

**Генотипическая  
гетерогенность**

**полиморфизм белков**

- **Каждый человек генетически индивидуален. Генотипическая гетерогенность в популяции человека связана с генетически обусловленной гетерогенностью всех структурных и функциональных белков организма, т.е. вызвана полиморфизмом белков.**
- **Появление разных форм белка (изобелков), выполняющих одинаковые или очень сходные функции является следствием появления в популяции двух или большего числа аллелей одного и того же гена.**
- Это происходит в ходе многократных клеточных делений сопровождающихся постоянным удвоением генов и образованием новых генных локусов.
- Сначала это копии исходного гена, но последующие независимые и неодинаковые мутации копий генов приводят к появлению в организме новых модифицированных генных локусов.
- Продуктами транскрипции разных генных локусов являются модифицированные полипептидные цепи протомеров из которых возможна сборка различных изоформ одного и того же белка.
- В результате в организме появляются полиморфные по суединичному составу изоформы одного и того же белка.
- **Полиморфными белками являются гемоглобин, гаптоглобин, некоторые ферменты и их изоформы (изоферменты), группоспецифические белки крови и др.**

# Гемоглобин

- Молекула гемоглобина состоит из 4 субъединиц.
- **Гемоглобин взрослого человека (HbA)** состоит из 2 альфа и 2 бета субъединиц,
- **Гемоглобин плода (HbF)** - 2 альфа и 2 гамма,
- **Гемоглобин A2** - 2 альфа и 2 эпсилон субъединиц.
- Гены этих белков не аллельны, они занимают разные локусы.
- Синтез субъединиц этих вариантов гемоглобина транскрибируется разными генами возникших в ходе эволюции в результате дупликации гена предшественника и мутации копий.
- Эти варианты гемоглобина содержатся в эритроцитах почти всех людей в большей или меньше степени.
- **Кроме этого обнаружено, что аллельным вариантом HbA является HbS (в бета-цепи глутаминовая кислота заменена на валин).**

- По аллельным типам (HbA и HbS) все люди делятся на три группы с генотипами AA, AS, SS.
- **Первая группа людей содержит HbA,**
- **вторая - HbA и HbS,**
- **третья - HbS.**
- Аллельным вариантом HbA является HbC
- (вместо глутаминовой кислоты на 6 месте в бета-цепи стоит лизин ).
- **По этой паре аллелей существуют варианты AA, AC, CC.**
- В итоге, только по аллельным парам S и C у гемоглобина A существует **пять генотипически и фенотипически разных групп: AA, AS, AC, SS, CC.**
- **Вместе с тем, установлены 300 аллельных вариантов HbA, а их генотипических групп около 600.**

# Гаптоглобин (Hr)

- Гаптоглобин (Hr)- представляет собой гликопротеид относящийся к фракции альфа2-глобулинов плазмы крови.
- Гаптоглобин образует комплексы с гемоглобином, повышает пероксидазную его активность и обеспечивает доставку Hb в клетки ретикулоэндотелиальной системы.
- Имеется два генотипических варианта гаптоглобина (Hr1 и Hr2) из которых формируются три фенотипа:
- **Hr1-1,**
- **Hr1-2,**
- **Hr2-2.**
- Каждая молекула гаптоглобина состоит из **двух субъединиц типа альфа-1 и альфа-2 и одной бета-цепи.** Причем **бета-субъединица во всех фенотипах одинакова.**
- Среди альфа-1 цепей различают два аллельных варианта:
- **альфа -1f**
- **альфа- 1s.**

- Соответственно возможны три аллельных фенотипа гаптоглобина Hр1-1:
- ***Hр( 1f-1f),***
- ***Hр (1f-1s),***
- ***Hр (1s-1s)***
- Два аллельных типа гаптоглобина Hр1-2 :
- ***Hр (альфа2-1f),***
- ***Hр (альфа2 -1s)***
- И один тип
- ***Hр2-2 (альфа2-альфа2).***
- **Таким образом, гаптоглобин является полиморфным белком имеющим шесть фенотипических варианта.**

# Группоспецифические белки крови

- У человека по аллельным вариантам системы АВО и других белков различают **свыше 30 групп крови.**
- В клинической медицине наиболее известна система АВО, согласно которой
- различают четыре группы.
- Система АВО связана с наличием фермента
- **гликозил-трансферазы в созревающих эритроцитах.**
- Этот фермент катализирует перенос галактозильного или N-ацетилгалактозильного радикала
- **на фукоз-галактоз-N-ацетилглюкозаминный радикал наружной плазматической мембраны созревающих эритроцитов.**

- В популяциях человека встречаются три аллельных варианта этого фермента:
  - **гликозилтрансфераза А,**
  - **гликозилтрансфераза В**
  - **гликозилтрансфераза О.**
- 
- Гликозилтрансфераза А обеспечивает транспорт N-ацетилгалактозы,
  - Гликозилтрансфераза В - перенос галактозы.
  - Гликозилтрансфераза О не имеет ферментативной активности.



- В результате на наружной мембране эритроцитов могут сформироваться разные по структуре **олигосахаридные антигенные детерминанты**:
- олигосахарид - А,
- олигосахарид - В и
- недостроенный олигосахарид - О.
- **По трем аллелям гликозилтрансферазы -А, -В и -О возможны шесть диплоидных генотипов:**
- **ОО, АА, ВВ, АО, ВО, АВ, т.е. шесть групп крови.**
- По наличию того или иного антигена на мембране эритроцита (антигенной детерминанты) различают четыре группы крови:
  - **1 ( О ) группа - нет антигена**
  - **2 ( А ) группа - есть антиген А**
  - **3 ( В ) группа - есть антиген В**
  - **4 ( АВ ) группа - есть антигены А и В.**

# Система иммунного контроля

- Существует два основных типа иммунного контроля: гуморальный и клеточный
- **Гуморальный ответ состоит в выработке антител,** которые циркулируют в крови в составе гамма – фракции глобулинов (иммуноглобулины)
- Связывание иммуноглобулинов с антигеном облегчает поглощение антигена с фагоцитами и активирует особую систему белков крови, называемую комплемент, которая способствует разрушению антигена.
- **Иммунный ответ клеточного типа** включает образование специализированных клеток, реагирующих с чужеродным антигеном главным образом на поверхности собственных клеток организма.
- При этом эти клетки либо уничтожаются либо происходит разрушение антигена с помощью других клеток, таких как макрофаги.
- Таким образом, иммунитет это биологическое явление, сущность которого состоит в постоянном регулировании взаимоотношений организма со "своими" и "чужими" макромолекулами, или антигенами.

# **Т-лимфоциты и В-лимфоциты.**

- Клеточный и гуморальный иммунитет опосредуется двумя различными классами лимфоцитов.
- **За клеточный иммунитет ответственны**
- **Т-лимфоциты,**
- **За гуморальный - В-лимфоциты.**
- Т-лимфоциты развиваются в тимусе.
- Среди Т-лимфоцитов различают следующие клоны: Т-киллеры, Т-эффекторы,
- Т-амплифайер (Т-Т-хелперы), Т-хелперы,
- Т-супрессоры, Т-лимфоциты памяти,
- Т-инициаторы, Т-регуляторы,
- Т-антисупрессоры.

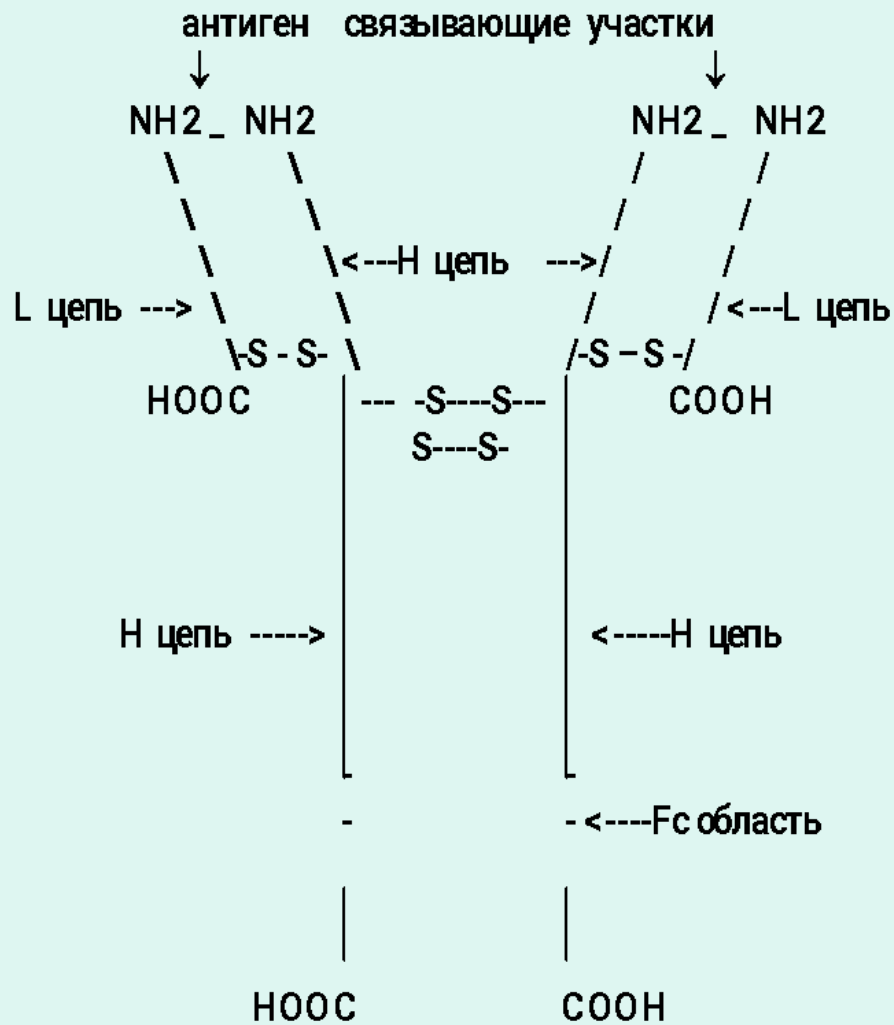
- **В-лимфоциты** ответственны за гуморальный иммунитет и их единственная функция - **выработка антител (иммуноглобулинов)**.
- "Обучение" В-лимфоцитов у человека происходит в сгруппированных лимфатических узлах кишечника, в костном мозге, миндалинах и даже в коже.
- Популяция В-клеток не менее сложна, чем Т-лимфоцитов:
  - В-киллеры,
  - В-супрессоры,
  - В-лимфоциты иммунологической памяти,
  - АТОК - антителобразующие клетки В-лимфоцитов (IgG IgM IgA IgE IgD)

# Иммунноглобулины

- Антитела, продуцируемые антителобразующими В-лимфоцитами, объединяются в 5 классов: IgG IgA IgM IgD IgE .
- На примере IgG показано, что возможно расщепление папаином Ig на три фрагмента: два Fab фрагмента (связывающие антиген) и один Fc-фрагмент (обеспечивающий реакцию антител с компонентом, взаимодействие с макрофагами и способствующим транспорту Ig через мембрану).
- Согласно данным R.R. Porter ( 1962) каждая молекула иммуноглобулина состоит **из двух идентичных L (легких) цепей и двух идентичных H (тяжелых) цепей, т.е. состоит из 4 полипептидных цепей, связанных между собой дисульфидными мостиками.**

- **Тяжелые H-цепи имеют 5 типов:**
- **мю( $\mu$ )-, сигма( $\sigma$ )-, гамма( $\gamma$ )-, альфа( $\alpha$ )-, эпсилон ( $\epsilon$ )** типы - характерные для каждого класса иммуноглобулинов (Ig) особенности.
- **Каждая легкая L-цепь имеет два типа:**
- **каппа ( $\chi$ )- и лямбда( $\lambda$ )- типы.**
- И состоит из 2-х областей:
- С-концевая часть **постоянная**, у одного и того же биологического вида,
- N-концевая - **вариабельная** часть легких цепей сильно варьирует (формирует гипервариабельный участок легкой цепи).
- Молекула иммуноглобулина может иметь в легкой L-цепи **либо каппа, либо лямбда тип** субъединицы, но не ту и другую одновременно.

# Строение иммуноглобулина



# ***Иммуноглобулины M***

- Молекула IgM состоит из 10 легких и 10 тяжелых цепей и одной J-цепи, представляя собой пентамер имеющий звездобразную форму.
- J-цепь синтезируется IgM-секретирующими клетками, ковалентно встраивается между смежными Fc областями и инициирует процесс олигомеризации - образование пентамера.
- *Иммуноглобулины класса M (IgM)* поступают в кровь на ранних стадиях первичного иммунного ответа.
- IgM не проникают через плаценту, расщепляются протеазами на фрагменты, активируют систему комплимента.



- IgM принимают участие в **нейтрализации токсинов, агглютинации, опсонизации, бактериолизе, агглютинации гетерогенных эритроцитов.**
- В норме в сыворотке крови IgM содержится от 50 мг/л до 1,9 г/л.
- Уровень их повышается при перинатальных инфекциях, инфекционных заболеваниях у взрослых и детей, при острых гепатитах и первичном билиарном циррозе, при макроглобулинемии Вальденштрема

# **Иммуноглобулины класса G**

- **Иммуноглобулины класса G (IgG) - производятся в больших количествах при вторичном иммунном ответе.**
- **IgG - на их долю у человека приходится 70-75% от общей концентрации иммуноглобулинов. Они обеспечивают противои инфекционную защиту.**
- **К IgG относятся антитоксины, агглютинины и опсонины. Выработка их характерна главным образом для вторичного иммунного ответа.**
- **В сыворотке крови IgG обнаруживаются во многих фракциях белков от гамма-глобулинов до альфа 2-глобулинов.**

- **Различают 4 подкласса IgG**
- (IgG1 IgG2 IgG3 IgG4), отличающиеся молекулярной массой, электрофоретической подвижностью.
- У человека преобладают 1 и 2 подклассы IgG.
- **IgG хорошо проникают через плаценту и обеспечивают пассивный иммунитет у плода, они же способны вызвать эффекты усиления при злокачественном росте.**
- В норме содержание IgG в сыворотке крови человека 8-16г/л.
- **Уровень IgG в крови увеличивается при заболеваниях печени, хронических инфекциях, миеломах.**
- **Уменьшается при синдроме недостаточности антител**

# Иммуноглобулины класса E

- Иммуноглобулины класса E (IgE) построены, как и другие из двух легких и двух тяжелых цепей, термолабильны, расщепляются папаином на фрагменты.
- Фиксируются IgE на тучных клетках (тканевых базофилах) и базофилах, через плаценту не проникают, но способны входить в состав секрета.
- Человеческий плод синтезирует IgE со 2-й недели внутриутробного развития, максимальный уровень определяется в 30-40-летнем возрасте.
- Синтезирующие IgE клетки локализуются в слизистых оболочках дыхательного аппарата и желудочно-кишечного тракта.
- По-видимому, IgE являются одним из факторов антиканцерогенеза.
- Fc-область молекулы IgE связывается со специфическими рецепторами белков на поверхности тучных клеток и базофильных лейкоцитов.

- Связанные молекулы IgE служат рецепторами для антигена: присоединение к ним антигена приводит к секреции биологически активных аминов (гистамина или серотонина).
- Эти амины вызывают расширение кровеносных сосудов и увеличение проницаемости их стенок.
- С этими аминами связаны клинические проявления таких аллергических реакций, как сенная лихорадка, астма и крапивница.
- Через этот механизм IgE делают область воспаления более доступной для лейкоцитов, антител и компонентов комплемента.
- Концентрация их резко повышается при аллергии немедленного типа: бронхиальной астме, гельминтозах, аллергических дерматозах.
- В норме в крови содержание IgE невелико и в среднем составляет 0,1-2 мг/л. Сильное увеличение их уровня наблюдается при аллергиях и миеломе.

## Иммуноглобулины класса А

- *Иммуноглобулины класса А (IgA)* существуют в виде мономера или димера. Через плаценту не проникают. плохо расщепляются протеолитическими ферментами, относительно термоустойчивы, принимают участие в реакции нейтрализации токсинов и агглютинации.  
IgA делятся на две разновидности: сывороточную и секреторную и различают два подкласса: IgA1 и IgA2.
- Сывороточная разновидность IgA находится в сыворотке крови и в других внутренних средах: синовиальная, плевральная, спинномозговая, амниотическая и др. жидкость.
- IgA1 принимают участие в явлениях общего иммунитета. На их долю приходится 15-20 % от общего содержания иммуноглобулинов. 90% сывороточного IgA относится к классу IgA1.

- Секреторная разновидность IgA встречается в секрете экзокринных желез: слюне, слизи трахеобронхиального дерева, мочеполовых путей и кишечника, в молоке, слезах новорожденной и др. и обеспечивает местный иммунитет, является синергистом интерферона и лизоцима.
- Молекула секреторной разновидности IgA в составе мономерных субъединиц содержит крепежные цепи (J-цепи) и секреторные цепи.
- Они образуются в эпителиальных клетках и присоединяются к синтезируемому в плазматических клетках IgA в комплексе Гольджи и которые способствуют прохождению IgA через слизистые барьеры.
- В сыворотке крови IgA содержатся в количестве от 1,4 до 4,2 г/л.
- Уровень IgA увеличивается при циррозе печени, хронических инфекциях, миеломе.

## *Иммуноглобулины класса D*

- *Иммуноглобулины класса D (IgD)* чрезвычайно чувствительны к протеазам, относительно термостабильны, через плаценту не проникают, комплемент не фиксируют, участвуют в реакции преципитации.
- Открытым остается вопрос о их цитофильности, способности к секреции и категории антител.
- В сыворотке крови человека уровень IgD очень низок 30-400 мг/л.
- Уровень их увеличивается при миеломе.



# Система комплемента

- Система комплемента - главное оружие, с помощью которого антитела защищают организм человека от большинства бактериальных инфекций путем лизиса бактериальных клеток и привлечения фагоцитов к месту инфекции и повышения их способности поглощать и разрушать микроорганизмы.
- Индивидумы с недостаточностью одного из центральных компонентов комплемента (С3) подвержены частым инфекционным заболеваниями.
- При аутоиммунных заболеваниях, при циррозе печени и других заболеваниях уровень их в крови уменьшается.

- **Комплемент - это не один белок, а сложная система белков**, включающая около 20 взаимодействующих компонентов: C1 (комплекс из трех белков: C1q, C1r, C1s), C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, фактор В, фактор D, C3-конвертаза, C5-конвертаза и др.
- Все эти белки циркулируют в крови и тканевой жидкости и относятся к фракции бета-глобулинов, кроме C1q, который относится как и Ig к гамма-глобулинами.
- Большинство белков комплемента неактивно до тех пор, пока не будет приведено в действие или иммунным ответом, или непосредственно внедрившимся микроорганизмом.

# Механизм действия комплимента

- **Компоненты C1, C2, C4, факторы В и D - проферменты, последовательно активируют один другого путем протеолиза.**
- **Центральный компонент этого протеолитического каскада - C3 может быть активирован двумя разными путями, классическим и альтернативным.**
- **Классический путь** запускается комплексом антиген-антитело (IgG или IgM), приводящий к образованию активного C1-компонента, который приводит к образованию комплекса C2+C4, который представляет собой фермент C3-конвертазу.
- **Альтернативный путь** может прямо активироваться микроорганизмами и приводит к связыванию фактора В с фрагментом C3b. При этом фактор D расщепляет фактор В с образованием фрагмента Vb, который соединяется с C3b и образуется комплекс C3bVb, т.е. альтернативная C3-конвертаза.

- **Далее пути идут одинаково:** фермент С3-конвертаза расщепляет С3 на два фрагмента: С3а и С3b.
- **Большой из них С3b соединяется с С3 - конвертазой и образуется ферментный комплекс еще больших размеров с измененной специфичностью - С5-конвертаза.**
- **Затем С5-конвертаза инициирует спонтанную сборку литического комплекса из поздних компонентов системы комплемента - С5+С6+С7 +С8+ С9, вызывающий лизис клеток.**
- **Литический комплекс системы комплемента дестабилизирует липидный бислой мембран клеток и образует сквозные водные каналы. В результате этого внутрь бактериальной клетки осмотически накачивается вода, она набухает и лопаются.**
- **При активации комплемента освобождается также ряд небольших пептидных фрагментов, привлекающих полиморфноядерные лейкоциты и стимулирующих секрецию гистамина тучными клетками. Это приводит к воспалительной реакции в местах активации комплемента.**
- **Таким образом, протеолитический каскад комплемента обеспечивает локальную атаку на мембраны клеток-мишеней**



- **3 вариант** - в цепи метаболических превращений из-за отсутствия фермента (E) происходит накопление предшественников (A, B) субстрата (S), оказывающих в больших количествах токсическое действие на функции клеток. Например, гипераммониемия, вызванная наличием дефектного фермента, необходимого для превращения орнитина и карбомилфосфата в цитруллин.
- **4 вариант** - в цепи метаболических превращений из-за отсутствия фермента (E) из одного из предшественников субстрата усиленно образуется токсичный продукт (P). Например, при фенилкетонурии из-за отсутствия гидроксилазы фенилаланина, включается альтернативный путь, приводящий к образованию фенилпирувата.
- **Исходя из этих вариантов развития патологического процесса, строится система клинико-биохимической диагностики наследственных заболеваний.**