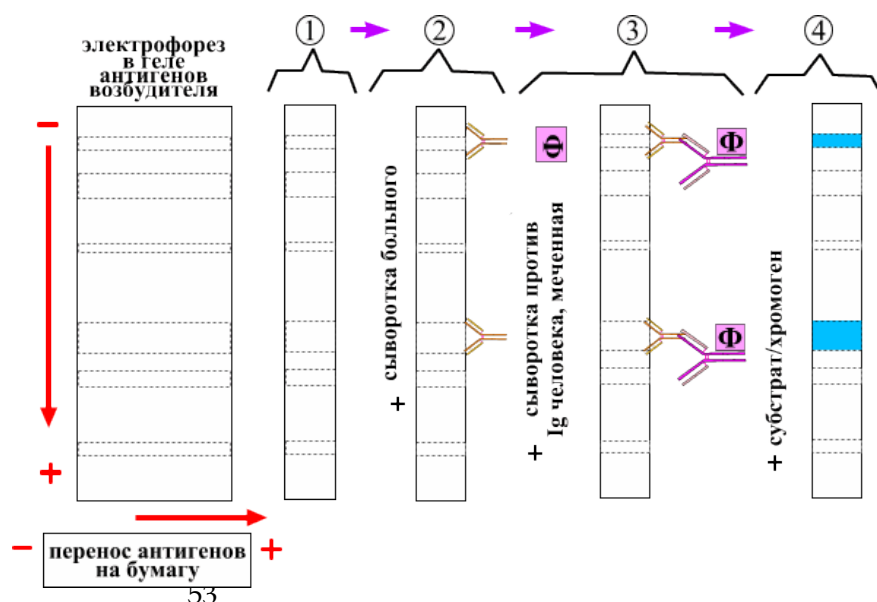
Особенностью систем III поколения стала возможность отдельно определять *IgM* и *IgG*, а системы IV поколения, в дополнение к этому, способны определять *антиген* p24. «Период окна», когда вирус не всегда возможно выявить лабораторно, для систем I/II поколения составляет шесть месяцев, для систем III/IV поколения – три месяца.

## 68.2. Иммуноблоттинг

**Иммуноблоттинг** (вестерн-блот) – это метод, в основе которого лежит разделение антигенов элетрофорезом и перенос их отпечатка (англ. blot – пятно) на носитель. Далее методика аналогична непрямому ИФА. Метод включает следующие этапы:

- 1) в геле методом электрофореза разделяют по площади известные антигены вируса;
- 2) на гель накладывают нитроцеллюлозную пленку, перенося тем самым на нее АГ; (как правило, в лабораториях используют готовые коммерческие пленки)
- 3) пленку инкубируют с сывороткой пациента, предположительно содержащей АТ;
- 4) после отмывки добавляют меченные ферментом АТ к Ig человека, субстрат и хромоген, что при наличии комплексов АГ-АТ приводит к появлению цветных полос.

При отрицательном результате окрашенные полосы на пленке не появляются. Важным достоинством метода является возможность определения антител сразу к нескольким антигенам возбудителя. В настоящее время метод широко используется как подтверждающий тест на ВИЧ-инфекцию и, в меньшей степени, на гепатит С.



## 69. Т-лимфоциты: развитие, положительная и отрицательная селекция, маркёры, субпопуляции. Т-хелперы первого и второго типов, спектр продуцируемых цитокинов. Контроль иммунного ответа Т-лимфоцитами (Th3, Т-регуляторы, CD4+CD25+). Методы определения количества и функциональной активности Т-лимфоцитов

### 69.1. Т-система иммунитета. Развитие Т-лимфоцитов, антигены, субпопуляции

К Т-системе иммунитета относятся следующие факторы защиты:

- цитотоксические Т-лимфоциты;
- иммунный фагоцитоз;
- Т-хелперы.

Т-лимфоциты образуются в костном мозге из лимфоидного ростка полипотентной стволовой клетки, созревают и дифференцируются в тимусе. При этом все Т-лимфоциты получают CD3-антиген, а затем *либо* CD4, *либо* CD8. Отсюда выделяют две субпопуляции:

- CD4<sup>+</sup>-клетки, взаимодействующие с ГКГС II:
  - Т-хелперы, в том числе Т-регуляторы (Th3);
  - Т-эфффекторы гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ);
  - Т-индукторы (активирующая функция);
  - Т-клетки памяти;
- CD8<sup>+</sup>-клетки, взаимодействующие с ГКГС I:
  - Т-киллеры (цитотоксические Т-лимфоциты);
  - Т-супрессоры;
  - Т-клетки памяти.

Кроме того, существует субпопуляция  $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов (гамма-дельта), которые, как правило, не имеют ни антигена CD4, ни CD8. Эти клетки, как и естественные киллеры, способны реагировать без участия корцепторов, но ограничены по спектру распознаваемых антигенов.  $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты относятся к системе врожденного иммунитета (и к Т-системе иммунитета как таковой отношения не имеют).

Все Т-лимфоциты, которые относятся к адаптивному иммунитету и перечислены выше, можно отнести к одной большой субпопуляции  **$\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов** (альфа-бета).

В тимусе все Т-лимфоциты проходят через два этапа **селекции** (отбора):

#### 1) **положительная селекция:**

- выживают только те CD4<sup>+</sup>-клетки, которые смогли связаться с ГКГС II;
- выживают только те CD8<sup>+</sup>-клетки, которые смогли связаться с ГКГС I;
- клетки, которые не смогли связаться со своими ГКГС, получают сигнал апоптоза;

#### 2) **отрицательная селекция:**

- эпителиальные клетки представляют Т-лимфоцитам разнообразные собственные антигены (аутоантигены) вместе с молекулами ГКГС;
- все клетки, среагировавшие на этот комплекс, уничтожаются как **аутореактивные** (направленные против антигенов собственного организма) путем апоптоза.

### 69.2. Т-хелперы первого и второго типов, спектр продуцируемых цитокинов

Наивные Т-хелперы (Th0) распознают эпитоп антигена в комплексе с молекулой ГКГС II на мембране антигенпрезетирующих клеток, после чего дифференцируются в Т-хелперы первого, второго или третьего типов под влиянием цитокинов.

Т-хелперы дифференцируются в **первый тип** под влиянием **ИЛ-12** и **гамма-интерферона** (синтезируют макрофаги, Т и НК-киллеры), во **второй тип** – под влиянием **ИЛ-4** и **ИЛ-13** (базофилы, тучные клетки, эозинофилы и  $\gamma\delta$ Т-клетки). Два типа отличаются друг от друга только функционально и только спектром образуемых цитокинов.

Для **первого типа** это **ИЛ-2, ИЛ-12, гамма-интерферон** и **ФНО** (фактор некроза опухоли). Эти цитокины необходимы для развития:

- клеточного иммунного ответа;
- гиперчувствительности замедленного типа;
- аутоиммунных реакций.

Т-хелперы **второго типа** синтезируют **ИЛ-4, 5, 6, 10, 13**. Эти цитокины необходимы для развития:

- реакций гуморального иммунитета;
- гиперчувствительности немедленного типа;
- иммунитета против паразитов.

### 69.3. Контроль иммунного ответа Т-лимфоцитами (Th3, Т-регуляторы, CD4+CD25+)

**Т-регуляторы** (Th3), помимо CD4, несут еще и CD25, поэтому их обозначают CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. Они активируются под влиянием различных факторов, а при активации выделяют **трансформирующий ростовой фактор бета** (ТРФ-β) и **ИЛ-10**. Эти цитокины способствуют супрессии иммунного ответа, уменьшая активность как Т-хелперов, так и Т-киллеров.

### 69.4. Методы определения количества и функциональной активности Т-лимфоцитов

Для определения **количества** Т-лимфоцитов используют следующие методы:

1) **лимфоцитотоксический метод** – к суспензии клеток добавляют антитела к CD3 и комплемент, что приводит к формированию иммунных комплексов с Т-лимфоцитами и их повреждению активированным комплементом; поврежденные клетки окрашивают *трипановым синим* и подсчитывают;

2) **метод розеткообразования** с эритроцитами **барана** – методика описана в 57.2;

3) **ИФА** или **РИФ** с использованием антител к CD3, CD4 или CD8.

Для определения **функциональной активности** Т-лимфоцитов используют следующие методы:

1) **реакция бласттрансформации лимфоцитов** (РБТЛ, оценка пролиферативной активности в ответ на стимулы) – культивирование клеток в присутствии *митогенных* (стимулирующих размножение) или *антигенных* стимуляторов с добавлением меченого изотопом *тимидина*; после нескольких дней сравнивают радиоактивность суммарной ДНК в присутствии стимулятора и без либо подсчитывают число бластных клеток;

2) **метод предельных разведений** – в множество лунок закладываются микрокультуры лимфоцитов в убывающих разведениях, которые обеспечиваются всеми факторами роста в избытке, а также стимулируются одним антигеном (то есть пролиферация будет наблюдаться в тех лунках, где есть хотя бы один Т-лимфоцит, специфический к данному антигену); оценивая количество «положительных» лунок, с помощью специальных графиков рассчитывают процент специфических клеток в исходной популяции;

3) **оценка продукции цитокинов** – определение в крови пациента либо при культивировании лимфоцитов *in vitro*; применяют *биологические методы* (оценка эффекта стимуляции исследуемым материалом клеточных культур тимоцитов), *серологические* (ИФА) и *молекулярно-генетические* (выявление в клетках мРНК, используемой для синтеза цитокинов, например методом ОТ-ПЦР);

4) **определение экспрессии маркеров активации** (CD25, CD69, CD71) методом *точной цитфлуориметрии* (см. 57.2);

5) **определение цитотоксичности** CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов – клетки-мишени метятся *радиоактивным хромом*, после чего инкубируются с цитотоксическими лимфоцитами; радиоактивность смеси после инкубации пропорциональна количеству лизированных клеток, то есть по сути активности цитотоксических лимфоцитов.

## 70. Т-клеточный рецептор: строение, типы, генетический контроль, разнообразие. Т-зависимые антигены. Т-клеточная рестрикция. Костимуляция. Апоптоз. Анергия

### 70.1. Т-клеточный рецептор: строение, типы, генетический контроль, разнообразие

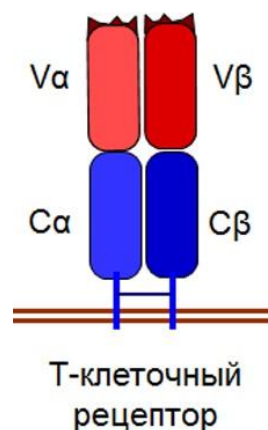
**Т-клеточный рецептор** (ТКР) состоит из трех частей:

- 1) **внеклеточная** – содержит два домена: *вариабельный* и *константный*; ее функция – распознавание и связывание антигена;
- 2) **мембранная** – стабилизирует структуру рецептора;
- 3) **клеточная** – участвует в проведении сигнала к ядру.

У разных лимфоцитов ТКР построены из разных белков. Любой рецептор состоит из двух цепей белков-иммуноглобулинов, при этом возможны только две комбинации:

- **$\alpha\beta$**  (альфа-бета) ТКР – все традиционные лимфоциты (Т-хелперы, Т-киллеры и др.);
- **$\gamma\delta$**  (гамма-дельта) ТКР –  $\gamma\delta$ Т-лимфоциты.

Все ТКР связаны с молекулами **CD3**, которые участвуют в передаче сигнала об антигене (и имеются у всех Т-лимфоцитов). В разных субпопуляциях с ТКР также тесно связаны либо **CD4**, либо **CD8**. CD4 обеспечивает распознавание ГКГС II, а CD8 – ГКГС I.



В тимусе при созревании Т-лимфоцита в результате **рекомбинации** в генах, кодирующих состав вариабельного домена внеклеточной части ТКР, образуется бесконечно большое количество вариантов антигенной специфичности рецептора.

Принципы рекомбинации очень похожи на таковые для В-клеточного рецептора (см. 61.1). Цепь  **$\alpha$**  кодируется тремя группами генов (V, J, C), а цепь  **$\beta$**  – четырьмя (V, J, C, D).

### 70.2. Т-зависимые антигены. Т-клеточная рестрикция

**Т-зависимыми** называют такие антигены, антитела к которым могут синтезироваться В-лимфоцитами только при участии Т-лимфоцитов. К ним относится подавляющее большинство белковых антигенов. **Т-независимые антигены** – обычно крупные структуры из множества повторяющихся субъединиц, например полисахариды капсул бактерий.

Т-лимфоциты способны распознавать антигены только в комплексе с ГКГС, что называют **Т-клеточной рестрикцией**. Ее особое значение заключается в возможности отличать продукты процессинга **экзоантигенов** (поступают из внеклеточного пространства и связываются с ГКГС II) и **эндоантигенов** (синтезируются в клетке, в том числе вирусами и внутриклеточными паразитами, и связываются с ГКГС I).

### 70.3. Костимуляция. Апоптоз. Анергия

**Костимуляция** – это процесс независимого взаимодействия **костимулирующих молекул** на мембранах обеих клеток, приводящий к усилению сигнала, образуемого взаимодействием основного рецептора и лиганда. Костимуляция является обязательным компонентом презентации антигена и условием эффективной стимуляции клеток. Костимуляция при ГИО и КИО описана в соответствующих вопросах.

**Апоптоз** – это запрограммированная клеточная гибель без развития реакций воспаления. Индукторами апоптоза могут быть сигналы от гормонов, цитокинов, антигенов. Апоптозу также подвергаются все Т-лимфоциты, не прошедшие селекцию.

**Анергия** – это состояние бездеятельности Т-лимфоцита после распознавания специфического антигена. Основная причина анергии – отсутствие костимулирующих сигналов. Понятие анергии применяется к одному конкретному клону Т-лимфоцитов. Если ответ отсутствует на уровне всех клонов, такое состояние называют *иммунологической толерантностью* (см. далее).

## 71. Клеточный иммунный ответ (КИО): определение, индукторы, этапы развития. Цитотоксический и воспалительный КИО. Т-лимфоциты памяти. Проявления КИО

### 71.1. Клеточный иммунитет: определение, индукторы, этапы

**Клеточный иммунный ответ (КИО)** – это:

- сложная кооперативная реакция организма,
- индуцируемая антигеном,
- реализуемая посредством Т-системы иммунитета в кооперации с АПК,
- завершающаяся формированием антигенспецифических Т-лимфоцитов.

**Индукторами** КИО являются *Т-зависимые антигены* – белки или комплексы с белком (в том числе гаптены, связавшиеся с белками организма). При этом антиген должен быть представлен в переработанном (процессированном) виде в комплексе с молекулами ГКГС I или II класса.

КИО способствует развитию и регуляции не только клеточного, но и гуморального ответа, контролируется *тимусом*, возникает в ответ на Т-зависимые антигены и осуществляется в **четыре этапа**:

- 1) распознавание АГ – захват и процессинг АГ антигенпредставляющими клетками (АПК) с последующей презентацией его на поверхности в комплексе с ГКГС I или II;
- 2) распознавание комплекса Т-клеточным рецептором, активация Т-лимфоцита и АПК;
- 3) пролиферация Т-лимфоцитов, дифференцировка субпопуляций и образование клеток памяти;
- 4) реализация конечных эффектов иммунного ответа.

### 71.2. Начальные стадии КИО: индукция CD4+ Т-хелперов

Как уже отмечалось, после эндоцитоза и процессинга антигена АПК встраивает образовавшийся олигопептид в молекулу ГКГС II на наружной мембране. На поверхности также экспрессируются *костимулирующие факторы*: **CD40**, **CD80** и **CD86**.

Наивный Т-хелпер своим рецептором через **CD3** при поддержке **CD4** взаимодействует с комплексом антиген-ГКГС II и анализирует чужеродность его структуры. Этому способствует костимуляция в парах **CD28** (со стороны Т-лимфоцита) – **CD80/86** (со стороны АПК).

В случае признания комплекса чужеродным, Т-хелпер активируется, экспрессирует рецептор к **ИЛ-2**, а затем и сам начинает синтезировать ИЛ-2 (аутокринное действие) и пролиферировать. В конечном счете клетка дифференцирует в **Th1** (за счет ИЛ-12, выделяемого АПК), **Th2** (при недостатке ИЛ-12 за счет внешнего ИЛ-4) или другой тип эффекторной клетки:

- **Th3** (см. 69.3);
- **Т-эффекторы ГЗТ** (гиперчувствительности замедленного типа);
- **Т-киллеры** (незначительная часть).

**Т-хелперы** далее участвуют в иммунном ответе следующим образом:

1) **активация В-лимфоцитов**, которым кроме взаимодействия со специфичным антигеном требуются еще два сигнала: ИЛ-4,5,6 и соединение костимулирующих молекул CD40 с CD40-лигандом; и то, и другое обеспечивают Т<sub>2</sub>-хелперы;

2) помощь в **активации и пролиферации наивных CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов** (Т-киллеров), главным образом за счет синтеза ИЛ-2; это обеспечивают Т<sub>1</sub>-хелперы.

### 71.3. Цитотоксический КИО

При захвате АПК клеток, погибших от инфекции, опухолевых клеток, клеток трансплантата или при инфицировании АПК вирусом антигены попадают в цитоплазму АПК и

после процессинга представляются на мембране в комплексе с **ГКГС I** (напомним: в комплексе с МНС II представляются антигены из эндосом, то есть *экзоантигены*).

С ним своим рецептором через **CD3** при поддержке **CD8** взаимодействует наивный **CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцит**. После этого он активируется, пролиферирует, дифференцируется в **цитотоксический лимфоцит (Т-киллер)** и циркулирует по организму, выполняя следующие функции:

- 1) **киллинг** (индукция апоптоза) клеток-мишеней без ожидания дополнительных сигналов при помощи *перфоринов* и *гранзимов* (тот же механизм, что и у НК-клеток) либо через активацию специальных *Fas-рецепторов*;
- 2) секреция **цитокинов** (выражена слабо);
- 3) **регулирование** иммунного ответа (в частности, путем уничтожения АПК);
- 4) образования отдельными лимфоцитами **Т-клеток памяти**.

Для нормальной работы CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты нуждаются в ИЛ-2 от CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.

#### 71.4. Воспалительный КИО

**Воспалительный КИО** развивается в том случае, если патоген локализуется внутриклеточно в цитоплазматических гранулах (микобактерии, хламидии, риккетсии, простейшие) и наблюдается недостаточность более сильных эффекторных механизмов или их блокада.

Этот тип КИО реализуется **Т-хелперами 1-го типа**, которые при помощи рецепторов (CD40) и цитокинов (гамма-интерферон, ФНО-α) активируют **макрофаги**. Активированные макрофаги резко увеличивают экспрессию молекул ГКГС и выделение факторов бактерицидности (активные формы кислорода и др.), что позволяет эффективнее уничтожать внутриклеточных паразитов, способных к размножению в фагосомах макрофага.

Таким образом, сущность воспалительного КИО заключается в придании фагоцитарной реакции (типичной для врожденного иммунитета) Т-хелпером 1-го типа большой специфичности (характерной для адаптивного иммунитета) и силы.

#### 71.5. Т-лимфоциты памяти

**Т-лимфоциты памяти** характеризуются следующим:

- морфологически очень слабо отличаются от других Т-клеток;
- очень большой срок жизни (десятилетия, могут сохраняться до конца жизни);
- их суммарная численность увеличивается с возрастом (вплоть до 50% от всех Т-лимфоцитов в преклонном возрасте);
- различают два пула: эффекторный (мигрируют в ККМ и барьерные ткани) и центральный (возвращаются в Т-зоны вторичных лимфоидных органов).

#### 71.6. Проявления КИО

+ противоинфекционный иммунитет:

- противовирусный;
- против внутриклеточных бактерий;
- противопаразитный;

+ иммунологическая Т-клеточная память;

+ противоопухолевый иммунитет;

+ трансплантационный иммунитет;

+ иммунологическая толерантность к АГ плода (нормальное протекание беременности);

– хроническое воспаление;

– реакции гиперчувствительности замедленного типа;

– реакции отторжения трансплантата.

## 72. Трансплантационный иммунитет. Антигены гистосовместимости. Трансплантационные реакции: типы, механизмы развития, предупреждение. Иммунологическая толерантность: механизмы, значение

### 72.1. Трансплантационный иммунитет. Трансплантационные реакции

Основной проблемой, препятствующей успешной пересадке органов и тканей, является иммунная реакция макроорганизма, направленная против пересаженной в него чужеродной ткани – **трансплантационный иммунитет**. Эта реакция обусловлена тем, что в составе пересаженных тканей (трансплантата) имеется множество чужеродных антигенов.

Всего существует более 30 локусов, кодирующих **антигены гистосовместимости**, и они различны по степени вызываемого ими отторжения. Особенно сильную реакцию отторжения вызывают антигены **главного комплекса гистосовместимости** (ГКГС, синонимы: МНС, HLA). В этой системе известно более 100 антигенов.

Интенсивнее всего эти антигены экспрессируются на мембране лимфоцитов и клеток кожи, но в меньших количествах большинство из них имеется на мембране всех клеток организма. Подробно **молекулы ГКГС** описываются в вопросе 46.

На чужеродные трансплантационные антигены организм реагирует факторами **клеточного** и **гуморального** ответа, причем наиболее важную роль в реакциях отторжения играют **T-киллеры**, проявляющие по отношению к трансплантату антителонезависимую цитотоксичность. Вторыми по значимости эффекторами являются **специфические антитела**, запускающие реакции комплемент- или антителозависимого клеточно-опосредованного цитолиза.

Основными **типами** трансплантационной реакции являются:

#### 1) реакция отторжения трансплантата («хозяин против трансплантата»):

- **сверхострое отторжение** (в день трансплантации) – происходит при наличии у реципиента антител еще до проведения трансплантации; отторжение ткани происходит из-за комплемент-зависимого цитолиза и быстрого развития воспаления с тромбированием пересаженного органа;
- **острое отторжение** (в течение трех недель) – классический путь отторжения, при котором антигенпрезентирующие клетки донора (более быстрый путь) или реципиента (более медленный путь) презентуют чужеродные антигены T-хелперам реципиента, в результате чего развивается КИО и в меньшей степени ГИО;
- **хроническое отторжение** (в течение нескольких месяцев или лет) – преимущественно ГИО, в основном протекает за счет повреждения сосудов органа;

#### 2) реакция «трансплантат против хозяина»:

- обусловлена иммунным ответом T-лимфоцитов донора против антигенов хозяина;
- наиболее часто развивается при переливании крови с необлученными лимфоцитами, трансплантации костного мозга или внутренних органов, содержащих большое количество T-лимфоцитов (например, печени);
- лечение неэффективно, в 85% случаев заканчивается смертью реципиента, наступающей в результате тяжелой панцитопении (снижение содержания всех клеток крови) и печеночной недостаточности.

Интенсивность реакций трансплантации зависит от степени родства донора. Они не возникают при **ауто-** (собственные ткани) и **изотрансплантации** (от однояйцевого близнеца), выражены при **аллотрансплантации** (от другого человека) и очень сильно выражены при **ксенотрансплантации** (от животного).

Для снижения тяжести реакций отторжения реципиента и потенциальных доноров типировать по антигенам ГКГС, добиваясь наибольшей совместимости, а также проводят иммуносупрессивную терапию (чаще всего пожизненно).

## 72.2. Иммунологическая толерантность

**Иммунологическая толерантность (ИТ)** – это состояние организма, при котором иммунная система устойчиво воспринимает чужеродный антиген как собственный и не отвечает на него. Такие антигены называют *толерогенами*.

Никакой антиген не является по умолчанию толерогеном, а приобретает такое свойство при взаимодействии с иммунной системой индивидуума (то есть для каждой иммунной системы в каждый определенный момент времени есть свои толерогены).

**Врожденная ИТ** формируется внутриутробно к собственным антигенам. Она является основой поддержания *антигенного гомеостаза* организма. При ее нарушениях развиваются *аутоиммунные* (например, многие ревматические болезни) и *аллергические* заболевания.

**Приобретенная ИТ** может формироваться в постнатальном периоде (после рождения) при попадании чужеродных антигенов. Как и иммунный ответ, ИТ строго специфична, то есть проявляется только в отношении вызвавшего ее антигена (реакция на остальные антигены сохраняется). По степени выраженности различают *полную* ИТ (отсутствуют и ГИО, и КИО) и *частичную* ИТ (различная степень угнетения ГИО и КИО).

На развитие приобретенной иммунологической толерантности **влияют**:

- *свойства* антигена (чаще низкомолекулярные, неметаболизируемые, с малой степенью генетической чужеродности);
- *доза* антигена (прямая зависимость);
- *длительность пребывания* антигена в организме (также прямая зависимость);
- *возраст* (легче всего формируется в эмбриональном периоде);
- *состояние организма* (любые воздействия, ослабляющие иммунную систему).

Основными **механизмами** формирования ИТ являются:

- 1) гибель специфических лимфоцитов – при однократном попадании очень большой дозы антигена (*высокодозовая ИТ*);
- 2) активация супрессорных механизмов – при многократном введении малых возрастных доз антигена (*низкодозовая ИТ*).

Приобретенная ИТ может быть **ослаблена** или **утрачена** при отсутствии антигена, его элиминации (например, путем введения антител к нему) или при помощи активизации иммунитета (например, путем иммунизации модифицированными антигенами).

**Диагностика** приобретенной ИТ основывается на выявлении снижения или отсутствия пролиферативной активности лимфоцитов в ответ на специфические антигены и проводится при помощи *реакции бласттрансформации лимфоцитов* (см. в 69.4) или *внутрикожных тестов*.

Феномен низкодозовой ИТ широко используется для проведения специфической *десенсибилизирующей терапии* при аллергических болезнях, когда пациентам на протяжении длительного времени вводят антиген в увеличивающихся микродозах.

## 73. Реализация механизмов врожденного и приобретенного противоинфекционного иммунитета. Протективный иммунитет. Механизмы антитоксического, противобактериального, противогрибкового, противопаразитарного иммунитета

### 73.1. Врожденный противоинфекционный иммунитет. Протективный иммунитет

Механизмы **врожденного иммунитета** неспецифичны и действуют постоянно. Несмотря на то, что встроенные защитные механизмы не получают развития в течение жизни, они изначально обладают широким спектром активности в отношении инфекционных агентов. Подробнее о них см. в 49.2.

Роль основных механизмов врожденного иммунитета представлена в таблице.

Патоген	Фагоцитоз	Комплемент	НК-клетки
Вирусы (внутриклеточно)	+	–	+
Бактерии (внеклеточно)	+	+	–
Бактерии (внутриклеточно)	+/-	–	+/-
Простейшие (внеклеточно)	+	+	–
Простейшие (внутриклеточно)	–	–	–
Грибы (внеклеточно)	–	+	+

**Протективный иммунитет** – это гуморальные и клеточные механизмы защиты, обуславливающие невосприимчивость организма к конкретному заболеванию. Протективный иммунитет чаще всего формируется в результате вакцинации или перенесенного заболевания, но временно также может быть обеспечен готовыми факторами защиты (пассивно).

### 73.2. Механизмы противобактериального и антитоксического иммунитета

**Противобактериальный иммунитет** реализуется через следующие механизмы:

- первая ступень защиты – факторы неспецифической резистентности:
  - кожные и слизистые покровы;
  - **фагоцитоз** – первый важнейший фактор защиты;
  - *лизоцим* – в отношении Грам+ бактерий;
  - *комплемент* (альтернативный путь) – в отношении Грам– бактерий;
  - *белки острой фазы*.
- вторая ступень защиты – факторы специфической резистентности:
  - **антитела** – второй важнейший фактор защиты, запускают антителозависимый цитолиз (с помощью гранулоцитов, НК-клеток, макрофагов) и иммунный фагоцитоз (с помощью макрофагов), нейтрализуют факторы агрессии и токсины;
  - роль *клеточного иммунного ответа* невелика.

Особый случай представляют бактерии, относящиеся к **факультативным внутриклеточным паразитам** (микобактерии, иерсинии, бруцеллы). Они отличаются повышенной устойчивостью к действию фагоцитов, лизоцима и комплемента, поэтому в борьбе с ними основными факторами выступают:

- **клеточный иммунитет** – развитие гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ);
- антителозависимый цитолиз активированными макрофагами и НК-клетками;
- $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (гамма-дельта).

**Антитоксический иммунитет** против вырабатываемых бактериями белковых токсинов (дифтерийного, столбнячного, ботулинического) обуславливается исключительно наличием (и, разумеется, концентрацией) антител к ним (ГИО).

### 73.3. Механизмы противогрибкового и противопаразитарного иммунитета

Врожденный **противогрибковый иммунитет** обеспечивается нейтрофилами и макрофагами, в меньшей степени за счет комплемента (альтернативный путь активации) и НК-клеток.

Антигены грибов имеют относительно низкую иммуногенность: они практически не индуцируют образование специфических антител, но стимулируют **клеточное звено** иммунитета. Основу специфического иммунитета составляют ***T-хелперы 1-го типа*** и активированные ими ***макрофаги***, а также реализация реакций ***гиперчувствительности замедленного типа*** (ГЗТ) для глубоких и некоторых кожных микозов. В небольшой степени участвуют и Т-киллеры (невыраженное прямое противогрибковое действие).

Иммунный ответ против грибов особенно страдает при врожденных и приобретенных иммунодефицитах, особенно Т-клеточных или смешанных. Грибковые инфекции вносят существенный вклад в смертность пациентов, страдающих СПИДом, лимфомой или лейкозом.

При **паразитарных инфекциях** механизмы иммунитета сильно зависят от вида паразита, его свойств, дозы и состояния иммунологической реактивности организма. Усредняя, можно выделить следующие основные механизмы:

- внеклеточное паразитирование в полостях тела:
  - эозинофилы;
  - антитела (ГИО);
- внеклеточное паразитирование в крови:
  - антитела (ГИО);
  - зачастую долгое время избегают иммунных механизмов за счет изменения основных антигенов у дочерних популяций (трипаносомы, малярийные плазмодии);
- внеклеточное паразитирование в тканях:
  - фагоцитоз, особенно иммунный (с участием антител);
  - реакция ГЗТ;
  - $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (гамма-дельта);
  - эозинофилы;
- внутриклеточное паразитирование:
  - активированные макрофаги (при участии Т-хелперов 1-го типа).

## 74. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний: определение понятий, достижения и проблемы. Активная иммунопрофилактика. Вакцины: требования, понятие «идеальной вакцины». Адъюванты, механизмы действия. Получение и примеры живых, инактивированных (корпускулярных, химических, конъюгированных, сплит, субъединичных), анатоксинов, генноинженерных вакцин

### 74.1 Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Виды иммунопрофилактики

**Иммунопрофилактика** – это введение иммунных препаратов с целью предотвращения развития инфекционных заболеваний. Научные ее основы в конце XIX в. были заложены **Пастером**, открывшим явление *аттенуации* (ослабления) микробов и создавшим вакцины против сибирской язвы и бешенства. Первую же вакцинацию против натуральной оспы (низкопатогенным вирусом коровьей оспы) в 1796 г. провел **Дженнер**.

**Достижениями** современной иммунопрофилактики являются существенное снижение заболеваемости и смертности от инфекционных болезней. Иммунизация считается наиболее выгодным с экономической точки зрения средством защиты от инфекций. С усовершенствованием и созданием новых типов вакцин эффективности иммунопрофилактики будет только расти. Благодаря иммунопрофилактике была полностью ликвидирована натуральная оспа (последний случай – 1977 г.), существует теоретическая возможность эрадикации *полиомиелита* в самое ближайшее время.

К **проблемам** иммунопрофилактики можно отнести неполную безопасность препаратов (хотя статистическая польза от использования вакцин на порядки превышает возможный вред, всегда существует *персональный риск*, касающийся каждого отдельного ребенка или взрослого), изменение эпидемической ситуации (расширение спектра и географии возбудителей), отказ от прививок и снижение иммунной прослойки населения.

**Иммунотерапия** – это введение иммунных препаратов в лечебных целях. Методы иммунотерапии чаще всего применяются при лечении:

- токсинемических инфекций (дифтерия, ботулизм, столбняк);
- некоторых хронических инфекций;
- некоторых опухолей;
- ядовитых укусов;
- при проведении десенсибилизационной терапии при аллергии.

Средства, используемые в иммунопрофилактике и иммунотерапии, называют **иммунобиологическими препаратами**.

Имунобиологические препараты могут проявлять:

- 1) **активное действие** – индуцируют иммунные реакции (вакцинные препараты на основе живых ослабленных или убитых м/о либо продуктов их жизнедеятельности);
- 2) **пассивное действие** – препараты представляют собой «готовые» эффекторные продукты иммунных клеток (иммуноглобулины, цитокины и др).

### 74.2. Вакцины. Адъюванты

**Вакцина** – это иммунологический препарат, предназначенный для **активной иммунопрофилактики**, то есть для создания активной специфической невосприимчивости организма к конкретному возбудителю.

**Требования** к вакцинам:

- **эффективность**, включающая:
  - иммуногенность (способность вызвать длительный ИО);
  - протективность (способность защитить против заболевания);
  - эпидемиологическая эффективность;
- **ассоциируемость** (возможность применения с другими вакцинами);

- **безопасность** (отсутствие значимых поствакцинальных реакций, тератогенности);
- **стабильность** при хранении;
- приемлемая **стоимость**.

Современные вакцины лишь в большей или меньшей степени удовлетворяют этим требованиям. При создании новых вакцин ориентируются на гипотетическую «идеальную вакцину», которая полностью удовлетворяет всем критериям: содержит только протективные антигены, совершенно безопасна, вводится сразу после рождения пероральным путем и обеспечивает пожизненный иммунитет против всех инфекций.

В состав вакцин, кроме антигенов, входят **стабилизаторы** (предохраняют антиген от разрушения), **консерванты** (подавление роста случайно попавших м/о) и иногда **адъюванты**.

**Адъюванты** – это вещества различные по происхождению и химической структуре (кристаллоиды, ЛПС бактерий, нуклеотиды и др.), имеющие одно общее свойство – способность усиливать иммуногенность антигенов.

Адъюванты могут действовать посредством следующих **механизмов**:

- 1) создание депо антигена (замедление его выведения);
- 2) стимуляция локальной воспалительной реакции (усиливает иммунный ответ);
- 3) привлечение к месту локализации антигена иммунокомпетентных клеток или «доставка» антигенов непосредственно к ним;
- 4) управление типом иммунного ответа (опосредованная стимуляция Т-хелперов определенного типа, мобилизация клеток памяти).

### 74.3. Типы вакцинных препаратов

#### I. Живые (аттенуированные) вакцины:

- действуют ослабленные, потерявшие вирулентность, но сохранившие антигенную активность штаммы (**аттенуированные штаммы**);
- **аттенуация** достигается *химическими* (мутагены), *физическими* (тепло, радиация) методами или многократным *пассированием* через невосприимчивые организмы;
- **достоинства**: высокая иммуногенность;
- **недостатки**: нестабильность, реактогенность, сложность получения, сложность хранения, ограниченная ассоциация;
- **примеры**: туберкулез (БЦЖ), полиомиелит (оральная), натуральная оспа, чума

#### II. Инактивированные вакцины:

##### а) Корпускулярные:

- микроорганизмы инактивируют физическими или химическими методами, очищают от балластных (лишних) веществ и консервируют;
- часто содержат в составе **адъюванты**;
- **достоинства**: безопасны, стабильны, хранятся при комнатной температуре;
- **недостатки**: менее иммуногенны и требуют применения нескольких доз (*бустерная иммунизация*), зачастую токсичны, реактогенны, ограниченная ассоциация;
- **примеры**: грипп, бешенство, коклюш, полиомиелит.

##### б) Химические (субклеточные) вакцины:

- состоят из достаточно больших антигенных компонентов, извлеченных из микробной клетки (например, капсульного вещества);
- требуют сочетания с **адъювантами**;
- основной **недостаток** – лишь для немногих бактерий может быть достигнута высокая иммуногенность, однако в остальном проявляет **наилучшие свойства**: не вызывает реакций и аллергии, не токсична, хорошо хранится и т.д.;
- **примеры**: менингококковая, брюшнотифозная вакцины.

в) **Сплит-вакцины:**

- состоят из расщепленных вирионов, содержащих комплекс и поверхностных, и внутренних антигенов;
- вирусные липиды и куриные белки в вакцине отсутствуют, что позволяет снизить реактогенность;
- **примеры:** грипп.

г) **Субъединичные вакцины:**

- состоят из отдельных фрагментов (эпитопов) антигенных компонентов;
- основной **недостаток** – не самая сильная иммуногенность и сложность подбора антигенных компонентов, однако в остальном проявляет **наилучшие свойства**;
- **примеры:** грипп, менингококк типа А.

**III. Анатоксины:**

- экзотоксин бактерий превращают в нетоксичную, но все еще иммуногенную форму;
- используют *нагревание* и обработку *формалином*, добавляют **адъюванты**;
- **достоинства:** хорошая иммуногенность, безопасность, стабильность, неаллергенность, хорошая ассоциация;
- **недостатки:** ограниченность – только небольшая часть м/о выделяет экзотоксины.
- **примеры:** дифтерийный, столбнячный, ботулинический, против газовой гангрены.

**IV. Конъюгированные вакцины:**

- созданы специально для новорожденных и детей малого возраста;
- содержат антиген, плохо распознаваемый незрелой детской иммунной системой, в конъюгированном виде с хорошо распознаваемыми белками или анатоксинами;
- в результате вырабатывается протективный иммунитет против обоих антигенов;
- **примеры:** гемофильная и пневмококковая инфекция.

**V. Рекомбинантные (генноинженерные) вакцины:**

- гены, кодирующие основные антигены, встраиваются в геном непатогенного для человека **вектора** (носителя) – вируса, бактерии, дрожжевой клетки;
- при культивировании вектора *in vitro* образуется большое количество высокоиммуногенных антигенов, которые сорбируют на адъюванте;
- не содержат ничего, кроме протективного антигена и адъюванта;
- проявляют **наилучшие свойства** за исключением низкой ассоциируемости;
- **примеры:** гепатит В, грипп.

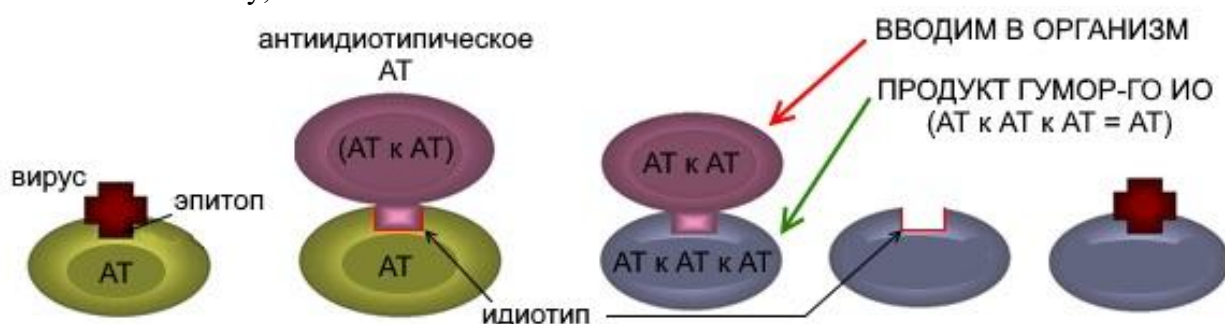
## 75. Ассоциированные вакцины: преимущества, примеры. Новые подходы к созданию вакцин. Побочные явления при вакцинации: сильные поствакцинальные реакции, поствакцинальные осложнения

### 75.1. Ассоциированные вакцины. Новые подходы к созданию вакцин

**Ассоциированные вакцины** – вакцины, имеющие в составе несколько разнородных антигенов. Важно, чтобы антигены в вакцине не конкурировали между собой и не ухудшали свойства вакцины. **Цель** – уменьшение числа процедур вакцинаций и инъекций. **Примеры:** АКДС (коклюш, дифтерия, столбняк), вакцина *корь-краснуха-паротит*.

Наиболее **перспективные подходы** к созданию новых вакцин включают:

- введение векторных микроорганизмов, содержащих ген, который кодирует протективный антиген, *in vivo* (**векторная вакцинация**), после чего они размножаются в организме и вызывают иммунный ответ не только против самих себя, но и против антигена; в настоящее время применяется в экспериментальных вакцинах для животных (бешенство);
- **синтетические вакцины**, которые полностью воспроизводят антигены возбудителя, но при этом синтезированы исключительно химическим путем;
- **ДНК-вакцины** на основе плазмидных ДНК, кодирующих протективные антигены;
- **антиидиотипические вакцины** представляют собой антитела к антителам против антигенов; вырабатываемые в ответ на них антитела (анти-антиидиотипические антитела) имеют такой же *идиотип* (распознающую часть антитела), как и собственно антитела к антигену;



- **секвенирование генома** микроорганизмов с целью поиска генов, кодирующих протективные антигены, и разработки вакцин на их основе;
- разработка перспективных **способов введения вакцин**:
  - *съедобные* (в составе растительных продуктов);
  - *микрочапсулированные* (распад в заданных условиях);
  - *липосомные* (в сферах из двойных липидных слоев для лучшей презентации АГ);
  - *леденцы* (защита белковых молекул);
  - *чрезкожная пластырная иммунизация* (изобилие АПК в коже).

### 75.2. Побочные эффекты при вакцинации

**Побочные эффекты** при вакцинации классифицируют следующим образом:

#### 1) **поствакцинальные реакции:**

- **местные реакции** (возникают на месте введения препарата через 1-2 сут.):
  - *нормальные* – быстро рассасывающееся маленькое безболезненное уплотнение;
  - *слабые* – гиперемия и инфильтрат до 5 см;
  - *средние* – инфильтрат 5-8 см с регионарным лимфангитом;
  - *сильные* – инфильтрат >8 см, или лимфаденит, или гнойный абсцесс, или отек;
- **общие реакции** (повышение температуры, общее недомогание, головная боль, тошнота, катаральные явления, сыпь):

- слабые ( $t < 38 \text{ }^\circ\text{C}$ );
- средние ( $t = 38\text{-}40 \text{ }^\circ\text{C}$ );
- сильные ( $t > 40 \text{ }^\circ\text{C}$ );

## 2) **поствакцинальные осложнения:**

- **неспецифические** (могут развиваться в ответ на любую вакцину):
  - аллергические реакции (сыпь, дерматит, отеки, анафилактический шок);
  - аутоиммунные реакции (энцефалит, менингоэнцефалит, полиневрит, миокардит, системная красная волчанка, дерматомиозит, артрит);
  - афебрильные судороги;
- **специфические** (характерны для определенных вакцин):
  - **БЦЖ:** регионарные подмышечные **лимфадениты** (БЦЖиты), требующие противотуберкулезной терапии, а иногда и хирургического удаления л/у;
  - **БЦЖ:** «холодные» **абсцессы**, требуют химиотерапии и хирургического лечения;
  - **БЦЖ:** **келоидные рубцы**, обезображивающие и неуклонно растущие (лечение малоэффективно);
  - **БЦЖ:** **остеомиелит** – расплавление кости, редкое опасное осложнение;
  - **БЦЖ:** **диссеминированная БЦЖ-инфекция**, схожая с туберкулезной инфекцией, чаще развивается у детей с ВИЧ-инфекцией, летальность превышает 80%;
  - **ОПВ** (оральная (живая) вакцина против полиомиелита): **вакциноассоциированный полиомиелит**; с целью предотвращения этого редкого осложнения используют схему с первой прививкой инактивированной вакциной.

Наиболее реактогенной среди применяемых в РБ вакцин является **БЦЖ** – живая вакцина против туберкулеза. В то же время польза от применяемых вакцин (число спасенных жизней и предотвращенных тяжелых осложнений) на порядки превышает потенциальный вред (число тяжелых и смертельных осложнений).

Поствакцинальные осложнения могут быть вызваны следующими **причинами**:

- неудовлетворительное качество вакцины, нарушение правил хранения, транспортировки и дозирования;
- неправильная техника проведения вакцинации, нарушение правил асептики;
- индивидуальная реакция организма;
- обострение хронических заболеваний (туберкулеза, ревматической болезни и др.);
- острая инфекция в поствакцинальном периоде (*интеркуррентная*);
- первичные и вторичные иммунодефициты.

## 76. Первичный и вторичный иммунный ответ. Бустерная иммунизация. Показания и противопоказания (абсолютные, относительные, ложные) к вакцинации. Критерии эффективной вакцинации. Календарь прививок. Расширенная программа иммунопрофилактики

### 76.1. Иммунный ответ на иммунизацию. Бустерная иммунизация

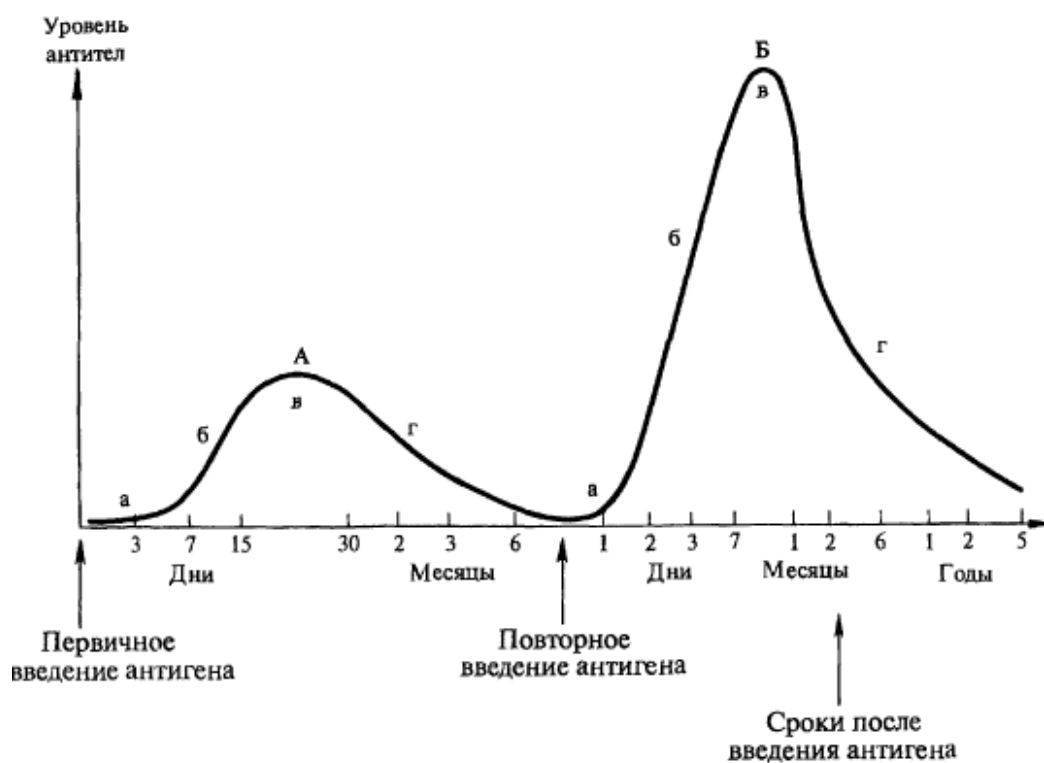
**Первичный иммунный ответ** запускается сразу после первого введения антигена, но выявить его можно только спустя определенный *латентный период*. В крови антитела появляются через 7-10 дней, причем антитела, принадлежащие к разным классам иммуноглобулинов, образуются в разные сроки.

Ранние антитела (**IgM**) обычно проявляют низкое сродство к антигену, а поздние (**IgG**) – высокое. Переход от синтеза IgM к синтезу IgG регулируется Т-хелперами. К **Т-независимым антигенам** антитела класса IgG практически не вырабатываются. У некоторых людей антитела не вырабатываются даже после многократной вакцинации. Это состояние известно как *первичная вакцинальная недостаточность*.

**Бустерная иммунизация** – это введение дополнительных доз вакцин после первичной иммунизации для повышения иммунного ответа. В результате бустерной иммунизации развивается вторичный иммунный ответ. За исключением БЦЖ, все прививки, входящие в национальный календарь, предусматривают как минимум двукратную иммунизацию.

**Вторичный иммунный ответ** возникает при повторном введении антигена, развивается быстро (4-5 дней) и сопровождается резким повышением титра **IgG**. Он опосредуется *клетками памяти*, образовавшимися после первого контакта с антигеном, и характеризуется интенсивной пролиферацией В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов.

Динамика титра антител после первичной и вторичной иммунизации представлена на графике ниже.



Иммунный ответ на полисахаридные антигены (например, на пневмококковую вакцину) от Т-лимфоцитов не зависит и потому при повторном введении антигена не усиливается. Конъюгация с белками превращает полисахариды в Т-зависимые антигены и, следовательно, приводит к образованию клеток памяти при первом контакте с антигеном и усилению иммунного ответа – при повторном (см. конъюгированные вакцины в 74.3).

## 76.2. Показания и противопоказания к вакцинации

**Показаниями** к вакцинации являются:

- **плановая вакцинация** по национальному календарю прививок;
- **эпидемические показания:**
  - накануне прогнозируемой эпидемии (грипп) для групп повышенного риска;
  - при возникновении вспышки инфекции – контактными лицам;
  - выезд в эндемичные и неблагополучные регионы (клещевой энцефалит, желтая лихорадка);
  - профессиональные группы риска (бешенство – отлов животных, клещевой энцефалит – лесники);
- **«туровая» вакцинация** – интенсивная вакцинация отдельных групп непривитых людей (по географическому или возрастному принципу);
- **по желанию пациентов** – на коммерческой основе (пневмококковая, гемофильная инфекции, вирусы папилломы человека и др.).

К **противопоказаниям** к вакцинации относят:

- **абсолютные:**
  - тяжелая реакция, ранее возникшая при введении той же самой вакцины;
  - осложнения при введении предыдущей дозы этой же вакцины;
  - иммунодефицитные состояния (для живых вакцин);
- **относительные:**
  - ОРЗ/ОРВИ, протекающее с повышением температуры тела (отвод на 2-4 недели);
  - декомпенсация хронических заболеваний (печени, почек, диабета);
  - переливания крови или иммуноглобулинов (отвод на 3 месяца);
  - недоношенность высоких степеней;
- **ложные** (необоснованно включаются в список противопоказаний):
  - дисбактериоз;
  - анемия;
  - аллергия, атопический дерматит, астма, экзема, в т.ч. в семье;
  - некоторые врожденные заболевания (болезнь Дауна и др.) при условии отсутствия иммунодефицита;
  - осложнения в семье после вакцинации.

## 76.3. Критерии эффективной вакцинации. Календарь прививок

**Эффективность** вакцинации отдельного индивидуума оцениваются при помощи:

- **серологических реакций** (определение титра АТ и сравнение с *защитным титром*);
- **кожно-аллергических проб** (например, проба Манту).

Нередко после вакцинации титр антител довольно быстро снижается; это состояние называют **вторичной вакцинальной недостаточностью**. Однако в этом случае иммунитет не обязательно исчезает полностью – ревакцинация или контакт с возбудителем, как правило, вызывают быструю выработку антител (преимущественно класса IgG).

Таким образом, отсутствие антител не всегда свидетельствует об утрате иммунитета, и наоборот, наличие антител после вакцинации еще не гарантирует защиту от инфекции. К счастью, для защиты от некоторых инфекций достаточно очень низких концентраций антител в крови (например, для защиты от столбняка достаточно, чтобы концентрация токсиннейтрализующих антител составляла 0,01 МЕ/мл).

**Национальный календарь профилактических прививок** – это документ, утверждаемый приказом МЗ РБ и определяющий сроки и типы вакцинаций проводимых бесплатно и в массовом порядке. В календаре нет сведений о конкретных препаратах и схемах вакцинации. Действующий по состоянию на 01.01.2018 календарь прививок приведен в Приложении 1.

## 77. Пассивная иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний: показания к применению, принципы проведения, осложнения. Классификации сывороток (по специфичности, способу получения, объекту действия антител, назначению). Препараты иммуноглобулинов. Плазма крови. Моноклональные антитела: получение, области применения

### 77.1. Пассивная иммунизация: показания, принципы, осложнения

**Пассивная иммунопрофилактика и иммунотерапия** – это метод, основанный на введении в организм сывороточных иммунных препаратов. Фактически в организм вводят готовые эффекторные молекулы.

К **сывороточным иммунным препаратам** относятся:

- **иммунная сыворотка** – это сыворотка крови (то есть ее жидкая часть без форменных элементов и фибрина) человека или животного, иммунизированного каким-либо антигеном и содержащая антитела к нему;
- **иммуноглобулины** – выделенные из сыворотки антитела без балластных веществ;
- **моноклональные антитела** – перспективные препараты (см. далее).

**Показания** для пассивной иммунизации:

- срочная **постконтактная профилактика** (контакт с больным корью, для профилактики бешенства или столбняка);
- **лечение** – нейтрализация циркулирующих в крови токсинов (при дифтерии, ботулизме, столбняке, укусах ядовитых змей), как можно более раннее применение;
- при недостаточном синтезе антител в результате врожденных или приобретенных дефектов системы гуморального иммунитета.

К **осложнениям** при введении сывороточных препаратов относятся:

- **отек Квинке, анафилактический шок** (ГНТ I);
- **сывороточная болезнь** – поражения кожи, суставов, почек, печени по механизму ГНТ III типа (см. 81.2), более вероятна при введении больших или повторных доз;
- **феномен Артюса** (также см. 81.2);
- **асептический менингит** (более характерен для иммуноглобулинов).

Для ↓ риска осложнений все гетерологичные сыворотки вводят **дробно по Безредке**:

- 1) **внутрикожно** в предплечье 0,1 мл сыворотки, разведенной 1:100;
- 2) через 30 мин **подкожно** 0,1 мл неразведенной сыворотки;
- 3) через 60-90 мин вводят всю необходимую дозу (обычно **внутримышечно**).

На каждом этапе следят за проявлениями аллергических реакций. Допустимо появление папулы до 1 см с небольшим покраснением.

### 77.2. Классификации сывороток

#### I. По специфичности:

- **нормальные** (содержат множество антител неизвестной специфичности);
- **иммунные** (содержат в том числе антитела к определенному антигену, полученные в результате иммунизации).

#### II. По способу получения:

- **гомологичные** (из сывороток иммунизированных или переболевших людей);
- **гетерологичные** (из сывороток иммунизированных животных, чаще лошадей).

#### III. По объекту действия антител:

- **антимикробные** (сибирская язва, чума, стрептококки, стафилококки);
- **антитоксические** (дифтерия, столбняк, ботулизм, противогангренозная);

#### IV. По назначению:

- **диагностические** (для проведения серологических реакций);
- **лечебно-профилактические**.

### 77.3. Препараты иммуноглобулинов. Моноклональные антитела

**Иммуноглобулины** – это непосредственные эффекторные молекулы иммунных сывороток, поэтому при технологической и экономической возможности целесообразно выделять их и готовить «чистые» препараты иммуноглобулинов. Они имеют следующие преимущества перед сыворотками:

- значительно меньшая реактогенность;
- большая эффективность;
- как правило, достаточно однократного применения;
- активируют факторы врожденного иммунитета (иммуномодулирующее действие);
- вызванное ими иммунное состояние сохраняется дольше.

Как и иммунные сыворотки, препараты иммуноглобулинов бывают *гомологичные* и *гетерологичные*, а также **нормальные** (основное действие – иммуномодулирующее, изредка используются при инфекциях, для которых отсутствуют специфические препараты) и **иммунные**.

**Моноклональные антитела** (мкАТ) – это антитела, специфичные только к одной антигенной детерминанте и продуцируемые одной *гибридомной клеткой*.

**Гибридома** – это гибрид *опухолевой миеломной клетки* и *плазматической клетки*, который от опухолевой клетки получает способность к неограниченному росту и размножению, а от плазматической – способность продуцировать специфические антитела.

Гибридоме (а значит и моноклональные антитела) **получают** следующим образом:

1) мышь иммунизируют, затем отбирают у нее антителообразующие клетки (АОК, то есть плазмоциты) из селезенки;

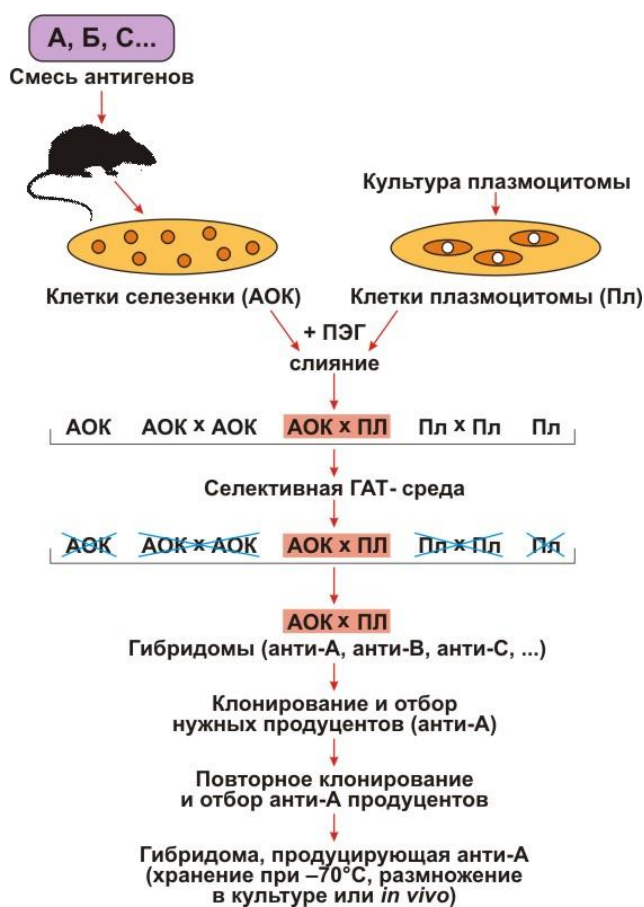
2) добавляют клетки из культуры миеломы (ПЛ, плазмоцитомы) и обрабатывают *полиэтиленгликолем*, который провоцирует слияние клеточных мембран;

3) гибриды переводят на селективную *ГАТ-среду*, в которой выживают только гибридомы (АОК+ПЛ), а остальные гибриды и негибридные клетки гибнут;

4) с помощью серологических или молекулярно-генетических тестов отбирают те гибридомы, которые продуцируют антитела нужной специфичности (ведь из селезенки были отобраны самые разные АОК);

5) при размножении гибридомы ее несколько раз пересевают, отбирая те клетки, которые вырабатывают наибольшие количества специфичных иммуноглобулинов (предпочтительно IgG); гибридомы можно хранить в жидком азоте.

В настоящее время препараты на основе моноклональных антител применяются для **терапии** атопической бронхиальной астмы, ревматоидного артрита и некоторых видов сепсиса. Основными их **недостатками** являются высокая стоимость и отсутствие технологии получения человеческих моноклональных антител (разрабатываются генно-инженерные подходы). Предполагается, что этот перспективный метод в будущем будет применяться гораздо шире.



## 78. Коллективный иммунитет к инфекционным заболеваниям, значение. Им- мунная прослойка: способы оценки, причины и следствия снижения

**Коллективный иммунитет** – это приобретенное состояние специфической защищенности популяции (всего населения, отдельных его групп), слагающееся из иммунитета индивидуумов, входящих в эту популяцию.

Коллективный иммунитет определяется количеством переболевших (с формированием длительного напряженного иммунитета) и количеством вакцинированных.

Значение коллективного иммунитета заключается в том, что его действие распространяется и на тех лиц, которые индивидуального иммунитета не имеют. Это происходит благодаря тому, что инфекции из-за достаточно большого количества защищенных лиц теряют возможность «циркулировать» в популяции. Лучше всего коллективный иммунитет действует в отношении острых заболеваний, при которых человек выделяет возбудителя в течение непродолжительного времени.

При завозных случаях инфекции коллективный иммунитет предотвращает ее распространение, но не предотвращает отдельные случаи заболевания контактных лиц, которые не имеют иммунитета к болезни.

Уровень коллективного иммунитета определяется величиной **иммунной прослойки** – доли лиц в популяции (в %), имеющих иммунитет к определенному возбудителю. Считается, что популяция может быть практически полностью защищена от инфекции при условии, что иммунная прослойка составляет не менее 95%.

К **способам оценки** иммунной прослойки относятся:

- **ориентировочный** (статистические данные по охвату населения вакцинацией);
- **иммунологические обследование** населения:
  - проведение серологических реакций с определением титра антител;
  - постановка кожно-аллергических проб.

В настоящее время имеется тенденция к снижению иммунной прослойки. Основной причиной тому является учащение случаев отказа от проведения вакцинации. При этом именно формирование иммунной прослойки обеспечило видимое благополучие эпидемиологической обстановки, а при ее снижении (условно говоря, ниже 95%) происходит «возвращение» многих инфекций.

Например, в последние годы в отдельных странах Европейского союза регулярно отмечаются вспышки кори (в 2016 году – более 30 летальных случаев), иммунная прослойка по которой на протяжении многих лет не превышала 95%.

## 79. Аллергология: определение, задачи. Аллергия. Аллергены. Аллергия: стадии развития, типы реакций. Понятие об экологической иммунологии и аллергологии

### 79.1. Аллергология: определение, задачи. Аллергия. Аллергены

**Аллергология** – наука, изучающая особенности и закономерности функционирования иммунной системы при *аллергических заболеваниях*, механизмы развития *гиперчувствительности*, а также диагностику, профилактику и терапию аллергических заболеваний.

**Аллергия** – тип иммунного ответа, при котором повторное поступление антигенов в сенситилизованный организм сопровождается развитием воспаления, повреждением клеток и тканей, дисфункцией органов и систем.

**Аллерген** – это антиген определенного типа, способный вызвать аллергическую реакцию у чувствительного к нему индивидуума. Чаще всего аллерген представляет собой *белок*, имеющий ферментативную активность и небольшую молекулярную массу.

Аллергены могут быть *эндогенными* (белки забарьерных тканей, например хрусталика глаза) и *экзогенными инфекционными* (антигены микроорганизмов) и *неинфекционными* (бытовые, пищевые, пыльцевые, инсектные, промышленные, лекарственные и др.)

### 79.2. Стадии развития аллергии. Типы аллергических реакций

Выделяют три **стадии** аллергической реакции:

1) **сенситилизация** – переход от нормальной реактивности к повышенной; формирует-ся после первичного контакта, сохраняется от нескольких дней до периода всей жизни;

2) **разрешение**, протекающее в три этапа:

а) *иммунологический* – образование антигенчувствительных клеток, специфических антител, иммунных комплексов;

б) *патохимический* – образование медиаторов воспаления и биоактивных аминов;

в) *патофизиологический* – проявление клинической картины аллергии.

3) **десенситилизация** – вызванный спонтанно (устранение действия аллергена) или искусственно (десенситилизирующая терапия) возврат к нормальной реактивности; эта стадия может отсутствовать.

По механизму развития выделяют *немедленные* и *замедленные* аллергические реакции, называя их *гиперчувствительностью немедленного* и *замедленного типов* (ГНТ и ГЗТ) соответственно. ГНТ индуцируются антителами и развиваются в пределах получаса. ГЗТ индуцируются T-лимфоцитами и развиваются не ранее, чем через 24 часа.

Полная классификация включает I, II, III (все ГНТ) и IV (ГЗТ) типы аллергических реакций. Подробно они рассмотрены далее.

### 79.3. Понятие об экологической иммунологии и аллергологии

**Экологическая иммунология и аллергология** изучает *экологические иммуотропные факторы (ЭИФ)*, их влияние на иммунную систему и на здоровье индивидуума в популяции.

**Задачи** экологической иммунологии:

- обнаружение и характеристика ЭИФ;
- установление связи между действием ЭИФ и изменениями со стороны ИС;
- иммунологический мониторинг – длительное слежение за ЭИФ и состоянием ИС;
- устранение вредных факторов и профилактика нарушений иммунной системы.

К ЭИФ относятся *природные* (излучение, температура, уровень микроэлементов) и *антропогенные* факторы (промышленные выбросы, пестициды и удобрения).

Действие ИЭФ на организм может проявляться как повышением реактивности (аллергия, аутоиммунные заболевания), так и снижением (вторичный иммунодефицит, опухоли).

## 80. Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ). Медиаторный тип (I) ГНТ: аллергены, механизм развития, проявления. Анафилаксия. Пассивная анафилаксия. Способы предупреждения анафилаксии. Атопии: механизм и условия развития, клинические формы

### 80.1. Гиперчувствительность немедленного типа

К гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) относятся реакции I, II и III типов. Их объединяют следующие признаки:

- опосредованы гуморальным иммунным ответом;
- развиваются в период от нескольких секунд до 12 часов;
- основными эффекторными молекулами выступают антитела и биогенные амины;
- антигистаминные препараты могут быть эффективны.

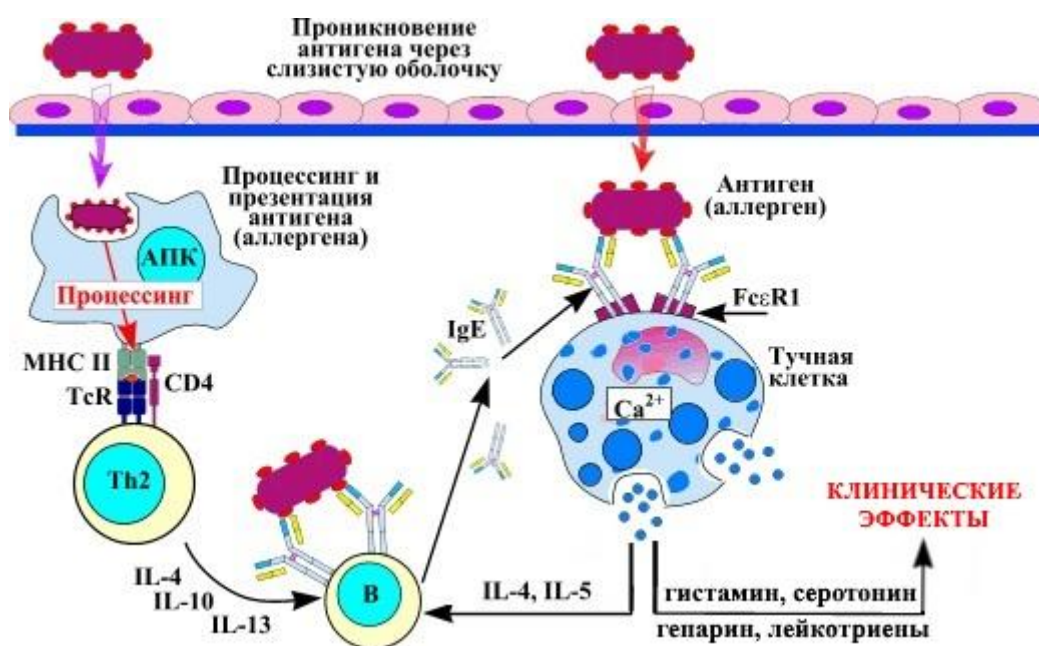
### 80.2. Медиаторный (I) тип ГНТ

**ГНТ I типа** (медиаторный, реактивный) развивается преимущественно на аллергены белкового происхождения (пыль, пыльца растений, лекарственные препараты). Эти аллергены активны в очень низких дозах и способны диффундировать через кожу и слизистые.

На стадии **сенсibilизации** под влиянием аллергена при участии Т-хелперов 2-го типа образуются **IgE** и **IgG4** (*реагины*), связывающиеся с **рецепторами к Fc-фрагментам (FcR)** на мембранах **базофилов** и **тучных клеток** (тканевые аналоги базофилов).

На стадии **разрешения** аллерген связывается с фиксированным IgE, что приводит к **дегрануляции** базофила или тучной клетки и массивному выбросу накопленных в ней биологически активных веществ – **гистамина, гепарина, серотонина, лейкотриенов**. Это приводит к расширению сосудов, развитию отеков, воспаления, спазма гладкой мускулатуры (бронхоспазма), а в самом ярком случае – к **анафилактическому шоку (анафилаксии)**.

Кроме того, в тучных клетках и Т-хелперах 2-го типа активируется синтез **ИЛ-4** (стимулирует рост В-лимфоцитов и тучных клеток, а также способствует дифференциации Т-хелперов во второй тип) и **ИЛ-5** (участвует в синтезе IgE).



## 80.2. Анафилаксия. Пассивная анафилаксия. Способы предупреждения анафилаксии. Атопии: механизм и условия развития, клинические формы

**Анафилаксия** – это реакция ГНТ, сопровождающееся состоянием шока и несущая угрозу жизни человека. Наиболее часто анафилаксия развивается после парентерального введения аллергена, при этом доза решающего значения не имеют.

Анафилаксия развивается в течение периода от нескольких секунд до часа. Ведущий патогенетический механизмы – сильная периферическая вазодилатация из-за резкого увеличения концентрации БАВ.

Симптомы **анафилактического шока** включают резкое падение АД, отек гортани, ларинго- и бронхоспазм, затруднение дыхания, спутанность сознания, обморок. Около 10% случаев заканчиваются летальным исходом.

**Пассивная анафилаксия** возникает в организме реципиента вследствие соединения аллергена с аллергическими антителами, полученными от активно сенсibilизированного донора. Эту методику чаще всего используют на морских свинках, причем вызывают не генерализованную, а местную сенсibilизацию (кожную анафилаксию).

Методом пассивной анафилаксии можно:

- установить точное количество антигена и антител и их соотношения, нужные для воспроизведения анафилактических реакций;
- получить точную информацию о следствиях взаимодействия антиген – антитело в организме с нормальной реактивностью;
- выявить некоторые аллергические заболевания или состояния.

**Атопии** – это локальные реакции ГНТ I типа у генетически предрасположенных к ним лиц. В отличие от анафилаксии, атопия может развиваться в ответ на многие небелковые вещества, сенсibilизация при ней длительна, а симптомы варьируют в зависимости от типа аллергена и индивидуальных особенностей человека. Классическими формами атопии являются **атопический дерматит, аллергический ринит и аллергическая астма**.

## 81. Цитотоксический (II) тип ГНТ: аллергены, механизмы развития, проявления. Иммунокомплексный (III) тип ГНТ: аллергены, механизмы развития, проявления

### 81.1. Цитотоксический (II) тип ГНТ

ГНТ II типа (цитотоксический) может развиваться в ответ на широкий круг аллергенов, связанных с мембранами клеток: низкомолекулярные соединения, лекарства, аутоантигены, микробные антигены.

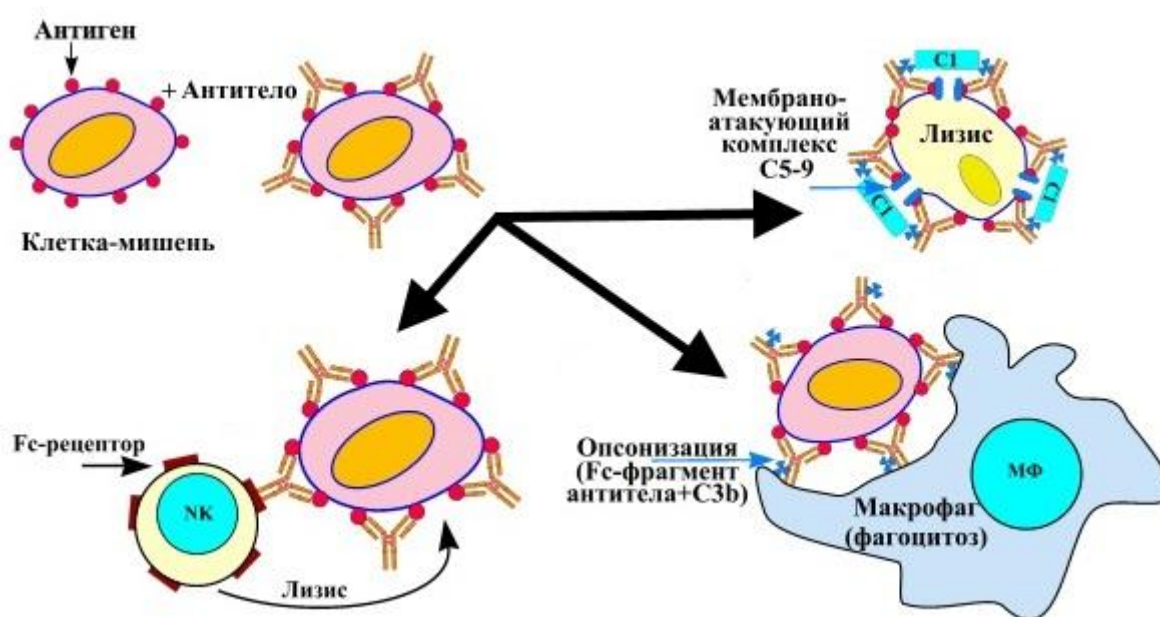
На стадии **сенсibilизации** аллерген адсорбируется на различных клетках организма. Против него вырабатываются IgM и IgG.

На стадии **разрешения** антитела своими Fab-фрагментами связываются с аллергенами, находящимися на поверхности клеток различных органов (крови, печени, почек, эндотелия), с образованием комплекса антиген-антитело. Далее происходит цитоллиз клеток, опосредуемый двумя основными механизмами:

- 1) **комплементзависимый** (с образованием мембраноатакующего комплекса);
- 2) **антителозависимая клеточная цитотоксичность**:
  - цитоллиз NK-клеткой (*перфорины*);
  - поглощение макрофагом (необходимо наличие рецепторов к Fc-фрагментам и опсонизация комплектом).

Клинические проявления ГНТ II типа обусловлены разрушением клеток и развитием воспаления. Время их появления обычно составляет 4-12 часов. Наиболее характерные заболевания и синдромы, связанные с этим типом ГНТ:

- **злокачественная миастения** (слабость мышц, АТ к ацетилхолиновым рецепторам);
- **вульгарная пузырчатка** (образование пузырей на коже и слизистых, АТ к молекулам межклеточной адгезии);
- **синдром Гудпасчера** (нефрит + кровоизлияния в легкие, АТ к базальной мембране);
- **аутоиммунный гипертиреоз** (АТ к рецепторам ТТГ);
- **гемолитическая анемия** и другие цитопении (часто индуцируются лекарствами);
- **гемолитическая болезнь новорожденных** (повреждение эритроцитов Rh+ плода при повторной беременности у Rh- матери).



## 81.2. Иммунокомплексный (III) тип ГНТ

ГНТ III типа (иммунокомплексный) чаще развивается в ответ на аллергены, которые:

- длительно циркулируют в организме;
- присутствуют в больших количествах;
- являются растворимыми.

Примерами таких аллергенов могут быть бактериальные и вирусные антигены при хронических инфекциях или введенные в организм сывороточные антигены.

На стадии сенсибилизации аллерген циркулирует в организме в больших количествах и против него вырабатываются IgG и IgM.

На стадии разрешения выработанные антитела образуют с аллергеном комплекс антиген-антитело (иммунный комплекс), которые в норме поглощаются фагоцитами. Однако из-за избытка антигенов фагоциты не справляются с наплывом иммунных комплексов, и последние оседают в различных тканях.

Оседая в тканях, иммунные комплексы активируют комплемент, что приводит к выделению анафилотоксинов и развитию воспаления с привлечением в очаг нейтрофилов, тромбоцитов и макрофагов. Они дополнительно выделяют повреждающие ткани протеолитические ферменты и медиаторы воспаления. В итоге совместное действие комплемента, медиаторов воспаления и ферментов приводит к разрушению клеток ткани.

Реакция ГНТ III типа активно протекает уже в первые сутки, однако клинические проявления обычно появляются через 2-10 дней. Наиболее характерные заболевания и синдромы, связанные с этим типом ГНТ:

- **сывороточная болезнь** – развивается через 8-10 дней после однократного введения гетерологичной сыворотки (например, лошадиной) и сопровождается повышением температуры, увеличением селезенки, лейкоцитозом, в тяжелых случаях осложняется васкулитами и гломерулонефритом;
- **феномен Артюса** – местная реакция на введение аллергена в ткань (подкожно или внутримышечно), которая повреждается в результате высвобождения лизосомальных ферментов в местах отложения иммунных комплексов вплоть до некроза;
- **ревматоидный артрит**;
- **системная красная волчанка** и **люпус-нефрит**;
- **аутоиммунный гепатит**;
- **аутоиммунный тиреоидит**.



## 82. Гиперчувствительность замедленного (IV) типа: аллергены, механизм развития. Контактная и инфекционная аллергия

### 82.1. Гиперчувствительность замедленного типа (IV)

К гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) относится реакция IV типа. Она характеризуется следующим:

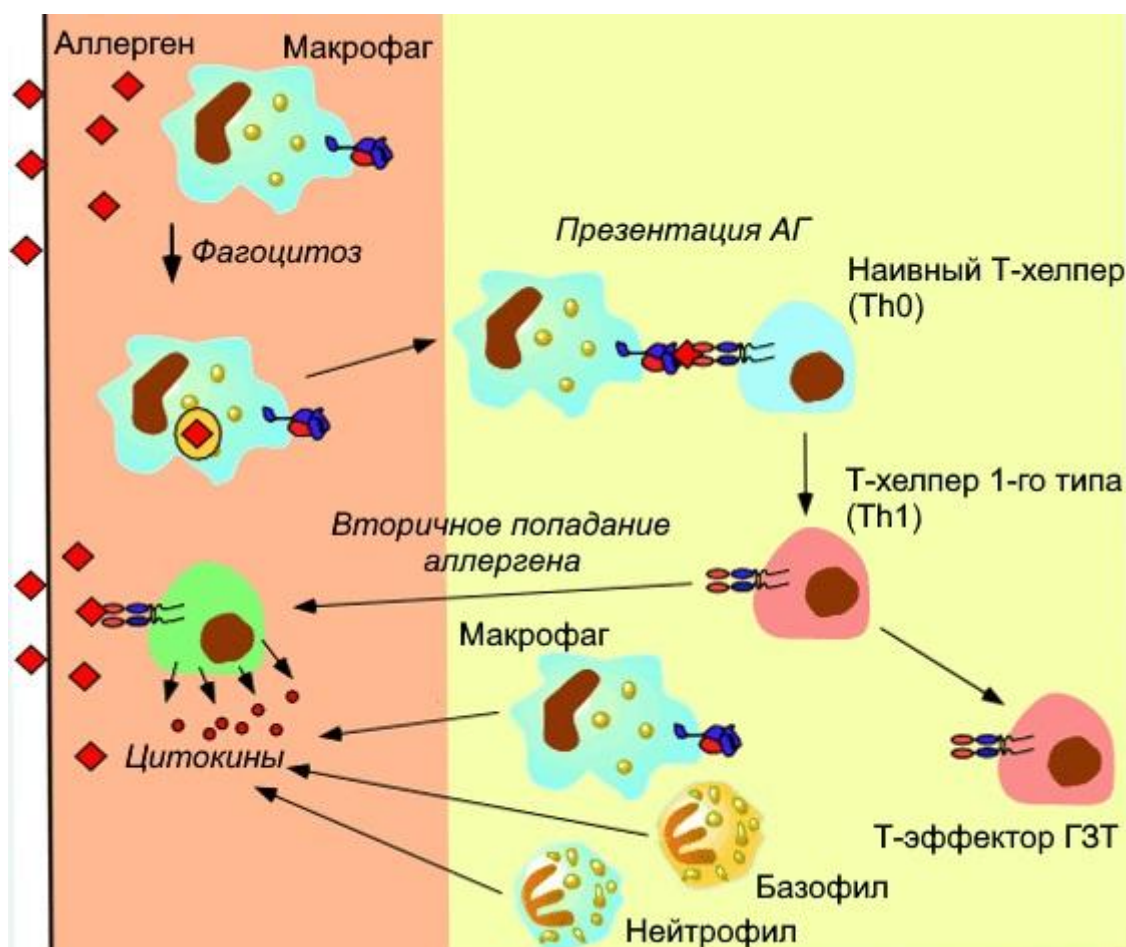
- опосредована клеточным иммунным ответом;
- развивается не ранее чем через 24 часа;
- среди эффекторных молекул наибольшее значение имеют лимфокины;
- антигистаминные препараты неэффективны.

ГЗТ может развиваться в ответ на следующие **аллергены**:

- простые химические вещества (будучи *гаптенами*, вызывают иммунный ответ только после связи с белками организма, например белками кожи);
- микробные антигены;
- лекарственные вещества;
- аутоантигены.

На стадии **сенсibilизации** аллерген инициирует типичный клеточный иммунный ответ с образованием **T-хелперов 1-го типа**, часть которых может дифференцироваться в особые клетки – **T-эффекторы ГЗТ**. Меньшую роль играют образующиеся **T-киллеры**.

На стадии **разрешения** T-эффекторы ГЗТ и T-хелперы 1-го типа активируют макрофаги и вместе с ними в больших количествах продуцируют цитокины (ФНО, хемотаксический фактор, интерфероны, ИЛ-1, 6, 12), которые привлекают в очаг вокруг аллергена гранулоциты, T-киллеры, макрофаги и способствуют развитию **воспалительной реакции**.



## 82.2. Контактная и инфекционная формы ГЗТ

В зависимости от природы аллергена, вызвавшего ГЗТ, она может развиваться в двух формах:

Форма / вид ГЗТ	Контактная	Инфекционная	
		туберкулиновая	гранулематозная
Аллергены	простые химические вещества	микробные АГ	
Время проявления	48-72 ч.	туберкулез, проказа, бруцеллез	туберкулез, проказа, сифилис
Условия	миграция Т-лимфоцитов в кожу		неэффективный клеточный ИО
Клетки в очаге	лимфоциты, макрофаги		
		моноциты	эпителиоидные и гигантские клетки
Клинические проявления	контактный дерматит, экзема, отеки	местный инфильтрат	гранулемы
Примеры	реакция на лекарства	проба Манту	гранулематозные болезни

**Гранулема** – это крупный очаг инфильтративного воспаления, отграниченный от окружающей ткани. Гранулема при ГЗТ выступает способом изоляции патогена, с которым иммунная система справиться не в состоянии.

При благоприятном исходе гранулема подвергается фиброзу, а распространение возбудителя приостанавливается. При неблагоприятном – происходит распад гранулемы с некрозом окружающих тканей и распространением возбудителя. В любом случае появление гранулем связано с разрушением больших участков функционирующей ткани и нарушением функции органа.

Появление гранулем характерно для туберкулеза, лепры, сифилиса, склеромы, бруцеллеза и туляремии.

## 83. Лекарственная аллергия: основные аллергены, механизмы и типы аллергических реакций, способы диагностики и предупреждения

### 83.1. Лекарственная аллергия: аллергены, механизмы и типы реакций

**Лекарственная аллергия** – это повышенная чувствительность к лекарственным средствам, обусловленная механизмами гуморального и/или клеточного типа и сопровождающаяся общими или местными клиническими проявлениями.

К основным лекарственным **аллергенам** относятся:

- антибиотики (в особенности пенициллин и тетрациклины);
- сульфаниламидные препараты;
- вакцины и сыворотки;
- анальгетики и местные анестетики;
- поливитамины (в особенности с витаминами группы В);
- ацетилсалициловая кислота, инсулин.

ЛА может развиваться по любому типу гиперчувствительности:

- **I** тип: анафилактический шок, отек Квинке, крапивница;
- **II** тип: гемолитическая анемия, лейкопения, тромбоцитопения;
- **III** тип: синдром Стивенса-Джонсона, синдром Лайелла, сывороточная болезнь;
- **IV** тип: синдром Стивенса-Джонсона, синдром Лайелла, контактный дерматит.

**Крапивница** характеризуется появлением плоских, сильно зудящих волдырей (похожи на ожоги крапивой). **Контактный дерматит** не имеет характерной картины и может сопровождаться появлением болезненных узелков, пузырей, эрозий и шелушений. **Отек Квинке** появляется в местах с развитой подкожной клетчаткой – на губах, веках, щеках, слизистых рта. В тяжелых случаях он распространяется на слизистую гортани, что может привести к затруднению дыхания.

**Синдром Стивенса-Джонсона** наиболее часто развивается в ответ на прием антибиотиков, реже в ответ на вирусные инфекции. Он характеризуется появлением на коже и слизистых пятен, папул, а затем и пузырей, который позже вскрываются и образуют кровотокающие *эрозии*. Летальность составляет около 5%, в случае выздоровления кожный покров восстанавливается.

**Синдром Лайелла** (токсический эпидермальный некролиз) также развивается в ответ на прием антибиотиков, схож по клинике с предыдущим, но протекает значительно тяжелее. Пузыри склонны к слиянию, эпидермис при надавливании отслаивается. Из-за интоксикации поражаются внутренние органы, летальность составляет 25-50%.

### 83.2. Лекарственная аллергия: способы диагностики и профилактики

Для **диагностики** лекарственной аллергии используют следующие методы:

- **кожные пробы** (описываются далее);
- **провокационные пробы** (например, прием сверхмалой дозы препарата под язык);
- **лабораторные тесты** (определение специфических IgE).

Основными мерами **профилактики** лекарственной аллергии являются:

- назначение антибиотиков и других ЛС строго по показаниям;
- выбор наименее аллергенного средства (при прочих равных) и наиболее безопасного способа введения;
- тщательный сбор аллергоанамнеза;
- применение диагностических методов;
- дробное или медленное введение препарата.

## 84. Пищевая аллергия. Пищевые продукты, обладающие сенсibilизирующим действием. Профилактика пищевой аллергии. Парааллергия. Идиосинкразия

### 84.1. Пищевая аллергия: механизм, аллергены, профилактика

**Пищевая аллергия** – это повышенная чувствительность к пищевым веществам, сопровождающаяся общими или местными клиническими проявлениями.

Главным **механизмом** развития пищевой аллергии является **I тип** гиперчувствительности, поэтому основными ее проявлениями выступают *крапивница, дерматиты, экзема*, реже *отек Квинке* и *анафилактический шок*. ГНТ II и III типов, а также ГЗТ могут служить дополнительными механизмами развития пищевой аллергии.

**Факторами риска** развития пищевой аллергии являются наследственная предрасположенность (семейная история), дефицит витамина D, ожирение и патологическая чистоплотность.

Пищевыми **аллергенами**, как правило, являются белки и гликопротеиды, устойчивые к протеолизу в ЖКТ. Они входят в состав следующих продуктов:

- коровье и козье молоко (основной аллерген – *казеин*);
- куриное яйцо (основной аллерген – белок);
- рыба и морепродукты;
- бобовые, соя, орехи, арахис, мёд;
- фрукты (особенно цитрусовые) и ягоды;
- многие искусственные пищевые добавки и др.

Единственный доступный метод **профилактики** – полный отказ от приема пищи, вызывающей ПА. Пациенты с аллергией должны внимательно изучать состав, поскольку из-за использования общего оборудования для приготовления в продуктах могут содержаться следы пищевых веществ, наличие которых в них сложно предположить (например, следы арахиса в пряниках).

### 84.2. Парааллергия. Идиосинкразия

**Парааллергия**, или псевдоаллергия – это патологический процесс, который клинически идентичен реакции гиперчувствительности I типа, но иммунологическая стадия его развития отсутствует. Иначе говоря, реакция начинается сразу с высвобождения медиаторов воспаления (особенно гистамина) без всякого участия иммуноглобулинов.

Причинами парааллергии могут быть:

- 1) отдельные виды пищевой непереносимости;
- 2) избыточное употребление пищи, богатой аминами (консервированное мясо и рыба, яйца, сыры, и многие другие);
- 3) избыточное потребление либераторов (высвободителей) гистамина (квашеная капуста, редька, редис, сыры);
- 4) нарушение инактивации гистамина (болезни печени).

**Идиосинкразия** – это патологическая реакция, возникающая у некоторых людей в ответ на определённые неспецифические (в отличие от аллергии) раздражители. В основе идиосинкразии лежит недостаточность каких-либо звеньев ферментных систем.

Раздражителем могут выступать как типичные аллергены (чаще всего лекарственные средства, молочные продукты), так и небелковые соединения, которые не обладают свойствами аллергенов. Пример идиосинкразии – *злокачественная гипертермия* при применении некоторых средств для наркоза.

Идиосинкразия, как и парааллергия, не относится к истинным аллергическим реакциям, не имеет в своей основе иммунных механизмов и возникает, как правило, при первом же контакте с раздражителем.

## 85. Аллергологический метод исследования: определение, задачи, этапы, оценка

### 85.1. Аллергологический метод исследования: определение, задачи, оценка

**Аллергологический метод** исследования – это метод, основанный на выявлении повышенной чувствительности (аллергии, гиперсенсibilизации) при введении в организм специфических аллергенов.

К **задачам** аллергологического метода относятся:

- 1) диагностика **инфекционных заболеваний** (ГЗТ), в патогенезе которых имеет место сенсibilизация к микробным антигенам (туберкулез, бруцеллез, тулярия, сап, токсоплазмоз, орнитоз);
- 2) диагностика **аллергических заболеваний** (ГНТ I);
- 3) разработка специфической **десенсibilизирующей терапии** реакций ГНТ I типа.

Достоинства	Недостатки
+ быстрота получения результатов; + ранний метод диагностики при ГНТ I; + возможность проведения десенсibilизирующей терапии	– недостаточная чувствительность; – опасность осложнений ( <i>in vivo</i> ); – поздний метод диагностики при ГЗТ; – сложность стандартизации препаратов для диагностики;

### 85.2. Аллергологический метод исследования: этапы

#### I. Сбор аллергологического анамнеза с целью:

- установления наследственной предрасположенности к аллергии;
- установления наличия клинических симптомов (чихание, зуд, сыпь, отек и др.);
- выявления факторов, отягчающих аллергологический анамнез (хронические заболевания, реакции на прививки и лекарства, пищевая аллергия);
- выявления связи между образом жизни, временем года и проявлениями аллергии (например, улучшение состояния после выходных при реакции на производственные аллергены);
- исключения парааллергии и идиосинкразии.

#### II. Постановка кожно-аллергических проб:

##### а) для диагностики ГНТ I типа:

- **капельная проба** – аллерген каплей наносится на неповрежденную кожу (наименее чувствительная проба);
- **аппликационная проба** – на неповрежденную кожу накладывают марлевые тампоны, смоченные раствором аллергена, и заклеивают их пластырем;
- **прик-тест** – кожу на 1 мм прокалывают иглой, смоченной в растворе аллергена;
- **скарификационная проба** – на предплечье скарификатором наносят небольшие царапины, после чего на них капают растворы аллергенов;
- **внутрикожный тест** – дополнительно разведенный в 100 раз раствор аллергена вводят подкожно в предплечье (самая чувствительная и самая опасная проба);
- являются золотым стандартом диагностики сенсibilизации *in vivo*;
- используются стандартизированные растворы аллергенов;
- проба оценивается через 20 минут и считается положительной при наличии **везикулы**, которую оценивают от + (до 3 мм) до ++++ (более 10 мм);
- кожные пробы не проводятся при наличии в анамнезе острых реакций (для исключения возможных анафилактических реакций);
- после проведения пробы пациент не менее часа наблюдается медперсоналом.

##### б) для диагностики ГЗТ:

- проба Манту и диаскинтест – диагностика туберкулеза и оценка восприимчивости;
- также применяются при бруцеллезе, сапе, мелиоидозе.

### **III. Применение дополнительных методов исследования:**

#### **а) элиминационные тесты:**

- исключение контакта с определенным аллергеном и наблюдение за пациентом;
- наиболее эффективны при пищевой аллергии;

#### **б) серологические методы:**

- выявление эффекторных антител (IgE), сенсibilизированных лимфоцитов или биоактивных аминов методами серологической диагностики;
- для установки аллергена нужно определять специфические IgE (а не общее кол-во);
- серологические методы безопасны и могут применяться при наличии противопоказаний к проведению кожных проб (ранний детский возраст, непрерывное течение болезни, острые реакции в анамнезе).

#### **в) провокационные пробы:**

- принудительный контакт со значительными дозами аллергена;
- обычно сублингвальный, назальный или ингаляционный метод введения;
- самый опасный метод, применяемый в случаях, когда остальные методы не позволяют поставить диагноз, а его уточнение является клинически важным;
- пробы проводятся в специализированных отделениях с возможностью осуществления противошоковых и реанимационных мероприятий.

### **IV. Оценка полученных данных и выдача заключения («аллергический паспорт»).**

## Приложение 1. Национальный календарь профилактических прививок РБ

<i>Перечень инфекций, против которых проводятся профилактические прививки</i>	<i>Группы физических лиц и сроки проведения профилактических прививок</i>
Вирусный гепатит В	Новорожденные в первые 12 часов жизни, дети в возрасте 1 и 5 месяцев
Туберкулез	Новорожденные на 3-5 день жизни
Пневмококковая инфекция*	Дети в возрасте 2, 4 и 12 месяцев
Дифтерия, столбняк, коклюш	Дети в возрасте 3, 4, 5, 18 месяцев
Полиомиелит	Дети в возрасте 3, 4, 5 месяцев и 7 лет
Гемофильная инфекция*	Дети в возрасте 3, 4, 5, 18 месяцев
Корь, эпидемический паротит, краснуха	Дети в возрасте 12 месяцев и 6 лет
Дифтерия и столбняк	Дети в возрасте 6 лет, 16 лет, взрослые в возрасте 26 лет и каждые последующие 10 лет жизни до достижения возраста 66 лет
Дифтерия	Дети в возрасте 11 лет
Грипп*	Дети в возрасте с 6 месяцев и взрослые

\* Вакцинация проводится для лиц, относящихся к группам риска:

- профилактические прививки против пневмококковой и гемофильной инфекции проводятся детям в соответствии с возрастом и имеющими одно из следующих заболеваний или состояний:
  - хронический гепатит
  - цирроз печени
  - хронические заболевания почек, сердца и легких
  - иммунодефицитные состояния
  - муковисцидоз;
- профилактические прививки против гриппа проводятся следующим группам населения:
  - дети в возрасте от 6 месяцев до 3 лет
  - дети в возрасте от 3 лет и взрослые с хроническими заболеваниями
  - лица с иммуносупрессией
  - лица в возрасте старше 65 лет
  - беременные
  - медицинские работники
  - дети и взрослые, находящиеся в учреждениях с круглосуточным режимом пребывания
  - работники государственных органов, обеспечивающих безопасность государства и жизнедеятельность населения.