

ФГБОУ ВО СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

**«ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ
ЖИВОТНЫХ»**

для аспирантов и молодых ученых

Методические рекомендации

Ставрополь, 2023

Рецензенты:

- зав. кафедрой терапии и фармакологии Ставропольского государственного аграрного университета, доктор ветеринарных наук, профессор В.А. Оробец;
- зав. лабораторией инфекционных, незаразных и паразитарных болезней, ФГБНУ ВНИИОК, доктор ветеринарных наук, профессор, В. И. Колесников

Инфекционные болезни и иммунология животных / Составители: профессора Дмитриев А. Ф. Ожередова Н.А., доценты Светлакова Е. В., Вережкина М.Н. - Ставрополь, 2023.- 152 с.

Дана характеристика эпизоотического процесса. Раскрыта сущность и движущие силы эпизоотического процесса. Факторы, влияющие на течение инфекционных болезней сельскохозяйственных животных.

Методические рекомендации предназначены для аспирантов и молодых ученых по программе подготовки 4.2.3. – Инфекционные болезни и иммунология животных.

1 РАЗДЕЛ. Учение об эпизоотическом процессе.

Тема 1: Сущность и движущие силы эпизоотического процесса. Факторы, влияющие на характер эпизоотического процесса.

Понятие об эпизоотическом процессе (Э.П.)

Предметом изучения эпизоотологии, как дисциплины, является эпизоотический процесс, т.е. учение об Э.П. составляет основу общей эпизоотологии. Он свойственен всем инфекционным болезням.

Инфекционные болезни (И.Б.) существуют в природе благодаря последовательной цепи заражений животных - выделением возбудителя - вновь передачей его восприимчивым животным (заражением) и т.д. по спирали.

Таким образом:

Э. П. - есть взаимодействие источника возбудителя инфекции, механизма его передачи и восприимчивых животных, что в итоге приводит к распространению инфекций.

Можно дать Э.П. несколько иное определение по форме, но то же по существу.

Э.П. - это непрерывный процесс возникновения и распространения болезней, связанный с цепной передачей возбудителя от зараженных животных - здоровым.

Эпизоотический процесс (внутри и вне организмов) и инфекционный процесс (в организме конкретного животного) две различные категории, не одинаковые понятия, но между ними существует тесная взаимосвязь. Поскольку Э.П. есть фактически цепь следующих друг за другом случаев инфекционных болезней (процессов) он формируется из множества И.П. (т. е. ЭП есть цепь ИП в пространстве и времени). При этом ЭП не обязательно должен привести к развитию эпизоотии.

ИП можно анализировать на основе клинических, патологоанатомических, лабораторных и других закономерностей а ЭП невозможно понять без экономических, философских, социальных и других закономерностей. Это новый, качественно иной уровень.

Для Э.П. характерны 2 основных свойства:

* биологический механизм (паразитизм - взаимодействие возбудителя инфекции с организмом хозяина)

* непрерывность, связанная с контагиозностью (заразностью) инфекционных болезней, т.е. способностью распространяться от животного к животному, обеспечивающая сохранение в природе патогенных микроорганизмов как видов и инфекционных болезней как биологического явления.

Система возбудитель - хозяин - среда определяет сложность понятия Э.П. Нарушение равновесия в ней приводит к возникновению И.Б.

1.2. Эпизоотическая цепь и ее звенья.

Новые случаи И.Б. могут возникать только при наличии т.н. эпизоотической цепи (Э.Ц.) которая состоит из 3 обязательных элементов (звеньев)

Источник возбудителя инфекции

Механизм передачи возбудителя инфекции Звенья ЭЦ

Восприимчивые животные

Спор о главном из 3 звеньев отошел в историю.

1. микробиологи - сторонники казуальной (причинной) теории делали упор на возбудителя болезни (1 звено).

2. физиологи, генетики, иммунологи - упор на реактивность организма (3 звено).

3. гигиенисты - упор на факторы внешней среды (2 звено).

Все звенья важны, но в конкретных условиях, при конкретных болезнях значение каждого из них не одинаково.

1.3. Движущие силы эпизоотического процесса.

Если все 3 звена Э.Ц. имеются в наличии и взаимодействуют, Э.П. продолжается достаточно долго.

Таким образом перечисленные звенья Э.Ц. (источник возбудителя инфекции, механизм передачи и восприимчивые животные) являются *условием существования Э.П.*, т.е. служат его непосредственными движущими силами.

Их называют первичными (биологическими) движущими силами Э.П. Наличие любой из них обязательно. При выпадении любой из них Э.П. прерывается.

Поскольку Э.П. протекает под воздействием природных и экономических факторов, от они естественно оказывают влияние на все первичные движущие силы Э.П. Поэтому природно-географические и экономические (хозяйственные) факторы называются вторичными (посредственными) движущими силами Э.П.

2.1. Источник возбудителя инфекции ИВИ (1 звено ЭЦ).

Обязательное условие возникновения и распространения инфекционной болезни является наличие источника возбудителя инфекции (ИВИ).

Под ИВИ понимается зараженный организм животного в котором патогенный микроорганизм сохраняется, размножается, накапливается, и затем выделяется во внешнюю среду.

Таким образом, организм животного является естественной средой обитания патогенного возбудителя инфекции.

Взаимоотношения микроорганизм \leftrightarrow хозяин формирующие понятие ИВИ - очень сложны. Они оба подвержены различным воздействиям окружающей среды.

Сроки нахождения и сохранения микроба в макроорганизме различны и зависят от биологических свойств самого возбудителя, особенностей течения инфекции и иммунореактивности организма животного. Вне организма животного жизнеспособность микроба - паразита может быть различной и зависит как от свойств возбудителя так и от факторов внешней среды.

Не всякое заражение, инфекция и даже инфекционная болезнь приводят к формированию ИВИ. Необходимо чтобы возбудитель не только попадал в организм животного и размножался в нем, но и выделялся тем или иным эволюционно-сложившимся способом, чтобы затем заразить другой организм.

Эволюционно постоянно идет борьба за существование ИВИ. Организм повышает устойчивость (резистентность, сопротивляемость), а возбудитель - вирулентность. Пока победа в целом за микробами (абсолютная устойчивость маловероятна).

ИВИ - первичный, пусковой элемент ЭЦ. Являясь естественным биологическим реактором ИВИ - зараженный организм поддерживает постоянство ЭП

Существование ИВИ поддерживается генотипическими (патогенность) и фенотипическими (вирулентность) свойствами микроорганизма. Каждый возбудитель имеет определенный круг хозяев - потенциальных жертв - источников возбудителя инфекции.

Абсолютное большинство возбудителей инфекционных болезней способны только переживать и сохраняться во внешней среде более или менее длительное время, но не размножаться.

Из этого правила, правда, есть исключения: некоторые микробы могут при благоприятных условиях сохраняться и накапливаться в продуктах питания, кормах, некоторых объектах внешней среды.

Примеры:

- сальмонеллы - в молоке при нарушении условий ранения и переработки,

- листерии - при низкой температуре и рН в силосе,
- возб. Сиб. Язвы - в почве,
- лептоспиры - в моче и воде,
- иерсинии - в продуктах при низких температурах.

Кроме того есть группа инфекционных болезней при которых фактором патогенности является не сам возбудитель, а его токсины (яды). К ним относятся микотоксикозы и токсикоинфекции (столбняк, ботулизм). Возбудители их размножаются не в организме, а в кормах и внешней среде, в которых накапливаются токсины, при поедании их возникают заболевания. Однако таких болезней немного и в конечном итоге первичным источником возбудителя инфекции всегда был организм животного.

Таким образом - источник возбудителя инфекции - организм зараженного животного.

2.2. Больные переболевшие и микробоносители - как ИВИ.

Степень опасности зараженного организма неодинакова и зависит от периода, остроты течения и формы проявления инфекционной болезни.

- Самый интенсивный ИВИ клинически больные животные. Во время клинического проявления, особенно при остром течении, возбудитель практически постоянно и в большом количестве выделяется во внешнюю среду всеми доступными ему способами (с калом, мочей, молоком, мокротой, слюной, кровью - при кровотечениях, абортрованными плодами, истечениями из носа, глаз, половых органов).

Способы (пути) выделения возбудителя из организма зависят от особенностей отдельных болезней, характера поражений, тропизма возбудителя к определенным органам и тканям. В этом плане опасны обострения и рецидив.

- Не менее опасными ИВИ являются животные при скрытых инфекциях (атипичных, субклинических, латентных формах, abortивном течении), т.е. во всех случаях, когда постановка диагноза затруднена и выявить ИВИ - больное животное трудно.

- При некоторых болезнях (бешенство, чума свиней, ящур и др.) животные начинают выделять возбудитель уже в инкубационный период, т. е. до проявления клинических признаков.

- Выделение возбудителя из организма может продолжаться и после исчезновения клинических признаков - в период реконвалесценции. При некоторых болезнях (чума, болезнь Ауески свиней, сальмонеллез) этот период может длиться до нескольких месяцев.

• Кроме больных и переболевших животных ИВИ могут быть животные - микробоносители. Здоровое микробоносительство при некоторых инфекциях (рожа, мыт, ИРТ, парагрипп, пастереллез, колибактериоз, сальмонеллез) встречается довольно часто. Оно может переходить в бессимптомную или явную (аутоинфекцию) инфекции.

Выявить здоровое микробоносительство еще труднее чем скрытую инфекцию, т.к. оно не сопровождается никакими изменениями в организме выявляемыми при исследованиях, оно обнаруживается обычно только после убоя и лабораторного исследования.

В итоге: Хотя в целом микробоносители менее опасны, чем больные животные, но оставаясь незамеченными, скрытыми ИВИ, с точки зрения заноса, сохранения и распространения инфекционных болезней среди животных, они не менее опасны, чем явно больные - обнаружить их очень трудно.

И еще одно замечание.

При инфекционных болезнях общих для человека и многих видов животных (зоонозах) источником возбудителя инфекции для домашних животных могут быть дикие животные и люди.

Примеры: туберкулез (человек),
оспа (человек),
рожа свиней (дикие свиньи, птицы, грызуны, человек),
лептоспироз (дикие животные, грызуны),
бешенство (лисы, волки, летучие мыши) и т.д.

Таким образом, ИВИ - обязательное (первичное) звено ЭЦ, обеспечивающее возникновение и распространение ИБ. Своевременное выявление и ликвидация ИВИ - одна из важнейших противоэпизоотических задач.

3.1. Механизм передачи возбудителя инфекции МП (2 звено ЭЦ).

Передача возбудителя сложный и многогранный процесс.

Даже при наличие источника возбудителя инфекции и восприимчивых животных (1 и 3 звенья) болезнь не может возникнуть если не обеспечена передача возбудителя, т.е. должен существовать определенный механизм передачи.

Механизм передачи возбудителя инфекции - это выработанная в процессе эволюции, видовая способность возбудителя передаваться от источника возбудителя к восприимчивому животному.

Практически это соединяющее звено $1 \leftarrow 2 \rightarrow 3$ обеспечивающее непрерывность ЭП, с одной стороны и способ сохранения возбудителя как вида - с другой (иначе инфекция стала бы тупиковой).

Механизм передачи сложный процесс, состоящий из фаз, способов, путей и факторов.

В деталях этот механизм весьма разнообразен. Для каждой инфекционной болезни характер передачи обусловлен локализацией возбудителя в зараженном организме, способами и путями выделения, способами заражения (воротами инфекции) и пр. Вместе с тем, для каждого микроорганизма эволюционно выработался отработанный, “отшлифованный” специфический механизм передачи.

Фазы	Способы	Пути	Факторы
1. выделение во внешнюю среду	Фекально-оральный	Кормовой и водный	Трупы и Навоз
2. пребывание во внешней среде	Аэрогенный (респираторный)	Воздушный	Сырье и продукты Корма
3. внедрение в организм (2 пути)	Трансмиссивный	Трансмиссивный	Почва и Воздух
полостные органы	через кожу/слизистые	Контактный	Переносчик и Помещения
		Почвенный	Предметы ухода
		Вертикальный	Транспорт

3.2. Фазы передачи возбудителя. Специфичность локализации возбудителя во многом определяет характер всех 3 фаз. Примеры:

- локализация возбудителя в дыхательных органах → выделение с воздухом → внешняя среда - воздух → заражение при вдыхании.
- локализация возбудителя в ЖКТ → выделение с фекалиями → внешняя среда - подстилка, почва, вода → заражение через рот.

По характеру локализации возбудители разделяются на:

1. монотропные - в одном органе или ткани (паратуберкулеза - в кишечнике, лейкоза - в клетках крови, копытной гнили - в эпителии кожи копыт)
2. политропные - во многих органах и тканях (туберкулез, рожа)
3. пантропные - во всех органах и тканях (чума свиней, ящур)

Обычно при инфекционном процессе вызываемом политропными или пантропными возбудителями вначале имеет место первичная

локализация (в одном месте) с последующей вторичной локализацией (расселением возбудителя по многим органам и тканям).

Эпизоотическое значение имеет не всякая локализация, а только та при которой становится возможной передача. 2 фаза наиболее важная. Здесь возбудитель не только сохраняется, но может перемещаться и распространяться на большие территории.

Фаза выделения может быть кратковременной или долговременной.

Фаза пребывания во внешней среде так же.

Фаза внедрения обычно кратковременная.

3.3. Способы передачи возбудителя.

Несмотря на многообразие патогенных микроорганизмов, возможность выделения возбудителя как в процессе физиологических процессов (дыхание, слюноотделение, дефекация, мочеиспускание, десквамация эпителия, половой акт и пр.) и патологических процессов (кровотечение, травмы, кашель, рвота, понос, аборт и др.) - способы передачи возбудителя весьма ограничены. Их 4 и они соответствуют 4 анатомо-физиологическим системам животного организма.

Анатомо-физиологическая система организма	Способ передачи
1. пищеварительная	Фекально-оральный
2. дыхательная	Респираторный (капельный, пылевой)
3. Кровеносная	Трансмиссивный (переносчики)
4. наружные покровы и слизистые оболочки	Контактный

При ИБ могут реализовываться от 1 до всех 4 способов передачи. Обычно один из способов является основным, остальные дополнительные встречающиеся значительно реже.

3.4. Пути передачи возбудителя инфекции.

При инфекционных болезнях участвуют различные факторы передачи, из которых могут быть более или менее активные. Поэтому важное понятие пути передачи возбудителя.

Пути передачи (распространения) возбудителя инфекции - есть весь комплекс факторов, участвующих в передаче возбудителя инфекции в конкретных условиях на определенные расстояния.

Их различают 4-5 горизонтальных и 1 вертикальный.

1. Кормовой и водный. Типичные пути для алиментарных инфекций при которых заражение происходит через рот с кормом или водой, а выделение с фекалиями и мочей. В этих случаях заражение происходит через кормушки, водопойные корыта, инфицированные подстилку или почву, корм на пастбище. Кроме того при скармливании инфицированного молока, обраты (туберкулез, сальмонеллез, бруцеллез, ящур), не обезвреженных боенских и кухонных отходов (чума, болезнь Ауески, сибирская язва, сальмонеллез), при водопое не из водопровода (лептоспироз, колибактериоз, сальмонеллез).

2. Воздушный. Реализуется при респираторных или аэрогенных инфекциях, когда возбудитель передается через воздух.

Воздушно-капельные инфекции - возникают при проникновении в дыхательные пути мельчайших капелек слизи при поражениях органов дыхания (чихание, кашель, фырканье). Примеры: пастереллез, туберкулез, оспа овец, контагиозная плевропневмония, грипп, орнитоз.

Воздушно-пылевые инфекции - заражение происходит при вдыхании зараженной пыли (сибирская язва, оспа, туберкулез, микозы).

Этот путь имеет важное значение при скученном содержании животных в закрытых помещениях, при недостаточной вентиляции, высокой влажности, низкой температуре (в птицеводстве, свиноводстве и др.).

3. Трансмиссивный. Осуществляется живыми переносчиками, прежде всего членистоногими (насекомыми или клещами). Есть инфекционные болезни, передающиеся только трансмиссивным путем т.н. облигатно-трансмиссивные (инфекционный энцефаломиелит, африканская чума лошадей), а также передающиеся трансмиссивным и другими путями факультативно-трансмиссивные (ИНАН, АЧС, сибирская язва).

Переносчиками могут также быть невосприимчивые и маловосприимчивые животные и люди (сибирская язва - собаки, дикие плотоядные, хищные птицы, бруцеллез - собаки, болезнь Ауески - крысы, мыши, лептоспироз, листериоз, туляремия - дикие грызуны).

В связи с этим различают:

* биологический (специфический) перенос - когда возбудитель размножается в переносчике (энцефаломиелиты лошадей)

* механический перенос - нет биологической связи, перенос на поверхности тела, одежде, обуви и пр.

4. Контактный.

* при непосредственном соприкосновении (прямой контакт)

Примеры: укусы (бешенство), случка (бруцеллез, кампилобактериоз), сосание матерей (инфекционная агалактия, болезнь Ауески), соприкосновение (оспа, ящур, трихофитоз). При таких инфекциях факторы внешней среды почти не оказывают влияния.

* при посредственной соприкосновении (непрямой контакт)

Возбудитель передается через предметы ухода, обслуживающий персонал и пр.

Воротами инфекции в данном случае являются кожа и слизистые оболочки глаз, носа, пищеварительной или половой системы.

5. Почвенный (выделяется некоторыми исследователями а другие относят к кормовому и водному). Передача осуществляется через почву (почвенные и раневые инфекции). Возбудителя таких болезней обычно споровые микроорганизмы, сохраняющиеся во внешней среде очень долго (сибирская язва, эмкар, злокачественный отек, бродячий столбняк, инфекционная энтеротоксемия).

Заражение при них происходит в основном при поедании загрязненных спорами кормов (травы, сена, соломы) или водопое из грязных водоемов.

3.5. Горизонтальный и вертикальный пути передачи возбудителя.

Горизонтальным путем называется наиболее распространенный (классический) способ передачи возбудителя инфекции связанный с его выходом во внешнюю среду.

Он свойственен подавляющему большинству ИБ и факторы внешней среды играют при них активную роль.

Вертикальным путем называется передача возбудителя от родителей потомству без выхода его во внешнюю среду через:

- генетический аппарат
- плаценту
- трансвариально
- с молоком
- при травмах родовых путей

При этом возбудитель непосредственно во внешнюю среду не выделяется и факторы ее существенного влияния не оказывают. Вертикальный путь передачи характерен в основном для вирусных инфекций, возбудители которых слабо устойчивы и быстро погибают вне организма (лейкоз, микоплазмозы, пуллороз птиц).

3.6. Факторы передачи.

Факторами передачи называются все элементы внешней среды (живой и неживой природы) участвующие в передаче возбудителя инфекции, но не являющиеся естественной средой их обитания.

- Наибольшую опасность среди факторов передачи представляют трупы животных, особенно павших от болезней возбудители, которых длительно сохраняются во внешней среде (клостридиозы, рожа, туберкулез, паратуберкулез и др.). Это обуславливает важность своевременной и правильной уборки и утилизации трупов. В противном случае возможен разнос возбудителя.

- При многих болезнях, когда возбудитель выделяется с мочей и калом навоз важный фактор передачи (ящур, туберкулез, колибактериоз, сальмонеллез и многие другие). Навоз от животных больных инфекционными болезнями подлежит обязательному обеззараживанию, а в ряде случаев сжиганию.

- сырье и продукты животноводства, корма при отсутствии должного контроля могут стать важным фактором передачи (ящур, КЧС, АЧС, СЯ, болезнь Ауески).

- Почва помещений, выгульных дворов, площадок, загрязненные пастбища и скотопрогонные тракты могут быть факторами передачи (клостридиозы, некробактериоз, копытная гниль).

- Предметы снаряжения и ухода, тара, транспорт могут также иметь существенное значение (ящур, оспа, чума свиней и др.). Распространению болезней могут способствовать скопление животных на рынках (базарах), ярмарках, выставках, ипподромах, мясокомбинатах, ЖД станциях, портах и пр.

Заключение.

Механизм передачи возбудителя инфекций очень разнообразен. При проведении противоэпизоотических мероприятий большое значение имеет выявление этого механизма (способов, путей, факторов) и его “разрыв” как одного из звеньев ЭП. Это достигается в основном дезинфекцией, дезинсекцией и дератизацией.

4. Восприимчивые животные ВЖ (3 звено ЭЦ).

Восприимчивые животные - 3 обязательное звено ЭЦ, обеспечивающее непрерывность ЭП.

Восприимчивость (противоположность устойчивости или резистентности) одна из важнейших эпизоотологических категорий.

Поскольку эпизоотический процесс происходит в популяции (стаде), то с эпизоотологической точки зрения важна не столько индивидуальная восприимчивость (отдельного животного) сколько

восприимчивость популяции или групповая, которая в зависимости от различной степени восприимчивости отдельных животных может существенно варьировать.

Примеры: к ящуру, чуме КРС, СЯ соответствующие виды животных восприимчивы почти на 100%, но при большинстве болезней такого не случается и часть животных не заболевает. Это связано с неоднородностью популяции (совокупности животных). Влияют пол, порода, возраст, физиологические особенности, кормление, эксплуатация, факторы внешней и внутренней среды, естественная неспецифическая резистентность и иммунитет (который всегда специфический).

В результате взаимодействия физиологических, функциональных, неспецифических и специфических факторов формируется групповая восприимчивость или невосприимчивость поголовья (популяционный или стадный иммунитет), влияющий на проявление и течение ЭП. Он тем сильнее, чем более полно и правильно осуществляются организационно-хозяйственные, ветеринарно-санитарные и специальные (специфические) мероприятия.

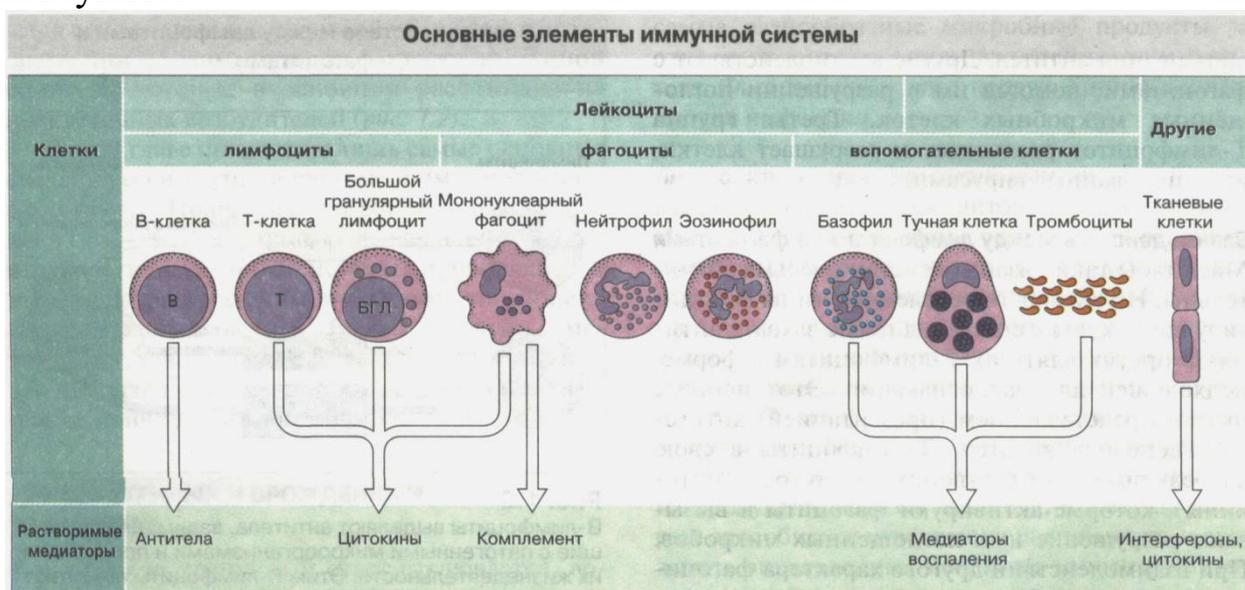
Соотношение в группе (стаде, популяции) восприимчивых и невосприимчивых животных называется иммунологической структурой стада.

Степень восприимчивости обозначается т.н. индексом контагиозности. Он выражается в %. Индекс 100 - соответствует 100% восприимчивости животных. Высокий индекс контагиозности свидетельствует о высокой восприимчивости и наоборот. (чума, ящур - 100, листериоз - 20-30, ИРТ -5-95, блутанг - 50-60).

Раздел 2. Тема 1: Иммунология как наука. Понятие об иммунной системе.

1. ПОНЯТИЕ ОБ ИММУНИТЕТЕ. ВИДЫ ИММУНИТЕТА.

Иммунология – это наука, предметом изучения которой является иммунитет.



Инфекционная иммунология изучает закономерности иммунной системы по отношению к микробным агентам, специфические механизмы противомикробной защиты.

Под иммунитетом понимают совокупность биологических явлений, направленных на сохранение постоянства внутренней среды и защиту организма от инфекционных и других генетически чужеродных для него агентов. Явления иммунитета многообразны. Основная его задача – распознавание чужеродного агента.

Иммунитет может быть инфекционным, противоопухолевым, трансплантационным. Иммунитет обеспечивается работой иммунной системы, в основе его лежат специфические механизмы.

Виды инфекционного иммунитета:

- 1) антибактериальный;
- 2) антитоксический;
- 3) противовирусный;
- 4) противогрибковый;
- 5) антипротозойный.

Инфекционный иммунитет может быть:

- 1) стерильным (возбудителя в организме нет, а устойчивость к нему есть);
- 2) нестерильным (возбудитель находится в организме).

Различают врожденный и приобретенный, активный и пассивный, видовой и индивидуальный иммунитет.

Врожденный иммунитет к инфекционным заболеваниям имеется с рождения. Может быть видовым и индивидуальным.

Видовой иммунитет – невосприимчивость одного вида животных или человека к микроорганизмам, вызывающим заболевания у других видов. Он генетически детерминирован у человека как биологического вида, т. е. человек не болеет зоонозными заболеваниями. Видовой иммунитет всегда активный.

Индивидуальный врожденный иммунитет пассивный, так как обеспечивается передачей иммуноглобулинов плоду от матери через плаценту (плацентарный иммунитет). Таким образом, новорожденный защищен от инфекций, которыми переболела мать.

Приобретенным иммунитетом называют такую невосприимчивость организма человека к инфекционным агентам, которая формируется в процессе его индивидуального развития и характеризуется строгой специфичностью. Он всегда индивидуальный. Он может быть естественным и искусственным.

Естественный иммунитет может быть:

- 1) активным. Формируется после перенесенной инфекции; постинфекционный иммунитет может сохраняться в течение длительного времени, иногда в течение всей жизни;
- 2) пассивным. Ребенку с молоком матери передаются иммуноглобулины класса А и I.

Искусственный иммунитет можно создавать активно и пассивно. Активный формируется введением антигенных препаратов, вакцин, анатоксинов. Пассивный иммунитет формируется введением готовых сывороток и иммуноглобулинов, т. е. готовых антител.

Создание иммунитета лежит в основе специфической иммунопрофилактики инфекционных заболеваний.

Неспецифические факторы защиты

Противоинфекционную защиту осуществляют:

- 1) кожа и слизистые оболочки;
- 2) лимфатические узлы;
- 3) лизоцим и другие ферменты полости рта и ЖКТ;
- 4) нормальная микрофлора;
- 5) воспаление;
- 6) фагоцитирующие клетки;
- 7) естественные киллеры;
- 8) система комплемента;
- 9) интерфероны.

Неповрежденная кожа и слизистые оболочки являются барьером, препятствующим проникновению микроорганизмов внутрь организма. В результате сдвигания эпидермиса удаляются многие транзиторные

микроорганизмы. Бактерицидными свойствами обладает секрет потовых и сальных желез. При наличии травм, ожогов кожа формирует входные ворота для инфекции.

Секреты, выделяемые слизистыми оболочками, слюнными и пищеварительными железами, слезы смывают микроорганизмы с поверхности слизистых, оказывают бактерицидное действие.

Лизоцим – белок, содержащийся в тканевых жидкостях, плазме, сыворотке крови, лейкоцитах, материнском молоке и др. Он вызывает лизис бактерий, неактивен в отношении вирусов.

Представители нормальной микрофлоры могут выступать в качестве антагонистов патогенных микроорганизмов, препятствуя их внедрению и размножению.

Воспаление – защитная функция организма. Оно ограничивает очаг инфекции на месте входных ворот. Ведущим звеном в развитии воспаления является фагоцитоз.

Завершенный фагоцитоз – защитная функция организма.

Различают следующие стадии фагоцитоза:

- 1) аттракцию;
- 2) адгезию;
- 3) эндоцитоз;
- 4) киллинг;
- 5) элиминацию.

Если отсутствуют последние две стадии, то это незавершенный фагоцитоз. При этом процесс теряет защитную функцию, бактерии внутри макрофагов разносятся по организму.

Естественные киллеры – популяция клеток, обладающая естественной цитотоксичностью по отношению к клеткам-мишеням. Морфологически представляют собой большие гранулосодержащие лимфоциты. Являются клетками с эффекторной противоопухолевой, противовирусной и противопаразитарной активностью.

Комплемент – это система неспецифических белков сыворотки крови, состоящая из девяти фракций. Активация одной фракции активизирует последующую фракцию. Обладает бактерицидным действием, так как имеет сродство с поверхностными структурами бактериальной клетки и совместно с лизоцимом может вызывать цитолиз.

Интерфероны – белки, обладающие противовирусным, противоопухолевым, иммуномодулирующим действием. Интерферон действует посредством регуляции синтеза нуклеиновых кислот и белков, активируя синтез ферментов и ингибиторов, блокирующих трансляцию вирусных и РНК. Как правило, он не спасает клетку, уже

пораженную вирусом, но предохраняет соседние клетки от вирусной инфекции.

Строение и функции иммунной системы

Иммунология — наука о системе, обеспечивающей защиту организма от интервенции генетически чужеродных биологических структур, способных нарушить гомеостаз.

2. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.

Иммунная система является одной из систем жизнеобеспечения, без которой организм не сможет существовать. Основные функции иммунной системы:

- распознавание;
- уничтожение;
- выведение из организма чужеродных веществ, образующихся в нем и поступающих извне.

Эти функции иммунная система выполняет всю жизнь человека.

Иммунная система человека может характеризоваться наличием врожденных дефектов (так называемые первичные иммунодефициты) или приобретенных в течение жизни под влиянием различных факторов, например, вредного воздействия окружающей среды, стрессовых ситуаций и т. д. Функциональные нарушения иммунной системы могут носить транзиторный характер либо приобретать хроническое течение в виде синдромов иммунологической недостаточности.

Болезни иммунной системы — это нозологические формы с конкретным развитием, четко очерченным патогенезом и клиникой, они объединены понятием иммунодефициты.

Изучение болезней иммунной системы началось в середине прошлого столетия после того, как американский врач Брутон выявил у ребенка причину мучающего его гнойного заболевания. Брутон установил, что истоки болезни кроются в имеющемся у ребенка дефекте иммунной системы — агаммаглобулинемии, названного впоследствии синдромом Брутона.

В настоящее время выделены основные разделы иммунологии, изучающие:

- функции иммунной системы в норме и патологии;
- функции иммунной системы при различных заболеваниях человека;
- иммунодефицитные состояния;
- болезни иммунной системы;

а также разделы, разрабатывающие:

- методы коррекции иммунной системы;
- иммуностропные препараты.

Иммунитет подразделяют на 2 вида: естественный (врожденный) и приобретенный, который является специфичным.

Естественный иммунитет является неспецифическим по отношению к патогенным агентам. Он представляет собой совокупность защитных факторов, направленных на элиминацию аллергенов. Эти факторы передаются по наследству и являются универсальными, видовыми.

Естественный иммунитет составляют иммунные и неиммунные факторы.

К первым относятся барьеры, содержащие различные бактерицидные вещества: кожа, слизистые оболочки, секреты потовых, сальных, слюнных желез, железы желудка, выделяющие соляную кислоту и протеолитические ферменты, а также нормальная микрофлора кишечника. К неиммунным естественным факторам относятся гуморальные факторы (система комплемента, лизоцим, трансферрин и др.) и клеточные факторы (фагоцитарная реакция, работа N К-клеток).

Выделяют 5 групп заболеваний, характеризующихся возникновением патологии иммунной системы:

- болезни, связанные с недостаточностью иммунной системы (иммунодефициты первичные, вторичные, транзиторные);
- заболевания, связанные с избыточным реагированием иммунной системы;
- инфекции иммунной системы;
- опухоли иммунной системы.

Иммунная система представлена совокупностью органов и тканей, функцией которых является контроль за антигенным постоянством внутренней среды организма. Клетки иммунной системы представлены Т- и В-лимфоцитами, моноцитами, макрофагами, нейтрофилами, эозинофилами, тучными и эпителиальными клетками, фибробластами. Важная роль по обеспечению функции иммунной системы принадлежит иммуноглобулинам, цитокинам, антигенам, рецепторам.

Иммунная система характеризуется многокомпонентностью, но функционирует как единое целое. Она поддерживает клеточное и гуморальное состояния организма.

Для иммунной системы характерны:

- мультивариантная регуляция;
- открытая система функционирования;
- многокомпонентность.

Защита организма посредством иммунной системы происходит за счет специфических и неспецифических элементов защиты с участием

биологически активных макромолекул, иммунокомпетентных клеток, органов иммунной системы.

Биологически активными микромолекулами являются:

- медиаторы иммунных реакций (интерлейкины);
- ростовые факторы (интерфероны опухольнекротизирующих факторов, фактор роста фибробластов, факторы гранулоцитарный, колоннестимулирующий и макрофагальный колоннестимулирующий);
- гормоны (пиелопептиды, миелопептиды).

К иммунокомпетентным клеткам относятся:

- Т- и В-лимфоциты;
- цитотоксические клетки;
- предшественники иммунокомпетентных клеток.

Периферическую систему составляют:

- селезенка;
- лимфатические узлы;
- лимфоидные скопления желудочно-кишечного тракта;
- кожа;
- червеобразный отросток.

Центральные органы обеспечивают дифференцировку иммунокомпетентных клеток.

В области периферических органов происходят иммунологические процессы.

Центральные органы иммунитета с возрастом изменяются, а удаление какого-либо органа препятствует возникновению иммунного ответа.

Периферические лимфоидные органы сохраняются на протяжении жизни человека и функционируют под воздействием антигенов.

Костный мозг человека закладывается на 12-13-й недели внутриутробного развития. Костный мозг является источником стволовых клеток, из которых впоследствии развиваются клетки лимфоидной ткани (Т-и В-лимфоциты), а также моноциты и макрофаги.

В костном мозге находятся миелоидный и лимфоцитарные ростки. Костный мозг человека содержит 1,5% ретикулярных клеток, 6—7% лимфоцитов, 0,4% плазматических клеток, 60—65% миелоидных клеток, 1-3% моноцитов, 26% эритробластов. Стволовые клетки сначала недеференцированы, после 20 недель внутриутробного развития их количество возрастает».

После рождения ребенка костный мозг является единственным местом их образования, производными этих клеток постепенно осуществляется колонизация периферических лимфоидных органов.

В костном мозге образуются многие иммунокомпетентные клетки, кроме этого он является одним из главных источников образования циркулирующих иммуноглобулинов.

Динамика образования иммунокомпетентных клеток происходит следующим образом: в желчном мешке эмбриона человека на 2—3-й неделе развития появляется полипотентная стволовая клетка. Между 4-5-й неделями беременности стволовые клетки мигрируют в эмбриональную печень, которая является самым большим кроветворным органом. При этом происходит миграция клеток-предшественников, которые созревают в окружающих их тканях.

Одни клетки-предшественники лимфоидных клеток мигрируют в вилочковую железу, которая возникает на 6—8-й неделе беременности из третьего и четвертого жаберных карманов. Под влиянием эпителиальных клеток кортикального слоя вилочковой железы созревают лимфоциты, которые мигрируют в мозговой слой.

После рождения ребенок сразу встречается с микрофлорой окружающей его среды, перед которой новорожденные и недоношенные дети практически беззащитны. Одним из критических периодов в системе иммунорегуляции является период новорожденности, когда происходит встреча ребенка с антигенами внешнего мира.

Вторым критическим периодом является возраст 2—4 месяцев, когда завершается процесс разрушения и выведения антител, прошедших через плаценту, а собственная система В-лимфоцитов остается незрелой.

Часть антител поступает с грудным молоком матери. В этот период происходит увеличение числа клеток, синтезирующих антитела к чужеродным белкам, и главным является наследование особенностей иммунного статуса матери. Вскармливание донорским грудным молоком и искусственное вскармливание делают этот важный процесс невозможным.

В период новорожденности сывороточное содержание JgG равно взрослым нормам (10-12 г/л), а уровень JgM и JgA в 40 раз ниже, численность В- и Т-лимфоцитов существенно выше, чем у взрослых, но часть их характеризуется функциональной незрелостью.

Специфическая защита в первые месяцы жизни человека обеспечивается иммуноглобулинами, полученными от матери. Иммуноглобулины М и А поступают с молозивом через пищеварительный тракт ребенка, но в его организме образуются в недостаточном количестве. Нарастание антител происходит в возрасте 14-16 лет.

Способность защиты путем иммунных реакций формируется во внутриутробном периоде развития и становится выраженной к концу первого года жизни. Т-лимфоциты превращаются в сенсibilизированные активные лимфоциты, а В-лимфоциты в плазматические клетки, создающие специфические иммуноглобулины.

Способность организма отвечать иммунной реакцией на чужеродные антигены активно приобретает после перенесенных инфекций или вакцинаций и целиком зависит от работы иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов), которые образуются в вилочковой железе и костном мозге и с помощью рецепторов распознают чужеродные антигены.

Красный костный мозг располагается внутри костей. Он может находиться как в активном, так и неактивном состоянии. У детей младшего возраста все кости содержат активный костный мозг, у детей старших возрастов и взрослых активный костный мозг располагается в плоских костях (черепе, ребрах, грудины, малом тазу).

У взрослых красный костный мозг при определенных условиях может переходить в активное состояние с образованием дополнительного числа клеток крови.

В красном костном мозге происходит постоянное воспроизводство клеток: красных кровяных телец (эритроцитов) и лейкоцитов, поскольку отмирающие клетки заменяются новыми. Каждый тип клеток имеет разную скорость образования.

Красный костный мозг рассматривается как отдельный орган, который участвует в образовании красных и белых кровяных телец и обеспечивает нормальное функционирование иммунной системы.

Другим важным органом иммунной системы является вилочковая железа (зобная железа, тимус), обеспечивающая становление и функционирование системы иммунитета. Она образуется на первом месяце внутриутробного развития. К рождению ребенка вилочковая железа состоит из двух долей, которые соединены перешейком.

В долях располагаются корковое и мозговое вещества. Корковое вещество состоит из тимоцитов, в мозговом веществе располагаются эпителиальные элементы, среди которых имеются тельца Гассала.

Масса вилочковой железы с возрастом увеличивается (к 3 годам), в возрасте 12-15 лет она достигает массы 30 г, после чего происходит ее инволюция с замещением железистой ткани железы жировой и соединительной.

Вилочковая железа — железа внутренней секреции. Она участвует в лимфопоэзе и иммунологических защитных реакциях организма, являясь центральным органом клеточного иммунитета.

В вилочковой железе происходит образование биологически активных веществ и гормонов, таких как:

- тимозин — гормон, индуцирующий экспрессию Т-клеточных рецепторов, восстанавливает иммунологическую компетентность;
- фактор со свойствами холинэстеразы, который блокирует передачу импульсов на мышечное волокно с возникновением миотопического синдрома. Снижение выработки данного фактора может привести к холинергическому кризу;
- тимозин-2 — увеличивает содержание АМФ в лимфоцитах, усиливает экспрессию Т-клеточных антигенов на цитомембранах клеток костного мозга;
- убивикин принимает участие в экспрессии на Т-и В-лимфоцитах, синтез антител и других лимфоцито-стимулирующих факторов;
- тимический гормон, который является антагонистом АКГГ;
- тимический гипокальциемический фактор.

Патология вилочковой железы приводит к возникновению ряда синдромов и заболеваний: аплазии, гипоплазии, гиперплазии, различных опухолей. Встречаются также люди с врожденным отсутствием тимуса.

Эти состояния сопровождаются признаками Т-клеточной иммунологической недостаточности, гипокальциемическими судорогами и другими симптомами.

Селезенка является фильтрующим аппаратом, обеспечивающим детоксикацию, удаление старых эритроцитов и других клеток, в ней происходит дифференцировка старых и поврежденных эритроцитов, лимфоцитов; образуются антитела.

В селезенке образуется тафтсин, основная функция которого заключается в повышении миграции, фагоцитарной активности макрофагов и нейтрофилов. Он увеличивает цитотоксическое действие Т-лимфоцитов, стимулирует синтез антител. По строению тафтсин напоминает фрагмент иммуноглобулинов, в связи с этим введение иммуноглобулинов компенсирует дефицит тафтсина.

Лимфатическая система обладает неспецифической барьерной функцией. Она является местом развития иммунного ответа — как клеточного, так и гуморального. У человека насчитывается около тысячи лимфатических узлов, которые обеспечивают регионарную защиту организма от попадания в него инфекционных и неинфекционных начал. В нормальных условиях лимфоузлы не пальпируются. При различных заболеваниях, опухолях, а также при наличии хронических очагов инфекции, они увеличиваются в размерах и легко пальпируются. При клеточном варианте иммунной недостаточности может возникнуть гипоплазия лимфатической

системы, включая гемоплазию тимуса, небных миндалин, лимфатических узлов.

Все группы лимфатических узлов увеличиваются в случае поликлональной активации В-лимфоцитов с увеличением продукции иммуноглобулинов, в том числе иммуноглобулинов М. Для хронических инфекций с недостаточной функцией Т-лимфоцитов-хелперов, от которых зависит переключение синтеза антител с JgM класса на JgG, характерен переход в злокачественные варианты лимфопролиферативных состояний.

У детей в возрасте от 1 года до 10—12 лет часто встречается реакция в виде микрополиаденита.

Небные миндалины располагаются в полости рта и обеспечивают защиту верхних дыхательных путей от инфекции, снабжают иммунокомпетентными клетками лимфатическую систему, принимают участие в формировании микробной флоры полости рта. Небные миндалины функционируют в тесной связи с/вилочковой железой, тимэктомия приводит к гипертрофии миндалин, тонзилэктомия — к атрофии тимуса. Гиперплазия миндалин может привести к клеточным вариантам иммунной недостаточности. С возрастной инволюцией тимуса происходит инволюция и атрофия миндалин. Часто увеличение вилочковой железы сочетается с гипертрофией миндалин и клеточной иммунологической недостаточностью.

Пейеровы бляшки располагаются в кишечнике, они принимают участие в созревании Т- и В-лимфоцитов и формировании иммунного ответа. В случае атрофии пейеровых бляшек происходит нарушение в процессе созревания Т-лимфоцитов. Хотя кровь не относится к лимфатической системе, лабораторные исследования крови дают сведения о наличии лимфоцитов, образующихся в лимфоидной ткани, состоящей из ретикулярных и лимфоидных клеток.

Тема № 2 - Механизмы иммунитета. Антигены и иммуноглобулины. Регуляторные клетки иммунной системы и их поверхностные структуры

1. ОСОБЕННОСТИ И РАЗЛИЧИЯ ВРОЖДЕННОГО И ПРИОБРЕТЕННОГО (АДАПТИВНОГО) ИММУНИТЕТА.

Инфекционная иммунология изучает закономерности иммунной системы по отношению к микробным агентам, специфические механизмы противомикробной защиты.

Под иммунитетом понимают совокупность биологических явлений, направленных на сохранение постоянства внутренней среды и защиту организма от инфекционных и других генетически чужеродных для него агентов. Явления иммунитета многообразны. Основная его задача – распознавание чужеродного агента.

Иммунитет может быть инфекционным, противоопухолевым, трансплантационным. Иммунитет обеспечивается работой иммунной системы, в основе его лежат специфические механизмы.

Виды инфекционного иммунитета:

- 1) антибактериальный;
- 2) антитоксический;
- 3) противовирусный;
- 4) противогрибковый;
- 5) антипротозойный.

Инфекционный иммунитет может быть:

- 1) стерильным (возбудителя в организме нет, а устойчивость к нему есть);
- 2) нестерильным (возбудитель находится в организме).

Различают врожденный и приобретенный, активный и пассивный, видовой и индивидуальный иммунитет.

Адаптивный (приобретенный) иммунитет — вторая (специфическая) линия иммунной защиты.

Реакции адаптивного иммунитета развиваются сразу же вслед за реакциями воспаления, в организме они сводятся к отбору и быстрому размножению лимфоцитарных клонов, способных специфически распознавать антигены возбудителя. В дальнейшем клетки этих клонов, дифференцируясь, вырабатывают специфически направленные молекулы — антитела, или, специфически распознавая мишени, убивают их.

Антитела резко усиливают эффективность реакции первой линии защиты (фагоцитоза, внеклеточного цитолиза, цитолитических эффектов комплемента и др.) Они повышают «прицельность» действия

этих реакций, указывая направление атаки факторам врожденного неспецифического иммунитета.

Как следует из предыдущего раздела, включение первой линии иммунной защиты основано на проявлении реакций врожденного иммунитета. Развиваются они благодаря древним, эволюционно закрепившимся механизмам распознавания компонентов возбудителей и материала собственных поврежденных клеток. Для удаления из организма непатогенных и слабовирулентных микроорганизмов этих факторов, по всей видимости, вполне достаточно.

В случае же массивного заражения или высокой вирулентности внедрившихся микроорганизмов в защиту вступает вторая, более специализированная линия обороны.

Включается она практически одновременно с развитием реакций неспецифического, врожденного иммунитета. Однако для ее развития требуется время, поэтому проявляется она несколько позже.

Врожденный иммунитет к инфекционным заболеваниям имеется с рождения. Может быть видовым и индивидуальным.

Видовой иммунитет – невосприимчивость одного вида животных или человека к микроорганизмам, вызывающим заболевания у других видов. Он генетически детерминирован у человека как биологического вида, т. е. человек не болеет зоонозными заболеваниями. Видовой иммунитет всегда активный.

Индивидуальный врожденный иммунитет пассивный, так как обеспечивается передачей иммуноглобулинов плоду от матери через плаценту (плацентарный иммунитет). Таким образом, новорожденный защищен от инфекций, которыми переболела мать.

Приобретенным иммунитетом называют такую невосприимчивость организма человека к инфекционным агентам, которая формируется в процессе его индивидуального развития и характеризуется строгой специфичностью. Он всегда индивидуальный. Он может быть естественным и искусственным.

Естественный иммунитет может быть:

- 1) Активным. Формируется после перенесенной инфекции; постинфекционный иммунитет может сохраняться в течение длительного времени, иногда в течение всей жизни;
- 2) Пассивным. С молоком матери передаются иммуноглобулины класса А и I.

Искусственный иммунитет можно создавать активно и пассивно. Активный формируется введением антигенных препаратов, вакцин, анатоксинов. Пассивный иммунитет формируется введением готовых сывороток и иммуноглобулинов, т. е. готовых антител.

Создание иммунитета лежит в основе специфической иммунопрофилактики инфекционных заболеваний.

Неспецифические факторы защиты

Противоинфекционную защиту осуществляют:

- 1) кожа и слизистые оболочки;
- 2) лимфатические узлы;
- 3) лизоцим и другие ферменты полости рта и ЖКТ;
- 4) нормальная микрофлора;
- 5) воспаление;
- 6) фагоцитирующие клетки;
- 7) естественные киллеры;
- 8) система комплемента;
- 9) интерфероны.

Неповрежденная кожа и слизистые оболочки являются барьером, препятствующим проникновению микроорганизмов внутрь организма. В результате слущивания эпидермиса удаляются многие транзиторные микроорганизмы. Бактерицидными свойствами обладает секрет потовых и сальных желез. При наличии травм, ожогов кожа формирует входные ворота для инфекции.

Секреты, выделяемые слизистыми оболочками, слюнными и пищеварительными железами, слезы смывают микроорганизмы с поверхности слизистых, оказывают бактерицидное действие.

Лизоцим – белок, содержащийся в тканевых жидкостях, плазме, сыворотке крови, лейкоцитах, материнском молоке и др. Он вызывает лизис бактерий, неактивен в отношении вирусов.

Представители нормальной микрофлоры могут выступать в качестве антагонистов патогенных микроорганизмов, препятствуя их внедрению и размножению.

Воспаление – защитная функция организма. Оно ограничивает очаг инфекции на месте входных ворот. Ведущим звеном в развитии воспаления является фагоцитоз. Завершенный фагоцитоз – защитная функция организма.

2. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ И МЕХАНИЗМЫ ФАГОЦИТОЗА.

Механизмы фагоцитоза. Применительно к процессу фагоцитоза применяют следующие уточняющие определения:

- Собственно фагоцитоз: поглощение клеток, их фрагментов и их внутриклеточное переваривание. Незавершенный фагоцитоз.
- Иммунный (специфический) фагоцитоз и опсонизация.

- Неспецифический фагоцитоз характерен, например, для альвеолярных макрофагов, захватывающих пылевые частицы различной природы, сажу и т.п.

-Ультрафагоцитоз — захватывание фагоцитом мелких корпускулярных частиц (пыли, попадающей с воздухом в лёгкие, или инородных частиц в тканях).

Под фагоцитозом понимают внутриклеточную цитотоксичность (внутриклеточный киллинг) микроорганизмов и биodeградацию других частиц диаметром более 0,1 мкм. Осуществляют фагоцитоз главным образом нейтрофилы и макрофаги/моноциты, хотя фагоцитирующей способностью обладают и другие клетки. Выделяют четыре стадии фагоцитоза:

1. хемотаксис,
2. адгезия,
3. эндоцитоз
4. биodeградация.

В русскоязычной передаче эти стадии можно описать как «четыре п»: приближение, прилипание, поглощение и переваривание.



Рис. 1. Фагоцит (макрофаг) в зоне скопления объектов фагоцитоза – палочковидных бактерий

Первая стадия фагоцитоза (хемотаксис) – целенаправленное движение фагоцита к объекту фагоцитоза (рис.1).

1. С одной стороны, миграцию фагоцитов к объекту фагоцитоза усиливают специальные цитокины – β -хемокины (их выделяют макрофаги, моноциты, лимфоциты, клетки эндотелия).

2. С другой стороны этот процесс обуславливают хемотаксические факторы (хемоаттрактанты), выделяемые объектами фагоцитоза: компоненты бактериальной клетки, пептиды и т.п.

Вторая стадия фагоцитоза – адгезия объекта фагоцитоза на поверхности фагоцита.

1. Осуществляется эта стадия двумя возможными механизмами.

а. Неммунный механизм осуществляется за счет неспецифической адсорбции объекта фагоцитоза на поверхности фагоцита. Это так называемый доиммунный, или первичный, фагоцитоз.

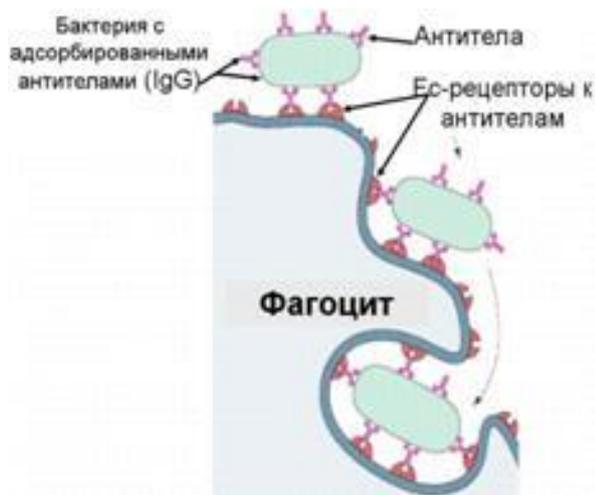


Рис. 2. Иммунный механизм осуществления второй стадии фагоцитоза б. Иммунный механизм (рис. 2) осуществляется за счет расположенных на поверхности фагоцита рецепторов к Fc-фрагменту антител (Fc-рецепторы). Адгезия, осуществляемая по этому механизму значительно более эффективная и активная, чем при первичном фагоцитозе.

1. За счет этих рецепторов фагоцит прикрепляет к своей поверхности антитела и использует их для «захвата» объекта фагоцитоза (естественно, того, против которого эти антитела и выработались).

2. Этими рецепторами фагоцит может «хватать» объект фагоцита, к поверхности которого прикреплены специфические антитела.

3. Однако активация второй стадии фагоцитоза происходит не только по иммунному механизму. Точнее сказать, иммунный механизм – это один из вариантов активации адгезии объекта фагоцитоза на поверхности фагоцита. В целом, этот процесс активируется за счет опсонизации, а вещества, ответственные за такую активизацию, называются опсонинами.

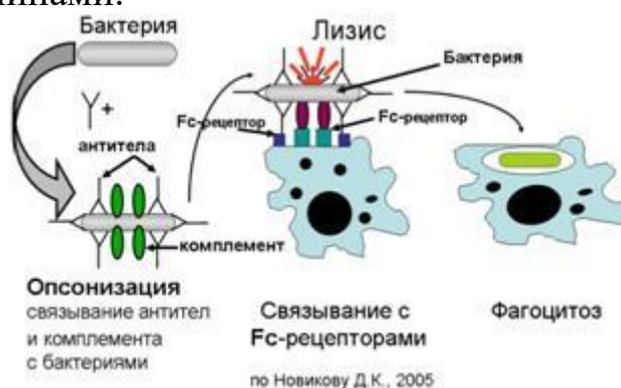


Рис. 3. Схема, иллюстрирующая понятия «опсонизация» и «опсонины» а. Под опсонизацией (от лат. opsonin – усиливающий) понимают соединение объекта фагоцитоза (в частности, микроорганизма) с особым растворимым белком, обуславливающим более эффективные и

адгезию объекта фагоцитоза на поверхности фагоцита и его дальнейшее поглощение.

Такой белок имеет в своем составе две области.

1. Область А осуществляет связывание белка со специфическим к нему рецептором на поверхности микроба.

2. Область В осуществляет связывание этого белка с соответствующим рецептором на поверхности фагоцита.

б. Такие растворимые белки называются опсонинами. К ним можно отнести четыре вида белков человеческого организма.

1. С-реактивный белок.

2. Маннансвязывающий лектин.

3. Активную фракцию комплемента С3b.

4. Иммуноглобулины (антитела).

Третья стадия фагоцитоза – эндоцитоз – осуществляется в четыре последовательных этапа.

1. Сначала происходит инвагинация мембраны фагоцита в месте прикрепления объекта фагоцитоза.

2. Затем фагоцит обволакивает объект фагоцитоза большими псевдоподиями (рис. 4).

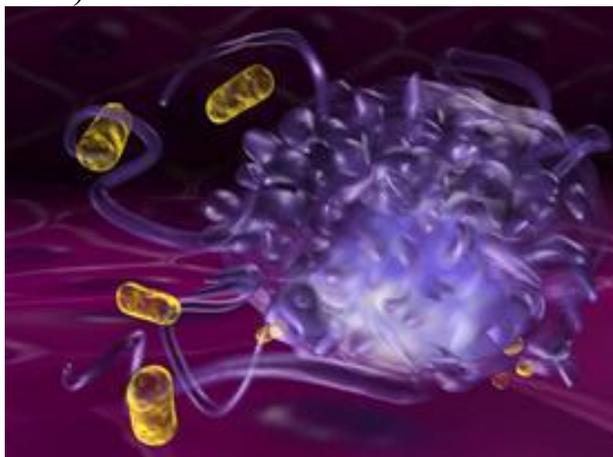


Рис. 4. Захватывание макрофагом бактерий

3. Образуется фагосома.

4. Фагосома сливается с лизосомами – образуется фаголизосома.

Г. На четвертой стадии фагоцитоза происходит резкая активация метаболизма фагоцита – активируются механизмы его внутриклеточного киллинга (внутриклеточной цитотоксичности).

Механизмы внутриклеточного киллинга (внутриклеточной цитотоксичности) фагоцитов.

Эти механизмы классифицируются на две группы.

А. Кислороднезависимые механизмы внутриклеточной цитотоксичности фагоцита обеспечиваются действием лизосомальных ферментов, разрушающих объект фагоцитоза.

1. Лизоцим разрушает клеточную стенку бактерий.
2. Катионные белки (дефензины, фагоцитин, лейкин и др.) повреждают бактериальную цитоплазматическую мембрану.
3. Фосфолипаза А осуществляет переваривание объекта фагоцитоза.
4. Рибонуклеаза разрушает РНК микроорганизмов.
5. Дезоксирибонуклеаза разрушает ДНК микробов.
6. Лактоферрин активно связывает железо, необходимое для размножения бактерий.

Б. Кислородзависимые механизмы внутриклеточной цитотоксичности фагоцита описываются как «респираторный взрыв».

1. После поглощения объекта фагоцитоза у фагоцита возрастает потребность в кислороде, вследствие которой происходит интенсификация метаболизма O₂.

2. В результате резко повышается синтез токсических кислородных продуктов, обладающих микробоцидной активностью (ведущий из них – синглетный кислород; кроме него к этой группе веществ относятся супероксидный радикал, перекись водорода и катализирующая ее токсическое воздействие на микроорганизмы миелопероксидаза, гидроксильный радикал, хлорноватистая кислота).

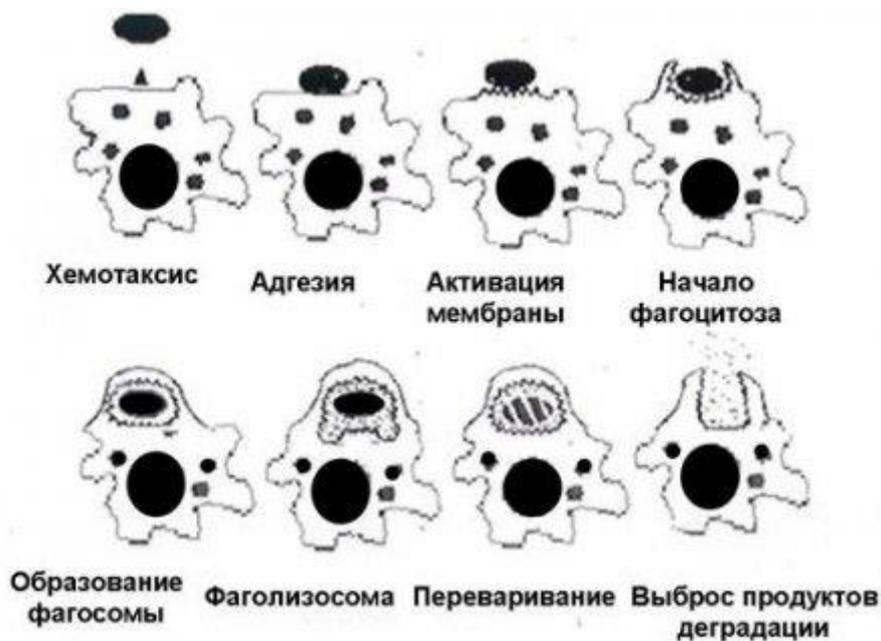
Способы ухода микробов из-под действия механизмов внутриклеточного киллинга фагоцитов.

Некоторые микроорганизмы способны сохранять свою жизнеспособность внутри фагоцита. Это может достигаться за счет трех основных способов.

А. Микроб препятствует слиянию лизосом с фагосомами (таким свойством обладают возбудители туберкулеза, токсоплазмы).

Б. Микробы могут вырабатывать устойчивость к действию лизосомальных ферментов (гонококки, стафилококки, стрептококки).

В. Микроорганизмы могут лизировать фаголизосомальную мембрану и переходить из фагосомы в цитоплазму фагоцита (так поступают риккетсии и хламидии).



по Ройту А., 1991

Рис. 5. Последовательность событий при завершённом фагоцитозе

Виды фагоцитоза

Существует два вида фагоцитоза: завершённый и незавершённый.

А. При завершённом фагоцитозе осуществляются все четыре стадии, и объект фагоцитоза полностью уничтожается

Б. При незавершённом фагоцитозе четвертая стадия или отсутствует или не завершается полным уничтожением объекта фагоцитоза.

1. Если четвертая стадия отсутствует, то микроб остается жизнеспособным.

2. Если четвертая стадия не завершается полным уничтожением объекта фагоцитоза, то происходит частичная деградация антигена для его презентации (представления) лимфоцитам. Фагоцитирующая клетка в этом случае исполняет роль антигенпредставляющей клетки (АПК).

Функции фагоцитов

Фагоциты выполняют три основные функции.

А. Уничтожают посредством завершённого фагоцитоза микроорганизмы и другие объекты, от которых следует очистить внутреннюю среду макроорганизма.

Б. Распознают и представляют лимфоцитам антигены в ходе развития иммунного ответа.

В. Секретируют медиаторные молекулы системы иммунитета – цитокины (в частности, цитокины, синтезируемые макрофагами, называются монокинами).

1. Основной регуляторный монокин (оказывающий иммуномодулирующее действие) – интерлейкин-1 (ИЛ-1).

2. Эффекторные монокины принимают участие в процессе внутриклеточного киллинга.

Рецепторы фагоцитов

Фагоциты имеют на своей поверхности макромолекулы, связывающие биологически активные вещества (т.е. рецепторы для этих веществ).

А. Рецептор для активной фракции комплемента C3b (один из рецепторов для белков комплемента на клетках макроорганизма – CR) принимает участие в процессах опсонизации.

Б. В этих же процессах принимают участие рецепторы для иммуноглобулинов.

В. Активация фагоцитов лимфоцитами осуществляется через рецепторы для цитокинов.

Оценка фагоцитоза

При оценке фагоцитоза изучают микрофаги (нейтрофилы) и макрофаги.

А. При изучении нейтрофилов определяют их количество и функциональную активность.

1. Количество нейтрофилов определяют, высчитывая формулу крови.

2. О функциональной активности нейтрофилов судят по активности фагоцитоза, миграционной активности фагоцитов и по степени завершенности фагоцитоза.

а. Активность фагоцитоза определяют, измеряя фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, опсонофагоцитарный индекс.

1. Фагоцитарное число (ФЧ) или фагоцитарная активность определяется как доля (в процентах) профагоцитировавших клеток на 100 нейтрофилов.

2. Фагоцитарный индекс (ФИ) рассчитывается как среднее число бактерий, захваченных одним фагоцитом.

3. Опсонофагоцитарный индекс – это соотношение фагоцитарного индекса иммунной сыворотки к фагоцитарному индексу нормальной сыворотки.

б. Миграционная активность фагоцитов определяется в реакции направленного хемотаксиса и в реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ), о которых можно прочитать в любом практическом руководстве по иммунологии.

в. Для оценки завершенности фагоцитоза используют метод подращивания бактериально-лейкоцитарной смеси и НСТ-тест.

1. Метод подращивания бактериально-лейкоцитарной смеси заключается в смешивании фагоцитов с бактериальной культурой и высеивом ее на питательную среду. Количество выросших колоний будет обратно пропорционально степени завершенности фагоцитоза.

2. НСТ-тест позволяет судить о наличии в фагоцитах активных форм кислорода. Взвесь нейтрофилов смешивают с нитросиним тетразолием и подсчитывают затем, после кратковременной инкубации, нейтрофилы с синими гранулами – доля таких нейтрофилов служит показателем завершенности фагоцитоза.

Б. При изучении макрофагов также определяют их количество и функциональную активность.

1. Количество макрофагов определяют по их свойству прилипать к стеклу.

2. Функциональную активность макрофагов определяют по уровню синтеза ими ИЛ-1 или TNF (одного из цитокинов – фактора некроза опухоли) при стимуляции, например липополисахаридом.

3. АНТИГЕНЫ. МНОГООБРАЗИЕ АНТИГЕНОВ.

Антигены – это высокомолекулярные соединения. При попадании в организм вызывают иммунную реакцию и взаимодействуют с продуктами этой реакции: антителами и активированными лимфоцитами.

Классификация антигенов.

1. По происхождению:

- 1) естественные (белки, углеводы, нуклеиновые кислоты, бактериальные экзо- и эндотоксины, антигены клеток тканей и крови);
- 2) искусственные (динитрофенилированные белки и углеводы);
- 3) синтетические (синтезированные полиаминокислоты, полипептиды).

2. По химической природе:

- 1) белки (гормоны, ферменты и др.);
- 2) углеводы (декстран);
- 3) нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК);
- 4) конъюгированные антигены (динитрофенилированные белки);
- 5) полипептиды (полимеры α-аминокислот, кополимеры глутамина и аланина);
- 6) липиды (холестерин, лецитин, которые могут выступать в роли гаптена, но, соединившись с белками сыворотки крови, они приобретают антигенные свойства).

3. По генетическому отношению:

- 1) аутоантигены (происходят из тканей собственного организма);
- 2) изоантигены (происходят от генетически идентичного донора);
- 3) аллоантигены (происходят от неродственного донора того же вида);
- 4) ксеноантигены (происходят от донора другого вида).

4. По характеру иммунного ответа:

- 1) тимусзависимые антигены (иммунный ответ зависит от активного

участия Т-лимфоцитов);

2) тимуснезависимые антигены (запускают иммунный ответ и синтез антител В-клетками без Т-лимфоцитов).

Выделяют также:

1) внешние антигены; попадают в организм извне. Это микроорганизмы, трансплантированные клетки и чужеродные частицы, которые могут попадать в организм алиментарным, ингаляционным или парентеральным путем;

2) внутренние антигены; возникают из поврежденных молекул организма, которые распознаются как чужие;

3) скрытые антигены – определенные антигены (например, нервная ткань, белки хрусталика и сперматозоиды); анатомически отделены от иммунной системы гистогематическими барьерами в процессе эмбриогенеза; толерантность к этим молекулам не возникает; их попадание в кровоток может приводить к иммунному ответу.

Иммунологическая реактивность против измененных или скрытых собственных антигенов возникает при некоторых аутоиммунных заболеваниях

Свойства антигенов:

1) антигенность – способность вызывать образование антител;

2) иммуногенность – способность создавать иммунитет;

3) специфичность – антигенные особенности, благодаря наличию которых антигены отличаются друг от друга.

Гаптены – низкомолекулярные вещества, которые в обычных условиях не вызывают иммунной реакции, но при связывании с высокомолекулярными молекулами приобретают иммуногенность. К гаптенам относятся лекарственные препараты и большинство химических веществ. Они способны вызывать иммунный ответ после связывания с белками организма.

Антигены или гаптены, которые при повторном попадании в организм вызывают аллергическую реакцию, называются аллергенами.

Антигенами могут быть белки, полисахариды и нуклеиновые кислоты в комбинации между собой или липидами. Антигенами являются любые структуры, несущие признаки генетической чужеродности и распознаваемые в этом качестве иммунной системой. Наибольшей иммуногенностью обладают белковые антигены, в том числе бактериальные экзотоксины, вирусная нейраминидаза.

Многообразие понятия “антиген”.

Антигены разделены на *полные (иммуногенные)*, всегда проявляющие иммуногенные и антигенные свойства, и *неполные (гаптены)*, не способные самостоятельно вызывать иммунный ответ.

Гаптены обладают антигенностью, что обуславливает их

специфичность, способность избирательно взаимодействовать с антителами или рецепторами лимфоцитов, определяться иммунологическими реакциями. Гаптены могут стать иммуногенными при связывании с иммуногенным носителем (например, белком), т.е. становятся полными.

За специфичность антигена отвечает гаптенная часть, за иммуногенность- носитель (чаще белок).

Иммуногенность зависит от ряда причин (молекулярного веса, подвижности молекул антигена, формы, структуры, способности к изменению). Существенное значение имеет степень *гетерогенности антигена, т.е. чужеродности* для данного вида (макроорганизма), степени эволюционной дивергенции молекул, уникальности и необычности структуры. Чужеродность определяется также молекулярной массой, размерами и строением биополимера, его макромолекулярностью и жесткостью структуры. Белки и другие высокомолекулярные вещества с более высоким молекулярным весом наиболее иммуногенны. Большое значение имеет жесткость структуры, что связано с наличием ароматических колец в составе аминокислотных последовательностей. Последовательность аминокислот в полипептидных цепочках - генетически детерминированный признак.

Антигенность белков является проявлением их чужеродности, а ее специфичность зависит от аминокислотной последовательности белков, вторичной, третичной и четвертичной (т.е. от общей конформации белковой молекулы) структуры, от поверхностно расположенных детерминантных групп и концевых аминокислотных остатков. Коллоидное состояние и растворимость - обязательные свойства антигенов.

Специфичность антигенов зависит от особых участков молекул белков и полисахаридов, называемых эпитопами. Эпитопы или антигенные детерминанты - фрагменты молекул антигена, вызывающие иммунный ответ и определяющие его специфичность. Антигенные детерминанты избирательно реагируют с антителами или антиген-распознающими рецепторами клетки.

Структура многих антигенных детерминант известна. У белков это обычно фрагменты из 8- 20 выступающих на поверхности аминокислотных остатков, у полисахаридов - выступающие О- боковые дезоксисахаридные цепи в составе ЛПС, у вируса гриппа- гемагглютинин, у вируса иммунодефицита человека- мембранный гликопептид.

Эпитопы качественно могут отличаться, к каждому могут образовываться "свой" антитела. Антигены, содержащие одну антигенную детерминанту, называют *моновалентными*, ряд эпитопов-

поливалентными. Полимерные антигены содержат в большом количестве идентичные эпитопы (флагеллины, ЛПС).

Основные типы антигенной специфичности (зависят от специфичности эпитопов).

1. *Видовая* - характерна для всех особей одного вида (общие эпитопы).
2. *Групповая* - внутри вида (изоантигены, которые характерны для отдельных групп). Пример- группы крови (АВО и др.).
3. *Гетероспецифичность* - наличие общих антигенных детерминант у организмов различных таксономических групп. Имеются перекрестно-реагирующие антигены у бактерий и тканей макроорганизма.
 - а. Антиген Форсмана - типичный перекрестно- реагирующий антиген, выявлен в эритроцитах кошек, собак, овец, почке морской свинки.
 - б. Rh- система эритроцитов. У человека Rh- антигены агглютинируют антитела к эритроцитам обезьян *Macacus rhesus*, т.е. являются перекрестными.
 - в. Известны общие антигенные детерминанты эритроцитов человека и палочки чумы, вирусов оспы и гриппа.
 - г. Еще пример- белок А стрептококка и ткани миокарда (клапанный аппарат).

Подобная антигенная мимикрия обманывает иммунную систему, защищает от ее воздействия микроорганизмы. Наличие перекрестных антигенов способно блокировать системы, распознающие чужеродные структуры.

4. *Патологическая*. При различных патологических изменениях тканей происходят изменения химических соединений, что может изменять нормальную антигенную специфичность. Появляются “ожоговые”, “лучевые”, “раковые” антигены с измененной видовой специфичностью. Существует понятие аутоантигенов - веществ организма, к которым могут возникать иммунные реакции (так называемые *аутоиммунные реакции*), направленные против определенных тканей организма. Чаще всего это относится к органам и тканям, в норме не подвергающихся воздействию иммунной системы в связи с наличием барьеров (мозг, хрусталик, парашитовидные железы и др.).

5. *Стадиоспецифичность*. Имеются антигены, характерные для определенных стадий развития, связанные с морфогенезом. Альфа - фетопроtein характерен для эмбрионального развития, синтез во взрослом состоянии резко увеличивается при раковых заболеваниях печени.

Антигенная специфичность и антигенное строение бактерий.

Для характеристики микроорганизмов выделяют родовую, видовую, групповую и типовую специфичность антигенов. Наиболее

точная дифференциация осуществляется с использованием *моноклональных антител* (МКА), распознающих только одну антигенную детерминанту.

Обладая сложным химическим строением, бактериальная клетка представляет целый комплекс антигенов. Антигенными свойствами обладают жгутики, капсула, клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, рибосомы и другие компоненты цитоплазмы, токсины, ферменты.

Основными видами бактериальных антигенов являются:

- соматические или О- антигены (у грамотрицательных бактерий специфичность определяется дезоксисахарами полисахаридов ЛПС);
- жгутиковые или Н- антигены (белковые);
- поверхностные или капсульные К- антигены.

Выделяют *протективные антигены*, обеспечивающие защиту (протекцию) против соответствующих инфекций, что используется для создания вакцин.

Суперантигены (некоторые экзотоксины, например стафилококковый) вызывают чрезмерно сильную иммунную реакцию, часто приводят к побочным реакциям, развитию иммунодефицита или аутоиммунных реакций.

Антигены гистосовместимости.

При пересадках органов возникает проблема совместимости тканей, связанная со степенью их генетического родства, реакциями отторжения чужеродных *аллогенных и ксеногенных* трансплантатов, т.е. проблемами трансплантационного иммунитета. Существует ряд тканевых антигенов. Трансплантационные антигены во многом определяют индивидуальную антигенную специфичность организма. Сопокупность генов, определяющих синтез трансплантационных антигенов, получила название главной системы гистосовместимости. У людей она часто называется системой HLA (Human leucocyte antigens), в связи с четким представительством на лейкоцитах трансплантационных антигенов. Гены этой системы расположены на коротком плече хромосомы С6. Система HLA- это система сильных антигенов. Спектр молекул МНС уникален для организма, что определяет его биологическую индивидуальность и позволяет различать “чужое-несовместимое”.

Семь генетических локусов системы разделены на *три класса*.

Гены первого класса контролируют синтез антигенов класса 1, определяют тканевые антигены и контролируют гистосовместимость. Антигены класса 1 *определяют индивидуальную антигенную специфичность, они представляют любые чужеродные антигены Т-цитотоксическим лимфоцитам.* Антигены класса 1 представлены на

поверхности всех ядродержащих клеток. Молекулы МНС класса 1 взаимодействуют с молекулой CD8, экспрессируемой на мембране предшественников цитотоксических лимфоцитов (CD- cluster difference).

Гены МНС класса 2 контролируют антигены класса 2. Они контролируют ответ к *тимусзависимым антигенам*. Антигены класса 2 экспрессированы преимущественно на мембране *иммунокомпетентных клеток* (прежде всего макрофагов и В- лимфоцитов, частично-активированных Т- лимфоцитов). К этой же группе генов (точнее-области HLA- D) относятся также *гены Ir - силы иммунного ответа и гены Is - супрессии иммунного ответа*. Антигены МНС класса 2 обеспечивают взаимодействие между макрофагами и В- лимфоцитами, участвуют во всех стадиях иммунного ответа- представлении антигена макрофагами Т- лимфоцитам, взаимодействии (кооперации) макрофагов, Т- и В- лимфоцитов, дифференцировке иммунокомпетентных клеток. Антигены класса 2 принимают участие в формировании *противомикробного, противоопухолевого, трансплантационного и других видов иммунитета*.

Структуры, с помощью которых белки МНС классов 1 и 2 связывают антигены (так называемые *активные центры*) по уровню специфичности уступают только активным центрам антител.

Гены МНС класса 3 кодируют отдельные компоненты системы комплемента.

Процессинг антигенов- это их судьба в организме. Одной из важнейших функций макрофагов является переработка антигена в иммуногенную форму (это собственно и есть процессинг антигена) и представление его иммунокомпетентным клеткам. В процессинге, наряду с макрофагами, участвуют В- лимфоциты, дендритные клетки, Т- лимфоциты. Под процессингом понимают такую переработку антигена, в результате которой пептидные фрагменты антигена (эпитопы), необходимые для передачи (представления), отбираются и связываются с белками МНС класса 2 (или класса 1). В таком комплексном виде антигенная информация передается лимфоцитам. Дендритные клетки имеют значение в фиксации и длительном хранении (депонировании) переработанного антигена.

Экзогенные антигены подвергаются эндоцитозу и расщеплению в антиген- представляющих (презентирующих) клетках. Фрагмент антигена, содержащий антигенную детерминанту, в комплексе с молекулой класса 2 МНС транспортируется к плазматической мембране антиген- представляющей клетки, встраивается в нее и представляется CD4 Т- лимфоцитам.

Эндогенные антигены - продукты собственных клеток организма.

Это могут быть вирусные белки или аномальные белки опухолевых клеток. Их антигенные детерминанты представляются CD8 Т-лимфоцитам в комплексе с молекулой класса I МНС.

Тимусзависимые и тимуснезависимые антигены

Большинство природных антигенов является тимусзависимыми. Это означает, что полноценное развитие специфического иммунного ответа к таким антигенам начинается только после подключения Т-клеток. Подобные представления сложились на основании опытов как *in vivo*, так и *in vitro*. Действительно, неонатально тимэктомированные мыши либо вообще не отвечают на полноценный антиген продукцией IgG, либо такой ответ крайне низкий. Трансплантация мышам тимуса восстанавливает специфический ответ. При использовании конъюгата гаптена с различными белками в качестве носителя установлено, что Т-клетки отвечают на носитель (Т-клеточный эпитоп), в то время как В-клетки — на гаптен (В-клеточный эпитоп). В опытах *in vitro* показано, что чистая популяция В-клеток отвечает на антиген только пролиферацией, но при этом не способна пройти весь путь развития до зрелых, продуцирующих антитела плазмочитов. Внесение в культуру Т-клеток и макрофагов обеспечивает продукцию специфических антител. Роль макрофагов в комплексной культуре состоит в представлении Т-клеточных эпитопов в иммуногенной форме. Кроме основной группы тимусзависимых антигенов имеются антигены, способные инициировать иммунный ответ в отсутствие Т-клеток. Они получили название тимуснезависимых антигенов. Антигены этой группы в основном относятся к полисахаридам и характеризуются многократным повторением структурно идентичных эпитопов. Подобное однообразие приводит к многоточечному взаимодействию с В-клеткой, что и обеспечивает их полноценное развитие до зрелых, продуцирующих антитела плазмочитов. Кроме того, в структуре некоторых тимуснезависимых антигенов имеются последовательности с поликлональной, митогенной активностью (например, бактериальные липополисахариды), что также вносит свой вклад в развитие В-клеток, минуя помощь со стороны Т-клеток. Серьезное изучение антигена как индуктора иммунного ответа началось после работ К. Ландштейнера в 20—30-х годах XX в.

В качестве антигенного материала он брал простые органические соединения — гаптены, которые после конъюгации с белком-носителем приобретали способность инициировать специфический иммунный ответ в виде синтеза антител. Именно благодаря исследованиям с гаптенами были определены достаточно жесткие пределы для

проявления антигенной специфичности. В частности, было показано, что незначительные структурные различия между изомерными формами гаптена ведут к образованию разных по специфичности антител. Кроме того, работы Ландштейнера стали исходными для формирования представлений о таких явлениях, как антигенность и иммуногенность. В основе понятия антигенности лежат структурные, химические особенности веществ, принимающих участие в иммунном процессе. В то же время иммуногенность — функциональная характеристика антигенного материала, которая включает определенные требования, как к антигену, так и к иммунизируемому организму. Первое определяющее требование к антигену — его чужеродность по отношению к реципиенту. Во всех случаях, за исключением аутоиммунных нарушений, антиген должен восприниматься организмом как «не свое». Однако чужеродность обязательное, но не единственное условие иммуногенности. Для того чтобы вызвать иммунный ответ, антигену необходимо обладать достаточным молекулярным весом. Имеется прямая зависимость между этой величиной и силой иммунного ответа. Третьим условием иммуногенности является доступность антигена для ферментативных систем антигенпрезентирующих клеток. Переработка антигена в фаголизосомах до олигопептидов и выход этих фрагментов на клеточную поверхность в комплексе с продуктами МНС в иммуногенной форме создает условия для запуска иммунного процесса.

При наличии всех перечисленных требований к антигену его потенциальная способность к инициации иммунного ответа может остаться не реализованной, если иммунизируемый организм по тем или иным причинам не способен воспринять чужеродную информацию. Одно из требований к отвечающему организму — наличие соответствующих генов иммунного ответа (I γ -генов). Полиморфизм по I γ -генам определяет неоднозначность ответа различных индивидуумов к одному и тому же антигену. Следует также заметить, что развитие той или иной силы иммунного ответа зависит как от дозы антигена, так и способа его введения. Низкая доза сильного иммуногена не является гарантом полноценного иммунного ответа даже у тех индивидуумов, которые обладают соответствующим I γ -геном.

Способ введения антигена также является ограничивающим фактором для проявления иммуногенности. Так, например, некоторые бактериальные антигены при непосредственном попадании в желудочно-кишечный тракт не способны преодолеть кислотность желудочного сока как естественного барьера. В то же время эти бактерии, введенные непосредственно в кровь, проявляют сильную иммуногенность. Проявление иммуногенных свойств антигена может

быть заблокировано также врожденным или приобретенным патологическим состоянием самой иммунной системы. Иммунодефицит по тем или иным факторам специфической защиты будет препятствовать проявлению специфических свойств полноценных антигенов. Наиболее полно изучены повторяющиеся, разные по специфичности В-клеточные эпитопы (детерминанты). Они локализованы в основном на внешней поверхности молекулы и относятся к так называемому конформационному типу. Помимо «внешних», доступных для распознавания соответствующими антителами эпитопов имеются «внутренние», конформационно недоступные для взаимодействия с антителами. Обычно число аминокислот или Сахаров, составляющих В-клеточный эпитоп, равно 6 — 8 мономерам.

В опытах с комплексным антигеном белок-гаптен, где белок выступал в качестве носителя для гаптена, было показано, что Т-клетки распознают носитель, а В-клетки — гаптен. «Несущая» часть антигена — это другое название Т-клеточного эпитопа. Т-клеточные эпитопы включают большее число аминокислотных остатков по сравнению с В-клеточными эпитопами и относятся к так называемому «линейному» типу, поскольку для его распознавания не требуется сохранения пространственной организации.

В результате исследований *in vivo* и *in vitro* было установлено, что некоторые макромолекулы, в основном полисахариды, способны инициировать иммунный ответ без помощи со стороны Т-клеток. Связано это явление с характером строения антигена — наличием в его структуре многократно повторяющихся однотипных эпитопов. Подобная структурная организация обеспечивает многоточечное взаимодействие с В-клеткой и, как следствие, их активацию без помощи со стороны Т-клеток. Кроме того, для многих полисахаридов, в частности для бактериальных липополисахаридов, известна способность к поликлональной активации В-клеток. Подобное свойство позволяет предположить наличие в структуре Т-независимых антигенов митогенных участков.

Антигены микроорганизмов

Инфекционные антигены — это антигены бактерий, вирусов, грибов, простейших.

Существуют следующие разновидности бактериальных антигенов:
1) группоспецифические (встречаются у разных видов одного рода или семейства);

2) видоспецифические (встречаются у различных представителей одного вида);

3) типоспецифические (определяют серологические варианты – серовары, антигеновары – внутри одного вида).

В зависимости от локализации в бактериальной клетке различают:

1) О – АГ – полисахарид; входит в состав клеточной стенки бактерий. Определяет антигенную специфичность липополисахарида клеточной стенки; по нему различают сероварианты бактерий одного вида. О – АГ слабо иммуногенен. Он термостабилен (выдерживает кипячение в течение 1–2 ч), химически устойчив (выдерживает обработку формалином и этанолом);

2) липид А – гетеродимер; содержит глюкозамин и жирные кислоты. Он обладает сильной адьювантной, неспецифической иммуностимулирующей активностью и токсичностью;

3) Н – АГ; входит в состав бактериальных жгутиков, основа его – белок флагеллин. Термостабилен;

4) К – АГ – гетерогенная группа поверхностных, капсульных антигенов бактерий. Они находятся в капсуле и связаны с поверхностным слоем липополисахарида клеточной стенки;

5) токсины, нуклеопротеины, рибосомы и ферменты бактерий.

Антигены вирусов:

1) суперкапсидные антигены – поверхностные оболочечные;

2) белковые и гликопротеидные антигены;

3) капсидные – оболочечные;

4) нуклеопротеидные (сердцевинные) антигены.

Все вирусные антигены Т-зависимые.

Протективные антигены – это совокупность антигенных детерминант (эпитопов), которые вызывают наиболее сильный иммунный ответ, что предохраняет организм от повторного инфицирования данным возбудителем.

Пути проникновения инфекционных антигенов в организм:

1) через поврежденную и иногда неповрежденную кожу;

2) через слизистые оболочки носа, рта, ЖКТ, мочеполовых путей.

Гетероантигены – общие для представителей разных видов антигенные комплексы или общие антигенные детерминанты на различающихся по другим свойствам комплексах. За счет гетероантигенов могут возникать перекрестные иммунологические реакции.

У микробов различных видов и у человека встречаются общие, сходные по строению антигены. Эти явления называются антигенной мимикрией.

Суперантигены – это особая группа антигенов, которые в очень малых дозах вызывают поликлональную активацию и пролиферацию большого числа Т-лимфоцитов. Суперантигенами являются бактериальные энтеротоксины, стафилококковые, холерные токсины, некоторые вирусы (ротавирусы).

Тема №3 - Гормоны и медиаторы иммунной системы. Генетический контроль иммунного ответа. Главный комплекс гистосовместимости. Иммунный ответ.

1. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ ГОРМОНОВ. Для содержания жизненного механизма в порядке достаточно самого минимального количества витаминов. То же относится и к гормонам - продуктам желез внутренней секреции. Вообще между витаминами и гормонами есть некоторое сходство, быть может, даже родство. Существенное же различие между ними состоит в том, что витамины производятся растениями, откуда прямо или косвенно проникают в организм человека и животных, а гормоны производятся в самом организме железами внутренней секреции, т. е. теми образованиями, функция которых до недавнего времени была неизвестна, почему их и считали бесполезными.

Обычные железы - слюнные, желудочные, кожные и т. п. легко определить именно как железы, так как образуемый ими продукт вытекает через выводные протоки наружу, но у желез внутренней секреции выводного протока нет, и потому эти образования долго и не считали железами. Правильно поняли их назначение только с помощью микроскопа. Вещества, вырабатываемые железами внутренней секреции, непосредственно выводятся в кровь, почему их и называют иногда кровяными железами. Более распространено в настоящее время наименование «гормонные железы». Слово «гормон», впервые прозвучавшее в начале нашего столетия, происходит от греческого *hormao* - возбуждаю, стимулирую.

Учение о гормонах возникло примерно в то же время, как и учение о витаминах. Однако история открытия гормонов более давняя. Начинается она с опыта Шарля Броун-Секара — сына американского капитана и француженки, родившегося в 1818 г. на острове св. Маврикия. Он получил медицинское образование. Став доктором и живя в Париже, он много занимался физиологическими исследованиями и нервными болезнями. Затем Броун-Секар на некоторое время переселился в Америку, где получил должность профессора по нервным болезням, потом работал в лондонской больнице для умалишенных и, наконец, с радостью принял приглашение читать лекции по физиологии в «Коллеж де Франс». 31 мая 1889 г. Броун-Секар сообщил Парижской академии наук о результатах опытов, которые он произвел над самим собой с целью вступить в борьбу со старостью, — ему в то время было за семьдесят: он расплющивал семенные яички морской свинки, разбавлял сок водой и впрыскивал его себе под кожу живота. Он

сообщал, что опыты увенчались успехом и что во всех отношениях он чувствует себя омоложенным.

Броун-Секар умер в 1894 г. в возрасте 76 лет.

Этому опыту над самим собой, вызвавшему сенсацию и прославившему имя экспериментатора, предшествует тысячелетний опыт человечества, с древнейших времен знающего, какие последствия для человека и животных влечет за собой кастрация, т. е. удаление или разрушение мужских половых желез. О том, насколько этот опыт древен, свидетельствует закон Моисея, запрещающий производить кастрацию человека и животного. Однако у некоторых народов кастрация не только допускалась, но и составляла часть религиозного обряда. Жрецы Кибелы - местного божества древних фригийцев в Малой Азии — были обязаны производить эту операцию сами на себе, от них этот обычай перешел в Грецию, а затем в Италию. И, несмотря на накладываемые время от времени запреты, кастрация стала применяться в еще более широких масштабах: в Италии посредством этой операции сохраняли хорошие голоса у певцов, обладавших дискантом, а в магометанских странах получали надежных стражей гарема. Еще в XVIII веке в Италии, главным образом в Ватикане, ежегодно кастрировали около четырех тысяч мальчиков. Кастрация же домашних животных применялась в древнейшие времена.

От отрицательного перешли к положительному, рассудив следующим образом: если удаление яичек лишает мужественности, то поглощая эти органы, можно вернуть себе мужские качества и молодость, полагали также, что съев сердце льва, человек должен стать храбрым. Эта была древнейшая органотерапия — попытка использовать органы тела в качестве лекарства. С последующими успехами физиологии и новыми открытиями, способствовавшими разработке учения об органах, а главным образом с того момента, когда в нее пришел эксперимент, наступило время начать практическое изучение этого раздела.

В 1848 г. геттингенский физиолог Арнольд А. Бертольд удалил у шести петухов яички. Двоим из них он вновь подсадил эти железы, но в брюшную полость, и эти две птицы остались петухами, тогда как другие превратились в каплунов, т. е. кастратов: гребень у них сморщился, половой инстинкт угас, драчливость исчезла, яркое и пестрое оперение сменилось тусклым, началось отложение жира. Через шесть месяцев Бертольд умертвил обоих петухов с пересаженными в брюшную полость яичками, для того чтобы исследовать, что с ними стало. Яички прижились и имели нормальный вид. Бертольд рассказал об этом в труде, названном «Пересадка яичек». Прежде всего он хотел доказать, что нормальную жизнедеятельность этих органов обуславливают не

нервы, как многие до того предполагали, поскольку в его опыте связь между яичками и их нервами безусловно была нарушена. Гораздо большее значение здесь имело, по его словам, «воздействие яичка на кровь, а затем и соответствующее воздействие на весь организм в целом».

Ценная работа Бертольда не имела успеха — она натолкнулась на недоверие и была забыта. Шестьдесят лет спустя о ней вспомнили австрийский физиолог Артур Бидль, историки медицины, а также и исследователи.

Вот что было сделано в области изучения желез внутренней секреции к тому моменту, когда Броун-Секар выступил перед общественностью с сообщением о своих опытах над самим собой.

Однако надежды, которые как он, так и многие другие возлагали на эту работу, не сбылись, — в то время ее еще не могли оценить. Таким образом, когда после долгого затишья омоложение вновь стало предметом изучения, первое сообщение вызвало не меньшую сенсацию, чем опыты Броун-Секара.

В 1920 г. появилась работа Эугена Штейнаха, посвященная омоложению. Учение о гормонах вступило в новую стадию, благодаря которой наши сведения о железах внутренней секреции значительно обогатились. Органы, которые одним казались таинственными, другим Прозревшими бесполезными, были изучены по-настоящему. Глазами ученые заглянули в механизм, управляющий телом и превращающий человека в то, что он есть. Узнали, что жизнь и кое-что из того, что называют судьбой, определяется до какой-то степени несколькими железами, несколькими маленькими органами, которых до недавнего времени даже и не замечали.

Штейнах интересовался одной проблемой: он изучал половую железу. Давно уже было известно, что железа эта не только выполняет свою прямую функцию, т. е. служит размножению человека, но и определяет вторичные половые признаки. Изменения в характере и облике животного или мужчины, вызываемые кастрацией, были очевидны. Борода, низкий голос и фигура у мужчины, так же как рога у самцов оленей, пестрота оперения и пение у птиц — все это вторичные признаки мужского пола. У женщин вторичными признаками являются округлость определенных частей тела, более тонкое телосложение и многие другие физические и психические особенности, противоположные мужским.

Штейнах предположил, что признаки старения обуславливаются теми частями половых желез, которые не отдают своих веществ наружу, а непосредственно направляют их в кровь и поэтому не служат продлению рода. Он полагал, что эта гормональная функция осу-

ществляется определенной частью соединительной ткани яичек, которая и оказывает влияние на развитие вторичных половых признаков и на состояние молодости. В обширных опытах, заключавшихся в удалении половых желез и в их вторичной подсадке, в подсадке половых желез в тело стареющих животных, Штейнах показал действие гормонов этих желез. Он пытался добиться у одного мужчины возрождения и роста той части половой железы, которая производит гормоны, перевязав ему семенные канатики. Если результаты этих последних опытов и не были сколько-нибудь длительными, все же они послужили серьезным стимулом для изучения гормонов половых желез. Штейнах является также инициатором изготовления эндокринных препаратов из соответствующих желез животных. По указанному им пути пошли многие исследователи в данной области.

В настоящее время имеется множество железистых препаратов, множество препаратов гормонов всех желез внутренней секреции, незаменимых во врачебной практике. Оказалось, что гормоны, взятые от различных животных, действуют одинаково, так же как гормоны, взятые у животного и у человека.

В то время, когда еще не знали ни наименований, ни назначения гормонов, внимание ученых привлек гормон щитовидной железы. В 1884 г. бернский хирург Теодор Кохер опубликовал отчет о произведенных им операциях на зобе. Асептика и остановка кровотечения шагнула уже столь далеко, что можно было отважиться и на такого рода операции. Кохер первый решился на это. В своем отчете он сообщал не только об успешных операциях, но и о том, что на некоторых людей они производили губительное действие: лицо опухало, физические и духовные силы убывали, наступало состояние, которое Кохер называл *kachexiastrumipriva*, т. е. потеря сил после удаления зоба. Что происходило при этой операции? Удаляя зоб, следовательно и щитовидную железу, он наблюдал, что при этом тело явно лишалось одного из своих важнейших органов. Но что же делает щитовидная железа в теле? Кохер и некоторые другие думали, что она служит своего рода фильтром против ядов, т. е. что это орган, который очищает тело от ядовитых веществ, и быть может, чем-то похожий на почку, но в другом роде.

То, что узнал Кохер, одновременно узнал и Мориц Шифф из Франкфурта-на-Майне — участник революции 1848 г., высланный из Геттингена и нашедший в Швейцарии не только убежище, но и исследовательскую лабораторию. Удаляя щитовидную железу у животных, он наблюдал то же, что наблюдал и Кохер у некоторых больных, — гибель живого существа от истощения всех сил.

Это противоречило тому, что физиологи говорили всего лишь несколько лет назад. «Нет даже ни одной гипотезы, касающейся функции щитовидной железы», — вот слова из одного учебника семидесятых годов. Однако результаты удаления этой железы не могли быть всегда одинаковыми потому, что она не является одиночным ясно очерченным органом, находящимся на известном месте шеи. Часто есть еще маленькие щитовидные железы, расположенные где-нибудь на другой стороне тела, действия которых оказывается достаточно для организма в том случае, если удалена основная щитовидная железа. Отсюда легко объясняется противоречие между тем, чему верили еще в семидесятых годах, и данными, собранными к 1884 г. Таким образом, если бы у больных, которым повредили операции, где-нибудь была еще одна маленькая дополнительная щитовидная железа, то и эти операции дали бы хорошие результаты.

Если удалить щитовидную железу у молодого животного, то оно отстанет в росте, его половые железы перестанут развиваться, оно застынет на той ступени физического развития, которая у человека называется идиотией; кретинизм, встречающийся иногда в горных странах, связан с недостаточностью щитовидной железы вследствие зобного перерождения этого органа. Причина такого перерождения — недостаток йода в пище или воде. У взрослого человека, у которого нет щитовидной железы или же она не функционирует, лицо опухает (это называется микседемой), отмечается появление признаков идиотии, потеря сил, ожирение.

Действующее вещество — гормон щитовидной железы, названный тироксином, открыт в 1914 г. Э. Кендаллом. Его можно изготовить и искусственно. Тироксин повышает основной обмен, способствует более интенсивному распаду белков и жиров и воздействует на углеводный обмен. Он имеет особое значение для молодых особей, так как влияет на рост костей совместно с другими гормонами — с гормонами половых желез и гипофиза, передней доли железы мозгового придатка. О совместном действии гормонов, о том, что они, так сказать, образуют симфонический оркестр, в котором дирижером является гипофиз, будет рассказано далее.

Весьма часто щитовидная железа работает слишком усиленно. Впервые описанная Карлом Адольфом Базедовым в Мерзебурге базедова болезнь, симптомы которой часто приписывали всего лишь нервозности, является следствием гипертиреоза — чрезмерного повышения функции щитовидной железы.

Совсем недавно открыли, что рядом со щитовидной железой, по правую и левую стороны ее, у человека имеются продолговатые, длиной в какие-нибудь два миллиметра образования — эпителиальные тельца,

или околотитовидные железы. Ни анатом Гиртль, ни физиолог Брюкке не упоминают о них в своих учебниках: в анатомии Лангер-Тольдта, вышедшей в 1896 г., это г орган также не назван. В 1880 г. эпителиальные тельца были описаны Иваром Виктором Сандстремом, но никто и не думал, что они играют какую-либо роль в организме.

На этот орган обратили внимание лишь после того, как некоторые произведенные в недавнее время операции дали странные результаты, явно не имевшие никакой связи с удалением щитовидной железы, так как хирурги, наученные опытом Кохера, уже давно приняли к сведению, что при операциях зоба нельзя попросту удалять всю щитовидную железу. В этих случаях послеоперационные явления были совсем иными, чем те, которые наблюдались после прежних операций: оперированные жаловались на покалывание в руках и ногах, у них отмечались своеобразные подергивания лица, называемые тетанией; некоторые больные испытывали состояния, напоминающие эпилепсию. Благодаря опытам на животных удалось обнаружить причины, вызывавшие эти явления: хотя у больных при операциях и не удалялась вся щитовидная железа, но вырезались те незначительные эпителиальные тельца, на которые никто не обращал внимания, так как о них ничего не было известно.

Теперь же, главным образом благодаря работам Д. В. Коллипа, выяснилось, что эпителиальные тельца — это железы внутренней секреции и их гормон влияет на известковый обмен в организме, но и до настоящего времени механизм этого влияния неизвестен. Во всяком случае данный гормон столь же важен для известкового обмена, т. е. в особенности для крови и костей, как и ранее упоминавшийся витамин D. Здесь явственно ощущается взаимодействие между витамином и гормоном, но в чем именно оно заключается, никто пока не знает.

Железой внутренней секреции, действие которой, безусловно, связано с действием половой железы, является зобная, или вилочковая, железа. Она расположена под грудиной и есть не только у человека, но почти и у всех млекопитающих; ее очень долго считали лимфатической железой и только в середине прошлого столетия распознали как самостоятельный орган. Уже тогда ученые были вынуждены отметить, что этот орган необычный. Будучи весьма небольшого объема у новорожденных, он растет до тех пор, пока человек достигает половой зрелости, затем подвергается обратному развитию и у зрелого или пожилого человека представляет собой незначительный остаток, состоящий главным образом из соединительной ткани. В самом ли деле это железа внутренней секреции? Что это так, было доказано лишь в начале нашего столетия.

И. Ф. Гудернач клал частицы этих желез в корм головастиков, и они вырастали до огромных размеров, но не превращались в лягушек, как следовало бы ожидать. Заметим попутно, что Гудернач, помимо этого и также на головастиках, добился и совсем другого, примешивая к их корму вещество щитовидной железы: головастики' чуть ли не на следующий день превращались в лягушек, но размером не больше мух. Когда позднее Гудерначу удалось изготовить относительно чистый экстракт зобной железы, опыты продолжились. Их производил главным образом Леонард Роунтри. Выявилось, что вытяжка зобной железы вызывала у крыс ускоренный рост и прежде всего — ускорение их полового развития: в сравнении с их братьями, получавшими нормальный корм, крысы достигали половой зрелости вдвое быстрее. Во всяком случае уже одно это явственно доказывает связь между зобной железой и половыми железами. Но это еще не дает ответа на все вопросы, возникшие в связи с открытием вилочковой железы.

До сих пор неизвестно и то, какова функция шишковидной железы (эпифиз, *glandularpinealis*) — маленького конусообразного органа, расположенного в головном мозгу в трудно доступном месте. Декарт считал его вместилищем души. А что он представляет собой в действительности? Возможно, это антагонист зобной железы. Ведь многие «двигатели» организма имеют своих противников антагонистов: один приводит в движение, другой тормозит; таким путем и достигается равновесие. Быть может, как раз такие отношения и связывают шишковидную и зобную железы, — быть может первая препятствует преждевременному интеллектуальному и физическому созреванию. Возможно, что слишком ранняя половая зрелость является следствием недостаточной функции этой железы. Все это, однако, еще совершенно не известно.

Более других изучены половые железы, хотя и в этой области долгое время многое не было ясно. Только швейцарец Жан Луи Прево вместе с Жаном Баптистом Дюма привели доказательство, что сперматозоиды, т. е. семенные клетки, являются продуктом мужских половых желез и образуются из их ткани. Проблема семени еще в античные времена постоянно занимала врачей и философов.

Особый интерес исследователей именно к половым железам понятен, — эти железы легко поддаются эксперименту, благодаря чему о них и о действиях их продуктов многое уже известно. О Броун-Секаре, его предшественниках и о Штейнахе уже говорилось. Работы последнего побудили самые различные научно-исследовательские лаборатории к поискам действенного вещества, находящегося в мужских половых железах, в яичках. Первым достиг цели Адольф Бутенандт в Геттингене: в 1932 г. он выделил мужской гормон в форме

кристалла. Он получил гормон не из самой половой железы, а из мочи мужчин, ибо уже в то время было известно, что моча богата половыми гормонами. Этот гормон был назван андростероном, однако позднее выяснилось, что это не подлинный гормон половых желез; таким гормоном скорее всего является, или кажется, что является, тестостерон, выделенный в кристаллической форме в 1935 г. Э. Лакером в Амстердаме. Он получил его из половых желез быка, которые в общем весьма бедны этим гормоном. Его, конечно, можно получить и у других животных самцов — у крота, козла, также у человека и, как это ни странно, из мужских цветов вербных сережек.

Андростерон и тестостерон имеют одну и ту же химическую формулу, но структура их несколько различна, — материал, из которого они сложены, один и тот же, характер же постройки не вполне идентичен. Мужской гормон уже давно научились получать искусственным путем. Таким образом, можно говорить о двух видах мужских гормонов и даже о третьем, который был обнаружен в моче мужчины. В дальнейшем, вероятно, обнаружится, что в моче находятся и другие вещества, тоже действующие как гормоны.

Каким образом распределяются между различными половыми гормонами присущие им функции, еще не вполне ясно. Тестостерон, по видимому, выполняет наиболее существенные и важные задачи, обеспечивая развитие первичных и вторичных половых признаков и нормальную половую деятельность мужчины, однако некоторые исследователи приписывают эти свойства андростерону. Таким образом, здесь еще стоит вопросительный знак, который будет устранен только в будущем.

Гарвей, знаменитый исследователь кровообращения, вместе с другими древними теориями сдал в архив и древнее учение Аристотеля о соединении мужского семени с женским, за которое Аристотель принимал тот секрет, который временами выделяется из желез, расположенных поблизости от входа во влагалище, и не имеет ничего общего с размножением. Как уже упоминалось, Гарвей ввел формулу «Omnevivitexovo» — все живое из яйца. Раньше де Граф из Шоонхавена был убежден, что открыл человеческое яйцо в названных его именем фолликулах — маленьких шарообразных бугорках, находящихся в яичнике женщины. Однако лишь Эрнст Бэр открыл впоследствии, как мы уже описали, яйцо млекопитающего и, таким образом, яйцо человека.

Роль яичника не только как места производства и хранения яиц, но и как железы внутренней секреции явственно обнаружилась к концу XIX века, когда во Франции вошла в моду «система одного ребенка» или «ни одного ребенка» и многие женщины во избежание

беременности требовали, чтобы им удаляли яичники. Эмиль Золя описал судьбу этих женщин в своем романе «Плодородие». Он рассказал, как некоторые из них, молодые и свежие, начинали преждевременно стареть и превращались в старух, в самом деле уже не имевших больше оснований опасаться материнства. Так же как и у мужчины, сохранение женщиной молодости зависит от действия соответствующих гормонов. Функции женских гормонов в настоящее время в основном выявлены.

Известны два принципиально различных гормона женской половой железы, отчасти прямо противоположные друг другу: первый — это фолликулярный гормон, возникающий в созревающем граафовом пузырьке, второй — это гормон желтого тела, образующийся с момента, когда яйцо лопаются и начинается его продвижение, которое должно закончиться соединением с семенной клеткой. Желтым телом (*corpus luteum*) называется железа, остающаяся на том месте, где находилось яйцо. Она поставляет гормон, способствующий в случае оплодотворения яйцевой клетки сохранению беременности и возбуждающий все функции тела, необходимые при беременности. Кроме того, он препятствует созреванию новых яиц и разрыву новых фолликулов, а также обеспечивает прекращение менструаций, которые представляли бы лишь опасность для плода; разумеется, благодаря этому во время беременности не может произойти и нового оплодотворения.

Фолликулярный гормон обеспечивает нормальное развитие женщины, вызывает появление вторичных половых признаков, регулирует месячный цикл и подготавливает матку к выполнению ее роли. Если же наступает беременность то, во-первых, она нуждается в охране, во-вторых, должен быть дан стимул к развитию молочных желез, короче говоря, тело обязано принять все меры к охране будущего ребенка, а в дальнейшем обеспечить правильное его содержание. Все это выполняет гормон желтого тела. Недостаточная выработка фолликулярных гормонов при недоразвитости яичников или при преждевременном прекращении их функций влечет за собой нарушение менструального цикла, недоразвитие половых признаков и различные другие расстройства. В случае полного прекращения деятельности женских половых желез, например, после полного оперативного удаления яичников, наступают, как было уже сказано, симптомы преждевременного старения, против которых теперь, правда, можно бороться, принимая гормональные препараты.

Фолликулярный гормон не один — их целая группа. Наиболее важный, по всей вероятности, эстрадиол, но, говоря о фолликулярных гормонах, подразумевают всю их группу, а следовательно, и те из них,

которые до сих пор обнаружались не в яичниках, а лишь в моче женщин.

Женские половые гормоны были открыты Эдгаром Алленом и Эдуардом Дойси примерно в то же время, что и мужские, т. е. в конце двадцатых — в начале тридцатых годов нашего века. В связи с этим следует вновь упомянуть Бутенандта и Лакера. Они выделили из мочи беременных женщин женские гормоны и, поставив опыты на животных, определили, что это и есть искомые вещества. Для таких опытов используют животных, например, самок крыс, у которых течка наступает только при достижении определенного возраста. При впрыскивании фолликулярного гормона течка начинается у них раньше. Таким образом, можно определить и испытать действие соответствующего эндокринного препарата. Чистый эстрадиол был описан лишь в 1935 г. Эдгаром Дойси, использовавшим для исследований яичники свиней. О сложности и дороговизне подобного рода работ можно составить себе представление, лишь узнав, что для получения примерно десяти миллиграммов, т. е. одной сотой грамма, гормона Дойси израсходовал четыре тонны яичников.

И вся эта необычайно трудоемкая работа оказалась, собственно, излишней, ибо когда эстрадиол был получен в виде кристаллов и подвергнут анализу, выяснилось, что он идентичен соединению, полученному химическим путем двумя годами ранее Эрвином Швенком и Фридрихом Гильдебрандтом из эстрона, — тоже фолликулярного гормона, большое количество которого содержится в моче беременных женщин. Они отняли у этого эстрона кислород, т. е. подвергли его процессу восстановления, и получили новое вещество, не зная, конечно, что это и есть давно разыскиваемый главный гормон женской половой железы — эстрадиол.

То, что должен существовать гормон желтого тела, еще в 1902 г. утверждал гинеколог Людвиг Френкель, ставший впоследствии профессором в Бреславле. В дальнейшем была разработана специальная техника и методика исследований гормонов, и тогда стало известно, как следует искать гормоны. Многим исследователям примерно в одно и то же время удалось обнаружить гормон желтого тела, причем трудно даже сказать, кто сделал это первым. Быть может, правильным будет такое чередование имен: Д. В. Корнер и В. М. Аллен, Бутенандт и Ульрих Вестфаль, Макс Гартман и Альберт Ветштейн, но можно было бы назвать и еще нескольких исследователей, которые в тот же период, начиная с 1928 г., успешно занимались изучением гормона желтого тела и, наконец, держали в руках крошечные кристаллы этого гормона. Произошло то же, - что и с эстрадиолом, — для получения нескольких-тысячных долей грамма гормона расходовались невероятные

количества исходного материала. Профессор Р. Абдергальден в одном из сообщений указал, что Бутеннандту для получения одного миллиграмма гормона, химический состав которого ему удалось определить лишь располагая именно таким количеством этого вещества, понадобились желтые тела 50000 свиней. Этот гормон получил наименование прогестерона, так как он поддерживает и сохраняет беременность животных и человека.

Все эти работы следовали одна за другой. Венцом их явилось открытие способа искусственного изготовления женских половых гормонов, т. е. то же, что удалось сделать после открытия мужского гормона — тестостерона. Благодаря этому были разрешены все проблемы, касающиеся физиологической стороны половых гормонов, и промышленность могла отныне предоставлять в распоряжение врачей и больных женщин препараты гормонов, помогающие излечивать многие недуги.

Итак, характер и свойства человека в значительной степени определяются половыми железами. Эти железы — мужские или женские — оказывают огромное влияние на физическое и духовное состояние человека. Однако они не являются высшими командными органами: над ними есть еще одна инстанция — гипофиз, железа мозгового придатка, о которой уже было сказано, что в концерте желез внутренней секреции она исполняет функции дирижера. Оркестр и дирижер — вот верное сравнение для этих органов, определяющих судьбу отдельного индивидуума.

Как орган человеческого тела гипофиз был известен уже в древности. Несмотря на малую величину, — у человека этот орган примерно такого размера, как горошина, — железа мозгового придатка, расположенная в седловидном углублении клиновидной кости головного мозга, не была обойдена вниманием врачей. Если в начале XVIII века Джованни Санторини различил переднюю и заднюю доли гипофиза, то лишь через 200 лет узнали, что передняя доля имеет ясно выраженный характер железы, а задняя, появляющаяся у зародыша позднее, содержит нервные волокна и опорные пункты нервов. В течение этих 200 лет гипотезы и догадки о строении и функции гипофиза сменяли одна другую, и вплоть до XX века физиологи не знали, чему же служит этот необыкновенный орган.

Первыми, кто мог сказать что-либо по этому поводу, были Бернгард Цондек и Зельмар Ашгейм, сообщившие в 1927 г., что им удалось пересадить молодым мышам самкам передние доли гипофиза и вызвать у них преждевременное половое созревание. Это взволновало весь ученый мир, открытие было достойно нобелевской премии. Ныне известно, что в передней доле железы мозгового придатка образуется

вещество или группа веществ, которые способны обеспечивать созревание фолликулов яичников и которые, кроме того, как выяснилось позднее, обуславливают образование желтого тела. Некоторое время спустя те же исследователи открыли в моче беременных женщин гормоны, названные ими пролан А и пролан В. Хотя это не половые гормоны, но они управляют половыми органами и называются поэтому гонадотропами, что означает гормоны, воздействующие на половые железы.

В 1930 г. Корнер открыл гормон, обуславливающий своевременное начало функционирования молочных желез, почему назвал его пролактином.

В передней доле гипофиза содержатся, однако, и другие гормоны. Один из важнейших — это гормон роста. Если изъять у молодого животного переднюю долю железы мозгового придатка, рост приостанавливается, но это можно немедленно устранить, подсадив животному железу в любое место. Если железа поставляет свой гормон слишком щедро, что иногда бывает при опухолях гипофиза, это вызывает общий гигантский рост или же акромегалию — гигантский рост отдельных частей тела, например, костей лица или пальцев. Если у человека заболевает гипофиз в юношеском возрасте, то он становится великаном. Если же гипофиз заболевает позднее, когда рост уже закончен, то могут увеличиться лишь отдельные, уже названные части тела и развивается картина акромегалии. Это установил Карл Бенда, указав, таким образом, путь к избавлению людей от тяжелой болезни, сопровождающейся, кроме всего прочего, сильными головными болями. Спасительным средством против нее является операция, — через нос можно проникнуть к увеличившемуся гипофизу. Венский хирург Юлиус Хохенегг первый произвел такую операцию в 1908 г.

Воздействие передней доли гипофиза как на щитовидную железу, так и на надпочечник подтверждается тем, что если у животного ее удалить, обе эти железы хиреют, тогда как усиление деятельности передней доли ведет к усилению деятельности щитовидной железы и коры надпочечника. Гормон передней доли гипофиза, ведающий корой надпочечника, в последнее время подвергся особенно тщательному изучению. Он называется АСТН (адрено-кортикотропный гормон — adreno-cortico- trophormon).

В передней же доле гипофиза производятся еще, кроме того, гормоны, оказывающие влияние и на обмен веществ. Предполагают, что ожирение нередко обуславливается выработкой чрезмерного количества этих гормонов.

Как уже упоминалось, у гипофиза есть и задняя доля, также выделяющая гормоны в кровь. Насколько до сих пор известно, они

способствуют сокращению гладких мышц. Роженице дают один из этих гормонов для того, чтобы ускорить слишком медленные роды и вызвать необходимые сокращения матки. Другой гормон задней доли повышает кровяное давление, действуя на мышечные волокна кровеносных сосудов. Все это, однако, ни в коей мере не означает, что о гипофизе известно уже все. Кое-что еще должно к этим знаниям добавиться. И гипофиз, и подчиняющийся гипофизу надпочечник состоят из двух частей.

И, подобно тому, как у гипофиза передняя и задняя доля настолько различны по своему развитию и функциям, что их можно рассматривать как два различных органа, наружная часть надпочечника — кора — образование совершенно иного характера, чем внутренняя часть — мозговидное вещество. У низших позвоночных обе эти части совершенно отделены одна от другой и выглядят как два самостоятельных органа. У человека же они находятся совсем рядом, значение железы не зависит от ее размера, в чем можно убедиться на этом маленьком органе — удаление его вызывает смерть через короткий промежуток времени, но это единственная из всех желез внутренней секреции, удаление которой вызывает такие последствия.

Вполне понятно, что врачи древности и средневековья не обратили внимания на надпочечник. Упоминает о нем лишь Евстахий — великий анатом XVI века. В его анатомическом сочинении «*Opuscula anatomica*», вышедшем в 1563 г. в Венеции, приведено хорошее описание надпочечника. Но и после этого не все врачи обращали на него внимание. Например, ванСвитен, выдающийся врач Марии Терезии, игнорировал его.

Однако некоторые врачи интересовались этой маленькой железой. В 1716 г. Академия наук в Бордо организовала конкурс, задачей которого было выявить функцию надпочечника. Он закончился столь безрезультатно, что Монтескье, докладчик по итогам конкурса, которому в то время было 72 года, с отчаянием резюмировал: «Быть может, случай поможет когда-либо ответить на этот вопрос». Случай, однако, заставил ждать себя почти полтора столетия. Лишь в 1855 г. Томас Аддисон описал бронзовую болезнь, названную в честь его аддисоновой, и сказал, что истоки этой смертельной болезни — в надпочечнике. Затем на несколько десятилетий интерес к надпочечнику угас, и лишь в конце столетия научно-исследовательская мысль вновь решила выяснить его тайну.

Здесь следует назвать два имени: Абель и Такаmine. Спор о том, кому из них принадлежит честь открытия, неразрешим. Во всяком случае именно японец Такаmine первым, а именно в 1900 г., выступил перед общественностью со своим препаратом — с крошечными

пучками кристаллов, полученных им из мозговидного слоя надпочечника, которым он дал наименование «адреналин». Но незадолго до этого он побывал в Мичигане у Д. Д. Абеля — физиолога и химика, в течение ряда лет изучавшего надпочечник. Прежде всего Абель стремился выяснить, какие вещества надпочечника обладают свойством повышать давление крови — тем свойством, о котором рассказали польские исследователи. Абель, высушив вещество большого количества овечьих надпочечников, производил с ним опыты над собаками. В 1897 г. он располагал уже довольно чистым препаратом надпочечника, о чем информировал научные общества. Однако японец опередил его и взял патент на адреналин.

С тех пор известно, что адреналин и есть гормон, повышающий кровяное давление, гормон, который надпочечник выводит в кровь. Надпочечник удовлетворяет при этом требования организма, но с другой стороны, его функция определяется также и состоянием нервной системы. Любое волнение способствует тому, что в кровь выбрасывается большое количество адреналина и ее давление повышается. Конечно, благодаря этому открытию возникло предположение, что загадка надпочечника разрешена. В 1904 г. Фридриху Штольцу удалось изготовить адреналин искусственным путем — это был первый гормон, который химики научились искусственно изготавливать точно таким же, каким он существует в природе. Это напоминает искусственное изготовление мочевины Белером, которому еще за восемь десятков лет до того первому удалось произвести в химической лаборатории то, что обычно создается лишь в великой лаборатории живой природы. Таким образом было осуществлено нечто, близкое к открытию Фауста.

Через несколько десятков лет после открытия адреналина догадались, что тайна надпочечника представляет собой комплекс тайн и что прежде всего следует дать различную физиологическую оценку мозговидному веществу и коре надпочечника, а также, что гораздо более интересной для исследователя частью надпочечника является кора. В середине тридцатых годов нашего века началось изучение коры надпочечника. Исследователи подошли к ней с трех сторон, вооруженные микроскопом и всеми принадлежностями химической лаборатории, но самым главным средством познания здесь были питомники, в которых содержались важнейшие подопытные животные — мыши и крысы. Но так как три группы исследователей работали не совместно, а параллельно, случалось, что одно и то же открытие делалось несколькими исследователями, и обнаруженным веществам присваивалось одной группой имя одного исследователя, другой группой — имя другого до тех пор, пока не выяснялось, что речь идет

об одних и тех же продуктах. Важным, однако, было то, что, наконец, обнаружили гормон, нехватка которого вызывала аддисонову болезнь, и что этот гормон обладал свойством излечивать смертельные недуги. Еще большую сенсацию произвело затем открытие Э. К. Кендаллем гормона надпочечника, названного им компаунд Е, а затем кортизон. Этот гормон с необыкновенным успехом применяется при суставном ревматизме, а также и при других болезнях.

Быть может, из коры надпочечника удастся извлечь и еще какие-нибудь гормоны. Во всяком случае эти исследования не закончены. Выше мы говорили, что из всех желез внутренней секреции надпочечная железа единственная, потеря которой приводит к быстрой смерти, но это касается не мозговидного слоя, а коры. При оперативном удалении надпочечника смерть наступает через несколько дней при крайнем упадке сил и параличе дыхания.

Началась эра изучения гормонов, которая привела к изумительным результатам и обогатила медицину не только новой главой ее истории, но и ценнейшими медикаментами, прежде всего благодаря открытию инсулина — гормона поджелудочной железы. Поджелудочная железа человека — весьма крупный орган, расположенный позади желудка и выводящий в кишечник важный для пищеварения сок. Долгое время полагали, что такая характеристика является для поджелудочной железы вполне достаточной, пока в 1869 г., т. е. уже в эпоху микроскопической анатомии — гистологии, Пауль Лангерганс не обнаружил в этой железе клетки совершенно особого рода, расположенные в обособленной части железы, наподобие островков, и названные островками Лангерганса.

Давно уже подозревали, что поджелудочная железа обуславливает сахарную болезнь. Вначале это было лишь предположение — так называемая рабочая гипотеза, но в дальнейшем, когда — прежде всего благодаря русским физиологам — научились производить на животных очень сложные операции, она привела к успешным исследованиям. В 1889 г., т. е. в том же году, когда Броуп-Секар сообщил в Париже о результатах инъекции вытяжки половых желез, Йозеф Меринг и Оскар Минковский сообщили на заседании страсбургского объединения естествоведов и медиков, что, удаляя у собак поджелудочную железу, они вызвали у животных сахарную болезнь. Об этом открытии рассказывают следующее. Когда Минковский удалил у нескольких собак поджелудочную железу, чтобы наблюдать за дальнейшей судьбой животных, подвергшихся этой операции, одна из собак, стоявшая на лабораторном столе, выпустила мочу, которую по какой-то случайной причине забыли вытереть. Войдя на следующее утро в лабораторию, ассистент Минковского увидел на столе немного белого порошка и,

чтобы узнать, что это за порошок, применил простейший метод исследования: попробовал порошок на язык. Тут он обнаружил, что это безусловно сахар. Но каким образом здесь оказался сахар? Тогда вспомнили о помочившейся собаке, и Минковский, узнав об этом, сразу увидел связь между содержанием в моче сахара и операцией удаления поджелудочной железы.

Это было открытие огромной важности, так как оно подтверждало ранее высказанное предположение о том, что поджелудочная железа производит нечто, имеющее решающее значение для потребления организмом сахара, т. е. для сахарного баланса. И когда спустя некоторое время после Минковского и независимо от него Эмануэлю Гедону удалось предохранить собаку, лишенную поджелудочной железы, от сахарной болезни путем пересадки кусочка железы под кожу живота, решение проблемы в значительной степени приблизилось.

Следующий шаг сделал русский ученый Леонид Соболев, который в 1900 г. произвел следующий остроумный опыт: он перевязал выводной проток поджелудочной железы, добившись того, что ткань железы постепенно стала отмирать, — ведь она стала излишней, поскольку полностью лишилась возможности отдавать пищеварительный сок кишечнику. Однако Соболев правильно предположил, что другая часть железы должна была остаться и несомненно отдавать в кровь какое-то вещество, препятствующее возникновению сахарной болезни. Когда он начал вскрывать подопытных животных, то нашел подтверждение своего предположения: часть поджелудочной железы, а именно островки Лангерганса, действительно не отмерли. Так как эти животные не заболели сахарной болезнью, он вправе был сделать вывод, что группы островных клеток и представляют собой разыскиваемый гормональный орган поджелудочной железы.

Это, как уже было сказано, произошло в 1900 г. Однако работу Соболева постигла та же судьба, что и многие труды, написанные на русском языке, — они слишком мало были известны остальному научному миру, вследствие чего открытие инсулина — гормона островков Лангерганса — отодвинулось на несколько лет. В 1920 г. работу Соболева прочитал Мозес Баррон, который и решил повторить его опыты. Результаты полностью подтвердили то, что уже было открыто ранее.

Баррон опубликовал данные своей проверки; именно его работа сдвинула дело с мертвой точки и побудила Бантинга приступить к самостоятельным исследованиям.

Хирург Фредерик Д. Бантинг, читавший в то время лекции в Торонто в Канаде, тотчас же понял суть вопроса. До этого сахарный гормон не удавалось получить, так как в чистом виде он содержится

лишь в живых клетках железы. При удалении же всего органа гормон, повидимому, разрушался под действием другого продукта поджелудочной железы — трипсина, расщепляющего белковые тела; поэтому-то он и имеет такое значение для пищеварения. Таким образом, искомый гормон сахара следовало предохранить от действия пищеварительного секрета, для чего наиболее целесообразным средством была перевязка на живых животных. Бантинг испытал редкое счастье: при разработке плана опытов он обрел поддержку людей, проявивших понимание этого вопроса, прежде всего профессора физиологии Маклода. Иначе и ему, несмотря на отличную идею, не пришлось бы что-либо сделать. Для Бантинга была оборудована лаборатория, в ассистенты ему назначили студента-медика Чарлза Б. Беста, который, несмотря на то, что ему было только двадцать один год, умел отлично производить химические исследования крови. Это было важно, так как все изыскания инсулина стали возможными лишь с появлением совершенных методов исследования крови, главным образом определения содержания в ней сахара. Одними анализами мочи решить этот вопрос было невозможно.

Итак, Бантинг сделал то же, что и Соболев, а потом Баррон: он перевязал у нескольких собак выводной проток поджелудочной железы. Затем он переждал несколько недель, пока та часть поджелудочной железы, которая вырабатывает пищеварительный сок, не сморщилась, подвергшись атрофии. Тогда он умертвил животных, а из остатков поджелудочной железы сделал кашицу и, очищая ее, получил чистую жидкость, после чего начал экспериментировать с этим соком.

Памятным в истории медицины остался тот день 1920 г., когда Бантинг и Бест ввели полученный сок под кожу собаки, у которой была удалена вся поджелудочная железа и которая, казалось, была уже приговорена к смерти от сахарной болезни. Они инъецировали собаку через шейную артерию (*carotis*) и доставили таким образом сок в кровь. Тут-то и наступил решающий момент: если идея Бантинга правильная, то после этой инъекции содержание сахара в крови собаки, заболевшей сахарной болезнью вследствие удаления поджелудочной железы, должно было бы снизиться. Вскоре затем Бест, производивший один за другим анализ крови, радостно воскликнул: «Содержание сахара в крови падает, мы правы!». Да, они были правы, и задача теперь состояла лишь в том, чтобы получить это водянистое вещество, безусловно являющееся гормоном островков Лангерганса, в возможно более чистом виде и применять его у людей, страдающих сахарной болезнью.

Через шесть месяцев это удалось, и чистую, как вода, жидкость, содержащую благословенный гормон — инсулин, можно было вводить людям. Первым получил инсулин 14-летний больной сахарной

болезнью, — известно, как опасен диабет именно для юношей, — доставленный в Торонтскую больницу в том состоянии безпамятства (comadiabeticum), которое обычно означает конечную стадию болезни. Он был спасен, и с тех пор инсулин спас и продлил жизнь сотням тысяч людей, так как сахарная болезнь чрезвычайно распространена, — даже в небольшой стране ею страдают сотни тысяч людей. Все эти больные должны помнить об исследователях, принесших им спасение. Химико-фармацевтическая промышленность успешно совершенствовала препараты инсулина и изыскивала способы облегчения их применения.

Бантинг погиб в 1941 г., через двадцать лет после своего великого открытия: бомбардировщик, на котором он летел из Канады в Англию, был сбит.

Даже после открытия инсулина вопрос о том, каким, собственно, образом возникает сахарная болезнь, почему у некоторых людей лангергансовы клетки перестают действовать, оставался открытым. Решением его занялись многие исследователи. Бернардо Гуссай из Южной Америки обнаружил, что собака, даже если у нее удалить поджелудочную железу, не умирает от сахарной болезни если одновременно удалить ей и гипофиз — железу мозгового придатка. Не поджелудочная железа — панкреас, а железа мозгового придатка — гипофиз играет главенствующую роль; так снова пришли к высшей инстанции всех желез внутренней секреции: слишком много гормона гипофиза — слишком мало гормона поджелудочной железы; отсутствие гормона гипофиза — излишнее количество гормона поджелудочной железы. Загадки не прекращаются, и если одни ворота открываются, то за ними оказываются другие, закрытые на еще более крепкие засовы. Однако эти ворота останутся закрытыми ненадолго.

С инсулином начинается эпоха научного описания гормонов. Когда она закончится, сказать невозможно. Все ли органы, рассматриваемые как железы внутренней секреции, изучены до конца? Кое-какие пробелы, безусловно, еще есть. В конце концов можно, как это делают некоторые исследователи, рассматривать и другие органы в качестве производителей гормонов, оказывающих огромное влияние как на самый орган, так и на весь организм. Быть может, поставщиками гормонов являются сердце, селезенка, печень, все ткани, даже если они и не носят характера желез.

Так, гистамин, полученный искусственным путем в 1907 г. лауреатом нобелевской премии Адольфом Виндаусом, считают гормонообразным веществом. Гистамин влияет в первую очередь на кровообращение на периферии тела. С его помощью расширяются мельчайшие сосуды — капилляры, а там, где его очень много, происходит усиленное кровенаполнение. Несомненно, что, помимо этого,

имеется также связь между гистамином и аллергией — тем состоянием повышенной чувствительности, которое может проявляться в самых различных формах: то в виде крапивной сыпи, выступающей после употребления некоторых пищевых продуктов, то в виде фенной болезни или сенного насморка. Кажется, уже доказано, что гистамин способствует выработке желудочного сока. Действует он всегда на соответствующий орган непосредственно, тогда как другие гормоны воздействуют косвенно, через нервы. Во всяком случае гистамин необходимо тщательно исследовать; уже научились изготавливать антигистамины, т. е. вещества, сопротивляющиеся воздействию гистамина и устраняющие в известных случаях причиненный им вред.

Гистамин был исследован австрийцем Отто Леви и англичанином Генри Дэйлом, которые получили за это в 1936 г. нобелевскую премию; ими были обнаружены все те его свойства, о которых только что шла речь. Леви является также исследователем ацетилхолина — гормона, влияющего на блуждающий нерв, а также на сердечную деятельность, ширину кровеносных сосудов, движения желудка и кишечника, но, возможно, он воздействует и на другие органы.

1. Гормоны тимуса — это группа пептидов продуцируемых эпителиоидными и стромальными клетками тимуса. Они обладают разными биологическими эффектами, но общим у них является свойство влиять на функциональную активность и созревание Т-лимфоцитов. Стимулируют экспрессию различных маркеров дифференцировки Т-клеток. Тимозин — состоит из большого количества компонентов. Наибольшей биологической активностью обладает 5-я фракция тимозина. Под действием тимозина стимулируется лимфопоэз и пролиферация лимфоцитов в тимус-зависимых зонах периферических органов иммунной системы, повышается генерация киллеров. Стимулирует подавленную цитостатиками и кортикостероидами функцию Т-лимфоцитов. тимопоэтин (син. тимин) — способствует дифференцировке Т-лимфоцитов, в частности появлению на их поверхности рецепторов и превращению предшественников в кортикальные Т-лимфоциты. Тимопоэтин состоит из двух фракций (тимопоэтин I и тимопоэтин II), первая из них оказывает так же блокирующий эффект на нервно-мышечную возбудимость. Биологическая активность тимопоэтина связана с пятью аминокислотами, которые называют тимопентин (ТР-5). Искусственно синтезирован пептид из шести аминокислот, который близок к структуре ТР-5 и получил название тимогексинфармпрепарат - иммунофан.

Гомеостатический гормон тимуса — гликопептид, который обладает антагонистическим действием по отношению к

адренкортикальному, тиреотропному, гонадотропному гормонам гипофиза и синергическим действием по отношению к соматотропному гормону на лимфопоэз.

Тимический гуморальный фактор – состоит из 31 аминокислоты, индуцирует миграцию Т-лимфоцитов из селезенки в лимфатические узлы, где способствуют образованию хелперов. Есть данные о том, что этот фактор способствует превращению кортикальных лимфоцитов в медулярные (в тимусе). Впервые он испытан в клинике у больных с опухолями. Лечебные препараты тимических гормонов получают из экстрактов тимуса животных и в настоящее время применяются как природные, так и синтетические аналоги, в частности тимоген, тимозин альфа-1, тактивин, тимактид, вилозен, тимоптин, тимостимулин. Основной их эффект направлен на Т-лимфопоэз. Но также среди них есть препараты оказывающие влияние на гуморальный иммунный ответ. Так вилозен вызывает гиперлимфоцитоз, подавляет продукцию IgE-антител. Подробно о препаратах тимуса вы узнаете на занятиях по клинической иммунологии

В костном мозге образуются различные пептиды, оказывающие влияние на гемопоэз, в том числе и на лимфопоэз. Они открыты российскими учеными Р.В.Петровым и А.А.Михайловой. Ими из костного мозга были выделены пептиды, вызывающие значительное увеличение синтеза антител на пике иммунного ответа. Кроме того, они обладали и другими биологическими эффектами. Этим пептидным биорегулятором костномозгового происхождения дали название - стимулятор антителопродуцентов (сап). В настоящее время он выпускается как лекарственный препарат — миелопид. Помимо фактора усиливающего иммунный ответ, пролиферирующие клетки костного мозга синтезируют медиатор, подавляющий синтез антител, снижающий пролиферативную активность антителопродуцентов. Миелопид эффективно используется в клиниках России при лечении заболеваний, в патогенезе которых существенную роль играют нарушения иммунного или гемопоэтического статуса. Он эффективен при лечении некоторых форм лейкозов, а также для иммунореабилитации лиц, пострадавших от радиационного облучения или прошедших курс химио- и радиотерапии. Миелопид действует мягко, физиологично, не вызывая побочных эффектов (А.А.Михайлова, 1999). В последние годы были выделены, структурно охарактеризованы и синтезированы 6 отдельных миелопептидов (МП). Они обозначаются МП-1, МП-2, МП-3, МП-4, МП-5, МП-6. Каждый из них воспроизводит одну из активностей комплексного препарата (нативной смеси) - миелопида. МП-1 – гексапептид (содержит 6 аминокислот),

обладающий иммунокорректирующими свойствами - он восстанавливает уровень антителообразования у животных, подвергнутых облучению, воздействию цитостатиков. Клеткой-мишенью для МП-1 является CD4+ -клетка, т.е. Т-хелпер. Иммунокорректирующее действие МП-1 связано с его нормализующим влиянием на дисбаланс клеток CD4/CD8, характерный для большинства иммунодефицитных состояний. МП-2 – гексапептид, обладающий противоопухолевыми свойствами. Он восстанавливает активность Т-лимфоцитов, подавленную опухолевыми клетками. Участвует, очевидно, в процессах антиканцерогенеза, протекающих в организме, и, несомненно, перспективен для использования в противоопухолевой терапии. МП-3 – гексапептид, стимулирующий макрофагальный фагоцитоз. Выявлено дозозависимое усиление фагоцитарной активности макрофагов под действием МП-3, а также протективный эффект данного пептида при попадании в организм патогенных бактерий. МП-3 оказывает иммуностимулирующее влияние на макрофагальное звено иммунитета, усиливая захват и элиминацию чужеродных агентов на первом этапе защиты. Это свойство позволяет рассматривать МП-3 как потенциальное противобактериальное средство. Новый фармпрепарат Серамил является синтетическим аналогом эндогенного иммунорегуляторного пептида — миелопептида-3 (МП-3). МП-4 – фактор клеточной дифференцировки. Способствует переходу клеток от пролиферации к дифференцировке (лейкозные клетки превращаются в дифференцированные формы). Два последних МП (5,6) охарактеризованы не столь хорошо. 5 Миелопептиды представляют собой новый класс пептидных регуляторов, которые наряду с тимусными пептидами участвуют в сложной сети регуляторных процессов, обеспечивающих нормальное функционирование организма в целом. Следует подчеркнуть, что МП являются естественными корректорами направленного действия, не вызывают побочных эффектов.

2. В последние годы среди различных эндогенных механизмов иммунорегуляции особое внимание привлекают цитокины. Цитокины – это регуляторные молекулы пептидной природы, продуцируемые в основном активированными (!) лейкоцитами. Цитокины, вырабатываемые лимфоцитами, иногда называются лимфокинами, а вырабатываемые макрофагами — монокинами. Но такое деление условно, т.к. один и тот же цитокин может продуцироваться различными клетками и, как теперь установлено, не обязательно лимфоцитами и макрофагами. Продуцировать цитокины могут клетки соединительной ткани, эпителия и эндотелия, правда, в небольших количествах. По химической структуре цитокины – это низкомолекулярные белки, полипептиды, гликопротеиды, являющиеся

биологически активными молекулами, способными влиять на процессы клеточной пролиферации, дифференцировки и функциональную активность клеток. Они обеспечивают взаимосвязь иммунокомпетентных клеток (между собой), а также связь иммунокомпетентных клеток с клетками других систем организма (гемопоеза, воспаления). Каждый цитокин служит индуктором экспрессии каскада других цитокинов и/или их рецепторов. В условиях *in vivo* почти не встречается изолированной продукции индивидуальных цитокинов. Любой индуктор синтеза цитокинов вызывает продукцию серии разных, но взаимосвязанных молекул. На этом базируется концепция цитокиновой регуляторной сети, которая объединяет позитивные и негативные эффекты самих цитокинов в рамках определенного биологического ответа. Все цитокины действуют на клетку мишень через специфические цитокиновые рецепторы.

Цитокины разделяют на несколько групп:

- Интерфероны (ИНФ) – цитокины с противовирусной активностью;
- Интерлейкины (ИЛ, IL) – факторы взаимодействия между лейкоцитами;
- Факторы некроза опухоли (ФНО / TNF - α , - β);
- Колониестимулирующие факторы (КСФ) – гемопозитические цитокины;
- Хемокины (ХК) – хемотаксические цитокины.
- Факторы роста – регуляторы роста, дифференцировки и активности разных клеток (фактор роста фибробластов; _ _ эпидермиса; _ _ эндотелиальных клеток, трансформирующий фактор роста [ТФР- β]).

3. Простагландины (prostaglandins) [лат. *prosta(ta)* — предстательная железа, от греч. *prostates* — стоящий впереди, лат. *gland(ula)* — железа и лат. *-in(e)* — суффикс, обозначающий «подобный»] — биологически активные вещества, жирные кислоты, имеющие скелет из 20 атомов углерода и содержащие циклопентановое кольцо. Простагландины образуются в организмах большинства животных и человека из незаменимых жирных кислот. Известно около 20 природных простагландинов. Важнейшее физиологическое действие простагландинов — способность вызывать сокращение гладких мышц; кроме того, простагландины активируют деятельность нервной системы, оказывают противозачаточное действие, регулируют выделение желудочного сока и др. Термин «Простагландины» предложен У. фон Эйлером (Нобелевская премия за 1970 г.). За открытия, касающиеся простагландинов и близких к ним биологически активных веществ, С. Бергстрем, Б. Самуэльсон и Дж. Вейн были удостоены Нобелевской премии за 1982 г.

Простагландины стали объектом большого интереса эндокринологов сразу же после их открытия, потому что они исходно были выделены из семенной жидкости, и с тех пор полагалось, что они участвуют во многих репродуктивных процессах. Эти 20-углеродные жирные кислоты были названы простагландинами, исходя из предположения, что они возникают в простате, но в действительности оказалось, что они образуются в семенных пузырьках. Их образование ни в коей мере не ограничивается также семенной жидкостью или даже репродуктивной системой; теперь известно, что простагландины продуцируются буквально всеми тканями.

Эффекты, вызываемые действием простагландинов на иммунную систему, разнообразны. Наиболее изученным и, как правило, наиболее биологически активным из простагландинов является ПГ-Е₂. Этот простагландин индуцирует дифференцировку незрелых тимоцитов, В-лимфоцитов и клеток-предшественников гематопоэза, а также приобретение ими функциональных, морфологических и иммунологических свойств зрелых лимфоцитов или кроветворных клеток. Так, добавление экзогенного ПГ-Е₂ к тимоцитам *in vitro* приводит к увеличению содержания сАМР и вызывает пролиферацию тимоцитов. Другие агонисты сАМР действуют аналогичным образом. ПГ-Е₂ увеличивает также число эмбриональных тимоцитов мышей, несущих дифференцировочный антиген Т_бу-1. ПГ-Е₂ влияет на эритропоэз, действуя непосредственно на предшественник эритроцитов и освобождая эритропоэтин из почек. Тем не менее ПГ-Е₂ стимулирует не все незрелые клетки. Образование колоний макрофагов и Т-клеток заметно ингибируется ПГ-Е₂. ПГ-Е₂ может также влиять на дифференцировку более зрелых клеток, о чем свидетельствуют опыты по индукции секреции коллагеназы практически зрелыми моноцитами.

ПГ-Е₂ ингибирует многие функции зрелых лейкоцитов. Он подавляет: а) пролиферацию Т- и В-клеток; б) хемотаксис, хемокинез, агрегацию, распластывание и реакции окисления лейкоцитов; в) цитотоксичность, обусловленную природными киллерами или Т-клетками; г) высвобождение медиаторов воспаления

2. Клиническое значение гормонов и медиаторов иммунной системы.

Они имеют практическое значение. Известно, н/р, что нормальная работа инсультного аппарата чрезвычайно важна для реализации фагоцитарной и антителосинтезирующей функций. При диабете развивается выраженный иммунодефицит. Кортикостероиды широко используются в качестве иммунодепрессантов и

противовоспалительных средств. В тоже время половые гормоны имеют малое, фактически нерегистрируемое значение для функционирования иммунной системы. В настоящее время клиническое использование различных цитокинов и их антагонистов получает все большее распространение. Цитокиновая и антицитокиновая терапия применяются при лечении онкологических, аутоиммунных, аллергических, и инфекционных заболеваний, а также при трансплантации. Многие инфекционные, аллергические и аутоиммунные заболевания сопровождаются развитием воспалительной реакции, зачастую переходящей в хроническую форму. В качестве естественных ингибиторов противовоспалительных цитокинов при лечении воспалит. Процессов используют препараты ИЛ-4,10 GTF- β , растворимые фрагменты рецепторов для ИЛ-1 и TNF- α .

Исследования механизмов генетического контроля силы иммунного ответа привели к достаточно конкретному заключению: сила иммунного ответа на специфический антиген зависит от работы одного аутосомного доминантного гена; фенотипическим продуктом такого гена являются молекулы II класса МНС; клеточным типом, экспрессирующим этот ген, являются антигенпрезентирующие клетки. В тех случаях, когда конформационные особенности антигенраспознающего участка молекул II класса МНС соответствуют структуре антигена (точнее антигенным эпитопам), образуется иммуногенный комплекс, экспрессирующийся на поверхности антигенпрезентирующих клеток, что и обеспечивает развитие иммунного ответа. Напротив, неспособность молекул II класса МНС особей определенного генотипа взаимодействовать с антигенными пептидами будет причиной иммунной ареактивности. Однако, достигнутые к настоящему времени значительные успехи в выяснении вопросов регуляции иммунного ответа показывают, что генетически иммунный ответ зависит не только от относящихся к МНС генов. К числу факторов, влияющих на иммунный ответ, относятся и гены, не сцепленные с МНС. К примеру, тяжелый комбинированный иммунодефицит обусловлен отсутствием гена рекомбиназы, а недостаточность адгезии лейкоцитов возникает вследствие мутаций гена, кодирующего субъединицу бета1-интегрин, и вызванного ими нарушения экспрессии LFA-1, CR3 и CR4. Крупным успехом в изучении генетических основ иммунной патологии стало картирование локусов, регулирующих предрасположенность к инсулинзависимому сахарному диабету (в основном на мышях линии NOD). У этих мышей картировано по меньшей мере 15 генетических локусов, и только один из них сцеплен с МНС в хромосоме 17. Предполагается, что этот ген

кодирует молекулы МНС класса II. Макрофаги играют важнейшую роль в иммунной системе. Поэтому гены, регулирующие их активность, могут также определять результат многих иммунных реакций. В целом гены, расположенные вне области МНС и регулирующие иммунный ответ, отличаются меньшим полиморфизмом, в связи с чем их вклад в определение чувствительности к заболеваниям не столь велик, как генов МНС.

Тканевая несовместимость (histoincompatibility) - Отсутствие сходства между тканями донора и реципиента, приводящее к отторжению (с участием иммунной системы реципиента) клеток, тканей или органов донора после трансплантации. Как и тканевая совместимость, тканевая несовместимость определяется антигенами гистосовместимости клеток двух особей.

Иммуногенетика, комплексная научная дисциплина, сочетающая методы иммунологии, молекулярной биологии и генетики для изучения наследственных факторов иммунитета, внутривидового разнообразия и наследования тканевых антигенов, генетических и популяционных аспектов взаимоотношений макро- и микроорганизма и тканевой несовместимости.

Перенесение генетических представлений в область иммунологии позволило советскому учёному В. П. Эфроимсону сформулировать эволюционно-генетическую концепцию иммуногенеза, объясняющую внутривидовое антигенное разнообразие и гетерогенность антител по специфичности. Каждая здоровая зрелая в иммунологическом отношении особь способна к иммунному ответу на тканевые антигены особи с другим генотипом. Таким образом, тканевая несовместимость — универсальная биологическая закономерность. Лишь однояйцевые близнецы и животные одной чистой линии не разделены барьером тканевой несовместимости, выраженность которой зависит от степени несходства генотипов донора и реципиента. Для успешных пересадок органов и тканей, переливаний крови и клеток костного мозга очень важно снизить до минимума величину этого несходства путём подбора совместимого донора. Изучение клеточных антигенов, их наследования и разнообразия, их обнаружение (типирование) — это те разделы Иммуногенетики, которые особенно важны для трансплантологии, трансфузиологии, иммуногематологии и клинической иммунологии.

Антигены гистосовместимости.

При пересадках органов возникает проблема совместимости тканей, связанная со степенью их генетического родства, реакциями отторжения чужеродных *аллогенных* и *ксеногенных* трансплантатов, т.е. проблемами трансплантационного иммунитета. Существует ряд тканевых антигенов. Трансплантационные антигены во многом

определяют индивидуальную антигенную специфичность организма. Совокупность генов, определяющих синтез трансплантационных антигенов, получила название главной системы гистосовместимости. У людей она часто называется системой HLA (Humanleucocyteantigens), в связи с четким представительством на лейкоцитах трансплантационных антигенов. Гены этой системы расположены на коротком плече хромосомы С6. Система HLA- это система сильных антигенов. Спектр молекул МНС уникален для организма, что определяет его биологическую индивидуальность и позволяет различать “чужое- несовместимое”.

Главный комплекс гистосовместимости (ГКГС, англ. МНС, *majorhistocompatibilitycomplex*) — большая область генома или большое семейство генов, обнаруженное у позвоночных и играющее важную роль в иммунной системе и развитии иммунитета. Главный комплекс гистосовместимости является регионом с одной из самых высоких плотностей локализации генов. Гены комплекса кодируют белки, локализующиеся на клеточной мембране. Они обеспечивают представление (презентацию) фрагментов антигенов микроорганизмов, попадающих в организм, Т-лимфоцитам, которые уничтожают зараженные клетки или стимулируют другие клетки (В-клетки и макрофаги), что обеспечивает координацию действий различных клеток иммунной системы в подавлении инфекции. У человека главный комплекс гистосовместимости находится в хромосоме б и исторически называется Человеческий лейкоцитарный антиген.

Открытие МНС произошло при исследовании вопросов внутривидовой пересадки тканей.

Затем, первоначально в гипотетической, на основании клеточной феноменологии, а затем в экспериментально хорошо документированной форме с использованием методов молекулярной биологии было установлено, что Т-клеточный рецептор распознает не собственно чужеродный антиген, а его комплекс с молекулами, контролируемые генами главного комплекса гистосовместимости. При этом и молекула МНС и фрагмент антигена контактируют с Т - клеточным рецептором.

МНС кодирует два набора высокополиморфных клеточных белков, названных молекулами МНС класса I и класса II. Молекулы класса I способны связывать пептиды из 8-9 аминокислотных остатков, молекулы класса II- несколько более длинные.

Высокий полиморфизм молекул МНС, а также способность каждой антигенпрезентирующей клетки (АПК) экспрессировать несколько разных молекул МНС обеспечивают возможность

презентации Т-клеткам множества самых различных антигенных пептидов.

Следует отметить, что хотя молекулы МНС и называются обычно антигенами, они проявляют антигенность только в том случае, когда распознаются иммунной системой не собственного, а генетически иного организма, например, при аллотрансплантации органов.

Наличие в МНС генов, большинство из которых кодирует иммунологически значимые полипептиды, заставляет думать, что этот комплекс эволюционно возник и развивался специально для осуществления иммунных форм защиты.

Существуют еще и молекулы МНС класса III, но молекулы МНС класса I и молекулы МНС класса II являются наиболее важными в иммунологическом смысле.

Главный комплекс гистосовместимости характеризуется крайне выраженным полиморфизмом. Ни одна другая генетическая система организма не имеет такого количества аллельных форм как гены МНС.

Долгое время биологический смысл столь выраженного полиморфизма оставался непонятным, хотя какое-то селективное значение такой аллельной изменчивости было очевидным. Впоследствии было доказано, что подобный полиморфизм прямо связан с процессом презентации антигенных детерминант Т-клеткам.

С полиморфизмом антигенов МНС связано такое явление, как генетический контроль иммунного ответа. В тех случаях, когда аминокислотные остатки, образующие антигенсвязывающую щель у молекул II класса, не в состоянии связать пептидный фрагмент чужеродного антигена, Т-хелперы остаются ареактивными, и их помощь В-клеткам не реализуется. Это обстоятельство и является причиной генетически детерминированного дефекта в иммунном реагировании.

Основные события, которые привели к формированию разнообразия генов МНС в процессе эволюции связаны с тандемными дупликациями, точечными мутациями, рекомбинациями и конверсией генетического материала. Тандемные дупликации (процесс повторения исходного гена на той же самой хромосоме) хорошо известны для многих генетических систем, контролирующих синтез белков, например, иммуноглобулинов. Именно в результате этого процесса возникло несколько полигенных форм молекул МНС. Спонтанные замены отдельных нуклеотидов в процессе редупликации ДНК (точечные мутации) также хорошо известны, они приводят к формированию аллельных генов, которые также определяют полиморфизм белков. Рекомбинации между отдельными участками гомологичных хромосом в процессе мейоза могут привести к обмену как целых участков этих хромосом, так и отдельных генов и даже

частей генов. В последнем случае процесс называется генной конверсией. Мутации, рекомбинации и конверсия генов создают многообразие их аллельных форм и определяют полиморфизм антигенов МНС.

Такая высокая степень полиморфизма имеет потенциальную ценность для выживания вида, и именно благодаря ей весь вид не становится жертвой мимикрии микробов, при которой они экспрессируют структуры, близкие по конформации к продуктам МНС. Т-клетки, способные распознать неповторимую индивидуальную комбинацию специфичностей собственного организма, оказываются в состоянии реагировать на продукты такой мимикрии, как на чужеродные. Кроме того, возможно, что столь высокий сбалансированный полиморфизм продуктов МНС обеспечивает более широкое разнообразие антигенов, распознаваемых иммунной системой данного вида, а также гетерозиса (гибридной силы), поскольку у гетерозигот возникает максимальная комбинаторика аллелей. Братья и сестры имеют один шанс из четырех быть идентичными по антигенам МНС.

Роль мутаций и рекомбинаций генов в возникновении патологии у животных. Мутации, представляющие собой стойкие изменения в структуре ДНК, хромосом и количественном составе кариотипа, постоянно и с определенной частотой возникают в популяциях животных. Фенотипические мутации нередко проявляются в виде врожденных уродств (аномалий), смертности, снижении жизнеспособности и устойчивости к болезням, нарушении воспроизводительной функции. В популяциях сельскохозяйственных животных в процессе длительного их существования накоплен определенный груз вредных рецессивных мутаций и aberrаций хромосом. Для профилактики распространения вредных мутаций прежде всего необходима организация учета всех форм патологии животных. Генетический контроль (мониторинг) вредных мутаций должен включать тщательный клинический анализ болезней и уродств, экспертизу происхождения аномальных животных, выяснение роли наследственности в их этиологии. Значение проблемы генетического мониторинга в современном животноводстве связано с рядом обстоятельств. Так, в связи с использованием искусственного осеменения постоянно сокращается число производителей. Следовательно, степень влияния каждого из них на генофонд стада, распространение наследственных дефектов значительно увеличилась. Поэтому при организации крупномасштабной селекции важное значение приобрела оценка генотипов быков, хряков, баранов,

используемых в интенсивном воспроизводстве. Контроль воспроизводительных способностей производителей общепринятыми методами по качеству потомства не дает полных сведений о возможности генетического влияния их на оплодотворяемость, эмбриональную смертность, рождение аномального и нежизнеспособного, подверженного заболеваниям потомства. Ситуация осложняется тем, что большинство аномалий и уродств — это рецессивно наследуемые генные мутации, фенотипически проявляющиеся только в гомозиготном состоянии. Такие наследуемые хромосомные аномалии проявляются лишь у взрослых дочерей производителей в виде гибели эмбрионов.

Для проверки производителей на носительство скрытых генетических дефектов и элиминации их из воспроизводства необходимы регистрация всех случаев уродств и аномалий, контроль состояния структуры и функции хромосом.

Организация мониторинга в животноводстве позволяет контролировать уровни мутагенов в окружающей среде, их влияние на хромосомный аппарат, рост, развитие и продуктивность животных, осуществлять профилактику распространения генетической патологии.

Генетический груз популяций животных представлен широким спектром не только генных мутаций, но и aberrаций хромосом в виде количественных изменений в кариотипе — анеуплоидия (полиплоидия, гиперплоидия, гипоплоидия) и структурных перестроек (транслокации хромосом, инверсии, делеции, нехватки, дубликации и др.). Избыток или недостаток хромосом у индивидуума, как правило, приводит к его гибели еще в период эмбрионального развития. Исключения составляют носители моносомии, трисомии и некоторых других вариантов анеуплоидии по половым хромосомам, которые выживают, но являются бесплодными.

Сами живые носители структурных перестроек хромосом не имеют выраженных фенотипических отклонений. Однако в гаметогенезе у них формируются половые клетки с несбалансированным набором хромосом, дающие начало нежизнеспособным эмбрионам, что является причиной снижения уровня воспроизводительной функции. Эти aberrации, являясь сбалансированной частью хромосомных мутаций, передаются по наследству.

Тема №4 - Иммунологическая толерантность. Теории иммунитета. Модельные системы в фундаментальной и прикладной иммунологии.

1. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ, СИСТЕМАТИЗАЦИЯ.

Иммунологическая толерантность - состояние организма, при котором иммунная система устойчиво воспринимает чужеродный антиген, как собственный и не отвечает на него.

Толерантность - то есть неотвечаемость, терпимость.

Ауто толерантность - это естественная иммунологическая толерантность организма к собственным тканям, формирующаяся в результате эмбрионального развития. Ф. М. Бернет впервые сформулировал представление о «своём» и «не своём» в рамках иммунологии. В соответствии с его представлениями «своё» с точки зрения иммунной системы организма — это комплекс макромолекул, который находился в контакте с иммунной системой в период её становления. Незрелые лимфоциты реагируют на связывание их антиген распознающего рецептора не активацией, как зрелые клетки, а гибелью. В результате в процессе онтогенеза происходит гибель (делекция) клонов, специфичных к аутоантителам (чувствительных к собственным тканям). Нарушение иммунной толерантности к собственным антигенам приводит к развитию аутоиммунных заболеваний.

В 1953 году Р. Medawar, R. Billingham и L. Brent в периоде эмбрионального развития ввели новорожденным белым мышам (реципиентам) суспензию клеток костного мозга от другой линии мышей — чёрных (доноров). На втором месяце жизни линии белых мышей производили пересадку кожи от мышей чёрных и лоскут не отторгался (что происходило в течение 10-12 суток в контрольных опытах). Толерантность, наблюдаемая П. Медаваром, существовала, пока донорский костный мозг персистировал в организме реципиента. Если со временем он отторгался, то исчезала и толерантность к одноименным кожным трансплантатам. В 1960 г. П. Медавар и Ф. Бернет получили Нобелевскую премию.

Толерагенность — альтернатива индукции иммунного ответа. Развивается вследствие введения высоких доз белков или полисахаридов, обладающих мономерностью и безагрегатностью (для чего белковые растворы подвергаются ультрацентрифугированию), а также имеющих относительно низкую молекулярную массу и высокую эпитопную плотность. То есть одни и те же вещества могут выступать как в качестве иммуногенов, так и в противоположном качестве — толерогенов. Также важную роль в развитии отсутствия иммунного

ответа играет наличие у иммунных клеток необходимого рецепторного аппарата.

Не всякое отсутствие иммунного ответа организма на определённый антиген является толерантностью. Например, отсутствие иммунного ответа на антигены малярийного плазмодия у людей, не имеющих в своем геноме определённого аллеля определённого гена МНС (а именно HLA-B53), имеет следствием отсутствие иммунного ответа на малярийный плазмодий. Но это не иммунологическая толерантность, потому что лимфоцитам таких людей даже и не предоставляется возможность попробовать распознать антигены малярийного плазмодия, поскольку не образуются комплексы антиген—МНС, факт распознавания антигена вообще отсутствует. Хотя специфичность отсутствия иммунного ответа по антигену в данном случае есть, но за пределами иммунной системы. Поэтому об иммунологической толерантности говорить нелогично.

Иммунологическую толерантность так же нельзя путать с иммунологической супрессией, при которой подавляется уже состоявшийся иммунный ответ (например, физиологическая иммуносупрессия развивающаяся в определённое время после начала инфекционного заболевания). При толерантности продуктивная активация антигенспецифичного клона лимфоцитов и не начинается. При супрессии продуктивная активация клона начинается, реализуется, затем подавляется. Механизмы супрессии по названию те же, что и механизмы толерантности — делеция клона апоптозом или ингибция внутриклеточного метаболизма сигналами с тормозных рецепторов (имеющих ITIM), но происходят эти два процесса (толерантность и супрессия) совсем на разных этапах лимфопоэза и иммуногенеза лимфоцитов, следовательно, по крайней мере, они нетождественны.

2.История иммунологии.

Эволюция формировала систему иммунитета около 500 млн. лет. Этот шедевр природы восхищает нас красотой гармонии и целесообразностью. Настойчивое любопытство ученых разных специальностей раскрыло перед нами закономерности ее функционирования и создало в последние 110 лет науку "Медицинская иммунология".

Начало развития иммунологии относится к концу XVIII века и связано с именем Э. Дженнера, впервые применившего на основании лишь практических наблюдений впоследствии обоснованный теоретически метод вакцинации против натуральной оспы.

Открытый Э. Дженнером факт лег в основу дальнейших экспериментов Л.Пастера, завершившихся формулировкой принципа

профилактики от инфекционных заболеваний - принцип иммунизации ослабленными или убитыми возбудителями.

Развитие иммунологии долгое время происходило в рамках микробиологической науки и касалось лишь изучения невосприимчивости организма к инфекционным агентам. На этом пути были достигнуты большие успехи в раскрытии причины ряда инфекционных заболеваний. Практическим достижением явилась разработка методов диагностики, профилактики и лечения инфекционных заболеваний в основном путем создания различного рода вакцин и сывороток. Многочисленные попытки выяснения механизмов, обуславливающих устойчивость организма против возбудителя, увенчались созданием двух теорий иммунитета - фагоцитарной, сформулированной в 1887 году И.И.Мечниковым, и гуморальной, выдвинутой в 1901 году П.Эрлихом.

Начало XX века - время возникновения другой ветви иммунологической науки - иммунологии неинфекционной. Как отправной точкой для развития инфекционной иммунологии явились наблюдения Э. Дженнера, так для неинфекционной - обнаружение Ж. Борде и Н. Чистовичем факта выработки антител в организме животного в ответ на введение не только микроорганизмов, а вообще чужеродных агентов. Свое утверждение и развитие неинфекционная иммунология получила в созданном И.И.Мечниковым в 1900 г. учении о цитотоксинах - антителах против определенных тканей организма, в открытии К. Ландштейнером в 1901 году антигенов человеческих эритроцитов.

Результаты работ П. Медавара (1946) расширили рамки и привлекли пристальное внимание к неинфекционной иммунологии, объяснив, что в основе процесса отторжения чужеродных тканей организмом лежат тоже иммунологические механизмы. И именно дальнейшее расширение исследований в области трансплантационного иммунитета привлекло к открытию в 1953 году явления иммунологической толерантности - неответственности организма на введенную чужеродную ткань.

Стало очевидным, что организм очень точно различает "свое" и "чужое", а в основе реакций, возникающих в нем в ответ на введение чужеродных агентов (вне зависимости от их природы), лежат одни и те же механизмы. Изучение совокупности процессов и механизмов, направленных на сохранение постоянства внутренней среды организма от инфекций и других чужеродных агентов - иммунитета, лежит в основе иммунологической науки (В.Д.Тимаков, 1973 г.).

Вторая половина XX века ознаменовалась бурным развитием иммунологии. Именно в эти годы была создана селекционно-

клональная теория иммунитета, вскрыты закономерности функционирования различных звеньев лимфоидной системы как единой и целостной системы иммунитета. Одним из важнейших достижений последних лет явилось открытие двух независимо работающих механизмов в специфическом иммунном ответе. Один из них связан с так называемыми В-лимфоцитами, осуществляющими гуморальный ответ (синтез иммуноглобулинов), другой - с системой Т-лимфоцитов (тимусзависимых клеток), следствием деятельности которых является клеточный ответ (накопление высокочувствительных лимфоцитов). Особенно важным является получение доказательств существования взаимодействия этих двух видов лимфоцитов в иммунном ответе.

Результаты исследований позволяют утверждать, что иммунная система - важное звено в сложном механизме адаптации человеческого организма, а его действие в первую очередь направлено на сохранение антигенного постоянства внутренней среды организма, нарушение которого может быть обусловлено проникновением в организм чужеродных антигенов (инфекция, пересадка органов) или изменение качества собственных тканей.

Таким образом, даже краткий экскурс в историю развития иммунологии позволяет оценить роль этой науки в решении ряда медицинских и биологических проблем. Инфекционная иммунология - прародительница общей иммунологии - стала в настоящее время только ее ветвью.

Теории иммунитета:

1) Теория иммунитета Мечникова - теория, согласно которой решающая роль в антибактериальном иммунитете принадлежит фагоцитозу.

Сначала И.И.Мечников как зоолог экспериментально изучал морских беспозвоночных фауны Черного моря в Одессе и обратил внимание на то, что определенные клетки (целоциты) этих животных поглощают инородные субстанции (твердые частицы и бактерий), проникшие во внутреннюю среду. Затем он увидел аналогию между этим явлением и поглощением белыми клетками крови позвоночных животных микробных тел. Эти процессы наблюдали и до И. И. Мечникова другие микроскописты. Но только И. И. Мечников осознал, что это явление не есть процесс питания данной единичной клетки, а есть защитный процесс в интересах целого организма. И. И. Мечников первым рассматривал воспаление как защитное, а не разрушительное явление. Против теории И.И.Мечникова в начале XX в. были большинство патологов, так как они наблюдали фагоцитоз в очагах воспаления, т.е. в больных местах, и считали лейкоциты (гной) болезнетворными, а не защитными клетками. Более того, некоторые

полагали, что фагоциты — разносчики бактерий по организму, ответственные за диссеминацию инфекций. Но идеи И.И.Мечникова устояли; ученый назвал действующие таким образом защитные клетки "пожирающими клетками". Его молодые французские коллеги предложили использовать греческие корни того же значения. И.И.Мечников принял этот вариант, и появился термин "фагоцит". Эти работы и теория Мечникова чрезвычайно понравились Л. Пастеру, и он пригласил Илью Ильича работать в свой институт в Париже.

Мечников выявил три важных свойства фагоцитов:

- Защищающее и очищающее свойство от токсинов, продуктов отмирания тканей, от инфекций;
- Представляющая функция антигенов на мембране клетки;
- Секреторное свойство, позволяющее выделять секреты ферментов других биологических веществ.

Опираясь на эти три свойства фагоцитов, можно описать фагоцитоз, как три стадии:

- хемотаксис;
- адгезия;
- эндоцитоз;

В клетках происходит процесс опсонизации составляющих фагоцитоза. Опсоины фиксируются на частицах и являются связующим звеном с фагоцитирующей клетки. Главные опсоины – это составляющие комплемента и иммуноглобулины. Это придает клетке высокую чувствительность к фагоцитам и способствует их уничтожению.

Эндоцитоз способствует образованию фагоцитарной вакуоли — фагосомы. Гранулы макрофагов и азурофильные и специфические гранулы нейтрофила перемещаются к фагосоме, и объединяются с ней, выделяя свое содержимое в ткань фагосомы.

Поглощение – это сложный внутриклеточный процесс, который усиливают АТФ-генерирующие механизмы, специфический гликолиз и окислительное фосфорилирование в макрофагах.

В нейтрофилах есть некоторое количество режимов микробоцидности. Кислородозависимое устройство заключается в увеличении поглощения кислорода и глюкозы с синхронным изгнанием биологически активных неустойчивых результатов возобновления подачи кислорода. Кислородонезависимый механизм объединен с живостью ключевых катионных белков и лизосомальных ферментов, выливающих в фагосому при дегрануляции.

2) Теория иммунитета Эрлиха — одна из первых теорий антителообразования, согласно которой у клеток имеются

антигенспецифические рецепторы, высвобождающиеся в качестве антител под действием антигена.

В статье Пауля Эрлиха противомикробные вещества крови автор назвал термином "антитело", так как бактерий в то время называли термином "korper" — микроскопические тельца. Но П. Эрлиха "посетило" глубокое теоретическое прозрение. Несмотря на то, что факты того времени свидетельствовали, что в крови неконтактировавшего с конкретным микробом животного или человека не определяются антитела против данного микроба, П. Эрлих каким-то образом осознал, что и до контакта с конкретным микробом в организме уже есть антитела в виде, который он назвал "боковыми цепями". Как мы теперь знаем, это именно так, и "боковые цепи" Эрлиха — это подробно изученные в наше время рецепторы лимфоцитов для антигенов. Позже этот же образ мыслей П. Эрлих "применил" к фармакологии: в своей теории химиотерапии он предполагал существование в организме рецепторов для лекарственных веществ. В 1908 г. П. Эрлиху вручили Нобелевскую премию за гуморальную теорию иммунитета.

3) Теория иммунитета Безредки - теория, объясняющая защиту организма от ряда инфекционных болезней возникновением специфической местной невосприимчивости клеток к возбудителям.

4) Инструктивные теории иммунитета — общее название теорий антителообразования, согласно которым ведущая роль в иммунном ответе отводится антигену, прямо участвующему в качестве матрицы при формировании специфической конфигурации антидетерминанты либо выступающему в качестве фактора, направленно изменяющего биосинтез иммуноглобулинов плазматическими клетками.

Условия формирования и поддержания естественной толерантности.

Естественная толерантность иммунитета развивается по отношению к аутоантигенам. Состояние естественной толерантности развивается до рождения. Поскольку в это время лимфоциты функционально незрелы, то для развития толерантности необходимо длительное присутствие Аг в организме. Природа этих Аг может быть различной, ими могут быть даже микробные продукты. Попав в организм в период иммунной некомпетентности, они впоследствии воспринимаются как собственные Аг. Этим объясняется трудность развития естественной толерантности во взрослом состоянии.

Толерантность.

Искусственная толерантность.

Искусственная толерантность может индуцироваться различными веществами, попавшими в организм в начальном периоде

постнатального развития. Такие вещества называют толерогенами. Толерогенами могут быть практически любые Аг, но толерантность легче развивается при попадании в организм растворимых и низкомолекулярных Аг. Высокоиммуногенные Аг реже вызывают состояние толерантности, по сравнению с малоиммуногенными. Чем больше генетических различий между реципиентом и толерогеном, тем труднее формируется толерантность.

Практическое значение толерантности.

Степень проявления иммунологической толерантности существенно зависит от ряда свойств макроорганизма и толерогена.

Важное значение в индукции иммунологической толерантности имеют доза антигена и продолжительность его воздействия. Различают высокодозовую и низкодозовую толерантность. Высокодозовую толерантность вызывают введением больших количеств высококонцентрированного антигена. Низкодозовая толерантность, наоборот, вызывается очень малым количеством высокомолекулярного молекулярного антигена.

Механизмы толерантности многообразны и до конца не расшифрованы. Известно, что ее основу составляют нормальные процессы регуляции иммунной системы. Выделяют три наиболее вероятные причины развития иммунологической толерантности:

- Элиминация из организма антигенспецифических клонов лимфоцитов.
- Блокада биологической активности иммунокомпетентных клеток.
- Быстрая нейтрализация антигена антителами.

Феномен иммунологической толерантности имеет большое практическое значение. Он используется для решения многих важных проблем медицины, таких как пересадка органов и тканей, подавление аутоиммунных реакций, лечение аллергий и других патологических состояний, связанных с агрессивным поведением иммунной системы.

Тема №5 - Теории иммунитета

Теории иммунитета. Разработка теорий иммунитета. Фагоцитарная теория иммунитета. И.И. Мечников. Выявление роли патогенных микроорганизмов в развитии инфекционных болезней, возможность искусственного создания невосприимчивости подтолкнули к изучению факторов защиты организма от инфекционных агентов. Пастер предложил теорию истощенной силы; согласно этой теории «невосприимчивость» представляет состояние, при котором организм человека (как питательная среда) не поддерживает развитие микробов. Однако автор быстро понял, что его теория не может объяснить ряд наблюдений. В частности, Пастер показал, что если заразить курицу сибирской язвой и держать её ноги в холодной воде, то у неё развивается заболевание (в обычных условиях куры невосприимчивы к сибирской язве). Развитие феномена обуславливало снижение температуры тела на 1-2°C, то есть ни о каком истощении питательной среды в организме речь идти не могла.



Фагоцитарная теория иммунитета. И.И. Мечников В 1883 г. появилась теория иммунитета, опирающаяся на эволюционное учение Чарльза Дарвина и основанная на изучении пищеварения у животных, располагающихся на разных ступенях биологического развития. Автор новой теории, И. И. Мечников, обнаружил сходство внутриклеточного переваривания веществ у амёб, клеток энтодермы кишечнорастворительных и некоторых клеток мезенхимного происхождения (моноцитов крови, тканевых макрофагов). Мечников ввёл термин «фагоциты» [от греч. phages, поедать, + kytos, клетка], а позднее предложил разделять их на микрофаги и макрофаги. Такому разделению способствовали и достижения П. Эрлиха, дифференцировавшего посредством окраски несколько типов лейкоцитов. В классических работах по сравнительной патологии воспаления И.И. Мечников доказал роль фагоцитирующих клеток в элиминации патогенов. В 1901 г. в Париже вышел его монументальный итоговый труд «Невосприимчивость в инфекционных болезнях».

Гуморальная теория иммунитета. Г.Н. Габричевский. Пауль Баумгартен. Элмроз Райт. Теория естественного отбора. Н.К. Йерне Ещё до появления фагоцитарной теории англичане Т. Льюис и Д. Каннигэм в 1876 г. доказали, что кровь некоторых животных способна противостоять брожению. Позднее было установлено, что плазма и

сыворотка крови способны уничтожать— склеивать (агглютинировать) и осаждать (преципитировать) микробы; эта способность возрастает после вакцинации. Как выяснилось, не только бактерии и их продукты, но и другие вещества (их назвали Аг) способны вызывать выработку особых веществ (их назвали АТ), ответственных за агглютинацию и преципитацию. Отсюда вытекало, что помимо фагоцитоза организм обладает и другими способами защиты от микроорганизмов. Критику фагоцитарной теории начал Г.Н. Габричевский, доказавший, что решающую роль в элиминации возбудителя возвратной лихорадки играет сыворотка крови, а не фагоциты. П. Баумгартен и Г. Наттелл показали справедливость этого положения по отношению к сибирской язве. Э. Райт обнаружил АТ, стимулирующие фагоцитарные реакции и назвал их опсонинами. Положение о ведущей роли АТ в невосприимчивости поддержал Р. Кох выдвинувший гуморальную теорию иммунитета. Poleмика между сторонниками обеих теорий (фагоцитарной, или клеточной, и гуморальной) переросла в настоящую «войну», в которой мишенями часто становились её участники, а не теории. Позднее учёные поняли, что к познанию функций иммунной системы во всей их сложности нельзя подходить па основе взаимоисключающих положений, а правильный путь включает сопоставление и осмысление открытий, часто кажущихся противоречивыми, но согласующихся по сути.

Сам И.И. Мечников впоследствии так охарактеризовал иммунитет: «Под невосприимчивостью к заразным болезням надо понимать общую систему явлений, благодаря которым организм может выдержать нападение болезнетворных микробов».

Шведский иммунолог Н.К. Йерне (1955) предложил теорию естественного отбора. Согласно этой теории каждая клетка синтезирует большой ассортимент АТ; некоторые из них могут быть комплементарными проникшему Аг, то есть Аг — не индуктор иммунного ответа, а селектирующий фактор. Более прогрессивной оказалась теория Н.Ф. Гамалеи (1928), согласно которой АТ появляются только после контакта с Аг и образующего на АТ некие «отпечатки». Последние, отрываясь от клетки, циркулируют в крови и, будучи негативом Аг, связывают его. Это положение развили Ф. Брейнль, К. Ландштайнер, Л. Полинг и Ф. Горовиц, предложившие теорию «прямой матрицы». Авторы рассматривали АТ как «глобули но вые молекулы, изменяющиеся под влиянием Аг, то есть каждый Аг индуцирует специфические изменения конечной структуры у-глобулинов, обуславливающие специфичность образования комплекса Аг-АТ. Эта теория удовлетворяла практически всем известным положениям, но

открытие феномена иммунной толерантности показало его явную недостаточность.

Иммунная толерантность и клонально-селекционная теория иммунитета. Питер Медавар. М. Хашек. Бернет По мере развития знаний о структуре и функциях иммунной системы выяснилось, что многие защитные реакции организма направлены не только против Аг микробов, но и против клеток других организмов того же вида и даже собственного организма. П. Медавар (1945) установил, что клетки животного-донора, внесённые животному-реципиенту всегда уничтожаются иммунными механизмами. Этот иммунный барьер способны преодолевать лишь ткани, взятые в организме и пересаженные в этот же организм (например, пересадка кожи с туловища на руки при ожогах). Возникал вопрос: почему ткани конкретного индивида для него самого не обладают антигенными свойствами? В 1953 г. М. Хашек установил, что контакт с Аг в плодном периоде приводит к развитию «неотвечаемости» на аналогичный антиген у взрослого животного.



В 1957 г. ответ на эти вопросы дал Ф.М. Бернет, обосновавший явление иммунной «терпимости» (толерантности). Сам феномен открыл английский иммунолог Биллинхэм, установивший, что иммунизация Антиносом у плода приводила к тому, что его повторное введение взрослому животному не вызывало образования антител. Таким образом, контакт организма с антигеном в антенатальном периоде приводит к развитию толерантности к нему во взрослом состоянии. Открытие иммунной толерантности позволило иначе взглянуть на проблему пересадки органов, а внедрение в практику иммунодепрессантов — успешно решать задачи современной трансплантологии. Описание феномена иммунной толерантности позволило Бернету и Феннеру предложить теорию «непрямой матрицы». Согласно этой теории, вещества организма, способные выступать в роли антигена, несут некую «метку», защищающую их от действия собственных иммунных механизмов. Эта теория во многом составила основу концепции клонального отбора иммунокомпетентных клеток. У плода существуют две категории иммунокомпетентных клеток: реагирующие с антигеном организма и с чужеродными антигенами. Приближаясь к завершению эмбриональной стадии, клетки первой категории теряют способность размножаться (то есть образовывать клоны). Во взрослом состоянии организм. Обладает

иммунокомпетентными клетками, реагирующими только с чужеродными антигеном. В соответствии с этой концепцией Бернет предположил, что «центральный биологический механизм — механизм распознавания своего и чужого».

Он постулировал, что: «величайший смысл иммунитета, по-видимому, заключается в той роли, которую он играет в процессах, направленных на поддержание структурной и функциональной целостности любого сложного организма».

Анафилаксия. Мажанди. Ш. Рише. Сенсibilизация. Определение анафилаксии. Артюс. Феномен местной анафилаксии (феномен Артюса). Метод десенсибилизации (метод Безредко) В 1839 г. французский невропатолог Ф. Мажанди заметил, что кролики с каждым разом всё труднее переносят введение яичного белка и умирают после третьей инъекции. Позднее врачи столкнулись со случаями шока и острой остановки сердца после повторного введения дифтерийной антитоксической сыворотки, а американский иммунолог Т. Смит воспроизвёл такой шок в эксперименте. Французские исследователи Ш. Рише и П. Портье (1902) установили аналогичный эффект у экстрактов морского кишечнорастворимого Physaliaphysalia (португальский военный кораблик). Они показали, что первое введение как бы «подготавливает» организм для повторного. В настоящее время этот феномен известен как сенсibilизация [от лат. sensibilitas, чувствительность], то есть повышение чувствительности организма к воздействию какого-либо фактора окружающей или внутренней среды. Последующее введение играет «разрешающую» роль, вызывая видимые эффекты (бронхоспазм, остановка сердца и др.).



Для того чтобы подчеркнуть негативную роль сенсibilизации, Рише дал явлению название анафилаксия [от греч. ana, против, + (pro-)phylaxis, защита] — сенсibilизация выступает против защиты организма.

Таким образом было доказано, что несчастные случаи, вызванные лечебными сыворотками, обусловлены содержащимися в них чужеродными белками (сыворотки изготовлялись из крови лошадей, овец и морских свинок). Чаще всего смерть наступала после повторного введения сыворотки. Позднее оказалось, что Рише сильно преувеличил негативный эффект сенсibilизации организма, проводя за счёт приставки, а на- глубокую черту между анафилаксией и иммунными реакциями — явлениями, родственными по своей природе. В 1903 г. Артюс описал феномен местной анафилаксии (позднее получивший его имя) — развитие местной некротической реакции после подкожного введения разрешающей дозы Аг. Способ и

место попадания сенсibilизирующей (то есть первой) дозы при этом не имели значения. Проблема анафилаксии побудила многих исследователей к разработке методов её преодоления. Первым, кому это удалось, стал известный отечественный микробиолог А.М. Безредка, открывший (1907) метод десенсибилизации — дробного введения лечебных сывороток в малых дозах, снижающих чувствительность организма к сенсibilизирующему агенту (аллергену). Для этого первоначально вводят небольшую дозу подкожно перед основной дозой; либо несколько малых, но возрастающих доз внутривенно с интервалом 15-30 мин.

Аллергия. Аллергические реакции. Кох. Фон Пирке. Артюс. Прауснитц. Х. Кюстнер. Реакция Прауснитца-Кюстнера. Несомненно с анафилаксией обладает другое явление, впервые описанное Кохом. После подкожного введения взвеси убитых туберкулёзных палочек заражённым туберкулёзом морским свинкам на месте инъекции развивалась местное воспаление. Таким образом, вторая инъекция выявляла болезнь. Позднее именно этот метод стал одним из основных способов выявления туберкулёза. Подробные исследования явления провёл К. фон Пирке, изучавший осложнения после вакцинации против оспы. Руководствуясь наблюдениями Дженнера (появление иногда после прививки местной сыпи), он установил, что после повторного введения вакцины через несколько часов появляются кожные высыпания. Они не содержали вирус и, следовательно, были результатом реакции организма, а не действия вируса. Фон Пирке дал этому явлению название аллергия [от греч. alios, другой, + ergon, работа]; ответ организма на вторичную вакцинацию он назвал ранней аллергической реакцией. Позднее было установлено, что аллергию также вызывают факторы, не имеющие отношения к живым организмам (лекарства, химические вещества).

Феномен анафилаксии и аллергические реакции нельзя смешивать, хотя оба состояния обусловлены сенсibilизацией организма, вызванной Аг. В 1921 г. О.

Прауснитц и Х. Кюстнер доказали возможность переноса факторов гиперчувствительности с помощью сыворотки крови больного, получившего впоследствии название «реакции Прауснитца-Кюстнера». Вскоре было установлено, что этот сывороточный фактор принадлежит к фракции у-глобулинов; он получил название кожносенсibilизирующее АТ, или атопический реагин. В 1967 г. супруги Ишизака установили, что эти факторы — Ig класса Е.

Задачи современной иммунологии. Частная иммунология. Вакцинология. Трансплантационная иммунология. Иммуноонкология. Иммунопатология. Аллергология. Вторая половина XX в.

характеризуется бурным развитием иммунологии. Иммунная система была определена как комплекс биологических механизмов организма, направленных на поддержание структурного и функционального гомеостаза. Элементы иммунной системы распознают «свои» и «чужие» антигены и удаляют всё генетически отличное от него как чужеродное. **Биологическая цель иммунных реакций** — поддержание индивидуальности конкретного организма и отдельного вида; защита его от различных инфекционных и неинфекционных болезней. В настоящее время иммунология — биомедицинская дисциплина, включающая общие и частные направления. Общая иммунология изучает молекулярные и клеточные основы иммунных реакций, их регуляцию, генетический контроль, а также принципы наследования клеточных антигенов и роль иммунных механизмов в процессах индивидуального развития. Частная иммунология носит прикладной характер; основные направления — вакцинология, иммуноонкология, иммунопатология, аллергология, трансплантационная иммунология. Вакцинология изучает методы искусственного создания невосприимчивости к инфекционным агентам и принципы разработки новых вакцинных препаратов. Трансплантационная иммунология изучает иммунную несовместимость тканей, отторжение трансплантатов, условия и способы преодоления несовместимости. Иммуноонкология — наука, изучающая роль иммунной системы в развитии злокачественных заболеваний. Иммунопатология и аллергология изучают нарушения иммунных реакций и механизмы развития извращённых реакций на Аг. Разработка новых методов иммунодиагностики заболеваний, создание средств и способов коррекции иммунных нарушений — не менее актуальные направления современной иммунологии.

Частная иммунология носит прикладной характер; основные направления — вакцинология, иммуноонкология, иммунопатология, аллергология, трансплантационная иммунология. Вакцинология изучает методы искусственного создания невосприимчивости к инфекционным агентам и принципы разработки новых вакцинных препаратов. Трансплантационная иммунология изучает иммунную несовместимость тканей, отторжение трансплантатов, условия и способы преодоления несовместимости. Иммуноонкология — наука, изучающая роль иммунной системы в развитии злокачественных заболеваний. Иммунопатология и аллергология изучают нарушения иммунных реакций и механизмы развития извращённых реакций на Аг. Разработка новых методов иммунодиагностики заболеваний, создание средств и способов коррекции иммунных нарушений — не менее актуальные направления современной иммунологии.

Виды невосприимчивости (иммунитета) к возбудителям инфекционных заболеваний. Местный иммунитет. Общий иммунитет. Многообразие систем защиты организма позволяют человеку оставаться невосприимчивым к действию инфекционных агентов. Поскольку инфекционные поражения могут быть системными или местными, то невосприимчивость (иммунитет) также подразделяют на общую и местную. Защитные механизмы могут быть направлены против различных Аг микроорганизмов. В связи с этим реакции, обеспечивающие невосприимчивость, разделяют на антимикробные и антитоксические. Различают невосприимчивость врождённую и приобретённую. Местный иммунитет обуславливает защиту кожи и слизистых оболочек от патогенных воздействий. Основные эффекторные механизмы местной невосприимчивости — секреторные АТ (относятся к IgA) и фагоциты.

Известный отечественный микробиолог и иммунолог А.М. Безредка расценивал способность местных защитных реакций обеспечивать общую невосприимчивость организма к инфекционному агенту как основную форму защиты, что легло в основу предложенной им теории иммунитета. Общий иммунитет обеспечивает генерализованную защиту внутренней среды организма от патогенных воздействий.

Тема №6 - Модельные системы в фундаментальной и прикладной иммунологии.

Иммунология — это наука, изучающая способность организма человека противостоять деятельности патогенных микроорганизмов и бороться с ними.

Иммунитет — невосприимчивость организма к заражному началу или какому-либо чужеродному для организма веществу.

Чистые линии [синоним инбредные линии; линии (у высших организмов); чистые культуры, штаммы и клоны (у микроорганизмов)] — ограниченная совокупность наследственно однородных организмов, происходящих от одного общего предка. Чистые линии играют большую роль в различных областях экспериментальной медицины и биологии, таких как онкология, генетика тканевой совместимости, иммуногенетика, химиотерапия, радиология, лечение лучевой болезни, генетика человека, вирусология. Практическое значение чистых линий заключается в возможности контроля за генетической изменчивостью отдельных признаков или их совокупности, представляющих интерес с научной или практической стороны.

В экспериментальной практике используют сотни инбредных линий мышей, десятки линий крыс и хомячков, а также морских свинок, кроликов, кур и других животных (см. Лабораторные животные). Генетически чистые линии являются также штаммы бактерий, актиномицетов — продуцентов антибиотиков, штаммы микроорганизмов, применяемые в производстве сывороток, вакцин и т. д.

Чистые линии (синоним инбредные линии) — ограниченная совокупность наследственно однородных организмов, происходящих в каждом поколении от одного общего предка или от одной пары близкородственных особей (брата и сестры). Входящие в состав чистых линий организмы называются инбредными, чистопородными или линейными.

Инбридинг — буквально значит разведение в себе, т. е. спаривание особей, находящихся в близком родстве друг с другом. Цель рациональных систем разведения животных или растений, и в том числе инбридинга, заключается в контроле генетической изменчивости того признака или совокупности признаков, которые представляют интерес с научной или практической (нередко с любительской) точки зрения. Любая естественная популяция животных или растений состоит из наследственно разнородных генотипов. Концентрация (частота)

составляющих популяцию генотипов остается в ней постоянной при следующих условиях: 1) популяция неограниченно велика; 2) составляющие ее особи (генотипы) одинаково жизнеспособны, плодовиты и, не будучи стеснены пространственными или какими-либо другими барьерами, могут свободно перемещаться на территории популяции и свободно скрещиваться между собой; 3) в популяции отсутствуют естественный отбор и мутационные изменения. Поскольку такие идеальные условия в природе никогда не осуществляются, в популяции всегда происходят то медленные, то более быстрые изменения в концентрации (частоте) составляющих ее генотипов в ту или иную сторону. Постепенная трансформация популяции носит название генного дрейфа или генетико-автоматического процесса. В противоположность этому инбридинг имеет своим результатом расчленение популяции на составляющие ее биотипы, или чистые линии, и уменьшает их генетическую изменчивость. Скорость накопления в инбридируемой линии гомозигот зависит от степени родства спариваемых особей в каждом поколении. Этот критерий лежит в основе разных систем инбридинга. Гомозиготность линии быстрее всего достигается у самооплодотворяющихся организмов: в этом случае уже после восьми поколений процент гомозигот в линии достигает 100. Несколько менее эффективен метод скрещивания братьев с сестрами; при этой системе инбридинга почти 100% гомозиготность достигается после 20 поколений. С уменьшением степени родства спариваемых особей (двоюродных братьев и сестер, троюродных и т. д.) падает и скорость приближения линии к 100% гомозиготности.

В практическом инбридинге, особенно в применении к лабораторным животным, наибольшее распространение получила система братско-сестринских спариваний, как наиболее простых в техническом отношении и в отношении простоты документации. Для того чтобы генетическую изменчивость в линии свести к минимуму, принимается, что она должна пройти 40 поколений инбридинга. Чистопородные животные играют важную роль в медико-биологических исследованиях. В сельскохозяйственной практике чистопородные животные и растения являются источником повышения продуктивности в результате использования явления гетерозиса у межлинейных гибридов.

Трансгенные животные: технологии получения. В отличие от растений, где существует возможность получения целого фертильного растения из одной трансформированной соматической клетки и вегетативное размножение, получение трансгенных животных - очень сложный и длительный процесс. Используемая стратегия состоит в следующем: 1. Клонированный ген вводят в ядро оплодотворенной

яйцеклетки. 2. Оплодотворенные яйцеклетки с экзогенной ДНК имплантируют в реципиентную женскую особь (поскольку успешное завершение развития эмбриона млекопитающих в иных условиях невозможно). 3. Отбирают потомков, развившихся из имплантированных яйцеклеток, которые содержат клонированный ген во всех клетках. 4. Скрещивают животных, которые несут клонированный ген в клетках зародышевой линии, и получают новую генетическую линию. Эксперименты по генетической модификации многоклеточных организмов путем введения в них трансгенов требуют много времени. Тем не менее, трансгеноз стал мощным инструментом для исследования молекулярных основ экспрессии генов млекопитающих и их развития, для создания модельных систем, позволяющих изучать болезни человека, а также для генетической модификации клеток молочных желез животных с целью получения с молоком важных для медицины белков. Был даже предложен новый термин «фарминг» (pharming), относящийся к процессу получения из молока трансгенных домашних животных аутентичных белков человека или фармацевтических препаратов. Использование молока целесообразно потому, что оно образуется в организме животного в большом количестве и его можно надаивать по мере надобности без вреда для животного. Вырабатываемый молочной железой и секретлируемый в молоко новый белок не должен при этом оказывать никаких побочных эффектов на нормальные физиологические процессы, протекающие в организме трансгенного животного, и подвергаться посттрансляционным изменениям, которые, по крайней мере, близки к таковым в клетках человека. Кроме того, его выделение из молока, которое содержит и другие белки, не должно составлять большого труда. Несмотря на то, что первые трансгенные сельскохозяйственные животные были получены в 1985 г. введением экзогенной ДНК в пронуклеус зигот, до настоящего времени не разработано эффективного метода, который бы мог быть использован для создания генетически модифицированных животных независимо от вида и от целей эксперимента. Разработка новых эффективных методов переноса генов в эмбриональные и соматические клетки животных, а также совершенствование существующих подходов остается актуальной задачей. Среди большого разнообразия способов внедрения экзогенной ДНК в геном животного можно выделить следующие, которые нашли широкое применение в практике трансгеноза: - метод микроинъекции, - опосредованный ретровирусами перенос генов, - использование модифицированных эмбриональных стволовых клеток, - перенос трансформированных ядер генеративных и соматических клеток, - использование спермиев и сперматогониев как переносчиков ДНК.

Среди других способов доставки экзогенной ДНК в организм животных можно отметить использование липосом, аденовирусных векторов, а также метод высокоскоростной инъекции. Однако эти методы не нашли широкого применения вследствие их недостаточной стабильности, а также отсутствия интеграции трансгена в геном. Микроинъекции рекомбинантной ДНК в оплодотворенные ооциты многоклеточных животных пока остаются наиболее популярным способом введения чужих генов в организм животных. Несмотря на то, что метод требует высокой квалификации и дорогостоящего оборудования, простота и надежность окупают все его недостатки. Первой и наиболее хорошо разработанной экспериментальной системой для получения трансгенных животных явилась мышь. Донорных самок мышей с экспериментальной суперовуляцией скрещивают с самцами-производителями, через 12 ч выделяют оплодотворенные яйцеклетки и помещают их в культуру. Далее в больший из двух пронуклеусов (обычно мужской) инъецируют рекомбинантную ДНК (рис. 1).

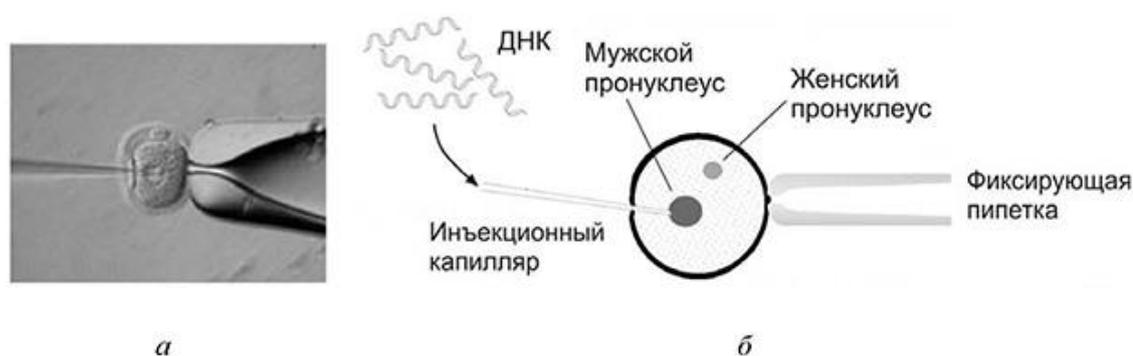


Рис. 1. Микроинъекция экзогенной ДНК в пронуклеус оплодотворенной яйцеклетки млекопитающих под микроскопом (а) и схема эксперимента (б)

Пережившие инъекцию яйцеклетки пересаживают самкам-реципиентам. Только часть трансплантированных ооцитов продолжает развиваться до рождения детенышей (Рис. 1). На частоту интеграции экзогенной ДНК при использовании метода микроинъекции оказывают влияние такие факторы, как чистота вводимого образца, форма и концентрация ДНК, состав буферного раствора для микроинъекции, качество эмбрионов, а также способ пересадки эмбрионов реципиентам (нехирургический, хирургический, лапароскопический). Трансгенных животных в потомстве идентифицируют различными методами, чаще всего ПЦР, и скрещивают для получения трансгенных линий. Некоторые из трансгенных животных оказываются мозаичными (половые клетки не содержат экзогенной ДНК), поэтому при скрещивании трансгенным оказывается меньшая часть потомства

первого поколения, чем расчетные 50 %. В ряде случаев гомозиготные линии получить не удастся, поскольку 5-15 % трансгенных инсерций в гомозиготном состоянии летальны, так как инсерция иногда нарушает жизненно-важные части генома. Точный механизм, обеспечивающий интеграцию инъецированной ДНК в хромосомы клетки-мишени, неизвестен, однако анализ структуры встроенной ДНК позволяет выявить некоторые моменты. Интеграция происходит случайным образом в один хромосомный локус, который может содержать от одного до нескольких тысяч tandemных копий интегрированной ДНК. Около 30 % полученных первичных трансгенных животных, как правило, обнаруживают ту или иную степень мозаичности, что может являться следствием интеграции экзогенной ДНК после завершения первого цикла репликации. Степень интеграции экзогенной ДНК в геном, т.е. число трансгенных животных от общего числа родившихся животных, при использовании метода микроинъекции в зависимости от вида животных колеблется в незначительных пределах 5-15 % . Наиболее важным с учетом затрат, требующихся для получения одного трансгенного животного, является показатель общей эффективности трансгеноза, который рассчитывается как отношение числа полученных трансгенных животных к общему числу пересаженных эмбрионов, выраженное в процентах. Величина этого показателя для млекопитающих также относительно постоянна и составляет в среднем от ~0,5 % у свиней и коров до ~2 % у мышей. Ретровирусные векторы также используются для получения трансгенных животных. Инфицирование предимплантационных эмбрионов рекомбинантными ретровирусами - относительно несложная эффективная процедура. Восьмиклеточную морулу (рис. 2.) освобождают от яйцевой оболочки и помещают в культуральную чашку с фибробластами, продуцирующими рекомбинантный ретровирус. Инфицированные эмбрионы, достигшие стадии бластулы, имплантируют псевдобеременным самкам. В результате формируются трансгенные организмы, мозаичные по числу и локализации встроок рекомбинантной ДНК в геном. Поэтому для получения чистых линий далее необходим масштабный аутбридинг. Недостатком метода является ограничение вставки экзогенной ДНК в 8 гнп, вследствие чего трансген может оказаться лишенным прилегающих регуляторных последовательностей, необходимых для его экспрессии, а в некоторых случаях интеграция в исходный локус нестабильна. Новые лентивирусные векторы (лентивирусы принадлежат семейству ретровирусов) показали свою очень высокую эффективность при доставке ДНК в ооциты и зиготы. Инъекция рекомбинантных лентивирусных конструкций в перивителлиновое пространство свиных зигот и коровьих ооцитов привело к появлению потомства с самой

высокой на данный момент долей трансгенных особей. В то же время лентивирусные векторы обладают всеми недостатками ретровирусных: малый размер вставки экзогенной ДНК и множественная интеграция в хозяйский геном, которая может привести к таким нежелательным побочными эффектам, как активация онкогенов и инсерционный мутагенез. Кроме того, для лентивирусных векторов наблюдается высокая степень мозаичности получаемого трансгенного потомства и отдельные факты сайленсинга (инактивации) лентивирусных рекомбинантных последовательностей в полученных трансгенных линиях. Использование ретровирусных векторов имеет и еще один большой недостаток. Хотя эти векторы создаются так, чтобы они были дефектными по репликации, геном штамма ретровируса (вируса-помощника), который необходим для получения большого количества векторной ДНК, может попасть в то же ядро, что и трансген. Несмотря на все принимаемые меры, ретровирусы-помощники могут реплицироваться в организме трансгенного животного, что совершенно недопустимо, если этих животных предполагается использовать в пищу или как инструмент для получения коммерческого продукта. И поскольку существуют альтернативные методы трансгеноза, ретровирусные векторы редко используются для создания трансгенных животных, имеющих коммерческую ценность.

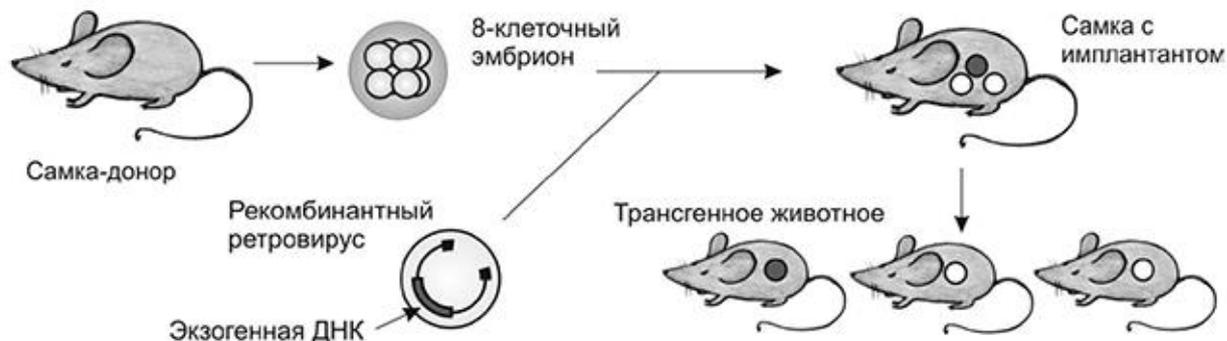


Рис. 2 Схема получения линии трансгенных мышей с использованием ретровирусных векторов

Модифицированные эмбриональные стволовые клетки могут быть использованы для получения трансгенных животных. Клетки, выделенные из мышинных эмбрионов на стадии бластоцисты, могут пролиферировать в культуре, сохраняя способность к дифференцировке в любые типы клеток, в том числе и в клетки зародышевой линии, при введении в другой эмбрион на стадии бластоцисты (рис. 3). Такие клетки называются плюрипотентными эмбриональными стволовыми клетками (ES). В ES-клетки в культуре можно ввести целевой трансген различными методами (трансфекция, электропорация, ретровирусная инфекция и т.д.) без нарушения их плюрипотентности. Практическое

достоинство этой схемы заключается в том, что она дает большие возможности для проведения селекции клеток по определенному параметру. Это может быть число копий трансгена, его локализация или характер экспрессии. Зная последовательности, окружающие конкретный сайт для желаемой интеграции, можно сконструировать вектор для встраивания целевой ДНК путем гомологичной рекомбинации. Например, заменить какой-либо ген, кодирующий легко идентифицируемый признак с целью селекции, убрав или восстановив его функцию в полученной трансгенной клетке. Таким же образом получают так называемых нокаутных мышей (knockout) - мышей с направленно инактивированным определенным клеточным геном для исследования его функций. Для осуществления гомологичной рекомбинации вектор конструируют из фрагментов целевого гена, который планируется инактивировать, часть целевого гена при этом заменяется каким-либо селективным маркером для проведения отбора клеток с интегрированной конструкцией.

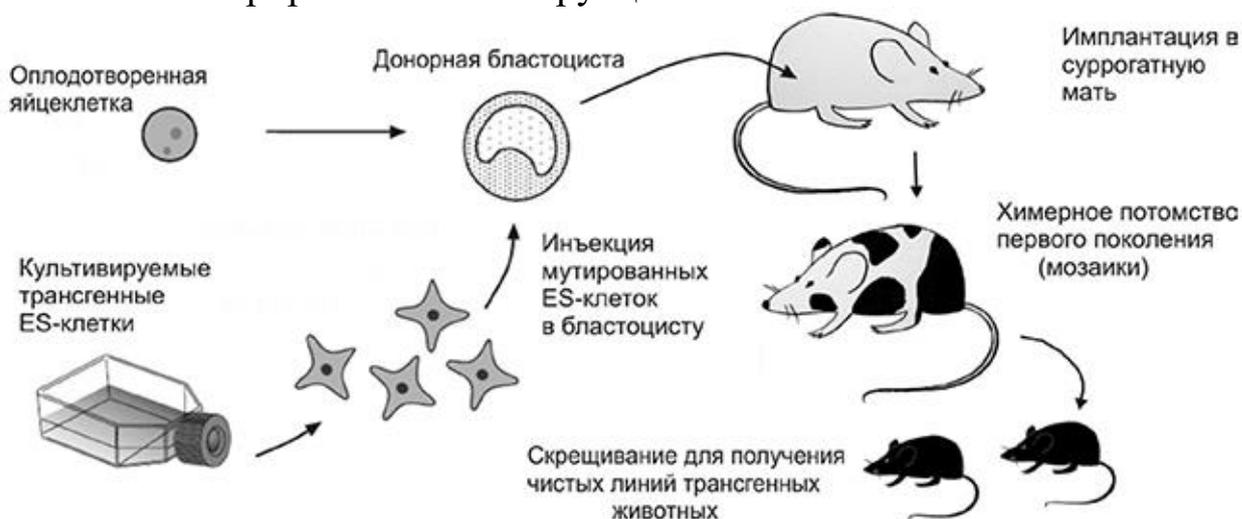


Рис. 3. Получение трансгенных мышей методом реконструкции эмбрионов с помощью генетически модифицированных эмбриональных стволовых клеток (ES-клеток). ES-клетки получают из внутренней клеточной массы бластоцисты мыши

Отобранные трансгенные ES-клетки можно культивировать и использовать для получения трансгенных животных. Это позволяет избежать случайного встраивания трансгена, характерного для метода микроинъекций и ретровирусных векторных систем. Все получаемые по такой схеме животные являются мозаиками, поэтому необходима селекционная работа по получению чистых линий. Проблему мозаичности первичных трансгенных животных можно преодолеть пересадкой ядер трансформированных ES-клеток в энуклеированные ооциты, которые затем продолжают свое нормальное развитие. В результате в каждой клетке полученного животного будет содержаться

трансген. К сожалению, плюрипотентные ES-клетки, аналогичные мышинным, пока не обнаружены у других млекопитающих и птиц, но поиски продолжаются. Перенос ядер трансформированных генеративных и соматических клеток в яйцеклетку, или соматический ядерный перенос (somaticnucleartransfer), еще один способ, используемый в практике трансгеноза. Было показано, что ядра эмбриональных клеток различных животных при переносе в энуклеированную яйцеклетку иногда способны обеспечивать развитие целого нового организма. После непродолжительного культивирования даже ядра из некоторых дифференцированных клеток способны обеспечивать развитие до жизнеспособной особи. Так, например, знаменитая овечка Долли была клонирована в 1997 г. слиянием культивируемых (3-6 пассажей) клеток эпителия молочной железы (вымени) взрослого шестилетнего животного с лишенной ядра яйцеклеткой (рис. 4). Хотя нельзя исключить, что для клонирования случайно была взята недифференцированная клетка, присутствующая в донорском эпителии.

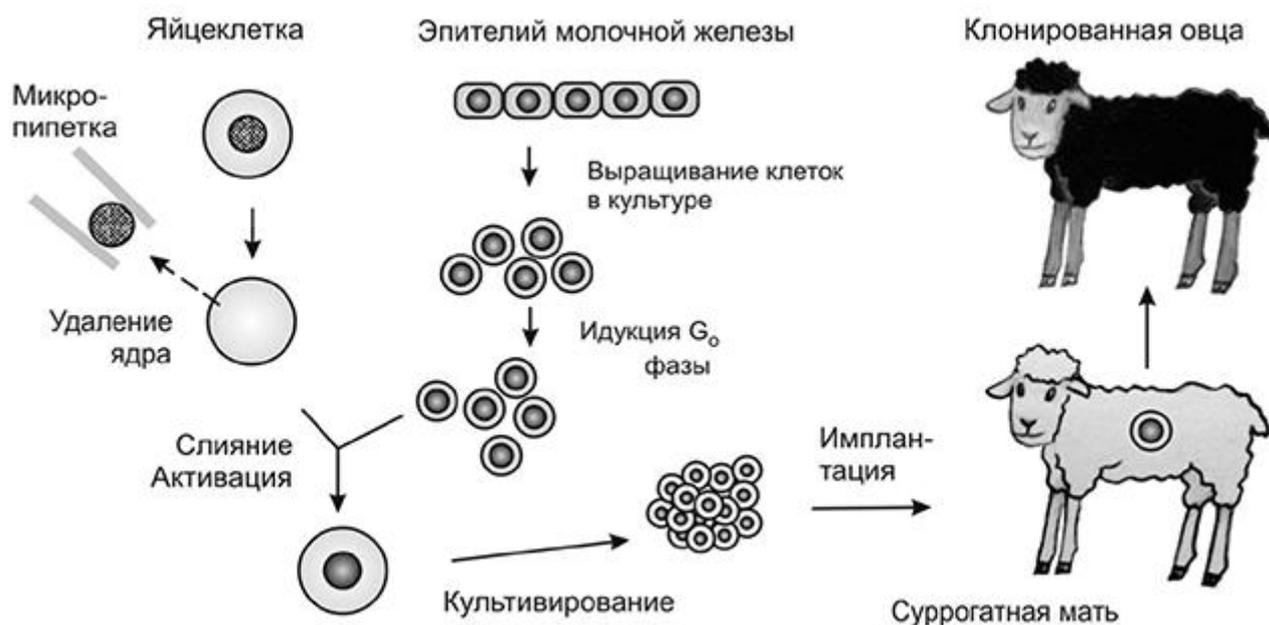


Рис. 4. Клонирование овцы методом переноса ядра.

Эпителиальные клетки молочной железы в культуре индуцируют для перехода в фазу G0 (стадия, на которой находится яйцеклетка). Затем осуществляют слияние такой клетки с энуклеированной яйцеклеткой и выращивают эмбрионы до ранних стадий эмбриогенеза. После чего эмбрионы имплантируют в матку суррогатной матери, где происходит дальнейшее развитие. В эксперименте Я. Уилмута (I. Wilmut) по клонированию Долли было проведено 277 слияний безъядерных яйцеклеток с клетками молочной железы в фазе G0, из 29 выживших эмбрионов только один развился до жизнеспособного

организма

Клонирование Долли из ядра дифференцированной клетки и трех других овец из ядер эмбриональных клеток удалось осуществить благодаря переносу ядер из клеток, находящихся в стадии покоя (G0), и, возможно, особенностям эмбриогенеза этого животного. В зиготах овец в течение первых трех делений, занимающих несколько суток, происходит только репликация ДНК, ни один из генов не экспрессируется. Предполагается, что за это время введенная ДНК освобождается от специфичных для клетки регуляторных белков, а соответствующие гены эмбрионального развития связываются с инициаторными эмбриональными белковыми факторами из цитоплазмы яйцеклетки. Хотя технологиям клонирования еще очень далеко до совершенствования - клонированная Долли выявляла многие признаки преждевременного старения, это очень многообещающая технология получения трансгенных животных. Даже если имеются различные проблемы с первым поколением, скорее всего, второе поколение не будет иметь недостатков, приобретенных вследствие использования «старого» ядра для яйцеклетки. Основная проблема, которую нужно решить для того, чтобы создание любых трансгенных животных с помощью метода переноса ядер стало реальным, - это сохранение плюрипотентности клеток в непрерывной культуре. В настоящее время ведутся активные поиски факторов репрограммирования дифференцированных клеток для индукции плюрипотентности. Если это удастся, то генетическое изменение таких клеток и создание трансгенных организмов путем соматического ядерного переноса станет почти рутинной процедурой, а пока это единичные удачные эксперименты. Искусственные хромосомы как трансгенный вектор. Большинство трансгенов представляют собой кДНК, небольшие гены (<20 тп) или фрагменты генов. Зачастую кДНК плохо экспрессируются в клетках млекопитающих, а когда трансгеном служит геномная ДНК, важные геноспецифичные регуляторные последовательности, расположенные до и после гена-мишени, обычно не входят в состав вставки. Кроме того, полноразмерные гены и мультигенные комплексы (>100 тп) слишком велики для встраивания в обычные векторы. Учитывая все это, для трансгеноза стали использовать искусственные дрожжевые хромосомы (YAC), вмещающие фрагменты геномной ДНК длиной от 100 до > 1 000 тп и искусственные хромосомы человека еще большей емкости (об искусственных хромосомах). Данные эписомальные векторы имеют еще одно преимущество - позволяют избежать эффект положения гена при экспрессии экзогенной ДНК. Уровень экспрессии встроенного гена очень зависит от его хромосомной позиции, например, встраивание в неактивный хроматин

(гетерохроматин) интактной хромосомы приводит к инактивации гена. С помощью искусственных дрожжевых хромосом (YAC), несущих несколько родственных генов или один большой ген, были получены трансгенные мыши путем микроинъекции в пронуклеус оплодотворенной яйцеклетки или трансфекцией ES-клеток. Трансгенные мыши, несущие кластер из пяти функциональных генов - глобина человека суммарной длиной примерно 250 тп, экспрессировали все эти гены тканеспецифично и в нужное время - точно так же, как это происходит у человека. Такое соответствие обеспечивалось фланкирующими их последовательностями, которые содержат промотор и другие важные регуляторные элементы. С помощью YAC-трансгеноза были получены мыши, которые синтезировали только человеческие антитела, являющиеся сложной тетрамерной конструкцией из двух пар разных полипептидных цепей. Искусственные хромосомы человека (humanartificialchromosome -HAC), содержащие целиком иммуноглобулиновый локус человека с тяжелыми и легкими цепями, были внедрены в бычьи фибробласты, которые затем использовали для соматического ядерного переноса. Полученные трансхромосомальные телята экспрессировали иммуноглобулины человека в своей крови. Эта система стала важным шагом в направлении животной продукции терапевтических поликлональных антител человека. Дальнейшие наблюдения за трансгенными животными показали, что рекомбинантные HACs поддерживались в большинстве особей первого поколения в течение нескольких лет. Будут ли полученные искусственные хромосомы соответствующим образом разделяться в процессе мейоза и наследоваться, еще только предстоит выяснить. Совсем недавно возникла новая перспективная технология для получения животных с выключенными генами - малые интерферирующие РНК (миРНК, siRNA), которые используют для прицельного выключения генов (сайленсинга). РНК-интерференция - консервативный посттранскрипционный регуляторный процесс. Двухцепочечные малые интерферирующие миРНК в 19-23 нуклеотида специфически связываются с комплементарной последовательностью своей матричной мРНК-мишени, направляя ее по пути деградации. РНК-интерференция является составной частью системы генной регуляции, а именно контролирует/супрессирует трансляцию мРНК из эндогенных и экзогенных вирусных элементов и может быть использована для терапевтических целей. Для транзientного выключения гена синтетические миРНК трансфецируют в клетки или ранние эмбрионы. Для стабильной генной репрессии последовательность миРНК должна быть инкорпорирована в геном в составе экспрессионной генной конструкции. Очень эффективна

комбинация лентивирусных векторов с миРНК для интеграции в геном. В противоположность классической нокаут-стратегии, которая требует длительного скрещивания для получения чистой линии с инактивированным геном в обоих локусах диплоидного генома, миРНК при интеграции могут легко выключить целевой ген в любой имеющейся линии животных. Несмотря на разработанный широкий спектр методик получения трансгенных животных, в настоящее время пока отсутствует надежная и эффективная технология трансгеноза животных. Самые большие проблемы связаны с беспорядочным встраиванием экзогенной ДНК в геном при использовании большинства существующих методов. Так что дальнейшие качественные улучшения технологии необходимы в области разработки прицельной модификации клеточных генов и точного встраивания экзогенной ДНК в геном. Тем более что геномы большинства хозяйственно важных организмов к настоящему времени полностью секвенированы и можно планировать будущую структуру трансгенного организма. Сочетание полностью расшифрованных последовательностей геномов с методами адресной доставки экзогенной ДНК позволит проводить целенаправленное конструирование трансгенных геномов с заранее заданными свойствами.

Культура клеток *invitro* и *invivo*.

In vitro (лат. «в стекле») — это технология выполнения экспериментов, когда опыты проводятся «в пробирке» — вне живого организма. В общем смысле этот термин противопоставляется термину *in vivo* — эксперимент на живом организме (на человеке или на животной модели). Многие эксперименты, имеющие отношение к молекулярной биологии, биохимии, фармакологии, медицине, генетике и др., проводятся вне организма, на культуре живых клеток или в бесклеточной модели.

Эксперименты *invitro*, в тех случаях, когда альтернативой являются исследования на животных или человеке, считаются менее достоверными, чем *invivo* и часто бывают лишь необходимой предварительной стадией для оценки возможности и необходимости последующих исследований *invivo*^[21]. Однако они часто удешевляют предварительные стадии исследования и позволяют сохранить жизнь подопытных животных.

Ex vivo (лат. *из жизни*), означает «то, что происходит вне организма», то есть проведение экспериментов в живой ткани, перенесённой из организма в искусственную внешнюю среду. Наиболее распространённая техника *ex vivo* использует живые клетки или ткани, извлечённые из живого организма и выращенные (сохранённые) в

стерильных лабораторных условиях в течение нескольких дней или недель. Такие клетки служат образцами поведения организма в целом, как следствие — сокращается потребность в экспериментах над животными и человеком. Эксперименты *ex vivo*, как правило, проводятся *in vitro*, однако два эти термина не являются синонимами. В современном языке употребляется преимущественно в естественно-научных текстах и пишется курсивом.

КУЛЬТУРА КЛЕТОК *in vivo*

Метод колониеобразования кроветворных клеток в селезенке облученных мышей

После атомной бомбежки авиацией США японских городов Хиросимы и Нагасаки 6 августа 1945 г. перед мировой медициной встали проблемы защиты человека от лучевой болезни. Начала интенсивно развиваться новая наука - радиобиология. Во всех странах, в том числе в СССР, исследователи вскоре выяснили основные патологические проявления, вызванные проникающим лучевым поражением экспериментальных животных, и начали интенсивный поиск методов предупреждения и лечения лучевой болезни. Экспериментальные исследования показали: наиболее радиочувствительны гемопоэтические стволовые клетки, лимфоциты и клетки других кроветворных ростков. Облучение в 850-1000 Рад (≈ 10 Gy в современных единицах измерения) определили как «кроветворные летальные дозы». После такого облучения регенерация кроветворной ткани невозможна, но в течение ближайших дней (максимум 2 нед) экспериментальные мыши способны выживать за счет функционирования зрелых гемопоэтических клеток. При облучении в дозах выше 10 Gy наступает так называемая кишечная смерть за 1-3 сут, при еще более высоких дозах радиации возможна «смерть под лучом».

Единственным более или менее надежным средством спасения экспериментальных животных при облучении в «кроветворной летальной дозе» оказалась трансплантация клеток костного мозга от сингенных доноров. С тех пор облученные в «кроветворной летальной дозе» и сохранившие жизнеспособность в течение определенного срока мыши обозначаются лабораторным термином «живые пробирки». Трансплантация внутривенно таким мышам сингенных или аллогенных донорских костно-мозговых, селезеночных либо других лимфоидных клеток дает возможность в течение достаточного количества дней исследовать не только процессы приживания или неприживания вводимых клеток, но и явления взаимодействия разных типов клеток между собой. Более точно «живые пробирки» стали определять как «культуру клеток *in vivo*». Именно использование культуры клеток *in vivo* (рис. 5) позволило сделать целый ряд открытий, актуальных до

настоящего времени (взаимодействие Т- и В- лимфоцитов, роль В-клеток в антителообразовании, способность гемопоэтических клеток-предшественников к колониеобразованию *in vivo* и др.). Благодаря полученным данным

позже появился термин «Т-лимфоциты хелперы» (англ. to help - помогать). Т-лимфоциты рассматривали как необходимые помощники В-лимфоцитов в антителопродукции.



Рис. 5. Схема культуры клеток *in vivo*

Следует отметить: подавление гемопоэза и иммунопоэза вызывается не только лучевым поражением, но и введением в высоких дозах химиопрепаратов со свойствами цитостатиков и иммунодепрессантов (метотрексат, б-меркаптоэтанол, циклофосфамид и др.).

Сведения о закономерностях поведения гемопоэтических и иммунокомпетентных клеток в условиях экспериментальных моделей *in vivo* оказались актуальными для современной медицины. В последние годы все большее распространение получают методы клеточной биотехнологии в лечении многих заболеваний человека. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток нашла достаточно широкое применение не только в лечении лучевой болезни, но и целого ряда заболеваний, в первую очередь генетически опосредованных первичных иммунодефицитов, различных форм лейкозов.

В 1961 г. появилась публикация канадских ученых J.E. Till и E.A. McCulloch, в которой был представлен новый метод изучения кроветворных клеток-предшественников. Летально облученным (850-950 Рад) мышам-реципиентам трансплантировали внутривенно донорские клетки костного мозга. Через 7-10 сут на поверхности селезенки возникали видимые невооруженным глазом узелки-колонии (рис. 6), которые, как показал гистологический анализ, состояли из дифференцированных кроветворных клеток эритроидного, миелоидного или мегакариоцитарного ростков. Некоторые колонии отличались смешанным типом, но никогда не образовывались лимфоидные колонии. Авторы продемонстрировали прямую зависимость между числом трансплантированных донорских кроветворных клеток в

определенном диапазоне доз и числом сформировавшихся в селезенке реципиентов колоний.

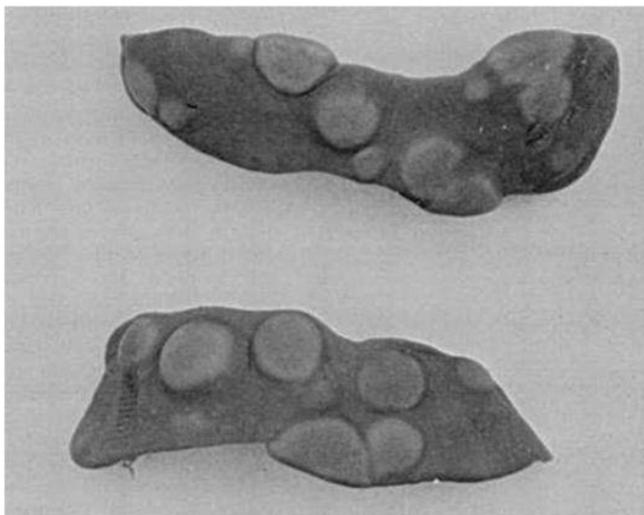


Рис. 7. Колониеобразующие единицы (КОЕс) в селезенке мышей

Метод Тилла и МакКуллоча получил распространение как количественный способ клонирования кроветворных клеток в селезенке летально облученных мышей. В течение ряда лет клетки, дающие начало колониям, считали стволовыми кроветворными клетками (СКК). Но позже авторы и вслед за ними другие исследователи осторожно обозначили эти клетки как колониобразующие (КОЕс). Скорее всего, КОЕс - мультипотентные клетки-предшественники, отстоящие на несколько этапов дифференцировки от СКК.

Метод Тилла и МакКуллоча использовали и до сих пор используют многие исследователи во многих лабораториях мира для изучения закономерностей приживления донорских кроветворных тканей в организме облученных реципиентов.

Р.В. Петров и Л.С. Сеславина, применяя данную экспериментальную систему, в 1967 г. обнаружили и в 1977 г. зарегистрировали как открытие явление взаимодействия между СКК и лимфоцитами. Суть открытия заключалась в том, что аллогенные лимфоциты инактивировали стволовые клетки. Не исключено, что инактивирующее или тормозящее действие лимфоцитов распространяется и на другие несингенные активно пролиферирующие клетки (раковые, эпителиальные и др.), способные обеспечить за счет размножения самоподдерживающуюся популяцию. Данный феномен может являться одним из главных механизмов иммунологического надзора и элиминации соматических мутаций (Петров Р.В., 1987).

Культивирование органов

Органная культура - культивирование *in vitro* органа или части

органа, в которых сохраняются анатомическая связь и функционирование тканей, максимально приближенные к таковым в условиях *in vivo*, то есть в организме. Миграция изолированных клеток на периферии экспланта подавляется специальными условиями культивирования, в результате чего могут даже образовываться дифференцированные структуры. Например, на периферии эксплантов легочной ткани развиваются новые мелкие бронхи, состоящие из альвеол, окаймленных бронхиальным эпителием.

Органная культура сохраняет межклеточные взаимодействия, в течение долгого периода поддерживает гистологическую и гистохимическую дифференцировку, как правило, остается в не растущем состоянии в течение нескольких дней и даже недель. Эти культуры не способны к размножению.

Ткани, зависимые от гормонов, сохраняют чувствительность к ним и характерные ответы, эндокринные органы продолжают секрецию специфических гормонов и т.д. Наибольшее сходство процессов морфогенеза *in vivo* и *in vitro* отмечено для эмбриональных тканей.

Первые исследования в области культивирования органов и тканей относятся к концу прошлого века. Уже в 1897 году немецкий ученый Лёб (V.Loeb) опубликовал данные о культивировании фрагментов печени, почек, щитовидной железы и яичников кролика на небольших кровяных сгустках в культуральных пробирках. Дальнейшие исследования показали, что для предотвращения центральных некрозов в эксплантах пробирки должны быть заполнены кислородом. В результате многочисленных экспериментов было также установлено, что большинство органов или их фрагментов, за исключением кожи, растут на твердом субстрате лучше, чем в жидкой среде.

Что же можно использовать в качестве субстрата? Существует несколько видов техники культивирования органов. В качестве субстрата можно использовать сгусток плазмы. Этот способ был предложен Феллом и Робинсоном и получил название "техника часового стекла", став классической техникой морфогенетического анализа эмбриональных органов.

Культивирование проводят во впадине часового стекла на поверхности сгустка, состоящего из плазмы цыпленка и эмбрионального экстракта кур. Часовое стекло помещают в чашку Петри и закрывают сверху влажной ватой или фильтровальной бумагой для предотвращения высыхания. Культивируют в термостате при 37,5°C. Существуют модификации этого метода, при которых часовое стекло покрывается крышечкой, приклеенной воском и другие. Недостатком метода, ограничивающим применение его в биологических исследованиях, является разжижение сгустка в

окрестностях экспланта, который в результате оказывается в жидкости. Кроме того, сложный состав среды затрудняет проведение биохимических исследований.

Эти недостатки устраняются при использовании сгустка агара. Такая техника была предложена Спраттом. Метод основан на получении агарового геля 1 - 4% концентрации, основу которого составляют забуференные солевые растворы или питательные среды типа 199 с добавлением эмбриональной сыворотки.

В середине 20-го века Чен обнаружил, что культуры можно выращивать на бумажных плотиках, плавающих на поверхности жидкости в часовом стекле. С целью улучшения техники позднее бумагу обрабатывали силиконом, комбинировали с миллиметровыми фильтрами, а затем перешли на плотики из ацетата вискозы. Этот материал хорошо растворяется в ацетоне, что облегчает подготовку ткани для гистологического анализа.

Метод культивирования на плотиках не лишен недостатков, основной из них - погружение ткани в среду при затоплении плотика. Решение этой проблемы было предложено Тривеллом, который предложил культивировать органы на поверхности металлической сетки. Сетка представляет собой квадрат размерами 25*25 мм с отогнутыми краями, образующими четыре ножки высотой около 4 мм. Скелетные ткани культивируют непосредственно на сетке, тогда как мягкие вначале эксплантируются на бумагу, а затем помещаются на сетку.

В 1976 году, для длительного культивирования взрослых тканей человека, таких как эпителий бронхов и молочной железы, пищевод и др. был предложен метод поочередного культивирования в жидкой среде и газовой фазе. Для этого экспланты прикрепляются ко дну пластикового сосуда и покрываются средой. Сосуды помещают в камеру с определенным газовым составом, а камера помещается на качающуюся платформу.

Врожденный иммунитет

Если микроорганизму удастся проникнуть через первичные барьеры, он сталкивается с клетками и механизмами системы врожденного иммунитета. Врожденная иммунная защита неспецифична, то есть её звенья распознают и реагируют на чужеродные тела независимо от их особенностей^[7]. Эта система не создаёт длительной невосприимчивости к конкретной инфекции. Система врожденного иммунитета осуществляет основную защиту у большинства живых многоклеточных организмов.

Методы Клинический осмотр. При прижизненном наблюдении определяли поведение, оценивали состояние и окраску покровов,

состояние видимых слизистых.

Вскрытие и осмотр при вскрытии. Перед проведением вскрытия животных взвешивали. При вскрытии определяли состояние внутренних органов, брали соскобы для проведения бактериологического и паразитологического исследования.

Бактериологическое исследование. Первичные посевы микроорганизмов из кишечника исследуемых организмов проводили на мясопептонный агар (МГТА), мясопептонный бульон (МПБ) и среду ПДГ (пептон, дрожжевой экстракт, глюкоза— концентрация всех веществ 1 г/л). При исследовании микроорганизмов морских рыб в среды добавляли хлорид натрия (2%). Бактериологические указаниям МСХ РФ и руководствам по бактериологии [Бауер и др., 1981].

Выделенные бактерии идентифицировали по результатам биохимических и морфологических исследований [Берджи, 1997].

Паразитологическое исследование. Сбор паразитов производился методом частичных паразитологических вскрытий рыб. Степень зараженности оценивалась долей зараженных животных (экстенсивностью инвазии), абсолютным количеством паразитов на особь (интенсивностью инвазии) и количеством паразитов одного вида, приходящимся на единицу массы (1 г) тела особи хозяина (удельной интенсивностью инвазии).

Взятие крови и получение сыворотки. Каплю крови наносили на предметное стекло для приготовления мазка. Остальную кровь оставляли для получения сыворотки. После формирования кровяного сгустка сыворотку отделяли центрифугированием при 6 000 g в течение 5 мин, разливали по аликвотам и хранили при -70°C (в зависимости от условий эксперимента допускали хранение сыворотки при -20°C в течение краткого периода времени).

Подсчет форменных элементов крови. Исследование форменных элементов крови животных (эритроцитов, гранулоцитов, моноцитов и лимфоцитов) проводили на мазках, фиксированных метанолом и окрашенных по Романовскому-Гимза [Иванова, 1983]. Дифференцированный подсчет клеток крови проводили на мазках под иммерсионным объективом при 1000-кратном увеличении. Содержание клеток определяли как долю клеток определенного типа в общем количестве подсчитанных элементов крови. Подсчет эритроцитов и недифференцированный подсчет лейкоцитов проводили также в камере Горяева.

Определение скорости оседания эритроцитов. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) в крови определяли по Панченкову [Иванова, 1983] в капиллярах Панченкова, смешивая кровь с 5% раствором лимоннокислого натрия в соотношении 1:4.

Определение концентрации гемоглобина в крови.

Концентрацию гемоглобина в крови определяли по стандартной методике [Иванова, 1983] с использованием стандартного реактива компании «Биоконт» (Россия) на фотоэлектроколориметре КФК-2-УХЛ 4.2 (Россия) при длине волны 540 нм.

Тема №7 - Основы иммунодиагностики. Иммунопрофилактика.

1. ПОНЯТИЕ ИММУНОДИАГНОСТИКИ И ЕЕ ВИДЫ

Иммунодиагностика – это использование реакций иммунитета для диагностики инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Реакции иммунитета – это взаимодействие антигена с продуктами иммунного ответа. В любой реакции иммунитета выделяют две фазы:

- 1) специфическую – обусловлена взаимодействием антигена с антителом и образованием комплекса Антиген – Антитело (АГ – АТ);
- 2) неспецифическую.

Все реакции иммунитета делятся на:

- 1) простые; участвуют два компонента (антиген и антитело);
- 2) сложные; участвуют три компонента и более (антиген, антитело, комплемент и т. д.).

Выделяют также:

- 1) прямые; результат учитывается визуально без специальных индикаторных систем;
- 2) непрямые; для учета требуются специальные системы индикации.

Для иммунодиагностики используются следующие реакции иммунитета.

1. Реакция агглютинации – это склеивание и осаждение корпускулярного антигена под действием антитела в присутствии электролита.

Различают следующие модификации реакции агглютинации:

- 1) реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА);
- 2) латекс-агглютинацию;
- 3) ко-агглютинацию;
- 4) антиглобулиновый тест (реакция Кумбса).

Самая распространенная реакция – РПГА. В ней один из компонентов (антиген или антитело) адсорбирован на эритроцитах, которые при образовании комплекса АТ – АГ склеиваются и выпадают в осадок. В латекс-агглютинации в качестве сорбента используют частицы латекса, а в ко-агглютинации – клетки золотистых стафилококков. Реакция Кумбса используется для выявления неполных антител.

2. Реакция преципитации – это осаждение антигена из раствора под действием антитела преципитирующей сыворотки в присутствии электролита. В реакции участвует растворимый антиген.

3. Реакция связывания комплемента (РСК) – сложная, многокомпонентная непрямая реакция иммунитета. Включает в себя две системы:

1) исследуемую, состоящую из антигена и антитела (один из них неизвестен), в которую вносится также комплемент;

2) индикаторную, состоящую из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к ним.

Если в исследуемой системе антиген и антитело соответствуют друг другу, то они образуют комплекс, связывающий комплемент. В этом случае в индикаторной системе не произойдет изменений. Если же в исследуемой системе антиген и антитело не соответствуют друг другу, то комплекс АГ – АТ не образуется, комплемент остается свободным. Он связывается комплексом АГ – АТ индикаторной системы и тем самым обуславливает гемолиз эритроцитов.

4. Реакции с участием меченых антигенов или антител:

1) радиоиммунный анализ (РИА); основан на использовании меченных радиоактивным йодом или водородом антител. Образующийся комплекс АГ – АТ с радиоактивной меткой обнаруживается с помощью радиометров;

2) реакция иммунофлюоресценции; основана на том, что антитела иммунной сыворотки метят флюорохромами. Комплекс АГ – АТ обнаруживают при флюоресцентной микроскопии;

3) иммуноферментный анализ (ИФА); компонент реакции метят ферментом, который при положительном результате включается в комплекс АГ – АТ. При добавлении соответствующего субстрата происходит изменение окраски.

5. Реакция токсиннейтрализации (для определения типа токсина возбудителя). Смесь токсина и антитоксической сыворотки вводят белым мышам, и, если они соответствуют друг другу, т. е. нейтрализуются, мыши не погибают.

2.ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ ИММУНОДИАГНОСТИКИ.

Задача иммунодиагностики — идентификация нарушенного звена иммунной системы, что дает возможность подтвердить (или отклонить) клинический диагноз.

Комплекс тестов, с помощью которых диагностируются наиболее частые нарушения в иммунной системе:

– **оценка фагоцитоза:**

определение абсолютного числа нейтрофилов и моноцитов;

интенсивности поглощения микробов фагоцитами;

способности фагоцитов убивать микробы;

интенсивности хемотаксиса фагоцитов и экспрессии молекул адгезии (CD11a, CD11b, CD11c, CD18) на поверхностной мембране нейтрофилов;

– **оценка В-системы иммунитета:**

определение иммуноглобулинов G, A, M и E в сыворотке крови; процентного и абсолютного количества В-лимфоцитов (CD 19, CD20) в периферической крови.

Их определение — главный метод диагностики всех форм иммунодефицитов, связанных с биосинтезом антител, которые проявляются прежде всего в виде длительно протекающих, рецидивирующих инфекций респираторного тракта, хронических синуситов, отитов и др. В зависимости от формы иммунодефицита у таких больных могут наблюдаться диарея, лямблиоз, кожные поражения, злокачественные новообразования. Дефицит IgA часто ассоциируется с аутоиммунными и аллергическими заболеваниями. В последнем случае нередко повышен уровень IgE.

Определение количества иммуноглобулинов позволяет судить не только о нормальном функционировании В-, но и косвенно о Т-системе иммунитета. Повышенный уровень IgE может свидетельствовать об усилении синтеза интерлейкина-4 и, следовательно, об усилении функции Т-хелперов.

Оценка количества иммуноглобулинов включает определение:

- субклассов иммуноглобулинов, особенно IgG;
- секреторного IgA;
- соотношения каппа- и лямбда-цепей;
- специфических антител к белковым и полисахаридным антигенам;
- способности лимфоцитов давать пролиферативный ответ на В- (стафилококк, липополисахарид) и Т-, В-(митогенлаконоса) митогены.

Определение содержания субклассов IgG представляет диагностическую ценность, так как при нормальном уровне IgG могут быть дефициты по субклассам иммуноглобулинов.

Существенную информацию о состоянии гуморального иммунитета дает определение антител к бактериальным белковым и полисахаридным антигенам, так как степень защиты организма зависит не от общего уровня иммуноглобулинов, а от количества антител к возбудителю и их функциональных свойств. К последним следует отнести такое свойство антител, как аффинность, от которого в значительной степени зависит прочность взаимодействия антител с антигеном. Низкоаффинные антитела обладают пониженной способностью к опсонизации и, следовательно, к элиминации антигенов из организма. Поэтому продукция низкоаффинных антител может вести к развитию иммунодефицитного состояния, проявляющегося в частых инфекционных заболеваниях.

Важное функциональное свойство иммуноглобулинов — опсонизирующая активность. Выполнение нейтрофилом этой функции зависит от опсонизирующей активности сыворотки крови, где иммуноглобулинам и комплементу принадлежит ведущая роль.

Большое значение имеет изучение таких характеристик иммуноглобулинов, как уровень их гликозилирования. Так, гликопротеины и их углеводные фрагменты играют определенную роль во взаимодействии антител с Fc-рецептором макрофагов и нейтрофилов. Поэтому дегликозилированные антитела имеют существенно меньшую активность в антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности и комплементзависимом гемолизе. Иммуные комплексы, образованные такими антителами, значительно хуже выводятся из организма. Формирование недостаточно гликозилированных антител является, вероятно, одной из причин развития аутоиммунных процессов.

– Оценка Т-системы иммунитета:

определение общего числа лимфоцитов;

процентного и абсолютного числа зрелых Т-лимфоцитов (CD3) и двух основных их субпопуляций: хелперов/индукторов (CD4) и киллеров/супрессоров (CD8);

пролиферативного ответа на основные Т-митогены: фитогемагглютинин и конканавалин А.

Определение количества Т-клеток и их двух основных субпопуляций — один из главных методов оценки Т-системы иммунитета и соответственно иммунодиагностики всех форм иммунодефицитов.

Определение содержания Т-лимфоцитов (CD3) и их субпопуляций (CD4, CD8) важно не только для диагностики врожденных Т-клеточных дефицитов и ВИЧ-инфекции, но и для оценки иммунной системы при аутоиммунных заболеваниях.

При оценке В-системы иммунитета рекомендовано определение как числа В-лимфоцитов, так и уровня иммуноглобулинов, что позволяет исследовать В-систему иммунитета как с количественной, так и с функциональной стороны.

Простейшим из всех сложных методов оценки функциональной активности Т-лимфоцитов является реакция бласттрансформации с применением фитогемагглютинина и конканавалина А.

Пролиферативный ответ Т-лимфоцитов на митогены понижен практически при всех хронических инфекционно-воспалительных процессах, злокачественных заболеваниях, особенно кроветворной системы, при всех видах иммунодепрессивной терапии, при СПИДе и при всех первичных Т-клеточных иммунодефицитах.

К тестам оценки Т-системы иммунитета также относят определение:

- продукции цитокинов (интерлейкинов (ИЛ): ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, гамма-интерферона, фактора некроза опухоли (ФНО) и др.);
- активационных молекул на поверхностной мембране Т-лимфоцитов (CD25, HLA-DR);
- молекул адгезии (CD11a, CD18);
- пролиферативного ответа на специфические антигены, чаще всего на дифтерийный и столбнячный анатоксины;
- кожные тесты с рядом микробных антигенов.

Определение продукции цитокинов лимфоцитами и макрофагами должно стать главным методическим приемом в иммунодиагностике заболеваний, связанных с нарушением иммунной системы. Ряд коммерческих и научно-исследовательских учреждений России выпускает иммуноферментные наборы для определения цитокинов как в сыворотке крови, так и в супернатантах стимулированных культур лимфоцитов. Особенно важно определение ИЛ-2, таких провоспалительных цитокинов, как ФНО, ИЛ-1 и гамма-интерферон.

Большое значение для иммунодиагностики имеет изучение экспрессии активационных молекул и молекул адгезии на поверхности Т-лимфоцитов, что дает ценную информацию о степени активации Т-клеток.

Существенную информацию о состоянии иммунной системы может дать углубленное изучение антигенраспознающего Т-клеточного рецептора.

Описаны иммунодефициты, связанные с ненормальным распределением альфа/бета и гамма/дельта-рецепторов Т-лимфоцитов и с отсутствием одной из цепей CD3-комплекса — гамма или эILON.

Отдельно стоит вопрос о кожных пробах в диагностике Т-клеточных иммунодефицитов, которые применяются в качестве скринирующих тестов оценки Т-системы иммунитета. Это связано с двумя обстоятельствами. Первое — кожные пробы являются простейшими информативными тестами, оценивающими функциональную активность Т-лимфоцитов. Положительные кожные тесты позволяют исключить наличие у больного Т-клеточного иммунодефицита. Второе — некоторые западные фирмы разработали системы постановки кожных проб, которые включают основные антигены для определения Т-клеточного иммунитета, что позволяет контролировать функциональную активность Т-системы иммунитета.

Актуальной является задача создания на новом методическом уровне комплекса стандартных, унифицированных и в то же время

простых информативных тестов оценки фагоцитоза, системы комплемента, гуморального и клеточного иммунитета:

- иммуноферментных систем для определения основных цитокинов в различных биологических жидкостях;
- моноклональных антител, позволяющих идентифицировать основные субпопуляции Т-хелперов;
- молекулярно-генетических методов, позволяющих идентифицировать основные цитокины в клетке.

3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ, ИССЛЕДОВАНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА, ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ И АНТИГЕНОВ.

Механизмы неспецифической резистентности. Защитные функции, т. е. поддержание гомеостаза при антигенных воздействиях, иммунная система осуществляет с помощью комплекса сложных взаимосвязанных реакций, носящих как специфический, т. е. присущий только иммунной системе, так и неспецифической (общефизиологический) характер. Поэтому все формы иммунного реагирования и факторы защиты организма подразделяют на специфические и неспецифические.

К неспецифическим факторам резистентности относят:

1. Механические факторы – барьерную функцию кожи и слизистых оболочек, нормальной микрофлоры, лимфатических узлов.

2. Физико-химические факторы – барьерную функцию пищеварительных ферментов, протеолитических и других ферментов, имеющих в жидкостях и тканях организма.

3. Ареактивность клеток макроорганизма, т.е. клеточные факторы.

4. Воспаление.

5. Фагоцитоз.

6. Гуморальные неспецифические факторы – бактерицидные вещества сыворотки крови.

7. Интерферон и термолabile ингибиторы, содержащиеся в сыворотке крови (неспецифические факторы защиты организма от вирусов).

8. Физиологические функции организма, направленные на подавление жизнедеятельности микроорганизмов и выделение их из макроорганизма.

Основные методы определения антител

Применение электрофореза позволяет определить содержание антител определенного типа в организме человека и животного. Во

время электрофореза каплю сыворотки крови, находящуюся на специальной бумаге, помещают в электрическое поле. Тогда белковые соединения начинают двигаться. В силу своего разного строения одни соединения движутся быстрее, а другие медленнее. Таким образом, белковые соединения каждой группы преодолевают некоторое расстояние. С помощью этого метода можно обнаружить около 30 групп различных антител.

Искусственные антитела

Для того, чтобы установить наличие **определенных антител в организме животного**, необходимо прибегнуть к более сложным исследованиям, в основе которых лежит способность антител соединяться только с определенными антигенами. При соединении антитела с антигеном в организме образуется комплекс антиген/первичное антитело. Для изучения таких комплексов было создано несколько иммунологических методов. Сначала в крови подопытных животных «выращиваются» антитела, способные распознавать определенные антигены и вступать с ними в связь. Затем антитела, извлеченные из крови животных, изолируют и «отмечают» каким-нибудь радиоактивным соединением или ферментом. Таким образом, с целью обнаружения в организме человека определенных антител сыворотку крови смешивают с вторичными, искусственно полученными, антителами, которые соединяются с искомыми.

Помеченные антитела

Затем при применении специального метода выращенные антитела, не соединившиеся с теми, которые образовались в организме человека или животного, «вымываются». В теле остаются только «помеченные», количество которых легко устанавливается. Таким методом пользуются для того, чтобы выявить возбудители СПИДа или инфекционного гепатита.

4. ПОНЯТИЕ И ВИДЫ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ

В результате контакта с микробами во время инфекции развивается временный или постоянный иммунитет к ним. Иммунопрофилактика позволяет выработать иммунитет до естественного контакта с возбудителем. Благодаря созданию вакцин стала возможной профилактика многих инфекционных болезней и ликвидация такого тяжелого заболевания, как натуральная оспа.

Активная и пассивная иммунизация

Активная иммунизация — введение антигена для стимуляции иммунного ответа и развития иммунитета. Повторная иммунизация способствует более выраженному иммунному ответу и повышению устойчивости к возбудителю. При инфекциях с длительным инкубационным периодом, например при бешенстве, активная иммунизация позволяет предупредить заболевание даже после заражения. В зависимости от типа антигена активная иммунизация приводит к формированию временного или постоянного иммунитета.

Пассивная иммунизация — введение антител к каким-либо антигенам. С помощью пассивной иммунизации можно создать только временный иммунитет продолжительностью 1—6 нед. Хотя пассивная иммунизация вызывает кратковременное повышение устойчивости к возбудителю, ее действие проявляется немедленно. Повторная пассивная иммунизация не усиливает иммунитет и часто сопровождается осложнениями. Ее обычно проводят после контакта с возбудителем и при невозможности активной иммунизации.

Основные средства иммунопрофилактики болезней животных.

Бактериальные вакцины могут быть живыми и инактивированными. Для приготовления живых вакцин используются штаммы со сниженной вирулентностью и сохраненными антигенными и иммуногенными свойствами. Патогенность некоторых бактерий определяется их способностью вырабатывать токсины. Для стимуляции выработки токсиннейтрализующих антител применяют анатоксины — инактивированные токсины с сохраненными антигенными и иммуногенными свойствами.

Вирусные вакцины также могут быть живыми и инактивированными. Живые вирусные вакцины вызывают более длительный иммунитет, чем инактивированные. Для поддержания иммунитета с помощью инактивированных вакцин требуется более частая ревакцинация. Живые вирусные, как и живые бактериальные, вакцины изготавливаются из штаммов со сниженной вирулентностью, но сохраненными антигенными и иммуногенными свойствами.

Комбинированное применение вакцин. Существует предположение, что при одновременном применении нескольких вакцин иммунный ответ на них может меняться. Так, при одновременном применении вакцины против желтой лихорадки и вакцины против холеры или противокоревой вакцины иммунный ответ на одну или обе вакцины снижается. При одновременном применении вакцин, вызывающих местные или системные реакции, их побочное действие может усиливаться, установить причину побочных реакций при этом обычно не удается. В связи с этим комбинации вакцин назначают только в том случае, когда их эффективность и безопасность

точно установлены, а живые вирусные вакцины назначают с интервалом не менее 1 мес. Разрешено применение следующих комбинаций вакцин: против дифтерии, коклюша и столбняка (АКДС, АДС, АДС для взрослых), против кори, эпидемического паротита и краснухи, живой полиомиелитной вакцины с АКДС, вакцины против кори, эпидемического паротита и краснухи с третьей или четвертой дозой живой полиомиелитной вакцины и АКДС, а также вакцины против *Haemophilus influenzae* типа В в сочетании с любыми перечисленными вакцинами. Существует комбинированная вакцина, в состав которой входят АКДС и вакцина против *Haemophilus influenzae* типа В. Ее назначают детям грудного и младшего возраста, у детей старше 7 лет ее не применяют. При необходимости одновременно назначают все вакцины, необходимые ребенку данного возраста.

Введение вакцин

А. Применяют одноразовые шприцы и иглы. Для п/к и внутривенных инъекций используют иглы 25 G длиной 16 мм, для в/м — 22 G длиной 32 мм.

Б. Для п/к инъекций лучше всего использовать разгибательную или наружную поверхность плеча, для внутривенных — внутреннюю поверхность предплечья, для в/м — переднебоковую поверхность верхней части бедра или (у подростков и взрослых) дельтовидную область. При одновременном применении нескольких вакцин их вводят в разные участки. В настоящее время не рекомендуется вводить вакцины в верхненаружный квадрант ягодицы. Инъекции в эту область производят лишь в том случае, когда необходимо ввести большой объем препарата, например, нормального иммуноглобулина.

В. После введения иглы слегка потягивают за поршень шприца. Если в шприце появляется кровь, иглу вводят в другой участок.

Г. Для каждой инъекции применяют отдельные одноразовые иглу и шприц. Использованные иглы и шприцы выбрасывают в специальный контейнер.

Хранение вакцин. При неправильном хранении вакцины теряют активность. Условия хранения и использования приведены в инструкции изготовителя, прилагаемой к каждой вакцине. Ниже приведены правила хранения часто употребляемых вакцин.

Температура хранения вакцин не должна превышать 2—8°C (если в инструкции не указана другая), при транспортировке — 10°C. Замораживать вакцины нельзя.

Осложнения вакцинации. Чаще всего это местные реакции (уплотнение и боль в месте инъекции), изредка они бывают выраженными. При выраженной местной реакции, особенно при повторном введении столбнячного анатоксина ревакцинация

соответствующими вакцинами противопоказана. Системные реакции проявляются лихорадкой, артралгией, артритом, сыпью и артериальной гипотонией. Чаще всего наблюдается незначительная лихорадка, которую лечат жаропонижающими средствами. Аллергические реакции могут быть вызваны самой вакциной, а также яичным белком, антимикробными средствами или консервантами, входящими в ее состав.

Последнее время подвергается сомнению целесообразность применения инактивированной вакцины против коклюша. Однако по нашему мнению, при правильном использовании эта вакцина достаточно эффективна. Связь между вакцинацией против коклюша и неврологическими расстройствами не доказана. Поданным Американской академии педиатрии (Report of the Committee on Infectious Diseases, Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics, 1994. Pp. 361—367), абсолютными противопоказаниями к ревакцинации АКДС служат:

- 1) аллергическая реакция после предыдущей вакцинации;
- 2) энцефалопатия, развившаяся в течение 7 сут после предыдущей вакцинации (нарушения сознания и очаговая неврологическая симптоматика).

Ранее к абсолютным противопоказаниям также относили:

- 1) не объяснимое другими причинами повышение температуры более 40,5°C в течение 48 ч после вакцинации;
- 2) резкую артериальную гипотонию в течение 48 ч после вакцинации;
- 3) громкий плач на протяжении 3 ч или необычный, пронзительный крик в течение 48 ч после вакцинации;
- 4) эпилептические припадки в течение 3 сут после вакцинации.

При развитии эпилептических припадков в течение 4—7 сут после вакцинации, перед ревакцинацией показано неврологическое исследование. Поскольку все перечисленные осложнения не вызывают стойких нарушений, в настоящее время их рассматривают как относительные противопоказания к ревакцинации. Широко применявшаяся ранее инактивированная вакцина против коклюша состоит из целых клеток возбудителя. В настоящее время выпускается и субъединичная вакцина. Она иммуногенна, но вызывает меньше побочных эффектов, чем инактивированная.

Противопоказания и меры предосторожности. Поскольку любая вакцина обладает побочными действиями, вакцинацию проводят только в том случае, когда ожидаемая польза значительно превосходит риск осложнений. Противопоказаниями к вакцинации служат следующие состояния.

Высокая лихорадка. Инфекция верхних дыхательных путей без лихорадки не служит противопоказанием к вакцинации.

Иммунодефициты. В этом случае противопоказаны живые вакцины. Их можно применять лишь после нормализации иммунитета. Инактивированные вакцины и анатоксины использовать можно.

Во время лечения кортикостероидами, антимаболизитами, цитостатиками, антилимфоцитарным иммуноглобулином и при проведении лучевой терапии противопоказаны живые вакцины.

Беременность, гемобластозы. Противопоказаны живые вакцины.

Д. После применения нормальных иммуноглобулинов и переливания плазмы или цельной крови вакцинация противопоказана в течение 8 нед.

Е. Одновременное применение нескольких вакцин противопоказано, если не подтверждены его эффективность и безопасность.

Ж. Аллергическая реакция на данную вакцину в анамнезе. При этом также противопоказаны сходные с ней вакцины. Больным с аллергией к яйцам, куриному и утиному мясу противопоказаны вакцины, приготовленные из вирусов, выращенных на эмбрионах кур и уток. При выраженной аллергии к яйцам перед вакцинацией ставят кожную пробу с вакциной и при необходимости проводят десенсибилизацию (J. J. Herman, R. Radin, R. Schneiderman. Allergic reactions to measles (rubeola) vaccine in patients hypersensitive to egg protein. J. Pediatr. 102:196, 1983). При подозрении на аллергию к белкам, используемым при изготовлении вакцины, подбирают вакцину, изготовленную по другой технологии, или проводят следующие мероприятия.

1. Ставят скарификационную пробу с вакциной, разведенной физиологическим раствором в соотношении 1:10. Реакцию оценивают через 20 мин .

2. При отрицательной реакции проводят внутрикожную пробу с вакциной, разведенной физиологическим раствором в соотношении 1:100. Вводят 0,02 мл полученного раствора.

3. Если реакция отрицательна, проводят вакцинацию. После введения вакцины за больным наблюдают в течение 30 мин. Профилактика и лечение анафилактических реакций описаны.

Юридические аспекты иммунопрофилактики. В США принят закон о порядке возмещения ущерба, нанесенного иммунопрофилактикой. Принятие этого закона привело к снижению числа судебных исков против изготовителей и поставщиков вакцин. Согласно этому закону, родители должны подписать документ, в котором указаны отрицательные и положительные последствия

вакцинации, а также номер партии, фирма-производитель и дата введения вакцины или иммуноглобулина.

Иммунопрофилактика во время беременности

А. Беременным противопоказаны живые вирусные вакцины, например, противокоревая, а также против краснухи, полиомиелита, эпидемического паротита, желтой лихорадки. В редких случаях, когда контакт с возбудителем неизбежен (например, при поездке в район его распространения), можно ввести вакцину против желтой лихорадки.

Б. Инактивированные вирусные вакцины, например антирабическая и противогриппозная, применяют по строгим показаниям: укусы животного, больного бешенством, высокий риск заражения гриппом у беременной с сердечно-сосудистыми заболеваниями или заболеваниями легких. Столбнячный и дифтерийный анатоксины при беременности не противопоказаны и даже рекомендуются, если ранее не применялись.

В. Беременность матери не служит противопоказанием к вакцинации ребенка, в том числе живыми вирусными вакцинами.

Вакцинация взрослых. После полного курса вакцинации в детском возрасте каждые 10 лет проводят ревакцинацию против столбняка и дифтерии. Лицам старше 65 лет ежегодно вводят противогриппозную и пневмококковую вакцины.

Новые рекомендации

А. В 1989 г. в США была отмечена вспышка кори, в связи с чем было рекомендовано провести ревакцинацию всего населения. Ревакцинацию против кори можно проводить в 5—6 лет (по рекомендациям Центра по контролю заболеваемости) или в 11—12 лет (по рекомендации Комитета по инфекционным заболеваниям при Американской академии педиатрии).

Б. В связи с тем, что ранее выпускавшаяся вакцина против *Haemophilus influenzae* типа В эффективна только у детей старше 2 лет, была предложена новая вакцина, состоящая из полисахарида *Haemophilus influenzae* типа В, конъюгированного с белком-носителем. Эта вакцина эффективна у грудных детей.

В. В связи с недостаточной эффективностью выборочной вакцинации против гепатита В было рекомендовано проводить вакцинацию всего населения. Рекомбинантную вакцину против гепатита В вводят трижды в грудном возрасте.

Г. Поскольку применение инактивированной брюшнотифозной вакцины нередко сопровождается местными реакциями и лихорадкой, была разработана живая брюшнотифозная вакцина. Ее назначают перед поездкой в районы с широким распространением заболевания.

Д. В настоящее время на стадии разработки находятся инактивированная вакцина против гепатита А и живая вакцина против вируса varicella-zoster. Кроме того, исследуются новые комбинированные вакцины, использование которых позволит сократить количество инъекций у грудных детей.

Иммунопрофилактика перед зарубежными поездками. Большинство лиц, вакцинированных в соответствии с современными требованиями системы здравоохранения США, не нуждаются в дополнительной вакцинации перед зарубежными поездками. Перед поездкой в Европу, Канаду, Мексику, Австралию, Новую Зеландию, на Карибские острова и после поездки в эти страны дополнительной вакцинации не требуется. При поездке в другие страны может потребоваться вакцинация против холеры, брюшного тифа, бешенства, менингококковой инфекции, японского энцефалита и желтой лихорадки. Поскольку санитарно-гигиеническая обстановка в странах Африки, Азии, Южной и Центральной Америки, южной части Тихого океана, Среднего и Дальнего Востока значительно различается, перед поездкой разрабатывают индивидуальный план вакцинации, исходя из следующих рекомендаций.

А. Необходимо знать требования к вакцинации, предъявляемые в данной стране. Эти сведения постоянно публикуются (Health Information for International Travel) и ежегодно пересматриваются Центром по контролю заболеваемости. В нем, а также в консульстве страны, в которую планируется поездка, можно получить консультацию по всем вопросам, связанным с вакцинацией.

В. **Иммуноглобулин против гепатита А** рекомендуется всем выезжающим в развивающиеся страны и районы распространения возбудителя. При длительных поездках введение препарата повторяют каждые 6 мес. Если пребывание в районах распространения возбудителя длится более года, обычно возникает носительство. Оно приводит к развитию иммунитета, при котором дальнейшее введение иммуноглобулина не требуется.

В. Следует учитывать последовательность посещения разных стран и их районов (сельских и городских).

Г. Поездку следует планировать заранее, чтобы иметь достаточно времени для полного курса вакцинации и получения международного свидетельства.

Временное прерывание курса вакцинации не приводит к снижению иммунитета, приобретенного после завершения этого курса. После прерывания курса вакцинации количество ревакцинаций не меняется и не зависит от длительности перерыва.

Средства для активной иммунизации. В Центре по контролю заболеваемости можно приобрести вакцины, находящиеся на стадии разработки. Их применяют только по специальным показаниям.

Средства для пассивной иммунизации

А. Нормальные иммуноглобулины:

1. Нормальный иммуноглобулин получают из обогащенной иммуноглобулинами плазмы здоровых доноров. В препарате содержатся IgG и следовые количества IgM, IgA и других белков плазмы. Концентрация IgG в препарате (16,5% раствор) составляет 165 мг/мл. Нормальный иммуноглобулин хранят при температуре 2—8°C. Замораживать препараты иммуноглобулинов нельзя.

а. Препарат вводят глубоко в крупную мышцу, используя иглу 18—20 G. Следует избегать попадания в кровеносный сосуд. Взрослым и детям старшего возраста в одно место инъекции вводят не более 5 мл, детям грудного и младшего возраста — не более 1—3 мл препарата. Одновременно вводят не более 20 мл препарата. Больным с тяжелой тромбоцитопенией или любым другим нарушением гемостаза нормальный иммуноглобулин противопоказан.

б. Все препараты нормальных иммуноглобулинов безопасны и не содержат ВИЧ и вируса гепатита В. Нормальные иммуноглобулины, разрешенные к применению в США, вызывают инфекционные осложнения крайне редко.

в. Нормальный иммуноглобулин не применяют при частых острых респираторных заболеваниях, бронхиальной астме и аллергических заболеваниях **в отсутствие дефицита IgG.**

г. Побочные действия. При случайном попадании в сосуд нормальный иммуноглобулин может вызвать анафилактическую реакцию, поскольку агрегаты IgG активируют комплемент. Местные реакции при применении нормального иммуноглобулина — боль, асептический абсцесс, фиброз, поражение седалищного нерва.

2. Нормальный иммуноглобулин для в/в введения. Поскольку в/м инъекции не позволяют вводить нормальный иммуноглобулин в высоких дозах, в настоящее время все чаще применяется нормальный иммуноглобулин для в/в введения. В США разрешены к применению 7 препаратов нормального иммуноглобулина для в/в введения. Они используются для заместительной терапии у больных с недостаточностью гуморального иммунитета. Эти препараты содержат достаточный уровень антител к столбнячному, дифтерийному анатоксином и вирусу полиомиелита. Титр антител к другим микроорганизмам может быть разным. Нормальный иммуноглобулин для в/в введения назначают при X-сцепленной агаммаглобулинемии,

тяжелом комбинированном иммунодефиците, иммунной тромбоцитопенической пурпуре, болезни Кавасаки и хроническом лимфолейкозе, сопровождающемся гипогаммаглобулинемией и рецидивирующими инфекциями. Нормальный иммуноглобулин для в/в введения применяют также для профилактики цитомегаловирусной пневмонии после трансплантации костного мозга и лечения синдрома Гийена—Барре. Показано, что у новорожденных с низким весом и у ВИЧ-инфицированных детей, у которых содержание лимфоцитов CD4 превышает 400 мм^{-3} , нормальный иммуноглобулин для в/в введения снижает риск тяжелых бактериальных инфекций. В неконтролируемых исследованиях показано, что нормальный иммуноглобулин для в/в введения эффективен при аутоиммунных заболеваниях, в том числе при полимиозите и миастении. Препараты иммуноглобулина для в/в введения безопасны и редко вызывают серьезные побочные эффекты, в том числе вирусные инфекции.

Б. Специфические иммуноглобулины применяются для профилактики и лечения некоторых инфекций. Их выделяют из сыворотки вакцинированных или недавно перенесших инфекцию доноров. Стандартизация этих препаратов основана на определении титра антител к антигенам соответствующего возбудителя. Специфические иммуноглобулины вызывают побочные эффекты реже, чем иммунные сыворотки, получаемые из сыворотки животных. Специфические иммуноглобулины наиболее эффективны при введении сразу после заражения. Поскольку продолжительность их действия невелика, одновременно с ними по возможности следует вводить соответствующие вакцины.

В. Свежезамороженная плазма. Свежезамороженную плазму для переливания выпускают в пластиковых контейнерах. Одна доза свежезамороженной плазмы соответствует 200—250 мл донорской плазмы. Этот препарат применяют: 1) для увеличения ОЦК при шоке; 2) как источник иммуноглобулинов при невозможности применения нормальных иммуноглобулинов (с этой целью свежезамороженную плазму назначают в дозе 20 мл/кг/мес); 3) как источник компонентов плазмы при их дефиците, например фактора VIII при гемофилии или ингибитора C1-эстеразы при наследственном отеке Квинке (дозы подбирают индивидуально). Свежезамороженная плазма имеет некоторые преимущества перед нормальными иммуноглобулинами, поскольку она содержит компоненты, отсутствующие в нормальных иммуноглобулинах: IgA, IgM, компоненты комплемента и другие. К недостаткам свежезамороженной плазмы относятся: 1) риск передачи инфекции; 2) объемная перегрузка; 3) риск аллергических реакций; 4)

риск реакции «трансплантат против хозяина» при переливании необлученной свежезамороженной плазмы больным с недостаточностью клеточного иммунитета.

3. Иммунные сыворотки

1. Поскольку риск осложнений при использовании иммунных сывороток, в том числе противоядных и антитоксических, очень высок, они применяются только в тех случаях, когда отсутствуют соответствующие специфические иммуноглобулины. Иммунные сыворотки вызывают местные и системные аллергические реакции и сывороточную болезнь. Сывороточная болезнь развивается приблизительно у 20% реципиентов иммунных сывороток, полученных от лошадей, через 1—3 нед после введения. Ее риск особенно высок при назначении иммунных сывороток в высоких дозах. Предварительное иммунологическое исследование неинформативно. Для предупреждения и снижения тяжести сывороточной болезни применяют H_1 -блокаторы.

Меры предосторожности

а. Иммунные сыворотки применяются только по абсолютным показаниям.

б. Обязательно уточняют, назначались ли иммунные сыворотки раньше и не было ли на них реакций. Особую осторожность следует соблюдать при сенсibilизации к лошадиным эпидермальным аллергенам. Даже в отсутствие реакций на иммунные сыворотки в анамнезе их вводят только после проведения кожных проб.

в. Сначала проводят пунктирную пробу. Иммунную сыворотку разводят физиологическим раствором в соотношении 1:100. Реакцию оценивают через 20 мин. Если она отрицательна, внутрикожно вводят 0,02 мл сыворотки в разведении 1:1000. При отрицательной реакции пробу повторяют с сывороткой в разведении 1:100. Реакцию оценивают через 30 мин.

г. Если внутрикожная проба отрицательна, вводят гетерологичную сыворотку в/м. Даже при отрицательных кожных пробах соблюдают все меры предосторожности. При положительной кожной пробе проводят десенсibilизацию.

д. Если иммунную сыворотку необходимо ввести в/в, сначала медленно вводят пробную дозу — 0,5 мл сыворотки в 10 мл физиологического раствора или 5% раствора глюкозы — и наблюдают за больным в течение 30 мин. В отсутствие реакции вводят сыворотку в разведении 1:20, со скоростью не более 1 мл/мин.

е. Следует помнить, что иммунные сыворотки часто вызывают пирогенные реакции.

ж. При системных реакциях на иммунные сыворотки в анамнезе или положительных кожных пробах показана десенсибилизация.

1) Под рукой должны быть средства для лечения анафилактических реакций

2) Единой схемы десенсибилизации не существует. Можно руководствоваться рекомендациями Американской академии педиатрии

3) Если во время десенсибилизации развивается аллергическая реакция, а иммунная сыворотка абсолютно показана, рекомендуется следующее.

а) Вводят адреналин, 0,3—0,5 мл раствора 1:1000 в/м, детям — 0,01 мл/кг в/м, и другие препараты, используемые для лечения анафилактических реакций.

б) Наблюдают за больным в течение 15—30 мин.

в) В отсутствие ухудшения вводят сыворотку в максимальной дозе, не вызывающей аллергическую реакцию, после чего дозу сыворотки осторожно повышают.

4) Профилактическое назначение H_1 -блокаторов и кортикостероидов снижает риск анафилактической реакции. За 2 ч до введения очередной десенсибилизирующей дозы сыворотки назначают метилпреднизолон, 1—2 мг/кг в/в, и дифенгидрамин, 1,5 мг/кг (не более 50 мг) в/в или в/м.

Тема №8 - Иммунологические отношения при оплодотворении в системе мать-плод.

Иммунологические отношения в системе мать-плод - физиологический процесс, направленный на создание необходимых условий для развития плода в организме матери. Иммунологические отношения в системе мать-плод строятся так, чтобы не только защитить плод от неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды, но и создать дополнительный внешний стимул для его развития. В течение беременности в организм матери поступают чужеродные антигены плода. Отсутствие активной специфической реакции при нормально протекающей беременности объясняется, вероятно, перестройкой иммунологической реактивности. Важный фактор защиты плода — иммунологическая толерантность матери к антигенам плода отцовского происхождения, которая проявляется в избирательности действия на антигены плода в виде полной ареактивности организма по отношению к одному антигену и различной степени снижения иммунологической чувствительности к другому антигену. Блокирующие антитела матери, направленные на антигены плода отцовского происхождения, нейтрализуют антигенные детерминанты в пограничных тканях последа, не допуская прямого контакта с иммунокомпетентными клетками организма матери, и т. о. препятствуют развитию реакций клеточного иммунитета, играющих главную роль в процессе отторжения аллотрансплантата.

Подавлению клеточного иммунитета способствует также повышенный уровень некоторых гормонов (ХГ, кортизола, прогестерона, эстрогенов). При беременности также увеличивается концентрация ряда белков сыворотки крови, обладающих иммуносупрессивными свойствами. Иммунологическая толерантность матери формируется под влиянием не только факторов внутренней среды собственного организма, но и клеточных и гуморальных факторов плода. Фетальные лимфоциты могут подавлять иммунологическую активность лимфоцитов матери. Следовательно, пролиферативная активность лимфоцитов и, вероятно, всех других клеток материнского происхождения, попавших в организм плода, будет подавлена, что исключительно важно в охране генетической индивидуальности плода.

Значительная роль в формировании **иммунологических отношений в системе мать-плод** принадлежит плаценте, где создаются различные условия для прохождения антигенов и иммуноглобулинов в

обоих направлениях. Плацента — достаточно надёжный барьер, препятствующий взаимному проникновению клеток матери и плода, что является определяющим фактором в комплексе естественных механизмов, создающих иммунологическую защиту плода и норм, течение беременности. В процессе беременности развивается специализированная ткань — трофобласт, служащий барьером между двумя организмами, препятствующим концентрации иммунокомпетентных клеток матери в организме плода, а также их прямому контакту и цитолитическому действию на тканевые структуры плода, сенсibilизации матери трансплантационными антигенами плода.

Иммуносупрессивным действием обладают также плацентарные гормоны (ХГ, ПЛ), трофобластические специфич. антигены (ТБГ, РР5), стероидные гормоны (эстрогены, прогестерон, кортико-стероиды), находящиеся на поверхности плаценты в высокой концентрации. Очевидно, функцию локальной иммуносупрессии в плаценте выполняют и местные Т-лимфоциты-супрессоры. Функция иммунологич. барьера выполняется плацентой не только в пределах самого органа, но и вне его. Трофобласт может отдавать в материнский организм целые клетки и отд. их фрагменты, способные сорбировать аллоантигена в организме матери. В плаценте присутствуют иммунокомпетентные клетки всех типов, не являющиеся её собственными. Иммунокомпетентные клетки матери и плода взаимно сенсibilизированы, и плацента является основным местом их взаимной нейтрализации. Иммуносупрессивные функции плаценты обеспечивает многофакторная система, причём каждый компонент этой системы имеет определенные точки приложения и проявляет своё действие в разные сроки беременности. Нарушение иммунологических отношений в системе мать-плод приводит к тяжёлым осложнениям беременности.

После 12 нед беременности в системе «мать-плод» начинается передача иммуноглобулинов. При этом плацента ведёт себя как орган, обладающий выраженной избирательной активностью. Например, из пяти классов иммуноглобулинов трансплацентарный переход возможен лишь для IgG. Проходящие через плаценту материнские антитела защищают плод, а затем и ребенка, от инфекционных заболеваний, которые перенесла мать. Но в тех случаях, когда произошла изоиммунизация матери антигенами плода, возникают патологические проявления.

Плацента выполняет функцию иммунологического барьера не только в пределах самого органа, но и вне его. К концу беременности в кровотоке матери ежедневно поступает около 100 000 клеток

трофобласта. Они выполняют функцию антигенов, сорбирующих в организме матери аллоантитела, то есть антитела, вырабатывающиеся против клеток плода.

В том случае, если в организме беременной женщины вырабатываются антитела против антигенов плаценты, возможно досрочное прерывание беременности. У женщин с угрозой невынашивания также антитела определяются в 50% случаев. Кроме того, изосенсибилизация антигенами плаценты сопровождается изосенсибилизацией другими антигенами плода (обнаруживаются антитела против эритроцитов, лейкоцитов, печени, почек плода). Подобные антитела также могут оказать повреждающее действие на плод.

По-видимому, антиплацентарные антитела приводят к повышению проницаемости плаценты для органических антигенов. В эксперименте введение животному антиплацентарной сыворотки приводит к нарушению процесса плацентации и досрочному прерыванию беременности.

Дефекты распознавания антигенов плода материнскими лимфоцитами также объясняют «иммунопатологический парадокс». Подобного рода нарушения развиваются вследствие двух причин: 1) неспособности макрофагов прозондировать антигены плода лимфоцитами матери; 2) отсутствия у матери лимфоцитов, ответственных за иммунологическое взаимодействие с антигенами плода (дефект репертуара лимфоцитов).

Дефект репертуара развивается при отсутствии рецепторов к эпитомам антигенов и при неспособности генерировать класс эффекторов против эпитопа, необходимый для отторжения трансплантата.

Среди причин неотторжения плода определенная роль принадлежит блокирующим факторам материнской сыворотки. В сыворотке крови беременных женщин обнаружены факторы, препятствующие развитию клеточных иммунных реакций против лимфоцитов плода, а также против лимфоцитов отца ребенка. Лимфоциты беременных, отмытые от собственной плазмы, развивают нормальный ответ на клетки плода в смешанной культуре, но добавление сыворотки или плазмы беременной отменяет этот эффект. Наибольшая концентрация блокирующих факторов отмечается в конце беременности, вскоре после родов они исчезают.

На возможность сохранения антигенно чужеродного плода в организме матери влияет иммунодепрессивное действие гормонов и негормональных белков, связанных с беременностью. Иммунодепрессивное действие оказывают гормоны хориогонадотропин

и хориосоматотропин. Это действие особенно важно в ранние периоды беременности, пока полностью не развились другие защитные механизмы. Высокая концентрация гормонов в плаценте оказывает местное действие на клеточный иммунитет, который в их отсутствие развили бы материнские лимфоциты.

К негормональным веществам, связанным с беременностью, относятся альфа-фетопротеин и альфа-2-глобулин. Механизм их иммуносупрессивного действия пока не изучен.

Наконец, в периоде беременности в периферической крови женщин значительно возрастает количество Т-супрессоров. Кроме того, лимфоциты, образующиеся в организме плода, также в основном принадлежат к субпопуляции супрессоров.

Приведенные выше механизмы, объясняющие причины «иммунологического парадокса», чрезвычайно разнообразны. По-видимому, вследствие важности данного феномена для существования видов организм не мог ограничиться каким-либо одним механизмом, а допустил существование нескольких дублирующих иммунодепрессивных систем. Феномен «иммунологического парадокса», разумеется, нуждается в дальнейшем изучении.

Имунопатология беременности. Если в организме беременной женщины развивается иммунологический конфликт, он может оказать неблагоприятное действие не только на плод, но и на мать. Развиваются такие осложнения, как привычное невынашивание беременности, поздний токсикоз.

При позднем токсикозе отмечаются изменения клеточного и гуморального иммунитета, меняются соотношения субпопуляций лимфоцитов и концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови. Поздний токсикоз чаще развивается в том случае, когда женщина с О (I) группой крови вынашивает плод А (II) или В (III) группы крови. При тяжелых формах поздних токсикозов (предэклампсии) отмечается несовместимость по системе лейкоцитарных антигенов (HLA). Изменения чаще наблюдаются в случае родственных браков, когда повышается частота общих аллоантигенов HLA у супругов, у матери и плода.

В последние годы достоверно установлено, что наиболее частой причиной привычного невынашивания беременности является совпадение матери и отца по двум и более локусам системы лейкоцитарных антигенов.

Предложены два весьма эффективных метода лечения привычного невынашивания:

- а) пересадка матери небольшого кусочка кожи от отца ребенка,
- б) внутрикожное введение матери отцовских лимфоцитов.

Иммунитет плода. Первичный лимфоидный орган — вилочковая железа — закладывается на шестой неделе беременности. Вначале это эпителиальный орган, производный третьего жаберного кармана. На 8-9-й неделе в вилочковой железе обнаруживаются малые лимфоциты, мигрировавшие сюда из эмбриональной печени, которая в этот период является главным органом кроветворения. На 7-8-й неделях беременности малые лимфоциты появляются в периферической крови плода и их концентрация затем прогрессивно возрастает (с 1000 клеток/мм³ в 24 нед). В этот период они составляют более 50% всех лейкоцитов периферической крови.

На третьем месяце беременности активным кроветворным органом плода становится селезенка, причем до 5 мес в ней образуются в основном эритроциты, а затем — лимфоциты и моноциты. На третьем месяце беременности начинают развиваться периферические лимфоузлы, причем сначала формируется их строма, а через месяц появляются первые лимфоциты. Лимфоидная ткань кишечника развивается во второй половине беременности. Единичные лимфоциты появляются в стенке кишечника на 12-й неделе, но лимфоидные фолликулы лишь на 20-й и позже. Процессы развития вторичных лимфоидных органов, то есть селезенки и периферических лимфоузлов, контролируются тимусом.

В-лимфоциты в печени плода появляются на 9-й неделе беременности. Позднее они обнаруживаются в селезенке и в периферической крови. Первыми на 9-й неделе обнаруживаются клетки с антителами класса IgM, через неделю — клетки с антителами класса IgG, еще через две недели — с антителами класса IgA. В 12-15 нед беременности происходит стремительное нарастание уровня В-лимфоцитов. Их количество становится таким, каким оно будет у новорожденного ребенка.

С 20-й недели клетки селезенки начинают интенсивно продуцировать иммуноглобулины. Так как антитела класса IgG через плаценту не проходят, а в пуповинной крови их концентрация достигает 10 мг/100 мл, ясно, что это собственные иммуноглобулины плода. При врожденных инфекциях концентрация IgM может достигать 20 мг/100 мл.

Антитела классов IgA, IgE, IgD через плаценту не проходят. В небольших количествах их синтез происходит в организме плода. В пуповинной крови новорожденных уровень IgA составляет около 3 мг/100 мл. Определяются ничтожные количества IgD (0,3 мг/100 мл) и IgE (0,003 мг/100 мл).

На антигенное раздражение организм плода отвечает реакциями клеточного и гуморального иммунитета. Гуморальный иммунитет

развивается в ответ на инфекционные антигенные стимулы (материнскую инфекцию). Внутриутробно может происходить сенсibilизация к различным аллергенам, особенно к пыльце растений. Гуморальный иммунитет новорожденного отличается от иммунитета взрослого человека не только интенсивностью реакции, но и тем, что у новорожденного замедленно переключение синтеза антител класса IgM на антитела класса IgG.

Кроме того, что в организме плода происходит интенсивное образование собственных антител, он получает и готовые антитела класса IgG через плаценту от матери. Большая часть антител класса IgG, определяемых у ребенка, — материнского происхождения. Переход антител класса IgG через плаценту — активный процесс, связанный с наличием определенных структур у молекул этого класса. Антитела других классов таких структур не имеют, поэтому через плаценту не переходят.

T-лимфоциты сначала появляются в вилочковой железе, а затем заселяют периферические лимфоидные органы. На 10-й неделе беременности лимфоциты вилочковой железы плода способны развивать ответ на ФГА, то есть являются функционально дееспособными. Лимфоциты периферической крови 12-недельного плода отвечают в смешанной культуре на аллогенные клетки взрослых людей.

В середине беременности плод уже обладает способностью отторгать кожный аллотрансплантат. Функция фагоцитов плода дефектна. Отмечаются нарушения хемотаксиса, подавлена опсонизирующая активность крови. Синтез компонентов комплемента начинается с 8 нед беременности, C1- и C3-компоненты синтезируются в тонкой и толстой кишках, C2 и C4 синтезируются макрофагами, C4-и C5-компоненты образуются в печени. В печени образуется также C1-ингибитор. Общий уровень комплемента в пуповинной крови составляет 50% материнского уровня.

Тема №9 - Онтогенез и филогенез иммунного ответа. Трансплантация эмбрионов.

1.ОНТОГЕНЕЗ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И ЕГО НАРУШЕНИЯ. ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

К понятию «иммунитет» (защита) относятся реакции организма, нейтрализующие все чужеродное, что в него проникает через слизистые оболочки органов дыхания, зрения, желудочно-кишечного тракта или через органы слуха, кожу (включая инъекционный путь).

К чужеродным агентам и веществам относятся бактерии, микроорганизмы, вирусы, вакцины, сыворотки, поврежденные клетки собственного организма, лекарственные препараты, химические и другие соединения. Эти вещества называются **антигенами**.

Молекула антигена состоит из двух частей: носитель или стабилизирующая часть (занимает 97-99% всей массы),

Таким образом, иммунный ответ - это защитная и эпитоп (специфическая детерминантная группа). На одном носителе может быть несколько эпитопов. По специфичности детерминантных групп выделяют видовые, групповые, стадийные, типовые и штаммоспецифичные антигены.

По чужеродности антигены делятся на ксеноил и гетероантигены (не принадлежат к данному виду), гомоил и аллоантигены (принадлежат к данному виду) и аутоантигены (собственные антигены).

В ответ на проникновение антигенов в организме происходят иммунные реакции, в ходе которых в крови и тканевой жидкости продуцируются антитела (крупные гликопротеины), способные к образованию иммунных комплексов «антиген-антитело». Вещества, не способные к образованию этих комплексов, называются **гаптенами**.

система организма, избавляющая его от генетически чуждых веществ и соединений. Она представлена лимфоидными органами и клетками. Среди лимфоидных органов выделяют:

- первичные органы - тимус и костный мозг (их развитие не стимулируется антигенами);
- вторичные органы - лимфатические узлы, селезенка, лимфоидная ткань слизистых оболочек (их развитие стимулируется антигенами).

Все лимфоидные органы тесно связаны со всеми тканями, органами и системами организма при помощи сетей кровеносных и лимфатических сосудов и капилляров, нервных волокон и окончаний.

Морфофункциональным субстратом иммунной системы являются иммунокомпетентные клетки, постоянно взаимодействующие

друг с другом в ходе иммунного ответа. В первую очередь это лимфоциты, относящиеся к самой большой популяции клеток, отвечающей за специфическое распознавание, разрушение и элиминацию антигенов. Лимфоциты отличают «свое» от «чужого», сохраняют об этом память, осуществляют синтез антител и цитотоксические реакции. Среди них выделяют:

- В-клетки - синтезируют антитела или поверхностные рецепторы, специфичные к определенным антигенам.

- Т-клетки - включают три субпопуляции клеток с различными функциями.

- *первая субпопуляция* - взаимодействует с В-клетками, помогая им размножаться, созревать и образовывать антитела - это хелперные клетки (Тх) или помощники;

- *вторая субпопуляция* - взаимодействует с мононуклеарными фагоцитами, способствуя разрушению находящихся в них микробов, - это также хелперные Т-клетки;

- *третья субпопуляция* - разрушает клетки организма, зараженные вирусами, и опухолевые клетки - это цитотоксические клетки (Тц) или натуральные (естественные) киллеры (НК-клетки); они действуют при отсутствии антител (без предварительной иммунизации); к этой субпопуляции также относятся К-клетки, разрушающие клетки-мишени, содержащие на поверхности малое количество JgG.

- Большие гранулярные лимфоциты - совместно с Т-клетками и мононуклеарными фагоцитами участвуют в образовании медиаторов иммунных реакций или цитокинов.

Среди других клеток-участниц иммунного ответа выделяют следующие.

- Макрофаги и их предшественники - моноциты. К ним относятся мононуклеарные фагоциты системы комплемента и полиморфноядерные нейтрофилы. Они обеспечивают фагоцитоз и представление антигенов лимфоцитам, продуцируют цитокины (простагландины, интерлейкины, факторы комплемента).

- Вспомогательные клетки (тучные клетки, тромбоциты и базофилы). Они участвуют в реакциях воспаления и анафилактических реакциях.

- Другие клетки. Среди них: тканевые клетки (посылают сигналы лимфоцитам, отвечают на действие цитокинов, выделяемых Т-клетками и макрофагами, а также продуцируют интерфероны), клетки печени (производят вместе с макрофагами белки и факторы комплемента).

Все указанные клетки продуцируют ряд медиаторов, среди которых:

- *специфические медиаторы* - антитела или иммуноглобулины

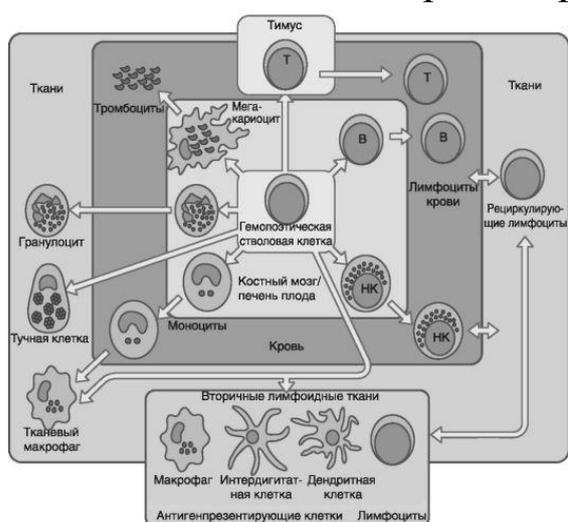
основных классов: А, D, E, G и M, а также антигенраспознающие рецепторы В-клеток и Т-клеток;

- *антигенспецифические медиаторы*; продуцируются Т-клетками, усиливают или угнетают факторы иммунного ответа;
- *неспецифические медиаторы*; среди них лимфокины, монокины, ФНО и факторы торможения миграции макрофагов, медиаторы гиперчувствительности немедленного типа (гистамин, серотонин, фактор активации тромбоцитов), лизоцим и факторы системы комплемента.

Плазма крови поступает в различные ткани организма (их не менее 264 типов) из сосудистых капилляров, образуя межклеточную (тканевую) жидкость, омывающую все клетки. При этом она отдает клеткам питательные вещества и забирает от них продукты жизнедеятельности, после чего тканевая жидкость поступает через венозные и лимфатические капилляры сначала в мелкие, а затем в более крупные лимфатические сосуды, открывающиеся в грудной проток и две подключичные вены.

В частности, тромбоциты продуцируются мегакариоцитами. Гранулоциты и моноциты мигрируют из кровотока в ткани. Тучные клетки присутствуют во всех тканях. В-клетки созревают в печени плода и костном мозге, а Т-клетки - в тимусе. Большие гранулярные лимфоциты производятся в костном мозге, они обладают активностью нормальных киллеров (НК). Лимфоциты мигрируют из кровотока, проходят через вторичные лимфоидные ткани и снова поступают в кровоток.

Роль антигенпрезентирующих клеток во вторичных лимфоидных тканях выполняют интердигитарные и дендритные клетки. В разных



Происхождение клеток иммунной системы (по Ройту А. и соавт., 2000).

местах организма лимфатические сосуды образуют узлы, где концентрируются лимфоциты. Эти узлы «отслеживают» (фильтруют) лимфатическую жидкость, в которой циркулируют лимфоциты, вступающие в прямые контакты с антигенами. При этом 1-2% лимфоцитов не остаются в лимфатических узлах, а снова перемещаются по кровеносным и лимфатическим сосудам из одного органа к другому, т.е. рециркулируют, что позволяет им находиться в постоянном контакте

с соответствующими антигенами.

Все изображенные на рисунке клетки происходят от гемопоэтической стволовой клетки. В случае повторной иммунизации одним и тем же антигеном рециркуляция останавливается приблизительно на 24 ч, что объясняется избирательной задержкой антигенспецифичных лимфоцитов в лимфоузлах, «дренирующих» место проникновения антигена. Лимфоидная ткань слизистых оболочек содержит 40% всех лимфоцитов, селезенка - 30%, лимфатические узлы - 20%, кровеносные и лимфатические сосуды - по 5%.

Единство иммунной, эндокринной и нервной систем

Иммунная система функционирует в тесном взаимодействии с нервной и эндокринной системами. Совместно эти главные регуляторные и защитные системы обеспечивают приспособляемость организма к окружающей среде. Получено много доказательств такого взаимодействия. Например, на клетках иммунной системы выделены рецепторы к гормонам (кортикостероидам, инсулину, СТГ, тестостерону) и другим биологически активным веществам - ацетилхолину, бета-адренергическим медиаторам, эндофинам, энкефалинам, эстрадиолу.

Ряд гормонов (глюкокортикоиды, андрогены, эстрогены и прогестерон) подавляют иммунные реакции, в то время как другие гормоны (инсулин, тироксин и СТГ) наоборот их стимулируют. Интерлейкины (их не менее 18) выполняют функции медиаторов ЦНС. Так, ИЛ-2 продуцируется клетками нервной ткани и влияет на пролиферацию олигодендроглии. В последние годы показано, что иммунитет контролируется гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системой. Например, при изучении влияния нейроэмоционального стресса на активность иммунитета у спортсменов-профессионалов оказалось, что такой стресс индуцирует у них транзиторный иммунодефицит, в ходе которого снижается активность НК-клеток, уменьшается соотношение показателей маркеров CD4/CD8 и содержание IgA, замедляется пролиферация лимфоцитов в ответ на действие антигенов и митогенов. Получены также доказательства связей активации локальных иммунных реакций (увеличение лейкоцитарной инфильтрации эндометрия, количества Т-клеток, НК-клеток, макрофагов, рост титров иммуноглобулинов М, Аи G) с обуславливающими прерывание беременности нарушениями следующих процессов: имплантации зародыша в стенку матки; инвазии; развития хориона.

2.ОНТОГЕНЕЗ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ

Иммунная система начинает формироваться на 4-й неделе онтогенеза.

Первичные лимфоидные органы

Тимус (вилочковая железа) - это инфильтрированный лимфоцитами орган, секретирующий ряд пептидных гормонов, участвующих в дифференцировке лимфоидных органов и клеток (см. главу 14). Из них хорошо изучены тимулин, альфа- и бетатимозин и тимопоэтин. Тимус развивается раньше других лимфоидных органов из зачатков III и IV пар жаберных карманов головного конца кишечной трубки. Начиная с 5 нед в тимусе секретируются предшественники Т-клеток и хемотаксические факторы, привлекающие протимоциты костного мозга (будущие лимфоциты). Лимфатические сосуды тимуса представлены густой капиллярной сетью, начинающейся в междольковых септах соединительной ткани, в которых концентрируются и окончательно созревают Т-клетки. На 6-7 нед беременности в тимусе начинается дифференцировка на мозговую и корковую зоны, он смещается за грудину и вокруг образуется капсула. В 7-16 нед дифференцируются секреторные клетки - это критический период развития, во время которого корковая зона инфильтрирована малыми лимфоцитами, нейтрофилами, эозинофилами и тучными клетками. Здесь же находятся гемоцитобласты (источники будущих лимфоцитов) и отдельные очаги экстрамедуллярного лимфопоэза. Мозговая зона содержит небольшое количество лимфоцитов, многоядерных клеток слияния, крупных светлых клеток и макрофагов (способных к фагоцитозу). В конце дифференцировки в тимусе содержатся 84% Т-клеток и 1% В-клеток, что соответствует клеточному составу железы взрослого человека.

По мере созревания привлеченных из костного мозга протимоцитов на их поверхности начинают экспрессироваться антигены, включая маркер CD1 (специфичен для незрелых Т-клеток) и маркеры CD3, CD4, CD5 и CD8 (специфичны для Т-хелперов и Т-киллеров).

Зрелые тимоциты экспрессируют маркер CD44, который служит рецептором для компонентов внеклеточного матрикса и выявляется на всех циркулирующих лимфоцитах.

Максимальное развитие тимуса отмечается в детском возрасте, когда наблюдается быстрый рост тела. После полового созревания развитие железы замедляется и начинается ее инволюция, которая продолжается до конца жизни. Примерно к 25-летнему возрасту прекращается рост тела человека (чему способствует эффект СТГ) и

нарушается ранее стабильное соотношение Т- и В-клеток. После 40 лет продукция гормонов тимуса снижается на 50%.

Костный мозг как кроветворный орган развивается, начиная с 16-18 нед. До этого срока кроветворную функцию выполняет печень. В первой половине жизни в костном мозге выявляются 16-18% В-клеток и 1,5-1,8% Т-клеток. В дальнейшем их количество постепенно снижается параллельно с инволюцией тимуса. Лимфоциты образуются в костном мозге в течение всей жизни из полипотентных стволовых клеток.

Вторичные лимфоидные органы

Селезенка развивается из мезенхимы дорсальной брыжейки будущего большого сальника. На 4 нед развития она представлена скоплением клеток на стенке желудка, а на 5 нед в этом скоплении определяются единичные бласты, макрофаги и ретикулярные волокна. На 13 нед это уже отдельный полый орган, готовый для депонирования крови. В нем видны ретикулярная ткань, трабекулярный остов и сеть кровеносных сосудов.

На 14 нед в селезенке появляются фолликулы (без лимфоцитов) и слабо определяется гемопоэтическая функция. На 15 нед селезенка «заселяется» лимфоцитами: В-клетки составляют 13%, Т-клетки - 2,5% (до этого времени В-клетки определяются только в печени).

На 16-20 нед в селезенке уже 30% В-клеток и 16% Т-клеток, и такое соотношение сохраняется до рождения ребенка.

У взрослого человека в селезенке преобладает антителообразование. К другим ее функциям относится участие в системе неспецифической резистентности, которую обеспечивают поступившие в селезенку прелимфоциты, преобразующиеся в НК-клетки.

Лимфатические узлы имеют фолликулы, синусы и строму. Их функция заключается в «вылавливании» антигенов из лимфы. Они расположены в местах разветвления лимфатических сосудов, находящихся в «стратегических» пунктах лимфоидной системы: шейной, подмышечной и паховой областях, средостении и брюшной полости. В них собирается лимфа из глубоких и поверхностных областей тела.

Если лимфоузлы расположены поверхностно, их называют подкожными (защищают кожу), если глубоко, то это висцеральные узлы (защищают слизистые оболочки органов дыхания, пищеварительного тракта и мочеполовых путей).

Лимфатические узлы развиваются в разное время. В одних случаях они развиваются на 6-7 нед беременности (шейные узлы, узлы перитонеальной и паховой областей). В других случаях они развиваются поздно - это мезентериальные узлы. На первом году жизни

определяются затылочные узлы, после трех лет - подчелюстные узлы.

Окончательно все лимфатические узлы формируются к 10 годам жизни, и их количество у взрослого человека достигает 500, а общая масса соответствует 1% массы тела.

В возрасте 16-50 лет функция всех лимфатических узлов относительно стабильна, а после 60 лет в них уменьшается число лимфоцитов.

Лимфоидная ткань слизистых оболочек (ЛТС) - это скопления лимфоцитов, фагоцитов и плазматических клеток, находящихся в бескапсулярных субэпителиальных фолликулах. Она расположена под слизистыми оболочками в легких, глоточном кольце Вальдейера - Пирогова (включает язычную, нёбную и глоточную миндалины), пейеровых бляшках (нижняя часть подвздошной кишки) и аппендиксе (отросток слепой кишки).

Глоточное кольцо развивается (как и тимус) из головного отдела кишечной трубки.

У детей 3-7 лет глоточные миндалины наиболее развиты, с 12 лет начинается их инволюция и уже к 16 годам обнаруживаются только остатки миндалин.

Лимфоциты ЛТС представлены Т-клетками, многие из которых являются клетками памяти (имеют маркер CD45RO). Они преимущественно синтезируют иммуноглобулины JgA и JgE (плазматические клетки в основном производят JgA), слабо реагируют на антигена к маркеру CD3, но чувствительны к антигенам к маркеру CD28.

ЛТС отличается от других лимфоидных органов еще и тем, что циркулирующие в организме лимфоциты возвращаются главным образом в нее, что объясняется экспрессией клетками этой ткани «молекул возврата домой», связывающихся с молекулами адгезии или адресинами, находящимися на поверхности эндотелиоцитов, а также пейеровых бляшек.

Аппендикс - Первые скопления лимфоидной ткани в аппендиксе (и тонкой кишке) определяются на 3 мес развития. С 4 мес появляются групповые фолликулы, количество и масса которых постепенно нарастает. С 17 нед в нем определяются В- и Т-клетки. В первые дни жизни в фолликулах аппендикса появляются скопления лимфобластов. До 22 лет их масса медленно увеличивается, а в 28 лет - уменьшается, и к 40 годам наступает атрофия фолликулов (у стариков - облитерация отростка).

Печень закладывается на 4 нед и уже с 5 нед является центром кроветворения, в котором определяется небольшое количество Т-клеток. С 9-10 нед из стволовых клеток, находящихся в островках

гемопоэтической ткани, появляются В-клетки. На 12-14 нед их максимум достигает 15%. На 16-18 нед печень прекращает свою кроветворную функцию, передавая ее к функционально активному в это время костному мозгу.

Иммунный ответ

Общая характеристика и гены иммунного ответа

Иммунный ответ организма на действие антигенов - это генетически детерминированный процесс, в котором принимают участие лимфоидные органы и клетки, имеющие сложную систему организации, включающую клеточные рецепторы, иммуноглобулины, медиаторы и другие компоненты.

Иммунный ответ имеет две фазы: *ранняя* - распознавание антигена специфическими лимфоцитами и их активация, и *поздняя* (эффektorная) - координация механизмов устранения чужеродных веществ. Каждый из участников иммунного ответа контролируется одним или несколькими генами, а вся иммунная реакция – это результат работы множества генов (целая генная сеть), ответственных за сохранение генетического и белкового (антигенного) постоянства организма. В настоящее время в основном завершено изучение генов, контролирующих развитие и функционирование иммунитета. Систему иммунитета у человека контролирует генная сеть, включающая 2190 генов, состоящих из 166 миллионов нуклеотидов ДНК или 6% всех генов генотипа.

Основная часть этих генов локализована на хромосоме 6. Из общего числа генов 633 гена находятся в неактивном состоянии, т.е. кодируемые ими белки не экспрессируются (не транскрибируются). Функции оставшихся 1557 генов изучены примерно у половины, в том числе показана роль 130 генов в развитии нарушений иммунитета (см. ниже). Обычно иммунные реакции в организме протекают скрытно и почти незаметно приводят к полному разрушению антигенного аггессора или частичному подавлению его патогенного действия.

Иммунный ответ включает ряд основных событий. Среди них:

- переработка и представление антигена в иммуногенной форме;
- кооперация Т- и В-клеток в распознавании антигена;
- внутриклеточный синтез антител (антигенраспознающих рецепторов);
- переключение синтеза одного класса иммуноглобулинов на другой.

В результате этих событий в ходе иммунного ответа в организме происходит нейтрализация и уничтожение чужеродных антигенов. Первая встреча с антигеном характеризуется ранней продукцией антител IgM-класса, и позднее появляются антитела IgG-класса.

Первый иммунный ответ связан с тремя фазами накопления

антител:

- *латентная фаза* - время между проникновением антигена и появлением в сыворотке первых антител;
- *фаза роста* - быстрое увеличение концентрации антител до максимальных величин;
- *заключительная фаза* - снижение концентрации антител (вплоть до полного их исчезновения) с сохранением небольшого числа «клеток памяти».

Продолжительность этих фаз зависит от числа лимфоцитов и стадии их дифференцировки, структурных особенностей, дозы, способа и места проникновения антигена, а также индивидуальных особенностей организма.

При повторной иммунизации антитела, образовавшиеся за счет «клеток памяти» при первой иммунизации, накапливаются быстрее и в значительно большем количестве. Повторный контакт с тем же антигеном приводит к преимущественному накоплению IgG- антител.

Межклеточная кооперация

Для полноценной продукции антител в ходе иммунного ответа необходима межклеточная кооперация по крайней мере двух типов клеток: Т- и В-лимфоцитов, так как одна В-клетка не может реализовать свой потенциал, пока не получит помощь со стороны Т-хелперов.

Выделены три участника процесса антителообразования: В-клетки, Т-клетки и макрофаги. Функция каждого из них в гуморальном иммунном ответе предопределена.

В упрощенной форме межклеточные отношения можно представить следующим образом:

- проникший в организм антиген захватывается макрофагом;
- после внутриклеточной переработки фрагменты антигена выводятся на клеточную поверхность макрофага в иммуногенной форме (доступной для В- и Т-клеток);
- В-клетки с помощью своих антигенраспознающих рецепторов (поверхностных IgM) узнают антиген и тем самым подготавливают себя к продукции антител;
- Т-хелперы (одна из субпопуляций Т-клеток) также распознают этот антиген и становятся способными к оказанию помощи В-клеткам для их полноценного развития и функционирования.

Межклеточная кооперация также необходима для формирования клеточного иммунного ответа на трансплантат. В этом случае в ближайшем к месту трансплантации лимфатическом узле наблюдается взаимодействие предшественника Т-киллеров с Т-хелперами и макрофагами и взаимодействие В-лимфоцита с Т-хелперами и макрофагами.

Реакция трансплантационного иммунитета включает три этапа:

- распознавание антигенов трансплантата;
- созревание и накопление эффекторов реакции трансплантации в ближайшей к трансплантату периферической лимфоидной ткани;
- разрушение трансплантата.

Системы иммунного ответа

Несколько условно иммунный ответ организма на действие чужеродных веществ и контроль за уничтожением собственных (поврежденных) клеток делят между собой на четыре системы: неспецифическая резистентность, врожденный иммунитет, приобретенный иммунитет и иммунологическая толерантность.

Неспецифическая резистентность - это защитные реакции, обуславливающие невосприимчивость организма к инфекциям. Они зависят от целостности и функциональной активности кожи и слизистых оболочек, а также интенсивности клеточного фагоцитоза, но не зависят от специфичности чужеродных агентов.

В этой защите главная роль принадлежит макрофагам: мононуклеарным моноцитам и нейтрофилам (эозинофилам и базофилам). Эти клетки способны переходить из одной формы в другую.

Кроме участия в фагоцитозе, мононуклеарные моноциты выполняют функции клеток, презентующих (представляющих) антиген для узнавания лимфоцитами.

К клеткам неспецифической резистентности также относятся прелимфоциты (будущие НК-клетки), дифференцировка которых завершается в селезенке.

Врожденный иммунитет - филогенетически наиболее древняя защитная система организма, оберегающая его от разных патогенов (вирусы, бактерии, грибы). Эта система особенно важна для раннего развития, когда механизмы адаптивного иммунитета еще не развиты.

Согласно современным представлениям, распознающими рецепторами при врожденном иммунитете являются эволюционно консервативные Toll-подобные (like) рецепторы или TLR, которые не меняют своего функционального назначения в ходе онтогенеза (всегда стабильны), контролируются генами раннего развития и передаются из поколения в поколение через клетки зародышевой линии (см. ниже).

TLR были открыты у млекопитающих в конце 90-х годов XX в. Эти рецепторы экспрессируются моноцитами, макрофагами, НК-клетками, незрелыми дендритными клетками, клетками эпителия и эндотелия. Они инициируют врожденный иммунитет, распознавая паттерны (образцы) молекул патогенов, отсутствующие у человека.

Ранее считалось, что ключевую роль во врожденном иммунитете

играет система комплемента, о которой в последние годы говорят все меньше и меньше. Однако старое название по-прежнему актуально.

В систему комплемента входят около 30 белков плазмы крови, из которых 9 - это собственно белки комплемента (C1-C9), а остальные - это его факторы (B, D, P, H и др.).

Некоторые белки комплемента являются проферментами и активизируются только после диссоциации на отдельные фрагменты.

Многие белки комплемента представляют собой «мозаику» из продуктов экзонов, относящихся к генам разных суперсемейств. Например, Os - фермент классического пути - имеет участки аминокислотной последовательности, состоящей из сериновой эстеразы и рецептора для липопротеинов низкой плотности, а также короткий общий повтор, встречающийся в суперсемействе регуляторных белков комплемента. Сходным образом устроены белки C6-C9, относящиеся к лизирующему мембрану комплексу, имеющему общие свойства с перфорином цитотоксических Т-лимфоцитов и катионным белком эозинофилов.

Белки комплемента способны отличать «свое» от «чужого». Эта способность в нормальном организме обеспечивается за счет регуляторных молекул, находящихся на поверхности собственных клеток и подавляющих активацию комплемента.

Активация белков комплемента происходит по классическому и альтернативному пути. В нормальном состоянии поверхностные регуляторные молекулы клеток и тканей организма блокируют действие основного белка - C3, что подавляет активацию других белков комплемента. В случае проникновения в организм чужеродных структур, лишенных регуляторных белков, начинается активация молекулы белка C3a. Например, такая активация происходит при попадании в ткани и кровь (либо образовании в них) разных активаторов (грамположительные и грамотрицательные бактерии, вирусы, микроорганизмы, иммунные комплексы). С началом активации происходит каскадное взаимодействие белков комплемента и образование промежуточных продуктов, повреждающих мембраны чужеродных клеток мишеней. При классической активации происходит связывание чужеродных иммунных комплексов с белком C3, что объединяет приобретенный иммунитет (образование антител) с врожденным иммунитетом (система комплемента).

В плазме крови постоянно происходит «холостая» активация C3, приводящая к фиксации небольшого числа его молекул на поверхности как «своего», так и «чужого». Активаторами альтернативного пути служат компоненты микроорганизмов. Участниками этого пути являются факторы B, D и др. Основные события происходят после

расщепления белка C3. При этом формируется мембраноатакующий комплекс (МАК), состоящий из белков C5-C9. Кульминацией событий является присоединение молекулы C9 к мембране клетки мишени и последующее изменение конформации адсорбированного на ней макромолекулярного комплекса с образованием воронкообразного отверстия, после чего наступает лизис клетки. В результате работы белков комплемента появляются анафилотоксины (освобождают гистамин из базофилов и тучных клеток), хемотаксины (вызывают миграцию клеток в место работы комплемента) и модуляторы иммунного ответа (C3a подавляет, а C5a усиливает продукцию антител). В случае затяжного инфекционного процесса в организме образуется стабильный иммунный комплекс «агент-антитело», который становится активатором комплемента по классическому пути.

К основным событиям в ходе активации комплемента относятся:

- опсонизация микробов для их поглощения фагоцитами;
- непосредственное уничтожение микробов путем лизиса;
- активация и хемотаксическое привлечение лейкоцитов в очаг воспаления;
- процессинг (расщепление) иммунных комплексов;
- индукция специфических антител.

Для фагоцитирования чужеродной частицы, как правило, требуется ее связывание с белковыми компонентами C3b и iC3b. Некоторые вирусы после взаимодействия с антителом могут нейтрализоваться только с помощью компонентов C1 и C4. Для инактивации других вирусов требуется участие компонентов C2 и C3.

Иммунное прилипание, заключающееся в соединении иммунного комплекса с рецептором комплемента 1 (CR1), происходит при активации белков комплемента на этапе от молекулы C4 до молекулы C3.

Высвобождение гистамина из тучных клеток, сокращение гладких мышечных волокон и усиление сосудистой проницаемости, вызванные активностью анафилотоксина, являются свойствами каждого из двух фрагментов (C3a и C5a), высвобождающихся при расщеплении конвертазами молекул C3 и C5. Эти фрагменты также являются хемотаксическими факторами для полиморфно-ядерных лейкоцитов. Хемотаксические свойства особенно выражены у фрагмента C5a, вызывающего экзоцитоз нейтрофилов.

Следовательно, основными функциями системы комплемента являются: лизис клеток; растворение иммунных комплексов; участие в фагоцитозе и воспалительной реакции; образование хемотаксинов; модуляция иммунного ответа и нейтрализация веществ.

Приобретенный или адаптивный иммунитет - это система

адаптации организма в ответ на действие чужеродных веществ, когда система врожденного иммунитета по тем или иным причинам с ними не справляется. Эта система сформировалась в ходе эволюции в результате перегруппировки генов иммуноглобулинов в костном мозге и упорядочения Т-клеточного иммунитета в тимусе человека.

Известно, что в случаях, когда организм инфицируется микроорганизмами, основная нагрузка падает на В-лимфоциты. Результатом их работы является синтез и накопление специфических антител, которые нейтрализуют эти микроорганизмы и их токсины.

Если же организм столкнулся с вирусной инфекцией, то в работу вступают субпопуляции Т-лимфоцитов и находящиеся на их поверхности антигенраспознающие или Т-клеточные рецепторы (ТКР), а также большая группа (около 100) регуляторных молекул - цитокинов. Иными словами, формируется многообразие распознающих элементов клетки, перекрывающее весь спектр существующих в природе антигенов. Одна из клеточных субпопуляций - Т-киллеры (цитотоксические Т-клетки) - является основным участником антивирусного иммунитета.

Иммунной системой как «свои» определяются эпитопы антигенов собственных клеток и тканей, закодированных в молекуле ДНК, тогда как все другие эпитопы определяются как «чужие». В первом случае комплексы «антиген-антитело» не образуются, так как этому препятствуют механизмы иммунологической толерантности.

Вместе с тем, иммунная система может неадекватно отреагировать на аутоантигены, т.е. образовать с ними такие комплексы, которые приведут к тяжелым последствиям для организма.

Иммунологическая толерантность

В ходе иммунного ответа в организме производится огромное число антигенспецифичных антител (рецепторов), находящихся на поверхности клеток. При этом некоторые рецепторы могут вступать во взаимодействие с антигенами, находящимися на собственных клетках организма, и именно тогда наблюдается иммунологическая толерантность (невосприимчивость), предотвращающая нежелательное действие антител против собственных клеток и тканей. Указанная система иммунного ответа включает тимическую (центральную) и посттимическую невосприимчивость к аутоантигенам. В первом случае ее обеспечивают Т-клетки тимуса, обладающие низкой аффинностью (сродством) с аутоантигенами. Из них формируются Т-лимфоциты, которые не образуют с ними иммунных комплексов. Во втором случае выделяют три механизма:

- Циркулирующие в крови аутореактивные Т-клетки не замечают аутоантигены, локализованные в тканях, не связанных с их

циркуляцией.

- Аутореактивные Т-клетки становятся анергичными за счет снижения экспрессии рецепторов, т.е. утрачивают способность взаимодействовать с аутоантигенами.

- Иммунное отклонение. Известны две популяции Т-лимфоцитов, продуцирующих разные цитокины. Одна из них поддерживает Тх2, другая подавляет Тх2 при воспалительной реакции и реакции гиперчувствительности замедленного типа, либо обе популяции препятствуют дифференцировке Тх0 в Тх2. Такое иммунное отклонение искусственно вызывается для предотвращения отторжения трансплантата, а также для лечения ряда аллергических и аутоиммунных болезней.

Главный комплекс гистосовместимости

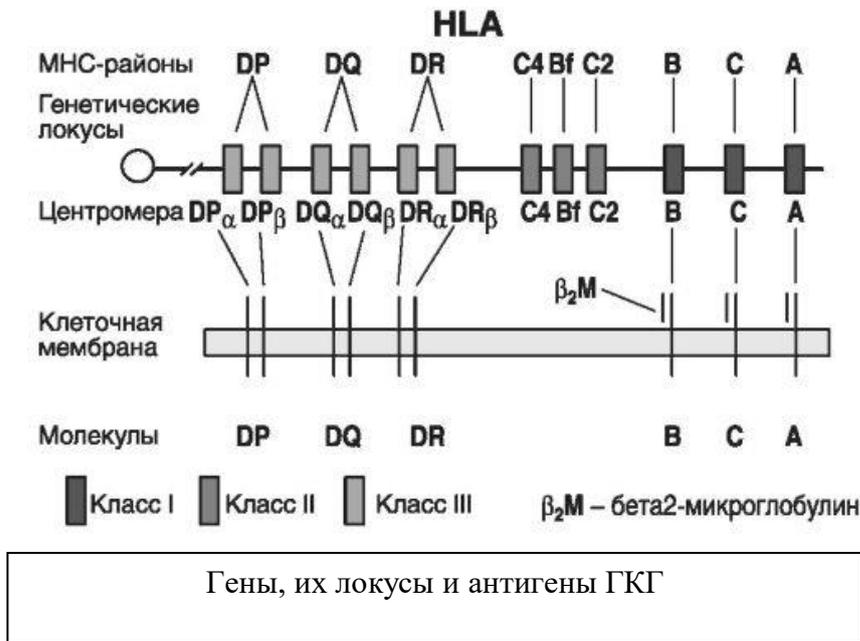
Открытие закономерностей реакции отторжения клеток трансплантата от клеток организма хозяина было связано с открытием комплекса локализованных на лимфоцитах антигенов, получивших название HLA-системы (human leukocyte antigen - человеческий антиген лейкоцитов). В дальнейшем совокупность генов, контролирующих широкий спектр их активности, получила название генов главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) или Major Histocompatibility Complex (МНС). Известны 220 тесно сцепленных между собой генов ГКГ, локализованных на коротком плече хромосомы 6, где они занимают 3500 кб. Все гены разделены на три класса, и их продуктами являются антигены также трех классов.

Название генов и антигенов состоит из букв (обозначают гены) и цифр (обозначают аллели этих генов), например А3, В45, DR15, DQ4. Цифры присваиваются по мере открытия новых аллелей.

Гены и антигены ГКГ обладают выраженным генетическим полиморфизмом. В первых публикациях по иммунологии совокупность генов и антигенов ГКГ ошибочно обозначалась как генотип и фенотип, хотя эти понятия классической генетики относятся исключительно к организму индивида, и такое их использование неверно. Поэтому лучше говорить о количестве генов (генных локусов), локализованных на коротком плече хромосомы 6, и количестве молекул антигенов, экспрессируемых этими генами на поверхности клеточных мембран.

Распределение, структура и особенности генов и антигенов главного комплекса гистосовместимости.

На коротком плече хромосомы 6 локализованы три класса генов (локусов) ГКГ.



Локусы I класса (A, B и C). Они кодируют трансплантационные белки-гетеродимеры, состоящие из двух типов молекул: а) молекула легкой Р₂-цепи микроглобулина (12 кДа), являющаяся продуктом гена, локализованного на хромосоме 15; б)

молекула тяжелой α-цепи (44 кДа), являющаяся продуктом гена, локализованного на хромосоме 6. При этом антигены I класса (HLA-A, HLA-B и HLA-C) кодируются тремя отдельными парами генов, экспрессируются и выводятся на наружную поверхность клеточных мембран почти во всех клетках и тканях организма, кроме клеток нейроглии ворсинчатого трофобласта. Продукт четвертого D-локуса этого класса - антиген HLA-D (на рис. 54 он не обозначен) экспрессируется только в ворсинчатом трофобласте. Чаще всего антигены этого класса определяются на лимфоидных клетках, в меньшей степени - на клетках печени, легких, почек и редко встречаются на клетках мозга и мышц.

Локусы II класса (DP, DQ и DR) или D-область, кодирующая α- и β-цепи молекул антигенов DP, DQ и DR. Молекулы этих антигенов также являются трансплантационными гетеродимерными белками, состоящими из легкой β-цепи (26 кДа) и тяжелой α-цепи (33 кДа). Эти белки экспрессируются на поверхности клеточных мембран. Распределение антигенов II класса более ограничено по сравнению с таковым антигенов I класса. Они ассоциированы с В-клетками и антигенпрезентирующими клетками (клетки Купфера), дендритными клетками, клетками альвеолярного эпителия, а также макрофагами. Например, их можно обнаружить при активации гамма-интерфероном эпителия капилляров. Некоторые различия между антигенами II класса объясняются тем, что альфа-цепь DQ-локуса инвариантна, и ее аллельное разнообразие обусловлено бета-цепью (бета1-доменом). В то же время в антигенах, кодируемых DP- и DQ-локусами, обнаружены аллельные формы легкой и тяжелой цепей, но и их основой является

бета1-домен. Кроме того, у антигенов этого класса антигенсвязывающий центр формируется альфа1- и бета1-доменами, в то время как роль мембранных доменов сводится к усилению связывания антителопродуцирующих клеток.

Локусы III класса (C4, Vf и C2). Все локусы этого класса находятся между локусами I и II классов. Они контролируют синтез белков комплемента 2, 4a и 4b и производство цитокинов: TNF α и TNF β .

Структура антигенов I и II классов хорошо изучена. Например, определена аминокислотная последовательность десятков вариантов

этих молекул и пространственная конфигурация некоторых из них (HLA-A2). Оба этих класса антигенов относятся к суперсемейству иммуноглобулинов.

В отличие от основных классов иммуноглобулинов, где разнообразие молекул достигается за счет мультигенной системы, разнообразие антигенов этого суперсемейства обеспечивается полиморфной системой, базирующейся на множественности аллелей.

По состоянию на апрель 2002 г. в базе данных нуклеотидных последовательностей ДНК содержалась информация о 1528 аллелях ГКГ, в том числе:

- первый класс - 245 аллелей HLA-A, 480 аллелей HLA-B, 117 аллелей HLA-C, 6 аллелей HLA-E, 1 аллель HLA-F и 15 аллелей HLA-G;
- второй класс - 3 аллеля HLA-DRA, 380 аллелей HLA-DRB, 22 аллеля HLA-в DQA1, 52 аллеля HLA-DQB1, 20 аллелей HLA- DPA1, 97 аллелей HLA-DPB1, 4 аллеля HLA-DMB, 8 аллелей HLA-DOA и 8 аллелей HLA-DOB. Их типирование не завершено, и ежегодно открываются новые аллели.

Наследование генов ГКГ соответствует моногенному варианту, и гены наследуются кодоминантно двумя блоками - по одному от каждого родителя. Такой блок называется гаплотипом и обозначает совокупность аллелей одних и тех же генов. От каждого родителя гаплотип передается потомку практически без рекомбинаций - их частота не превышает 1% (в материнской хромосоме 6 она несколько выше, чем в отцовской).

Таким образом, каждая клетка человека имеет 8 антигенов или 4 пары (A, B, C и D), и потомок двух родителей в 25% случаев имеет полное совпадение с родителями по 2 из 8 антигенов (сходство двух гаплотипов), в 50% случаев - сходство с родителями по одному гаплотипу (4 из 8 антигенов) и в 25% случаев - полное несоответствие гаплотипов.

Функции главного комплекса гистосовместимости и дифференцировка Т-лимфоцитов

ГКГ занимает центральное место в дифференцировке и

окончательном созревании Т-лимфоцитов. Перед дифференцировкой пре-Т-лимфоциты мигрируют из костного мозга в тимус, где на поверхности лимфоцитов начинается экспрессия двух маркеров (CD4 - маркер Т-хелперов и CD8 - маркер Т-киллеров). Однако у них еще нет антигенраспознающих Т-клеточных рецепторов (ТкР). Экспрессия

ТкР начинается с момента обучения Т-клеток, в ходе которого из множества попавших в тимус клеток дальнейшее развитие получают только те, чьи рецепторы способны взаимодействовать с антигенами ГКГ, обильно представленными в строме железы.

Селекция клонов Т-клеток - это **основное событие в тимусе**, связанное с отбором клеток по способности распознавать собственные антигены, что является определяющим условием дифференцировки. Все остальные клетки, не прошедшие контроль на специфичность, гибнут.

В тех случаях, когда распознаются антигены класса I, лимфоциты «выбирают» путь развития в сторону Т-киллеров (маркер CD8). Если распознавание связано с антигенами ГКГ класса II, то формируются Т-хелперы (маркер CD4). Причем узнавание «своего» осуществляется не всем антигенраспознающим центром ТкР, а лишь его частью. Оставшаяся часть центра будет взаимодействовать с возможными в будущем антигенами, и только тогда принцип двойного распознавания «своего» или «чужого» найдет реальное проявление.

Таким образом, антигены ГКГ выступают как факторы селекции Т-клеток (определяют становление клонов, способных к узнаванию аутоантигенов) и как факторы дифференцировки (формируют субпопуляции клеток).

Показано, что антигены ГКГ вовлечены в дифференцировку эмбриональных клеток, а возможно, и клеток плаценты.

Антигены класса I входят в состав гормональных рецепторов. Например, связывание инсулина заметно снижается, если с поверхности клетки удалить эти антигены (но не антигены класса II).

Описаны ассоциации антигенов с рецепторами глюкагона, эпидермального фактора роста и гамма-эндорфина. Кроме того, антигены ГКГ участвуют в опосредованных гормонами неиммунологических реакциях, например в регуляции массы тела.

Иммуноглобулины. Все известные антитела представляют собой иммуноглобулины. У человека выделено 5 основных классов иммуноглобулинов: IgA, IgG, IgD, IgE и IgM. Каждый из этих классов обладает своими биологическими свойствами, однако все они построены по общему плану.

Из всех классов иммуноглобулинов наиболее сложно организован IgM. Так, если IgG представляет собой одну субъединицу, то IgM - это

уже 5 субъединиц.

Общее число иммуноглобулинов очень велико. Эта вариабельность обусловлена значительным набором V-генов (не менее 500 для V-области тяжелой цепи и не менее 100 для V-области легкой цепи) и только одним геном (или весьма ограниченным их числом) для константной области (C). Благодаря этому в процессе созревания В-лимфоцита рекомбинация генетического материала происходит так, что один из сотен V-генов образует единый информационный комплекс с C-геном в виде уникальной молекулы мРНК, что объясняет специфичность конкретных антител.

Антигенраспознающие рецепторы. В настоящее время определены антигенраспознающие рецепторы В- и Т-лимфоцитов и причины их разнообразия. Множественность генов V-областей (H- и L-цепи иммуноглобулинов) - одна из таких причин. Еще четыре причины - множественный аллелизм генов, а именно:

- соматический мутагенез (создает разные V-гены);
- соматическая рекомбинация между сегментами одного V-гена (создают разные белки);
- генная конверсия (ведет к копированию отдельных частей гена);
- вставки добавочных нуклеотидов (кодируют остатки V-областей).

Секретируемые В-клетками иммуноглобулины представляют собой бифункциональные молекулы. Их V-домены предназначены для связывания с антигеном, тогда как C-домен взаимодействует с рецепторами на клетках организма-хозяина или с факторами комплемента.

Что касается общей регуляции уровня антител в организме, то степень катаболизма иммуноглобулинов находится в прямой зависимости от их тотальной концентрации, тогда как синтез антител в основном регулируется с помощью антигенной стимуляции. Например, у животных, содержащихся в стерильных условиях, уровень IgG чрезвычайно низок, но он быстро повышается после возвращения животного в нормальные условия.

Распознавание антигенов В-клетками осуществляется за счет молекул мембраносвязанных иммуноглобулинов (mIg). При этом на поверхности каждого лимфоцита экспрессируются 10-100 тысяч молекул антител. Основными классами mIg, находящихся на поверхности зрелых и нестимулированных В-лимфоцитов, являются молекулы IgM и IgD. На одной В-клетке могут одновременно присутствовать обе эти молекулы. У них одинаковая специфичность, и они могут взаимодействовать между собой, осуществляя кооперативный контроль за активацией и супрессией лимфоцитов.

В ходе иммунного ответа одновременно экспрессируются другие классы иммуноглобулинов. Если рецептором В-клетки, узнающим антиген, является IgM, то мембраносвязанный IgM представляет собой, как правило, мономерный иммуноглобулин. Эта молекула имеет гидрофобную часть, расположенную на С-конце тяжелой цепи и предназначенную для фиксации молекулы на мембране. При этом mIgM кодируются тем же набором генов, что и их сывороточные аналоги.

Единственным структурным отличием является дополнительный фрагмент на С-конце, играющий роль мембранного якоря.

Цитоплазматический участок у mIg невелик и не пригоден для взаимодействия с С-белками или тирозинкиназами. Роль CD3 в случае mIgM, по-видимому, играет ассоциированный с mIgM гетеродимер, состоящий из двух соединенных дисульфидной связью (-S-S-) гликопротеинов с молекулярной массой 32-34 кДа (Ig-альфа) и 37-39 кДа (Ig-β и Ig-γ). Цепи β и γ являются продуктами одного гена и образуются в результате альтернативного сплайсинга. Обе цепи относятся к представителям указанного выше суперсемейства иммуноглобулинов и содержат во внеклеточной части по одному домену. Участки этих полипептидов имеют консервативную последовательность, включающую 6 аминокислот. Распознавание антигена Т-клетками усложнено вступлением в этот процесс антигенов ГКГ.

Захваченный фагоцитирующей Т-клеткой антиген после внутриклеточной переработки экспрессируется на клеточной поверхности в комплексе с антигенами ГКГ. Если данный комплекс включает антигены класса I, то он распознается Т-киллерами, если в комплекс входят антигены класса II, то в реакцию вступают Т-хелперы.

Toll-подобные рецепторы

Toll-подобные рецепторы или TLR относятся к филогенетически наиболее древним сигнальным рецепторам клетки. Это трансмембранные белки, содержащие в своей внеклеточной части фрагменты, состоящие из множества остатков лейцина, формирующих бета-цепи и альфа-спирали, которые непосредственно взаимодействуют с паттернами патогенов (см. выше).

Следует отметить, что TLR 1, 2, 4-6, 10 и 11 экспрессируются в ответ на компоненты бактериальных стенок патогенов. В свою очередь, TLR3, 7-9 специфичны к нуклеиновым кислотам бактериального и вирусного происхождения, в том числе TLR3 узнает двухцепочечную РНК, TLR8 и TLR9 активируются одноцепочечными РНК, богатыми гуанином и урацилом либо РНК, содержащими poly-U мотивы; TLR7 взаимодействует с одноцепочечной РНК вируса гриппа и ВИЧ, повышает синтез альфа-интерферона и противовоспалительных

цитокинов; TLR9 взаимодействует с неметилованными CpG-повторами ДНК вирусов и бактерий.

Примечание. ДК - дендритные клетки, МФ - макрофаги, НК - естественные киллеры, Мо - моноциты, НФ - нейтрофилы, ИЛ-6 - интерлейкин, ФГА - фитогемагглютинин, ЛПС - липополисахарид, ПЯЛ - полиморфноядерные лимфоциты.

Основные реакции и связанные с ними нарушения иммунного ответа

Нарушения иммунитета в ответ на действие антигенов называются иммунопатологией, которая проявляется в двух основных формах: гиперчувствительность (воспаление или аутоиммунная реакция) и иммунодефицитное состояние.

В первом случае говорят о патологических реакциях гиперчувствительности и аутоиммунных болезнях (когда собственные клетки организма приобретают антигенные свойства и к ним вырабатываются антитела).

Во втором случае говорят о патологических состояниях, при которых (несмотря на поступление антигенного материала) иммунные реакции не развертываются в результате несостоятельности иммунитета, которая может быть наследственной или приобретенной.

3. РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НА АНТИГЕН

Системы иммунитета организма характеризуются реакциями гиперчувствительности четырех типов: I тип (немедленный), II и III типы, IV тип (замедленный). Первые три типа реакций имеют гуморальный характер (обеспечиваются антителами), и первое поступление антигена приводит к каскадной активации систем иммунитета. Последний IV тип имеет клеточный характер.

Реакции немедленного I типа

Реакции немедленного I типа сопровождают процесс воспаления и обычно протекают без грубых структурных и функциональных нарушений (носят транзиторный характер). Первое поступление антигена активирует иммунитет, приводит к синтезу IgE. Затем эти антитела (реагины) фиксируются на поверхности клеточной мембраны базофилов ткани (и крови), так как они имеют высокое сродство (аффинность) к Fc-рецепторам тучных клеток. Этот синтез длится 1 нед и дольше.

При повторном попадании того же антигена он снова взаимодействует с IgE, что вызывает дегрануляцию цитоплазмы базофилов ткани и крови, в ходе которой из нее выходят медиаторы (гистамин и ферменты), участвующие в синтезе брадикинина и

лейкотриенов, которые вызывают вазодилатацию, увеличивают сосудистую проницаемость и сокращают гладкую мускулатуру. При этом базофилы выделяют хемотаксические факторы для привлечения нейтрофилов и эозинофилов и активируют свертывание крови и систему комплемента, что ведет к дополнительной дегрануляции.

Реакции II типа

Реакции II типа характеризуются выработкой и взаимодействием антител с антигенами на поверхности клеток-мишеней, что приводит к их разрушению. При этом антиген может быть внешним (например, лекарство, которое при соединении с белком клеточной мембраны стимулирует иммунный ответ) либо собственным, который ошибочно распознается как чужеродный антиген (по неизвестным причинам) и обуславливает цитотоксический эффект Т-клеток или опосредованный белками и факторами комплемента лизис клеток мишеней. Во втором случае это является причиной аутоиммунного заболевания.

Реакции этого типа происходят в организме при контактах с антигенами групп крови, клетками и тканями при трансплантации и во время беременности. В ходе этих реакций образующиеся антитела могут повреждать клетки и ткани в результате активации комплемента, а также путем связывания и активации эффекторных клеток, несущих рецепторы Fc-гамма (как и в случае реакций I типа). Например, такие антитела против собственных нейтрофилов и лимфоцитов производятся при тромбоцитопении и системной красной волчанке, против тромбоцитов - при тромбоцитопенической пурпуре.

Материнские антитела к антигенам крови плода, проходя через плаценту, разрушают эритроциты, вызывая гемолитическую болезнь новорожденных. Среди гемолитических анемий выделены типа, вызванные тепловыми и холодowymi аутоантителами (соответственно $t > 37^{\circ}\text{C}$ и ниже), а также антителами, образующимися в ответ на введение лекарственных препаратов.

При беременности в реакциях этого типа часто участвует антиген резус D (RhD). Если при резус-конфликте (мать имеет Rh+, у ребенка Rh-) во время первой беременности ребенок, как правило, здоров, то при повторных беременностях риск гемолитической болезни резко возрастает. Повреждения тканей могут быть вызваны аутоантителами к базальным мембранам при нефрите или синдроме Гудпасчера, к молекулам межклеточной адгезии при пузырчатке, к рецепторам ацетилхолина на мембранах мышц при миастении.

Реакции III типа

При реакциях III типа в тканях происходит накопление иммунных комплексов, что ведет к активации белков и факторов комплемента, сопровождается повреждением тканей и развитием острого воспаления,

т.е. обуславливает развитие иммунокомплексного заболевания. Болезни иммунных комплексов развиваются при затяжном инфицировании или аутоиммунных заболеваниях. Они имеют системный характер, если вызываются циркулирующими в крови антителами (например, сывороточная болезнь), или локальный характер, когда иммунный комплекс формируется в месте поступления антигена (например, феномен Артюса). При этом система комплемента способствует разрыву связей между антигеном и антителом, что поддерживает нахождение комплекса в растворенном состоянии. Если при недостаточности комплемента образуются слабые связи (слабые

комплексы), то комплексы откладываются в тканях, особенно в почечных клубочках. При сывороточной болезни они откладываются в стенках сосудов, нарушают их проницаемость, вызывают воспаление, артроз или гломерулонефрит.

Болезни иммунных комплексов связаны с:

- персистенцией инфекции (сочетание хронической инфекции со слабым гуморальным ответом); примеры: проказа, малярия, геморрагическая лихорадка денге, вирусный гепатит, стафилококковый эндокардит;

- аутоиммунными заболеваниями, в ходе которых поражается («устаёт») система, ответственная за удаление комплексов (моноклеарные фагоциты, эритроциты и комплемент), и в результате они начинают откладываться в тканях; примеры: ревматоидный артрит, системная красная волчанка и полимиозит;

- вдыханием антигенного материала, включающего компоненты актиномицетов, антигенов растительного (заплесневевшее сено), животного и другого происхождения.

В результате развиваются воспаление, аллергический альвеолит и фиброз - эти реакции могут протекать совместно с реакциями немедленного типа, обуславливая такую патологию, как «легкое фермера» или «легкое голубевода».

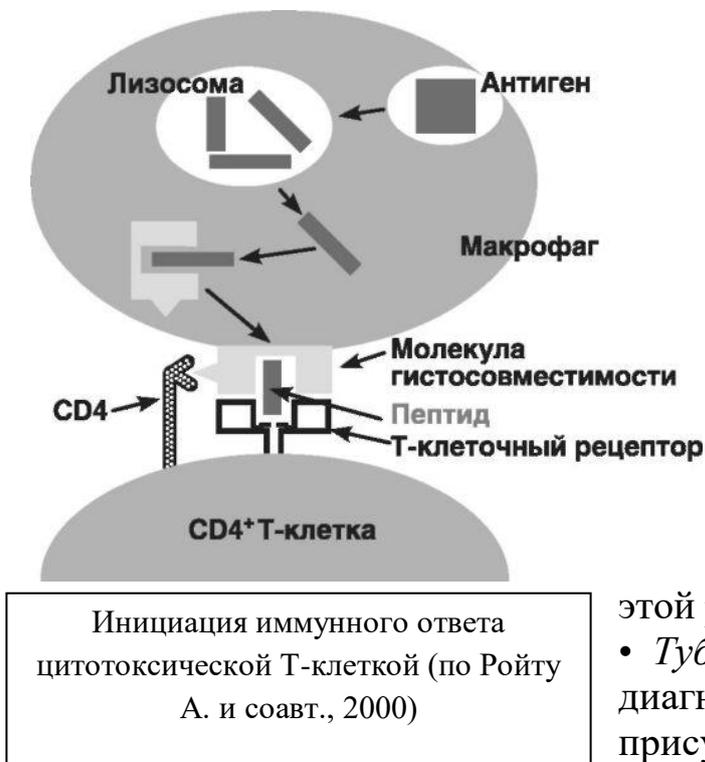
Безусловно, что сюда же следует отнести другие классы профессиональных заболеваний, например силикоз.

Реакции замедленного IV типа

У реакций этого типа клеточный характер. В данном случае при первом поступлении антигена происходит накопление сенсibilизированных Т-клеток, тогда как повторное поступление антигена приводит к образованию цитотоксических Т-клеток (рис. 55). Эти клетки способствуют выработке Т-хелперными клетками белков CD4 (кластер дифференциации). Эти белки обуславливают лизис чужеродных клеток (например, путем перфорации мембраны при освобождении белка-перфорина) либо вызывают их апоптоз. Прямая

цитотоксичность Т-клеток играет важную роль в иммунном ответе на действие клеток, несущих чужеродные антигены или инфицированных вирусом, опухолевых или пересаженных клеток. Эти реакции вызываются сенсibilизированными антигенами Т-клеток, которые могут проявить свой цитотоксический эффект непосредственно или через секрецию цитокинов, приводящих к воспалению, активации и привлечению макрофагов, что дополнительно усиливает воспаление.

В реакциях замедленного типа участвуют не антитела, а сами клетки. Механизм непосредственного действия наблюдается при ряде аутоиммунных болезней, контактном дерматите, в ходе иммунного ответа на влияние опухолевых клеток, клеток, инфицированных вирусом, пересаженных клеток, а также клеток, несущих чужеродные антигены. Обычно эти реакции возникают через 24-72 ч после введения антигена сенсibilизированному человеку, что отличает их от реакций немедленного типа, которые развиваются в пределах нескольких минут. При первом поступлении антигена происходит первичное накопление сенсibilизированных Т-лимфоцитов. Повторное введение антигена приводит к возникновению вторичного иммунного ответа с образованием Т-киллеров, обуславливающих последующее гранулематозное воспаление и казеозный некроз.



Выделяют три типа реакции гиперчувствительности замедленного типа.

- *Контактная реакция*, когда нанесенный на кожу гаптен поглощается клетками Лангерганса, которые презентуют его антигенспецифичным Т-клеткам и вместе с кератиноцитами и макрофагами участвуют в

этой реакции.

- *Туберкулиновая реакция* - диагностическая проба на присутствие в организме разных инфекционных агентов.

- *Гранулематозная реакция*. В этом случае возникает опосредованный Т-клетками баланс между иммунитетом к нерастворимому антигену и повреждением ткани. Гранулематозная реакция - это персистенция антигена, приводящая к дифференцировке

макрофагов в эпителиальные клетки и их слиянию в гигантские клетки. Формирование гранул также зависит от ФНО. Примером реакции служит туберкулоидная форма проказы (лепра). Имеется множество примеров заболеваний человека, связанных с реакциями гиперчувствительности замедленного типа. Их причины: возбудители широко распространенных инфекций, лепры, туберкулеза и шистосомоза (черви), микобактерии, простейшие.

Вместе с тем, до сих пор не установлены причины таких заболеваний, как саркоидоз и болезнь Крона, при которых также наблюдаются реакции замедленного типа. Полагают, что в случае саркоидоза это результат накопления в тканях активированных макрофагов с последующим гранулематозом и фиброзом лимфоидной ткани и лимфоузлов, а в случае болезни Крона - это хроническое воспаление подвздошной и толстой кишок вследствие скопления в них макрофагов и лимфоцитов, что обуславливает сужение просвета кишечника и образование свищей в прилегающих тканях и органах.

Аллергические и атопические заболевания

Понятия аллергические и атопические заболевания часто путают. В патогенезе аллергических заболеваний играют роль реакции гиперчувствительности немедленного типа, тогда как в основе атопических заболеваний лежат реакции замедленного типа.

Аллерген - это антиген или участник иммунной реакции. Действие аллергенов внешней среды может проявиться покраснением кожи и даже появлением на ней волдырей.

Атопия - это реакция (заболевание) с участием аллергенов внешней среды. Следует отметить, что контакт с антигеном (аллергеном) приводит к образованию IgE у всех людей, тогда как атопическое заболевание возникает лишь у немногих.

В разных странах атопическими заболеваниями страдают 10-20% населения. К атопическим заболеваниям относятся: бронхиальная астма, астматические бронхиты, сенная лихорадка, крапивница, непереносимость некоторых продуктов питания (в том числе пищевые аллергии). Как правило, эти заболевания проявляются как семейные формы.

В патогенезе атопических заболеваний важную роль играет наследственная предрасположенность, в частности наследование генов ГКГ. При этом возможно, что экспрессия генов предрасположенности (включая гены ГКГ) сочетается с повышенной способностью В-клеток секретировать IgE при контакте с аллергенами.

Кроме того, тяжесть атопического заболевания зависит от дозы, пути введения и продолжительности контакта с аллергеном, характера питания, хронического инфицирования, вирусных инфекций,

применения лекарственных средств и наличия сопутствующих заболеваний. Вместе с тем, идентификация признаков аллергии у родителей ребенка с atopическим заболеванием является фактором риска развития у потомства этого заболевания. В частности, если аллергией страдают оба родителя, то риск для ребенка равен 50%, если один из родителей, то 30%.

4. КЛАССИФИКАЦИЯ НАРУШЕНИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Нарушения иммунной системы проявляются у человека в виде разных классов заболеваний, включающих бактериальные и вирусные инфекции, аллергические (атопические), аутоиммунные, первичные и вторичные иммунодефицитные заболевания, а также иммунопролиферативные болезни (всего 6 классов). По диагностическим признакам, связанным с нарушениями иммунного ответа, среди них выделяют следующие.

- **Инфекционные болезни.** Для них характерны: длительный субфебрилитет, лихорадка неясной этиологии, хронические инфекции ЛОР-органов, лимфадениты, бронхиты, пневмонии, ОРВИ (4-6 раз в течение года), герпес, паразитарные инфекции, бактериальные и грибковые заболевания кожи и подкожной клетчатки (абсцессы, вульвиты, парапроктиты, пиодермия, флегмоны, фурункулез), ногтей и слизистых оболочек (гнойные конъюнктивиты, кариес, пиелонефриты, уретриты, циститы, эндометриты).

- **Аллергические (атопические) болезни.** Среди них: atopический и контактный дерматит, крапивница, отек Квинке, феномен Артюса, экзема, аллергия ЛОР-органов, астматический бронхит, бронхиальная астма, гиперчувствительные пневмониты, непереносимость пищевых продуктов, лекарств, химических соединений.

- **Аутоиммунные болезни и аутоиммунные формы заболеваний.** Сюда относятся: воспалительные заболевания опорнодвигательного аппарата, болезнь Аддисона, болезни печени, гипертиреоз и другие болезни щитовидной железы, гломерулонефриты, дерматомиозит, ревматоидный артрит, синдромы Шегрена, Фелти), системная красная волчанка, системные васкулиты (васкулит Вегенера, узелковый периартериит и др.), склеродермия, неврологические заболевания (рассеянный склероз, миастения гравис), инсулинзависимый сахарный диабет, неспецифический язвенный колит, цитопенические болезни крови. К этому классу болезней следует также отнести аутоиммунные формы бесплодия, патологию беременности, психопатологию (например, шизофрения и др.).

- **Первичные иммунодефициты детского возраста.** Среди них:

синдромы Вискотта-Олдрича, Ди-Джорджи и Луи-Бар, наследственные ангионевротические отеки и др.

• Вторичные иммунодефициты, включая алопецию, все проявления хронических инфекционных заболеваний с генерализацией и торпидным к терапии течением, де- и гиперпигментацию кожи, СПИД и случаи приобретенной иммунной недостаточности.

• Лимфопролиферативные заболевания: гиперплазия лимфоузлов, сочетающаяся с воспалением и очагами бактериальной инфекции (вне лимфоузлов), опухоли иммунной системы (болезнь Ходжкина, лимфолейкозы, лимфомы, лимфосаркомы, саркома Капоши), последствия спленомегалии и инфекционного мононуклеоза, X-сцепленный лимфопролиферативный синдром у детей.

5. ФИЛОГЕНЕЗ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.

Иммунная система осуществляет защиту организма от проникновения в организм генетически чужеродных тел: микроорганизмов, вирусов, чужих клеток, инородных тел. Ее действие основано на способности отличать собственные структуры от генетически чужеродных, уничтожая их.

В эволюции сформировалось три главных формы иммунного ответа:

1) 1. Фагоцитоз, или неспецифическое уничтожение чужеродного материала;

2) 2. Клеточный иммунитет, основанный на специфическом распознавании и уничтожении такого материала Т-лимфоцитами;

3) 3. Гуморальный иммунитет, осуществляемый путем образования потомками В-лимфоцитов, так называемыми, плазматическими клетками иммуноглобулинов и связывания ими чужеродных антигенов.

В эволюции выделяют три этапа формирования иммунного ответа:

1. **Квазииммунное (лат наподобие) распознавание** организмов своих и чужеродных клеток. Этот тип реакции наблюдается от кишечнополостных до млекопитающих. Эта реакция не связана с выработкой иммунных тел, и при этом не формируется иммунной памяти, то есть еще не происходит усиления иммунной реакции на повторное проникновение чужеродного материала.

2. **Примитивный клеточный иммунитет** обнаружен у кольчатых червей и иглокожих. Он обеспечивается целомацитами – клетками вторичной полости тела, способными уничтожать чужеродный материал. На этом этапе появляется иммунологическая память.

3. **Система интегрального клеточного и гуморального**

иммунитета. Для нее характерны специфические клеточные и гуморальные реакции на чужеродные тела, наличие лимфоидных органов иммунитета, образование антител. Такого типа иммунная система не характерна для беспозвоночных.

Круглоротые способны формировать антитела, но вопрос о наличии у них вилочковой железы, как центрального органа иммуногенеза, является пока открытым. Впервые тимус обнаруживается у рыб.

Эволюционные предшественники лимфоидных органов млекопитающих – тимус, селезенка, скопление лимфоидной ткани обнаруживаются в полном объеме у амфибий. У низших позвоночных (рыбы, амфибии) вилочковая железа активно выделяет антитела, что характерно для птиц и млекопитающих.

Особенность иммунного ответа птиц состоит в наличии особого лимфоидного органа – фабрициевой сумки. В этом органе образуются В-лимфоциты, которые после антигенной стимуляции способны трансформироваться в плазматические клетки и вырабатывать антитела.

У млекопитающих органы иммунной системы разделяют на два типа: центральные и периферические. В центральных органах созревание лимфоцитов происходит без существенного влияния антигенов. Развитие периферических органов, наоборот, непосредственно зависит от антигенного воздействия – лишь при контакте с антигеном в них начинаются процессы размножения и дифференциации лимфоцитов.

Центральными органами иммуногенеза у млекопитающих являются тимус, где происходит образование и размножение Т-лимфоцитов, а также красный костный мозг, где образуются и размножаются В-лимфоциты.

На ранних стадиях эмбриогенеза и желточного мешка в тимус и красный костный мозг мигрируют стволовые лимфотические клетки. После рождения источником стволовых клеток становится красный костный мозг.

Периферическими лимфоидными органами являются: лимфоузлы, селезенка, миндалины, лимфоидные фолликулы кишечника. К моменту рождения они еще практически не сформированы и образование в них лимфоцитов начинается только после антигенной стимуляции, после того, как они заселяются Т- и В-лимфоцитами из центральных органов иммуногенеза.

6. СООТНОШЕНИЕ ОНТОГЕНЕЗА И ФИЛОГЕНЕЗА

В процессе индивидуального развития, или онтогенеза, организм выступает как единое целое. Онтогенез начинается после

оплодотворения с дробления яйца, которое идет под контролем геномных корреляций, обуславливающих последовательную дифференциацию частей тела и установление между ними на каждой стадии развития новых соотношений. Внутри развивающегося организма существует сложнейшая система связей, объединяющая в одно целое элементы наследственной субстанции и внутриклеточные биохимические процессы.

За геномными корреляциями вступают в действие морфогенетические корреляции, которые определяют последовательность развития отдельных структур тела. Например, губа бластопора у позвоночных индуцирует образование хорды и нервной трубки. Каждый предшествующий орган обеспечивает развитие нового последующего. Организм развивается как единая целостная интегрированная система. Каждая часть отвечает за все целое, а целое отвечает за развитие каждой части, причем каждая стадия развития зародыша адаптивна и находится под контролем естественного отбора. Все корреляции отличаются большой прочностью и нужны крупные сдвиги, чтобы нарушить эти корреляции. Морф «генетические корреляции наблюдаются на всех стадиях морфогенеза и захватывают все органы и признаки организма.

После завершения морфогенеза вступают в действие эргонтические, или рабочие, корреляции, которые обуславливают окончательное формирование органов и отдельных частей организма. Например, в результате эргонтических корреляций происходит формирование скелетных частей и связанных с ними мышц.

Геномные корреляции, таким образом, служат той основой, на которой развиваются морфогенетические корреляции; последние являются основными факторами эмбрионального формообразования, определяющими развитие исторически сложившихся взаимоотношений между органами, охраняемыми высокими защитными пороговыми реакциями. Все эти корреляции обуславливают формирование нового организма, его дифференциацию и интеграцию. Под интеграцией понимается процесс установления взаимных корреляций между частями организма по мере его дифференциации.

7.ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЭМБРИОНОВ

Трансплантация — метод ускоренного воспроизводства высокопродуктивных животных путем получения и переноса одного или нескольких эмбрионов от высокоценных животных (доноров) менее ценным животным (реципиентам). Использование трансплантации позволяет получать от одной генетически ценной самки в десятки раз

больше потомства. Наиболее приемлемы для трансплантации эмбрионов малоплодные виды животных: коровы, лошади, овцы. В мировой практике животноводства метод трансплантации эмбрионов в большей степени применяется в молочном и мясном скотоводстве. Используя реципиентов для пересадки эмбрионов, полученных от одной отобранной коровы - донора, можно увеличить число ее потомков в десятки и сотни раз. Теоретически от генетически выдающейся коровы - донора за всю ее жизнь можно получить не менее 500 телят.

В трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота сделан огромный прогресс, вследствие чего этот метод занял прочное место в современных программах селекции. Метод трансплантации вместе с искусственным осеменением рассматривается как основа современной биотехнологии воспроизводства высокопродуктивных племенных животных. Технология трансплантации эмбрионов включает ряд последовательных этапов: отбор доноров; проведение суперовуляции у доноров; отбор производителей и осеменение доноров; извлечение эмбрионов и их оценка; культивирование или замораживание эмбрионов; отбор и подготовку реципиентов; пересадку эмбрионов реципиентам; оценку результатов трансплантации.

Приемы:

- 1) гормональное вызывание суперовуляции;
- 2) осеменение доноров семенем производителей, оцененных по качеству потомства;
- 3) извлечение и оценку качества эмбрионов, сохранение и пересадку или криоконсервирование эмбрионов в жидком азоте, оттаивание и пересадку.

Цели:

- 1) размножения генетически ценных особей;
- 2) получения идентичных животных путем деления ранних эмбрионов.
- 3) сохранения мутантных генов, малых популяций;
- 4) получения потомков от бесплодных, но генетически ценных по генотипу животных;
- 5) выявления вредных рецессивных генов и хромосомных аномалий;
- 6) повышения устойчивости животных к болезням;
- 7) акклиматизации импортных животных иностранных пород;
- 8) определения пола эмбриона и получения животных определенного пола;
- 9) межвидовых пересадок;
- 10) получения химерных животных, которые развиваются из ранних эмбрионов, полученных из бластомеров разных животных.

Краткая история вопроса

Когда было установлено, что кролик обладает иммунитетом по отношению к ящуру, была выдвинута идея использования метода трансплантации для оздоровления потомства зараженных ящуром животных. Половые пути кролика, куда трансплантируются эмбрионы, способны разрушать вирус ящура в эмбрионах. Трансплантация может быть использована и для временного хранения эмбрионов. В яйцеводах крольчих удается осуществлять трансконтинентальную перевозку эмбрионов овец.

Извлечение эмбрионов до 70-х годов производили в основном хирургическим путем, впоследствии он был заменен менее травматичным и трудоемким нехирургическим, основанным на введении в матку особого зонда по естественному каналу. Зонд имеет три канала. Один из каналов предназначен для надувания баллончика, который закупоривает рог матки, препятствуя вытеканию жидкости. По другому каналу вводится физиологический раствор с температурой 25-30°C, который вымывает эмбрионы и возвращается вместе с ними через третий канал зонда в пробирку, помещенную в водяную баню с температурой 35°C. Из этой жидкости извлекаются эмбрионы. В среднем при суперовуляции от донора можно получить от 5 до 7 эмбрионов.

Трансплантацию производят с помощью специального зонда или пистолета для осеменения. Эмбрионы помещаются в рога матки. Стельность у самок - реципиентов проверяется по уровню прогестерона в плазме крови на 21-й день.

Регулирование пола. В практике разведения животных очень важно научиться управлять образованием в потомстве мужских и женских особей. Метод разделения эмбрионов по полу основан на определении белков, специфичных для самцов. Этот метод широко применяется в животноводческой практике многих стран. В Канаде уже с 1975 года рождаются телята, разделенные по полу на стадии эмбрионов. В перспективе для целенаправленного получения особей мужского или женского пола может быть применен метод микрохирургической замены X и Y хромосом. Такие манипуляции уже проводились на растительных клетках и яйцеклетках земноводных.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каковы главные принципы иммунологического распознавания?
2. Каковы виды иммунитета?
3. Каковы главные семейства цитокинов, активируемых через рецепторы врожденного иммунитета?
4. Каковы особенности и различия врожденного и приобретенного иммунитета?
5. Каковы механизмы фагоцитоза?
6. Какова классификация антигенов?
7. Какова характеристика Аллергенов?
8. Какова специфичность и гетерогенность антител?
9. Каков клеточный иммунный ответ?
10. Какую роль играет щитовидная железа?
11. Кто изучал железы внутренней секреции и выявил гормоны в организме животных и человека?
12. Какие гормоны влияют на характер человека?
13. Кто изучил гипофиз и его гормоны?
14. Какие ученые изучали роль надпочечников в организме человека и животных?
15. Какую роль в организме играет поджелудочная железа?
16. Кто открыл инсулин?
17. Какую роль в гормональном отношении играет костный мозг?
18. Что такое стимулятор антителопродуцентов?
19. Что обеспечивает взаимосвязь иммунокомпетентных клеток?
20. На какие группы разделяют цитокины?
21. Какое значение гормонов и медиаторов в иммунной системе?
22. Какие антигены гистосовместимости Вы знаете?
23. Дайте понятие толерантности.
24. Какую теорию иммунитета создал И.И.Мечников?
25. Какие теории иммунитета Вы знаете?
26. Биологическая цель иммунных реакций?
27. Метод колониеобразования кроветворных клеток в селезенке облученных мышей
28. Трансгенные животные
29. Иммунитет
30. Схема культуры клеток *in vivo*
31. Для чего используют сыворотку крови?
32. Для чего используют плазму крови?
33. Какие предосторожности необходимо соблюдать при вакцинации беременных?
34. Как необходимо хранить вакцины и другие биопрепараты?

35. Какие аллергические реакции возможны при вакцинопрофилактике?
36. Какие осложнения возможны при вакцинопрофилактике?
37. На чём стоятся иммунологические отношения в системе мать-плод?
38. Что обладает иммуносупрессивным действием?
39. На какой недели начинается передача иммуноглобулинов?
40. При отсутствии чего дефект репертуара развивается?
41. Какой важный фактор при защите плода?
42. Как проводят трансплантацию эмбрионов?
43. Какую роль играет фабрициева сумка?
44. Назовите формы иммунного ответа.
45. Как классифицируются нарушения иммунной системы?
46. В основе каких заболеваний лежат реакции замедленного типа?
47. В основе каких заболеваний лежат реакции немедленного типа?
48. Какие типы реакций замедленного типа Вы знаете?
49. Какие клетки обнаруживают антигены?
50. Какие иммуноглобулины Вы знаете и за что они отвечают?

Литература

а) Основная литература:

1. ЭБС «Лань» Госманов Р.Г. Практикум по ветеринарной микробиологии и микологии/Р.Г. Госманов, Н.М. Колычев, А.А. Барсков.-СПб.:Лань, 2014.- 397с.
2. ЭБС «Лань» Кисленко, В. Н. Ветеринарная микробиология и иммунология. Практикум + CD : учеб. пособие / В. Н. Кисленко. - Санкт-Петербург : Лань, 2012. - 368 с. - (Гр. МСХ РФ).
3. ЭБС «Лань» Госманов, Р.Г. Ветеринарная вирусология : учебник/ Р.Г. Госманов, Н.М. Колычев, В.И. Плешакова. — СПб. : Лань, 2010. — 482 с.
4. Общая эпизоотология : (учеб.-метод. пособие) / сост.: А. Н. Кононов, С. С. Абакин ; СтГАУ. - Ставрополь : АГРУС, 2014. - 79 с.
5. Колычев, Н. М. Ветеринарная микробиология и микология : учебник для студентов аграрных вузов по специальности 111801.65 "Ветеринария" / Н. М. Колычев, Р. Г. Госманов. - Санкт-Петербург : Лань, 2014. - 624 с. : ил. - (Учебники для вузов. Специальная литература. Гр. МСХ РФ).
6. Зыкин, Л. Ф. Современные методы в ветеринарной микробиологии: учеб. пособие для студентов вузов по специальности "Ветеринария" / Л.Ф. Зыкин, З.Ю. Хапцев, Т.В. Спирихина; Ассоц.

"Агрообразование".- М. : КолосС, 2011. - 109 с. - (Учебники и учебные пособия для студентов вузов. Гр. МСХ РФ).

б) Дополнительная литература

1. ЭБС Лань: Госманов Р. Г., Ибрагимова А. И., Галиуллин А.К. Микробиология и иммунология: учеб. пособие.- 2-е изд., доп.- СПб.: Лань, 2013.- 240 с.

2. ЭБС Лань: Макаров, В.В. Эпизоотологический метод исследования : учебное пособие / В.В. Макаров, А.В. Святковский, В.А. Кузьмин [и др.]. — СПб. : Лань, 2009. — 222 с.

3. ЭБС "Znanium": Кисленко В. Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии: Учебное пособие / В.Н. Кисленко - М.: НИЦ ИНФРА-М, 2015. - 232 с. - (Высшее образование: Бакалавриат).

4. ЭБС "Znanium": Павлович С.А. Микробиология с вирусологией и иммунологией: учеб. пособие /С.А. Павлович.- 3-е изд., испр.- Минск: Выш. шк., 2013.- 799 с.

5. ЭБС "Znanium": Павлович С.А., Андреев В.П. Биологический словарь / В.П. Андреев, С.А. Павлович, Н.В. Павлович.- Минск: Выш. шк., 2011.- 336с.

6. ЭБ "Труды ученых СтГАУ" Использование метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики инфекционных болезней [электронный полный текст] : метод. пособие / М. Н. Веревкина, В. И. Дорофеев, Е. В. Светлакова, Н. А. Ожередова. - Ставрополь : АГРУС, 2008. - 1,07 МБ.

7. ЭБ "Труды ученых СтГАУ" Санитарная микробиология [электронный полный текст] : учеб. пособие / Н. А. Ожередова, Е. В. Светлакова, М. Н. Веревкина, В. И. Дорофеев; СтГАУ. - Ставрополь : б.и., 2008. - 901 КБ.

8. ЭБ "Труды ученых СтГАУ" Чистые производственные помещения в биологической промышленности [электронный полный текст] : учеб. пособие / сост.: М. Н. Веревкина ; СтГАУ. - Ставрополь : АГРУС, 2010. - 4,29 МБ.

9. ЭБ "Труды ученых СтГАУ" Ожередова, Н. А. Общая вирусология [электронный полный текст] : методические указания для лабораторных занятий студентов факультета ветеринарной медицины по направлению подготовки 111801.65 - "Ветеринария" и 111900.62 - "Ветеринарно-санитарная экспертиза" / Н. А. Ожередова, М. Н. Веревкина, Е. В. Светлакова ; СтГАУ. - Ставрополь : АГРУС, 2013. - 544 КБ.

10. ЭБ "Труды ученых СтГАУ" Светлакова, Е. В. Методические указания для самостоятельной работы по ветеринарной микробиологии и микологии по теме "Морфология микроорганизмов типа FUNGI" [электронный полный текст] : для студентов фак. вет. медицины / Е. В.

Светлакова, М. Н. Веревкина, Н. А. Ожередова ; СтГАУ. - Ставрополь, 2013. - 2,30 МБ.

11. ЭБ "Труды ученых СтГАУ" Ветеринарная микробиология и иммунология [электронный полный текст] : учеб.-метод. пособие для студентов вузов заочной формы обучения по спец. 111201.65 - Ветеринария / сост.: В. И. Дорофеев, М. Н. Веревкина, Н. А. Ожередова; СтГАУ. - Ставрополь : АГРУС, 2006. - 40 с.

12. Кисленко, В. Н. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник для студентов вузов по специальности 111201 - Ветеринария. Ч. 1 : Общая микробиология / Междунар. Ассоц. "Агрообразование". - М. :КолосС, 2006. - 183 с. - (Учебники и учебные пособия для студентов вузов. Гр. МСХ РФ).

13. Кисленко, В. Н. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник для студентов вузов по специальности 111201 - "Ветеринария". Ч. 2 : Иммунология / Междунар. Ассоц. "Агрообразование". - М. :КолосС, 2007. - 224 с. - (Учебники и учебные пособия для студентов вузов. Гр. МСХ РФ).

14. Кисленко, В. Н. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник для студентов вузов по специальности 111201 - "Ветеринария". Ч. 3 : Частная микробиология / Междунар. Ассоц. "Агрообразование". - М. :КолосС, 2007. - 215 с. - (Учебники и учебные пособия для студентов вузов. Гр. МСХ РФ).

15. Колычев Н.М. Ветеринарная микробиология и иммунология: учебник для студентов вузов по спец. 310800 Ветеринария.- 3-е изд., перераб. и доп. - М.: КолосС, 2006.- 432 с.- (Учебники и учебные пособия для студентов вузов. Гр. МСХ РФ)

16. Оножеев, А. А. Иммунитет сельскохозяйственных животных : метод. пособие для студентов вет. и технол. фак. / А. А. Оножеев ; Бурятская ГСХА им. В. Р. Филиппова. - Улан-Удэ : БГСХА, 2011. - 65 с.

17. Асонов, Н. Р. Микробиология : учебник для вузов по специальности "Зоотехния". - 4-е изд., перераб., доп. - М. : Колос, 2001. - 352 с. - (Учебники и учебные пособия для студентов вузов. Гр.).

18. Эпизоотология с микробиологией : учебник для студентов СПО по специальности 3104 "Ветеринария" / под ред. В. А. Кузьмина, А. В. Святковского. - М. : Академия, 2005. - 432 с. : ил. - (СПО. Гр.).

19. Веревкина М.Н. Стимуляторы в макромире и микромире : метод. пособие для студентов фак. вет. медицины по дисциплине "Вет. микробиология и иммунология", "Биотехнология вет. препаратов".- Ставрополь: АГРУС, 2004.- 48 с.

20. Микробиология : учеб. пособие для студентов вузов по специальности 110501- Ветеринарно-санитарная экспертиза / Р. Г.

Госманов [и др.]. - СПб. : Лань, 2011.- 496 с.- (Учебники для вузов. Специальная литература. Гр. УМО).

21. Санитарная микробиология : учеб. пособие для студентов вузов по специальности 111201 - Ветеринария / Р. Г. Госманов [и др.]. - СПб. : Лань, 2010. - 240 с. : ил. - (Учебники для вузов. Специальная литература. Гр. УМО).

22. Ветеринарная микробиология и иммунология : учебник для студентов вузов по специальности "Ветеринария" / под ред. Н. А. Радчука. - М. :Агропроиздат, 1991. - 383 с. : ил. - (Учебники для вузов. Гр. МСХ РФ)

23. Тутов, И. К., Ситьков В. И. Основы биотехнологии ветеринарных препаратов: учебное пособие/ И. К. Тутов, В. И. Ситьков. - Ставрополь: СГСХА, 1997. – 253 с.

24. Blood, D. C. Saunders comprehensive veterinary dictionary / Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. - Third edition. - Edinburgh, London, New York, 2007. - 2166 с. - (Elsevier). - Ветеринарный словарь.

25. Микробиология (периодическое издание).

26. Биотехнология (периодическое издание).

27. Международная реферативная база данных SCOPUS.
<http://www.scopus.com/>

28. Международная реферативная база данных WebofScience.
<http://wokinfo.com/russian/>

29. Электронная библиотека диссертаций Российской государственной библиотеки <http://elibrary.rsl.ru/>

30. Ветеринария. РЖ (периодическое издание).

31. IVJ: IrishVeterinaryJournal (периодическое издание).

32. TheVeterinaryJournal (периодическое издание).

33. VeterinaryResearch (периодическое издание).

Оглавление

1 РАЗДЕЛ. Учение об эпизоотическом процессе.	3
Тема 1: Сущность и движущие силы эпизоотического процесса. Факторы, влияющие на характер эпизоотического процесса.	3
Раздел 2. Тема 1: Иммунология как наука. Понятие об иммунной системе.	14
Тема № 2 - Механизмы иммунитета. Антигены и иммуноглобулины. Регуляторные клетки иммунной системы и их поверхностные структуры.	24
Тема №3 - Гормоны и медиаторы иммунной системы. Генетический контроль иммунного ответа. Главный комплекс гистосовместимости. Иммунный ответ.	44
Тема №4 - Иммунологическая толерантность. Теории иммунитета. Модельные системы в фундаментальной и прикладной иммунологии.	73
Тема №5 - Теории иммунитета.	80
Тема №6 - Модельные системы в фундаментальной и прикладной иммунологии.	87
Тема №7 - Основы иммунодиагностики. Иммунопрофилактика.	105
Тема №8 - Иммунологические отношения при оплодотворении в системе мать-плод.	122
Тема №9 - Онтогенез и филогенез иммунного ответа. Трансплантация эмбрионов.	128
Вопросы для самоконтроля:	158
Литература.	159