

Тема лекции:

**ФОРМЫ ИММУННОГО
ОТВЕТА:
АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЕ,
ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ
ПАМЯТЬ,
ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ
ТОЛЕРАНТНОСТЬ**

Формы проявления иммунного ответа:

- 1) антителообразование,
- 2) иммунный фагоцитоз,
- 3) опосредованный клетками киллинг,
- 4) реакции гиперчувствительности,
- 5) формирование иммунологической памяти,
- 6) формирование иммунологической толерантности.

Все элементы иммунной системы реагируют на изменение гомеостаза, в зависимости от характера антигенного воздействия одни формы становятся ведущими, а другие могут практически не проявляться. Например, при токсической инфекции в основном активируется продукция антител (антитоксины). При туберкулезной инфекции, основную роль выполняют факторы клеточного иммунитета (Т-киллеры, естественные киллеры, фагоциты) и т. д..

Антитела — белки, специфически реагирующие с антигенами.

Антитела и фагоцитоз - одна из наиболее филогенетически древних форм иммунной защиты.

Антитела (*иммуноглобулины - Ig*). относятся к γ -глобулиновой фракции белков сыворотки крови (15-25 % белков сыворотки крови).

Антитела — это γ -глобулины, вырабатываемые в ответ на введение антигена, способные специфически связываться с антигеном, синтезируются В-лимфоцитами и плазматическими клетками.

Циркулирующие антитела подразделяются на **сывороточные** и **секреторные**. К антителам относятся и **белки Бенс-Джонса**, которые являются легкими цепями молекул Ig и синтезируются при миеломной болезни.

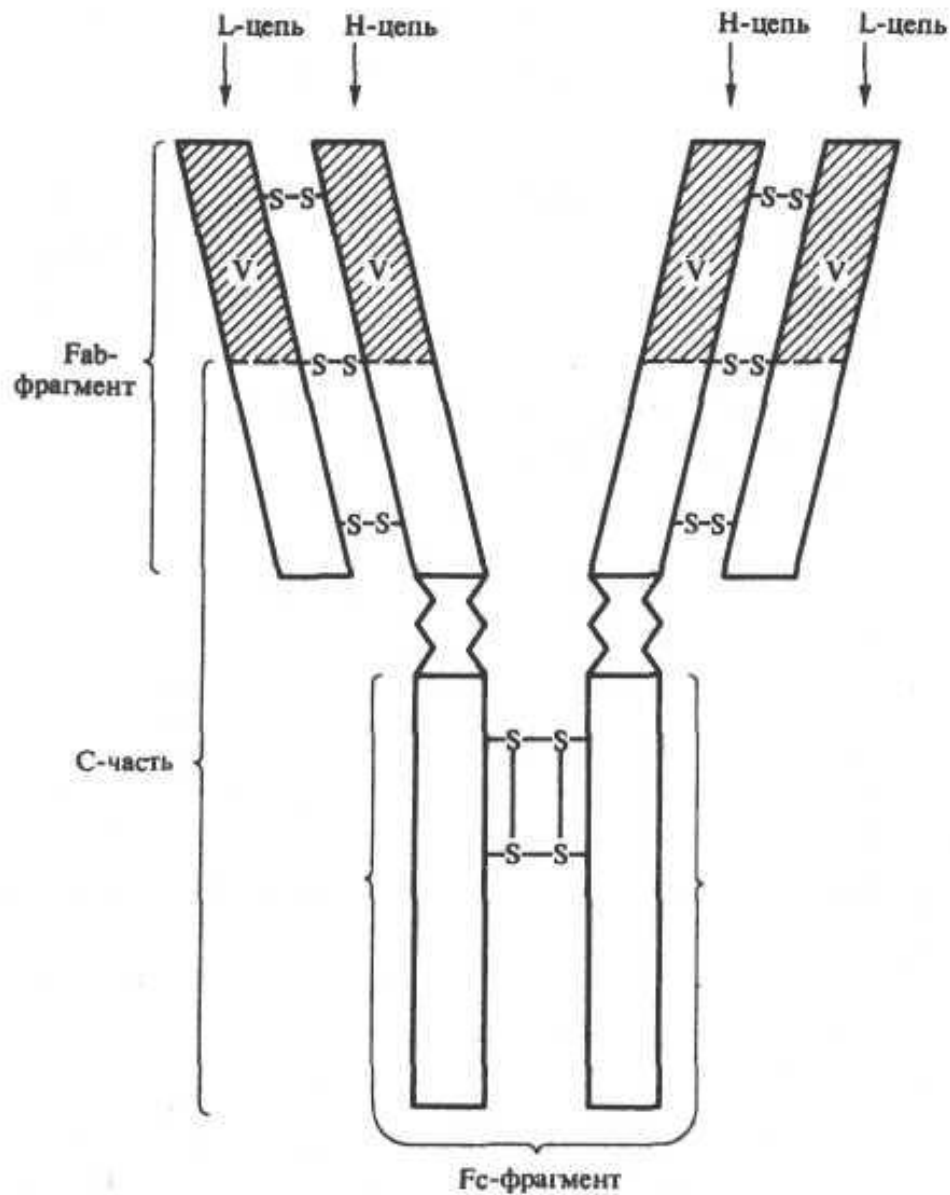
Антитела используют для:

1. диагностики
2. профилактики
3. лечения различных заболеваний,
4. выделения и очистки биологически активных веществ.

Для этого на основе специфических иммуноглобулинов созданы соответствующие иммунобиологические препараты (лечебные и диагностические сыворотки, диагностикумы и пр.).

- Иммуноглобулины - это гликопротеиды. Они состоят из полипептидных цепей, стабилизированных сахаридными остатками. При нагревании выше 60 °С молекула Ig денатурируется. Иммуноглобулины различаются по структуре, антигенному составу, по выполняемым функциям.
- Если молекулу Ig обработать 2-меркаптоэтанолом, то она распадется на 2 пары полипептидных цепей: две тяжёлых - H (от англ. *heavy* — тяжелый) (550-660 аминокислотных остатков) и две легких - L (от англ. *light* — легкий) цепи (220 аминокислотных остатков). Эти цепи связаны между собой дисульфидными связями (-S-S-).

Строение иммуноглобулина класса G



- Между тяжелыми цепями также есть дисульфидная связь . Такой тип межпептидного соединения позволяет менять конформацию в зависимости от окружающих условий . Шарнирный участок отвечает за взаимодействие с компонентом комплемента - C1 и его активацию .
- Легкие и тяжелые цепи молекулы Ig делятся на типы, которые определяются последовательностью аминокислот. У легких цепей - κ и λ, у тяжелых цепей α, γ, μ, ε и дельта, которые имеют также и внутреннее подразделение.

- Отдельные участки цепи молекулы Ig свернуты в глобулы (домены). Домены стабилизированы дисульфидной связью. В составе тяжелой цепи Ig - 4-5 доменов, а в легкой — 2. Каждый домен состоит из 110 аминокислотных остатков.
- Домены различаются по постоянству аминокислотного состава. Выделяют *C-домены* (от англ. *constant* — постоянный), с постоянной структурой полипептидной цепи, и *V-домены* (от англ. *variable* — изменчивый), с переменной структурой. В составе легкой цепи есть по одному V- и C-домену, а в тяжелой — один V- и 3—4 C-домена. Изменчивость характерна только для 25 % вариабельного домена (*гипервариабельная область*)

Вариабельные домены легкой и тяжелой цепи образуют участок, который специфически связывается с антигеном. Это *антигенсвязывающий центр молекулы Ig (паратоп)*.

Гипервариабельные области тяжелой и легкой цепи определяют специфичность антигенсвязывающего центра.

Обработка ферментами молекулы Ig приводит к ее гидролизу.

Папаин разрывает молекулу на три фрагмента. Два из них способны специфически связываться с антигеном. Они состоят из цельной легкой цепи и участка тяжелой (V- и C-домен), и в их структуру входят антигенсвязывающие участки. Это *Fab* фрагменты (от англ. «фрагмент, связывающийся с антигеном»).

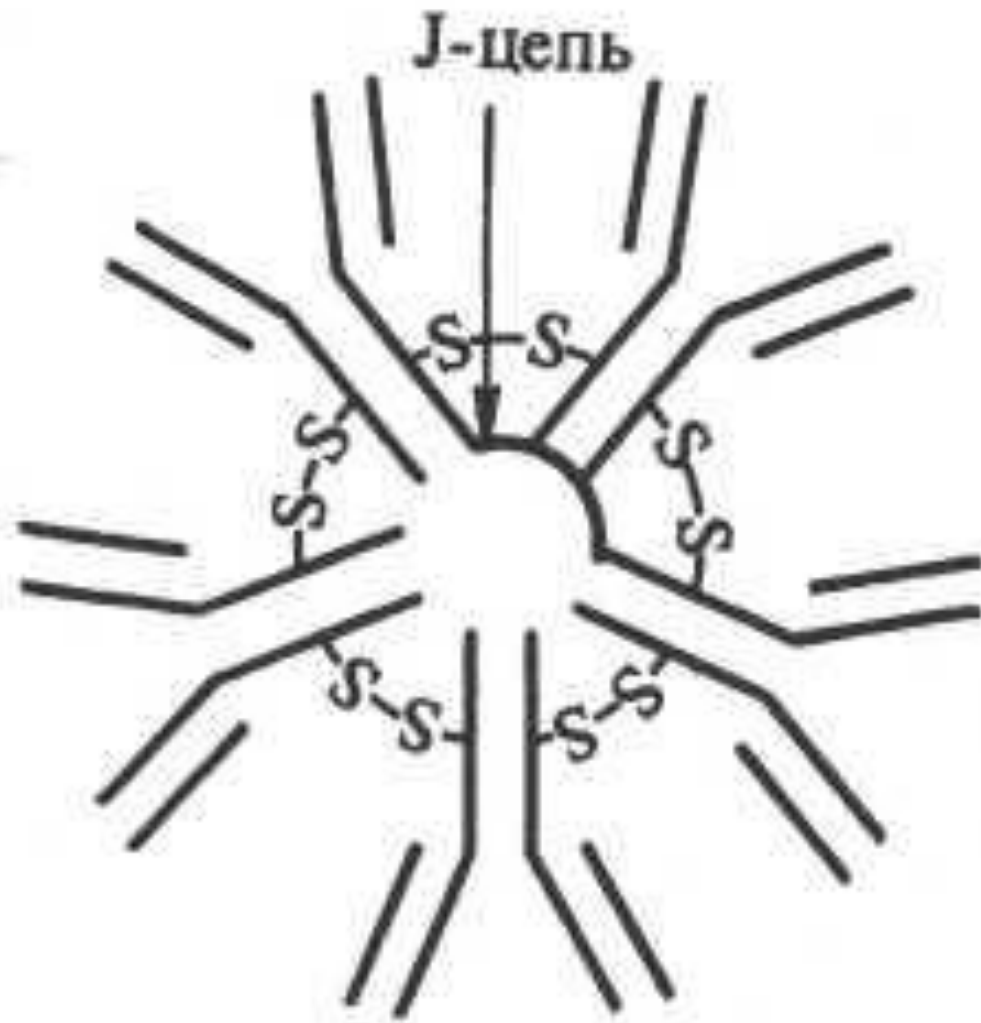
Третий фрагмент, способный образовывать кристаллы, получил название *Fc* (от англ. «фрагмент кристаллизующийся»). Он ответствен за связывание с рецепторами на мембране клеток макроорганизма (*Fc*-рецепторы) и некоторыми микробными суперантигенами (например, белком А стафилококка). Пепсин расщепляет молекулу Ig ниже шарнирного участка и ведет к образованию 2 фрагментов: *Fc* и двух сочлененных *Fab*. или $F(ab)_2$.

- В зависимости от особенностей молекулярного строения тяжелой цепи различают 5 классов, или изотипов Ig . Молекулы, содержащие тяжелую цепь α -типа, относят к изотипу A (IgA); IgD обладает δ -цепью, IgE— ϵ -цепью, IgG— γ -цепью и IgM — μ -цепью. Соответственно особенностям строения подтипов тяжелых цепей различают и подклассы Ig.

- **Иммуноглобулин класса G.** Изотип G составляет основную массу Ig сыворотки крови
- (70—80 %), при этом 50 % содержится в тканевой жидкости. Среднее содержание IgG в сыворотке крови взрослого человека 12 г/л. Этот уровень достигается к 7—10-летнему возрасту. Период полураспада IgG — 21 день.
- IgG — мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра (его валентность равна 2), молекулярную массу около 160 кДа и константу седиментации 7S. Различают подтипы G1, G2, G3 и G4. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Максимальная концентрация в сыворотке крови на пике первичного и при вторичном иммунном ответе.

- IgG1 и IgG3 связывают комплемент. IgG4, обладает цитотрофностью (тропностью к тучным клеткам и базофилам) и участвует в развитии аллергической реакции I типа. IgG может проявлять себя как неполное антитело.
- Проникает через плацентарный барьер и обеспечивает гуморальный иммунитет новорожденного в первые 3—4 месяца жизни. Способен выделяться в секрет слизистых (молоко) путем диффузии.
- IgG обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск комплемент-опосредованного цитолиза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

- **Иммуноглобулин класса М.** Самая крупная молекула из всех Ig. Это пентамер, который имеет 10 антигенсвязывающих центров (его валентность равна 10). Молекулярная масса - около 900 кДа. константа седиментации 19S. Различают подтипы М1 и М2. Тяжелые цепи молекулы IgM построены из 5 доменов. Период полураспада IgM — 5 дней.
- Составляет около 5—10 % всех сывороточных Ig. Среднее содержание IgM в сыворотке крови взрослого человека составляет около 1 г/л. Этот уровень у человека достигается уже к 2—4-летнему возрасту.



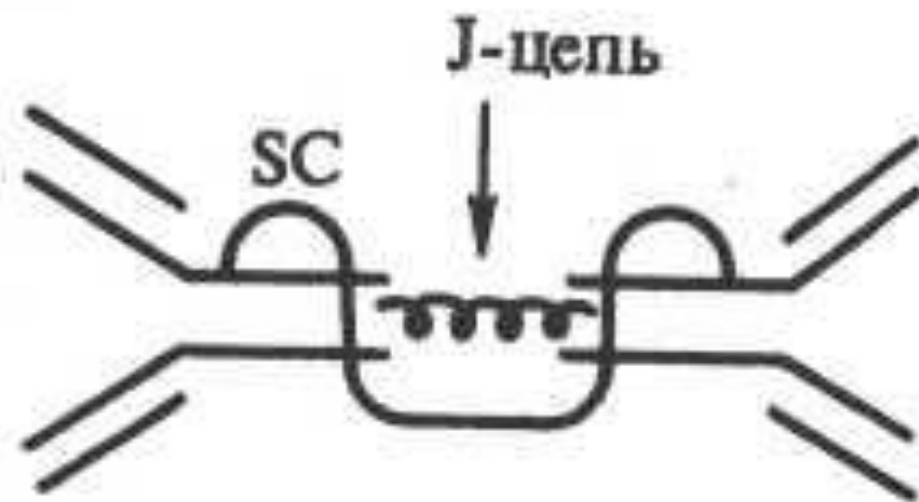
J-цепь

IgM

- IgM филогенетически наиболее древний иммуноглобулин. Синтезируется предшественниками и зрелыми В-лимфоцитами. Образуется в начале первичного иммунного ответа, также первым начинает синтезироваться в организме новорожденного — определяется уже на 20-й неделе внутриутробного развития.
- Эффективный активатор комплемента по классическому пути. Участвует в формировании сывороточного и секреторного гуморального иммунитета. Может образовывать секреторную форму и выделяться в секрет слизистых, в том числе в молоко. Большая часть нормальных антител и изоагглютининов относится к IgM.

- Не проходит через плаценту.
Обнаружение специфических антител изотипа М в сыворотке крови новорожденного указывает на бывшую внутриутробную инфекцию или дефект плаценты.
- IgM обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск комплемент-опосредованного цитолиза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

- **Иммуноглобулин класса А.** Существует в сывороточной и секреторной формах. Около 60 % всех IgA содержится в секретах слизистых.
- **Сывороточный IgA:** составляет около 10—15 % всех сывороточных Ig. В сыворотке крови здорового взрослого человека содержится около 2.5 г/л IgA, максимум достигается к 10-летнему возрасту. Период полураспада IgA — 6 дней.
- IgA — мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра (2-валентный), молекулярную массу около 170 кДа и константу седиментации 7S. Различают подтипы A1 и A2. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Хорошо определяется в сыворотке крови на пике первичного и при вторичном иммунном ответе.



IgA

- Может быть неполным антителом. Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер.
- IgA обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.
- **Секреторный IgA:** В отличие от сывороточного, секреторный IgA (sIgA) существует в полимерной форме в виде ди- или тримера (4- или 6-валентный) и содержит J- и S-пептиды.

Молекулярная масса 350 кДа и выше, константа седиментации 13S и выше.

Синтезируется В-лимфоцитами и плазматическими клетками в пределах слизистых и выделяется в их секреты (до 5 г в сутки). Пул sIgA самый многочисленный в организме — его количество превышает суммарное содержание IgM и IgG. В сыворотке крови sIgA не обнаруживается.

Секреторная форма IgA — основной фактор специфического гуморального местного иммунитета слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и респираторного тракта. Устойчив к действию протеаз, не активирует комплемент, но нейтрализует антигены. Он препятствует адгезии микробов на эпителиальных клетках и генерализации инфекции в пределах слизистых.

Иммуноглобулин класса E (реагин). Содержание в сыворотке крови — 0,00025 г/л. Молекулярная масса — около 190 кДа, константа седиментации — примерно 8S, мономер. Составляет около 0,002 % всех циркулирующих Ig. Этот уровень достигается к 10—15 годам жизни.

Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками преимущественно в лимфоидной ткани бронхов, легких и ЖКТ.

Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. Обладает цитотоксичностью. Участвует в развитии гиперчувствительности немедленного типа — реакция I типа.

- **Иммуноглобулин класса D.**

Концентрация в сыворотке крови - 0,03 г/л (около 0,2 % от общего числа циркулирующих Ig). IgD имеет молекулярную массу 160 кДа и константу седиментации 7S, мономер.

- Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. Является рецептором предшественников В-лимфоцитов.

Рецепторные иммуноглобулины.

Рецепторные, или мембранные Ig, локализируются на цитоплазматической мембране В-лимфоцитов. Выполняют функции антигенспецифических рецепторов. Рецепторные Ig имеют те же изотип и специфичность, что и синтезируемые в межклеточную среду антитела. Структурное отличие от секретируемых антител заключается в дополнительном М-пептиде, благодаря которому молекула рецепторного Ig фиксируется в цитоплазматической мембране иммунокомпетентной клетки.

Нормальные антитела. В сыворотке крови человека всегда определяется базальный уровень иммуноглобулинов, которые получили название нормальных (естественных) антител. Это изогемагглютинины — антитела различной и специфичности направленные против эритроцитарных антигенов групп крови (система АВО), а также против бактерий кишечной группы, кокков и некоторых вирусов. Эти антитела постоянно образуются в организме без антигенной стимуляции. Они поддерживают готовность макроорганизма к иммунному реагированию, а могут свидетельствовать об отдаленном контакте с антигеном.

Моноклональные антитела. Каждый В-лимфоцит и его потомки, образовавшиеся в результате пролиферации (т. е. клон), способны синтезировать антитела с паратопом строго определенной специфичности. Такие антитела получили название *моноклональных*. В природных условиях макроорганизма получить моноклональные антитела практически невозможно, т.к. на одну и ту же антигенную детерминанту одновременно реагируют до 100 различных клонов В-лимфоцитов. Поэтому в результате иммунизации мы получаем *поликлональные* антитела.

Получение моноклональных антител возможно, если провести селекцию антителопродуцирующих клеток и их клонирование (т. е. выделение отдельных клонов в чистые культуры). Однако В-лимфоциты, как и другие эукариоты, имеют ограниченную продолжительность жизни и число возможных митотических делений.

- Впервые моноклональные антитела были получены Д. Келлером и Ц. Мильштейном (1975). Они получили гибридные клетки путем слияния иммунных В-лимфоцитов с миеломной (опухолевой) клеткой. Полученные гибриды обладали специфическими свойствами антителопродуцента и «бессмертием» раковой клетки. Эти клетки получили название *гибридом*. Гибридома размножается в искусственных питательных средах и в организме животных и в неограниченном количестве вырабатывает антитела. Гибридомные моноклональные антитела применяются для создания диагностических и лечебных иммунобиологических препаратов.

Полные и неполные антитела.

По способности образовывать в реакции агглютинации или преципитации (*in vitro*) макромолекулярную структуру иммунного комплекса Ig разделяются на полные и неполные антитела. Крупный ИК образуют **полные антитела**. К ним относятся полимерные молекулы Ig (изотип M), а также некоторые IgA и IgG.

Неполные (непреципитирующие) **антитела** лишены такой способности, несмотря на то что они специфически связываются с антигеном. Причиной этого явления может быть экранирование одного из антигенсвязывающих центров мономерной молекулы Ig и недостаточное число или малая доступность антигенных детерминант. Выявить неполные антитела можно при помощи **реакции Кумбса** — путем использования «вторых», антииммуноглобулиновых антител.

- **Другие виды антител.** Различают *тепловые* и *холодовые* антитела. Первые взаимодействуют с антигеном при температуре $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для вторых наибольшая эффективность связывания проявляется в диапазоне $+4\text{...} -10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Понижение температуры иногда позволяет ограничить низкоаффинные взаимодействия и повысить специфичность реакции.

- По способности активировать комплемент антитела подразделяются на *комплементсвязывающие* (IgM, IgG1 и IgG3) и *комплементнесвязывающие*.
- Некоторые антитела выполняют функции катализаторов биохимических процессов . Это реликтовые свойства антител. Такие антитела называются *абзимы*.

- Получены белки со свойствами антител — это одноцепочечные антитела, бифункциональные антитела и иммунотоксины. Они синтезируются живыми биологическими системами.

Одноцепочечные антитела являются фрагментом вариабельного домена Ig, обладающим специфичностью и аффинностью и способному к блокирующему действию. Размер такой молекулы очень мал и практически не обладает иммуногенностью. **Бифункциональные антитела** имеют антигенсвязывающие центры разной специфичности, т. е. направлены к различным антигенным детерминантам.

Имунотоксины это гибриды иммуноглобулина и токсина. Они способны направленно доставить молекулу токсина к клетке-мишени.

Имунотоксины и бифункциональные антитела в перспективе будут использовать для иммунодиагностики, профилактики и лечения инфекционных, онкологических, аллергических и других заболеваний.

Иммуноглобулин обладает антигенностью и выраженной иммуногенностью. В молекуле Ig различают 4 типа антигенных детерминант:

- **Видовые** антигенные детерминанты характерны для Ig всех особей данного вида. Они определяются строением легкой и тяжелой цепи. По этим детерминантам можно идентифицировать видовую принадлежность антител.
- **Изотипические** антигенные детерминанты являются групповыми. Они локализуются в тяжелой цепи и служат для дифференцировки семейства Ig на 5 классов и множество подклассов.

- **Алотипические** антигенные детерминанты индивидуальны. Они располагаются в легкой и тяжелой полипептидных цепях. На основании строения аллотипических детерминант можно различать особи внутри одного вида.
- **Идиотипические** антигенные детерминанты отражают особенности строения антигенсвязывающего центра самой молекулы Ig. Они образованы V-доменами легкой и тяжелой цепи молекулы Ig.

- В процессе взаимодействия с антигеном принимает участие ограниченный участок Ig — *антигенсвязывающий центр, или паратоп.*
- Для антител характерна специфичность взаимодействия, т. е. способность связываться со строго определенной антигенной детерминантой.

Связь антигена с антителом осуществляется за счет слабых взаимодействий (ван-дер-ваальсовы силы, водородные связи, электростатические взаимодействия) . Образовавшийся иммунный комплекс (ИК) может диссоциировать на составляющие его компоненты.

Особенности антитела - аффинность и авидность.

Аффинность — сила специфического взаимодействия антитела с антигеном . Зависит от степени комплементарности структуры антигенсвязывающего центра и антигенной детерминанты. Чем выше их комплементарность тем выше будет устойчивость и продолжительность жизни иммунного комплекса.

- *Авидность* - это прочность связывания антитела и антигена. Эта характеристика определяется аффинностью Ig и числом антигенсвязывающих центров. При равной степени аффинности наибольшей авидностью обладают антитела класса М, так как они имеют 10 антигенсвязывающих центров.
- Особенности антигена также влияют на эффективность его взаимодействия с антителом. Важное значение имеют пространственная доступность антигенной детерминанты для антигенсвязывающего центра молекулы Ig и число эпитопов в составе молекулы антигена.

Эффективность взаимодействия антитела с антигеном зависит от условий, в которых происходит реакция (рН среды, осмотическая плотность, солевой состав, температура среды). Оптимальными для реакции антиген—антитело являются физиологические условия внутренней среды макроорганизма: близкая к нейтральной реакция среды, присутствие фосфат-, карбонат-, хлорид- и ацетат-ионов, осмолярность физиологического раствора (концентрация раствора 0,15 М), а также температура (36-37 °С).