

Лекция № 12.

Гуморальный иммунитет.
Иммуноглобулины. Роль антител в
иммунном ответе. Реакция антиген-
антитело, ее применение

МИКРОБИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ

2015-2016

Основными формами иммунного ответа на попадание антигена в организм являются: биосинтез антител, образование клеток иммунной памяти, реакция гиперчувствительности немедленного типа, реакция гиперчувствительности замедленного типа, иммунологическая толерантность, идиотип- антиидиотипические отношения.

Для гуморального иммунитета характерна выработка специфических антител (иммуноглобулинов).

Антитела - специфические белки гамма- глобулиновой природы, образующиеся в организме в ответ на антигенную стимуляцию и способные специфически взаимодействовать с антигеном (*in vivo*, *in vitro*). В соответствии с международной классификацией совокупность сывороточных белков, обладающих свойствами антител, называют **иммуноглобулинами**.

Уникальность антител заключается в том, что они способны специфически взаимодействовать только с тем антигеном, который вызвал их образование.

Иммуноглобулины (Ig) разделены в зависимости от локализации на три группы:

- сывороточные (в крови);
- секреторные (в секретах- содержимом желудочно- кишечного

тракта, слезном секрете, слюне, особенно- в грудном молоке) обеспечивают *местный иммунитет* (иммунитет слизистых);
- поверхностные (на поверхности иммунокомпетентных клеток, особенно В- лимфоцитов).

Любая молекула антител имеет сходное строение (Y- образную форму) и состоит из двух тяжелых (H) и двух легких (L) цепей, связанных дисульфидными мостиками. Каждая молекула антител имеет два одинаковых антигенсвязывающих фрагмента Fab (fragment antigen binding), определяющих антительную специфичность, и один Fc (fragment constant) фрагмент, который не связывает антиген, но обладает эффекторными биологическими функциями. Он взаимодействует со “своим” рецептором в мембране различных типов клеток (макрофаг, тучная клетка, нейтрофил).

Концевые участки легких и тяжелых цепей молекулы иммуноглобулина переменны по составу (аминокислотным последовательностям) и обозначаются как VL и VH области. В их составе выделяют гиперпеременные участки, которые определяют структуру *активного центра антител (антигенсвязывающий центр или паратоп)*. Именно с ним взаимодействует антигенная детерминанта (эпитоп) антигена.
Антигенсвязывающий центр антител комплементарен

эпиглобулину антигена по принципу “ключ - замок” и образован гипервариабельными областями L- и H- цепей. Антитело свяжется антигеном (ключ попадет в замок) только в том случае, если детерминантная группа антигена полностью встроится в щель активного центра антител.

Легкие и тяжелые цепи состоят из отдельных блоков- **доменов**. В легких (L) цепях - два домена- один вариабельный (V) и один константный (C), в тяжелых (H) цепях- один V и 3 или 4 (в зависимости от класса иммуноглобулина) C домена.

Существуют легкие цепи двух типов- **каппа** и **лямбда**, они встречаются в различных пропорциях в составе различных (всех) классов иммуноглобулинов.

Выявлено *пять классов тяжелых цепей*- **альфа** (с двумя подклассами), **гамма** (с четырьмя подклассами), **эксилон**, **мю** и **дельта**.

Соответственно обозначению тяжелой цепи обозначается и класс молекул иммуноглобулинов- A, G, E, M и D.

Именно константные области тяжелых цепей, различаясь по аминокислотному составу у различных классов иммуноглобулинов, в конечном результате и определяют специфические свойства иммуноглобулинов каждого класса.

Известно **пять классов** иммуноглобулинов, отличающихся по строению тяжелых цепей, молекулярной массе, физико- химическим и биологическим характеристикам: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. В составе IgG выделяют 4 подкласса (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), в составе IgA- два подкласса (IgA1, IgA2).

Структурной единицей антител является **мономер**, состоящий из двух легких и двух тяжелых цепей. Мономерами являются IgG, IgA (сывороточный), IgD и IgE. IgM- **пентамер** (полимерный Ig). У полимерных иммуноглобулинов имеется дополнительная j (joint) полипептидная цепь, которая объединяет (полимеризует) отдельные субъединицы (в составе пентамера IgM, ди- и тримера секреторного IgA).

Основные биологические характеристики антител.

1. *Специфичность* - способность взаимодействия с определенным (своим) антигеном (соответствие эпитопа антигена и активного центра антител).

2. *Валентность*- количество способных реагировать с антигеном активных центров (это связано с молекулярной организацией- моно- или полимер). Иммуноглобулины могут быть *двухвалентными* (IgG) или *поливалентными* (пентамер IgM имеет 10 активных центров). Двух- и более валентные антитела называют *полными антителами*. *Неполные*

антитела имеют только один участвующий во взаимодействии с антигеном активный центр (блокирующий эффект на иммунологические реакции, например, на агглютинационные тесты). Их выявляют в антиглобулиновой пробе Кумбса, реакции угнетения связывания комплемента.

3. *Аффинность* - прочность связи между эпитопом антигена и активным центром антител, зависит от их пространственного соответствия.

4. *Авидность* - интегральная характеристика силы связи между антигеном и антителами, с учетом взаимодействия всех активных центров антител с эпитопами. Поскольку антигены часто поливалентны, связь между отдельными молекулами антигена осуществляется с помощью нескольких антител.

5. *Гетерогенность* - обусловлена антигенными свойствами антител, наличием у них трех видов антигенных детерминант:

- *изотипические* - принадлежность антител к определенному классу иммуноглобулинов;

- *аллотипические* - обусловлены аллельными различиями иммуноглобулинов, кодируемых соответствующими аллелями Ig гена;

- *идиотипические* - отражают индивидуальные особенности

иммуноглобулина, определяемые характеристиками активных центров молекул антител. Даже тогда, когда антитела к конкретному антигену относятся к одному классу, субклассу и даже аллотипу, они характеризуются специфическими отличиями друг от друга (**идиотипом**). Это зависит от особенностей строения V- участков H- и L- цепей, множества различных вариантов их аминокислотных последовательностей.

Понятие о поликлональных и моноклональных антителах будет дано в следующих разделах.

Характеристика основных классов иммуноглобулинов.

Ig G. Мономеры, включают четыре субкласса. Концентрация в крови- от 8 до 17 г/л, период полураспада- около 3- 4 недель. Это основной класс иммуноглобулинов, защищающих организм от бактерий, токсинов и вирусов. В наибольшем количестве IgG- антитела вырабатываются на стадии выздоровления после инфекционного заболевания (поздние или 7S антитела), при вторичном иммунном ответе. IgG1 и IgG4 специфически (через Fab- фрагменты) связывают возбудителей (*опсонизация*), благодаря Fc- фрагментам IgG взаимодействуют с Fc- рецепторам фагоцитов, способствуя фагоцитозу и лизису микроорганизмов. IgG способны нейтрализовать бактериальные

экзотоксины, связывать комплемент. Только IgG способны транспортироваться через плаценту от матери к плоду (проходить через плацентарный барьер) и обеспечивать защиту материнскими антителами плода и новорожденного. В отличие от IgM- антител, IgG- антитела относятся к категории поздних- появляются позже и более длительно выявляются в крови.

IgM. Молекула этого иммуноглобулина представляет собой полимерный Ig из пяти субъединиц, соединенных дисульфидными связями и дополнительной J- цепью, имеет 10 антиген- связывающих центров. Филогенетически это наиболее древний иммуноглобулин. IgM- наиболее ранний класс антител, образующихся при первичном попадании антигена в организм. Наличие IgM- антител к соответствующему возбудителю свидетельствует о свежем инфицировании (текущем инфекционном процессе). Антитела к антигенам грамотрицательных бактерий, жгутиковым антигенам- преимущественно IgM- антитела. IgM- основной класс иммуноглобулинов, синтезируемых у новорожденных и младенцев. IgM у новорожденных- это показатель внутриутробного заражения (краснуха, ЦМВ, токсоплазмоз и другие внутриутробные инфекции), поскольку материнские IgM через плаценту не проходят. Концентрация IgM в крови

ниже, чем IgG- 0,5- 2,0 г/л, период полураспада- около недели. IgM способны агглютинировать бактерии, нейтрализовать вирусы, активировать комплемент, активизировать фагоцитоз, связывать эндотоксины грамотрицательных бактерий. IgM обладают большей, чем IgG авидностью (10 активных центров), аффинность (сродство к антигену) меньше, чем у IgG.

IgA. Выделяют сывороточные IgA (мономер) и секреторные IgA (IgAs). Сывороточные IgA составляют 1,4- 4,2 г/л. Секреторные IgAs находятся в слюне, пищеварительных соках, секрете слизистой носа, в молозиве. Они являются первой линией защиты слизистых, обеспечивая их местный иммунитет. IgAs состоят из Ig мономера, J-цепи и гликопротеина (секреторного компонента). Выделяют два изотипа- IgA1 преобладает в сыворотке, субкласс IgA2 - в экстравазальных секретах.

Секреторный компонент вырабатывается эпителиальными клетками слизистых оболочек и присоединяется к молекуле IgA в момент прохождения последней через эпителиальные клетки. Секреторный компонент повышает устойчивость молекул IgAs к действию протеолитических ферментов. Основная роль IgA- обеспечение местного иммунитета слизистых. Они препятствуют прикреплению бактерий к слизистым, обеспечивают транспорт полимерных иммунных комплексов

с IgA, нейтрализуют энтеротоксин, активируют фагоцитоз и систему комплемента.

IgE. Представляет мономер, в сыворотке крови находится в низких концентрациях. Основная роль- своими Fc- фрагментами прикрепляется к тучным клеткам (мастоцитам) и базофилам и опосредует *реакции гиперчувствительности немедленного типа*. К IgE относятся “антитела аллергии” - *реагины*. Уровень IgE повышается при аллергических состояниях, гельминтозах. Антигенсвязывающие Fab- фрагменты молекулы IgE специфически взаимодействует с антигеном (аллергеном), сформировавшийся иммунный комплекс взаимодействует с рецепторами Fc- фрагментов IgE, встроенных в клеточную мембрану базофила или тучной клетки. Это является сигналом для выделения гистамина, других биологически активных веществ и развертывания острой аллергической реакции.

IgD. Момеры IgD обнаруживают на поверхности развивающихся В-лимфоцитов, в сыворотке находятся в крайне низких концентрациях. Их биологическая роль точно не установлена. Полагают, что IgD участвуют в дифференциации В-клеток, способствуют развитию антиидиотипического ответа, участвуют в аутоиммунных процессах. С целью определения концентраций иммуноглобулинов отдельных

классов применяют несколько методов, чаще используют *метод радиальной иммунодиффузии в геле (по Манчини)*- разновидность реакции преципитации и ИФА.

Определение антител различных классов имеет важное значение для диагностики инфекционных заболеваний. Обнаружение антител к антигенам микроорганизмов в сыворотках крови- важный критерий при постановке диагноза- *серологический метод диагностики*. Антитела класса IgM появляются в остром периоде заболевания и относительно быстро исчезают, антитела класса IgG выявляются в более поздние сроки и более длительно (иногда- годами) сохраняются в сыворотках крови переболевших, их в этом случае называют анамнестическими антителами.

Выделяют понятия: *титр антител, диагностический титр, исследования парных сывороток*. Наибольшее значение имеет выявление IgM- антител и четырехкратное повышение титров антител (или *сероконверсия*- антитела выявляют во второй пробе при отрицательных результатах с первой сывороткой крови) при исследовании *парных*- взятых в динамике инфекционного процесса с интервалом в несколько дней- недель проб.

Реакции взаимодействия антител с возбудителями и их антигенами

(реакция “антиген- антитело”) проявляется в виде ряда феноменов- агглютинации, преципитации, нейтрализации, лизиса, связывания комплемента, опсонизации, цитотоксичности и могут быть выявлены различными **серологическими реакциями**.

Динамика выработки антител. Первичный и вторичный иммунный ответ.

Первичный ответ- при первичном контакте с возбудителем (антигеном), вторичный- при повторном контакте. Основные отличия:

- продолжительность скрытого периода (больше- при первичном);
- скорость нарастания антител (быстрее- при вторичном);
- количество синтезируемых антител (больше- при повторном контакте);
- последовательность синтеза антител различных классов (при первичном более длительно преобладают IgM, при вторичном- быстро синтезируются и преобладают IgG- антитела).

Вторичный иммунный ответ обусловлен формированием *клеток иммунной памяти*. Пример вторичного иммунного ответа- встреча с возбудителем после вакцинации.

Роль антител в формировании иммунитета.

Антитела имеют важное значение в формировании *приобретенного*

постинфекционного и поствакцинального иммунитета.

1. Связываясь с токсинами, антитела нейтрализуют их, обеспечивая *антитоксический иммунитет.*

2. Блокируя рецепторы вирусов, антитела препятствуют адсорбции вирусов на клетках, участвуют в противовирусном иммунитете.

3. Комплекс антиген- антитело запускает классический путь активации комплемента с его эффекторными функциями (лизис бактерий, опсонизация, воспаление, стимуляция макрофагов).

4. Антитела принимают участие в опсонизации бактерий, способствуя более эффективному фагоцитозу.

5. Антитела способствуют выведению из организма (с мочой, желчью) растворимых антигенов в виде циркулирующих иммунных комплексов.

IgG принадлежит наибольшая роль в антитоксическом иммунитете, IgM- в антимикробном иммунитете (фагоцитоз корпускулярных антигенов), особенно в отношении грамотрицательных бактерий, IgA- в противовирусном иммунитете (нейтрализация вирусов), IgAs- в местном иммунитете слизистых оболочек, IgE- в реакциях гиперчувствительности немедленного типа.