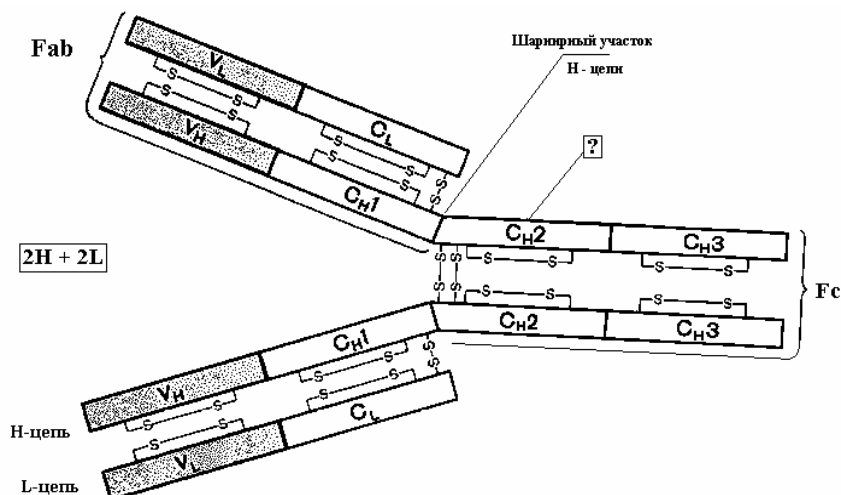


## СИСТЕМА ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА. АНТИТЕЛА. (Тема 2.)

Учебно-методическое пособие по общей иммунологии. Тверь 2008.



Строение Ig G

Учебно-методическая рекомендация для практических занятий по общей иммунологии для студентов 5 курса лечебного и педиатрического факультетов, а также для клинических ординаторов и врачей, интересующихся вопросами иммунологии.

Составлена доцентом Ю.И.Будчановым.

Методическая рекомендация обсуждена и утверждена на методическом совещании кафедры клинической иммунологии с аллергологией. Заведующий кафедрой, профессор А.А.Михайленко.

Методическая рекомендация утверждена на цикловой методической комиссии по преподаванию специальных дисциплин ТГМА г. и ЦКМС ТГМА г.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

H-цепи (от англ. heavy – тяжелый) – тяжелые цепи молекулы Ig.  
L-цепями (от англ. light – легкий) – легкие цепи молекулы Ig.  
CH 1, CH 2, CH 3 - константные домены тяжелых цепей.  
CL – константный домен легкой цепи.  
VL, VH - переменные домены легкой и тяжелой цепей.  
Fab- (от англ. fragment antigen binding) - фрагмент антигенсвязывающий.  
Fc - (от англ. fragment crystallizable) – фрагмент кристаллизующийся.  
FcR – рецептор к Fc-фрагменту Ig.  
ЦМВ – цитомегаловирус.  
IgG, IgA, IgM, IgE, IgD - классы сывороточных иммуноглобулинов.  
SIgA – секреторный иммуноглобулин А.  
mAb – (англ. mab) – моноклональные антитела.

## СИСТЕМА ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

Иммунные реакции принято подразделять на два типа: ГУМОРАЛЬНЫЕ и КЛЕТочНЫЕ. Для иммунного ответа гуморального типа характерна выработка **АНТИТЕЛ**, которые называются эффекторами В-звена иммунной системы, так как именно В-лимфоциты становятся антителопродуцирующими клетками.

⇒ **АНТИТЕЛА** — это белки (точнее гликопротеины), которые синтезируются под влиянием антигенов и специфически с ними реагируют. Это белки гаммаглобулиновой фракции, поэтому их называют **ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ (иммунными глобулинами)**.

Иммуноглобулины обозначаются символом **Ig**. Синтезируются они В-лимфоцитами, а более точно - ПЛАЗМАТИЧЕСКИМИ КЛЕТКАМИ и содержатся в большом количестве в сыворотке, в межклеточной жидкости и других секретах, обеспечивая гуморальный ответ. Одновременно определенная, но небольшая часть Ig фиксируется на поверхности мембран макрофагов и лимфоцитов, функционируя в качестве рецепторов к антигенам и участвуя, таким образом, не только в гуморальном, но и клеточном иммунном ответе.

На В-лимфоцитах Ig встроены в цитоплазматическую мембрану и являются антигенспецифическим рецептором. В данном случае это мембранная форма иммуноглобулина

**СТРУКТУРА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ.** Смотрите схему на титульном листе. Молекула Ig состоит из двух **тяжелых** полипептидных цепей, называемых H-цепями (от англ. **heavy** – тяжелый) и из двух **легких**, называемых L-цепями (от англ. **light** – легкий).

С помощью физико-химических и иммунологических методов доказано существование 5 классов Ig с молекулярной массой от 150 000 до 900 000 Д, обозначаемых Ig A, Ig M, Ig G, Ig E, Ig D. Принадлежность иммуноглобулинов к определенному классу определяется **типом тяжелых цепей**. У IgA тяжелые цепи α(альфа), IgM – μ(мю), IgG – γ(гамма), IgE – ε(эпсилон), IgD – δ(дельта). У всех иммуноглобулинов легкие цепи могут быть или обе λ (лямбда), или обе κ (каппа).

Антитела против одного и того же антигена могут быть представлены разными классами Ig. При этом выявлена такая закономерность: первыми после иммунизации появляются антитела класса М, затем класса G, и последними иммуноглобулины А и Е. Таким образом, если у человека определяются антитела (к какому-либо инфекционному агенту) класса М, то это свидетельствует о недавнем его инфицировании. Вот почему определение антител классов М и G к одному и тому же возбудителю играет важную диагностическую роль (как к ВИЧ, так и к возбудителю токсоплазмоза, ЦМВ и многим другим патогенам).

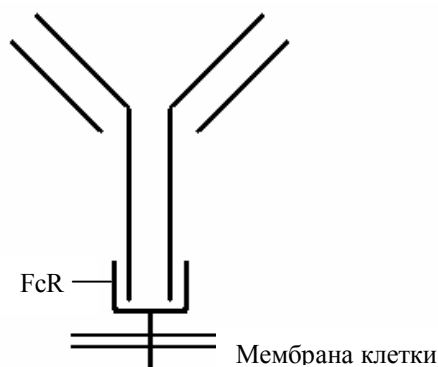
Структура молекулы IgG. Четыре цепи между собой связаны дисульфидными связями. Место вращения в тяжелой цепи называют шарнирной областью (участком). Каждая из легких и тяжелых цепей состоит из переменной (VL, VH) и константной (CH, CL) частей (см. рис на титульном листе). Переменные участки в цепях начинаются от N (концевого участка) и состоят приблизительно из 110 аминокислот. Константный участок H-цепи в 3 раза длиннее переменной и состоит из 3 гомологичных областей, L-цепи – из одной, каждая из которых содержит

110 аминокислот. Эти гомологичные участки, длиной 110 аминокислот, свернуты в глобулы и называются **доменами**. ↓

**ДОМЕНЫ** — это фрагменты цепей Ig, стабилизированные дисульфидными мостиками, состоящие приблизительно из 110 аминокислот (молекулярная масса 12500). Вторичная структура доменов представляет собой «**клубки**» (глобулы). В молекуле Ig G имеется 12 доменов, по 4 на тяжелых цепях и по 2 на легких. Домены, состоящие из переменных участков легких и тяжелых цепей, обозначаются соответственно VL и VH.

На константных участках легких цепей имеется по одному домену CL, на тяжелых цепях три константных домена, которые обозначаются CH 1, CH 2, CH 3. Важно отметить, что в области CH 2 домена располагается центр связывания комплемента, что и обуславливает активацию системы комплемента некоторыми классами иммуноглобулинов.

В молекуле Ig выделяют три фрагмента: два из них идентичны и обладают способностью соединяться с антигеном (точнее с антигенной детерминантой). Поэтому их назвали **Fab-фрагментами (fragment antigen binding - фрагмент антигенсвязывающий)**. Третий фрагмент может кристаллизоваться, и в связи с этим его обозначили как **Fc-фрагмент (fragment crystallizable)**. В Fab-фрагментах располагаются активные центры антител (смотри ниже), а вот своим единственным, образованным тяжелыми цепями,



**Fc-фрагментом** антитело связывается с клеточными **Fc-рецепторами (FcR)**, которые находятся на поверхности ряда клеток (макрофагов, моноцитов, лимфоцитов, базофилов и др.).

Во всех V-областях иммуноглобулинов имеются **ГИПЕР-ВАРИАБЕЛЬНЫЕ УЧАСТКИ** с высокой степенью изменчивости аминокислотного состава. На **H-цепи** четыре таких участка, а на **L-цепи** — три.

**АКТИВНЫЙ ЦЕНТР** иммуноглобулина (синоним: **паратон**) представляет собой пространство между VH и VL участками и расположен в Fab. Активным центром антител или антидетерминантой, именуют участок молекулы антитела, являющийся структурой, комплементарной

(специфичной) детерминантой группе антигена. Именно активными центрами Ig связываются с антигеном. Активный центр антител обладает функциональной автономией, т.е. способен связывать антигенную детерминанту в изолированном виде.

Иногда антигенсвязывающие центры молекулы антитела могут связываться с несколькими различными антигенными детерминантами (обычно эти антигенные детерминанты очень схожи). Такие антитела называют **ПЕРЕКРЕСТНО-РЕАГИРУЮЩИМИ**, способными к полиспецифическому связыванию.

**СПЕЦИФИЧНОСТЬ** антител — это способность Ig реагировать только с определенным антигеном. Феномен специфичности основан на наличии активных центров в молекуле антител, вступающих в контакт с соответствующими детерминантами антигена.

**ВАЛЕНТНОСТЬ** антител — это количество активных центров в молекуле антитела. Валентность Ig G равна двум. Валентность Ig M -.....? (Вспомните, сколько активных центров в молекуле Ig M. Строение IgM смотри ниже.).

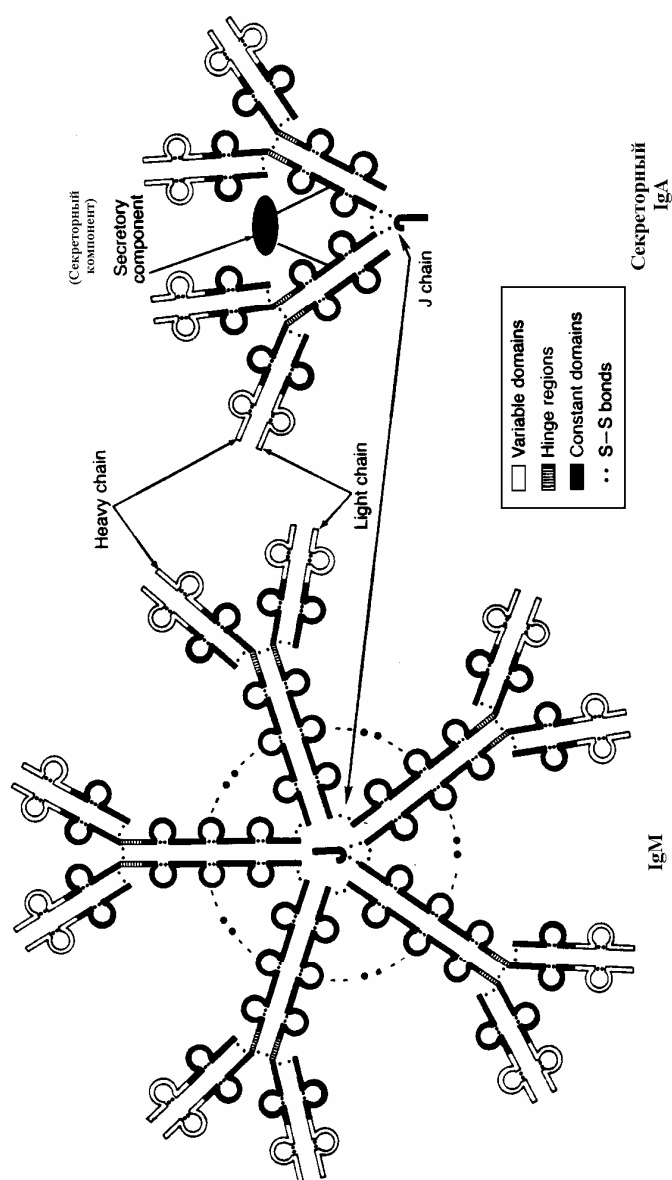
**АВИДНОСТЬ** антител - это способность антител образовывать прочные соединения с антигеном. А степень этой прочности, т.е. степень прочности связывания антител с антигеном называется **АФФИННОСТЬЮ** антител. (Она определяется степенью комплементарности активного центра антигенной детерминанте антигена.)

**Ig G** составляют 70% всех иммуноглобулинов человека. По строению - мономер. Структура подробно описана выше. Появляются они на более поздних сроках после первичной антигенной стимуляции, при вторичном иммунном ответе это основной класс продуцируемых антител. Находятся они как в крови, так и вне сосудов. Ig G – единственный, кто активно транспортируется через плаценту и играет важную роль в защите новорожденного от инфекции в первые месяцы жизни. Он является активатором системы комплемента. Валентность его равна 2. У человека различают в сыворотке крови 4 субкласса (подкласса) IgG (**IgG1, IgG2, IgG3, IgG4**), которые различаются по строению тяжелых цепей ( $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$ ) и некоторыми функциями. Концентрация в сыворотке от 7,0 до 22 г/л.

**Ig M** в сыворотке крови представлен в виде пентамера. (См. рис. на с. 8). В молекуле IgM пять структурных молекул (подобных IgG) расположены радиально. Fc-фрагменты направлены в центр, где соединены J-цепью (от англ. joining – соединение), а Fab-фрагменты - наружу. Тяжелые (H) цепи состоят из 5 доменов, так как содержат 4 константных домена. Ig M обладает высокой комплементсвязывающей активностью, так как имеет **пять** центров активации комплемента в CH2 доменах. Синтезируется в основном при первичном иммунном ответе и преимущественно содержится

во внутрисосудистом русле. Количество Ig M в сыворотке крови здоровых составляет **0,48 - 2,0** г/л., т.е. около 10% от общего количества Ig. Концентрация IgM в сыворотке крови у *пожилых* несколько снижается (подумайте почему?).

**Ig A** составляет 10 — 15% от всех иммуноглобулинов сыворотки крови. Не обладает способностью активировать комплемент. Большая часть сывороточных Ig A (80%) имеет мономерную структуру. Имеется два субкласса (IgA1, IgA2). Менее 20% Ig A в сыворотке представлено димерными молекулами. Концентрация **Ig A** в сыворотке крови взрослого **0,7 – 5,0** г/л. Ig A синтезируется плазматическими клетками, находящимися преимущественно в подслизистых тканях, на слизистой эпителиальной поверхности дыхательных путей, урогенитального и кишечного тракта, почти во всех экскреторных железах. Часть Ig A попадает в общую циркуляцию, но большая его часть секретируется местно на слизистых оболочках в виде **slgA** и служит местным защитным иммунологическим барьером слизистых. Сывороточный IgA и slgA это различные иммуноглобулины! SlgA нет в сыворотке крови.



☞ **В секретах слизистых и желез** (молозиво, женское молоко, слюна, секреты кишечника, бронхиального дерева и др.) содержится **секреторный Ig A (slg A)** в наибольших концентрациях. Он состоит из двух мономеров IgA, соединенных j-цепью и молекулы **секреторного компонента**. (См. рис. ниже). Последний предохраняет иммуноглобулин от разрушающего действия различных ферментов, секретов слизистых оболочек. Секреторный компонент синтезируется

в эпителиальных клетках слизистых. slg A играет особую роль в обеспечении **местной защиты** от инфекций бактериальной природы. Он препятствует внедрению бактерий в эпителиальные клетки слизистых путем **ингибции** прикрепления микробов к слизистым оболочкам, их роста, ферментативной активности, блокирования антигенных компонентов.

Дети рождаются без IgA и **получают его с молоком матери**. Достоверно показано, что дети, находящиеся на естественном вскармливании, значительно **реже** болеют кишечными инфекциями и заболеваниями дыхательных путей по сравнению с детьми, получающими искусственное

питание.

**Дефицит IgA** встречается у одного больного на 700 здоровых лиц. У лиц с иммунодефицитом IgA отмечается склонность к аутоиммунным заболеваниям инфекциям дыхательных путей, гайморовых и лобных пазух, кишечным расстройствам.

**Ig E** содержится в сыворотке в очень небольшом количестве. Ig E не активирует систему комплемента. Его особенность состоит в том, что он СПОСОБЕН ФИКСИРОВАТЬСЯ НА БАЗОФИЛАХ И ТУЧНЫХ КЛЕТКАХ, что объясняется наличием в большом количестве на указанных клетках рецепторов к Fc-фрагментам Ig E (см. рис. на стр. 6). При последующем соединении фиксированных на тучных клетках или базофилах Ig E с антигеном возникает дегрануляция этих клеток с высвобождением гистамина. Ig E называют **цитофильным** иммуноглобулином, или РЕАГИНОМ за способность фиксироваться на названных клетках. Он играет ведущую роль в патогенезе ал-лергических заболеваний (1 тип) и в противогельминтном иммунитете. Концентрация в сыворотке здоровых людей 0,000014 – 0,00045 г/л. Сравните с другими Ig.

**Ig D** обнаруживается в сыворотке в малых количествах (0,02 - 0,04 г/л) и его роль как сывороточного иммуноглобулина не совсем ясна. Как рецепторный, Ig D находится на В-лимфоцитах, причем он появляется на мембране относительно зрелых клеток, поэтому его наличие является свидетельством зрелости В-лимфоцитов.

Имуноглобулины различных классов и подклассов называют ИЗОТИПАМИ. Всего известно 9 изотипов (G1,G2,G3,G4, A1,A2, M, E, D), отличающихся друг от друга по строению тяжелых цепей.

При сравнении антител, относящихся к одному изотипу, но образовавшихся в ответ на различные антигены, также выявляются различия. Эти различия касаются активных центров антител, сформированных VH и VL доменами, то есть строение переменных доменов у иммуноглобулинов одного и того же изотипа различное, и характерно только для данной молекулы. Особенности иммуноглобулинов по переменным доменам называют ИДИОТИПОМ.

АЛЛОТИПЫ — это антигенные детерминанты, по которым молекулы иммуноглобулинов одних индивидуумов отличаются от молекул антител других индивидуумов данного вида.

Как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ имеют определенную динамику и при повторном попадании антигена развиваются значительно быстрее и имеют качественные особенности.

В ПЕРВИЧНОМ ИММУННОМ ОТВЕТЕ гуморального типа выделяют несколько этапов. ПЕРВЫЙ ЭТАП — латентная фаза, длится до 4 суток с момента внедрения антигена. (В этот период происходит фагоцитоз антигена, его переработка и представление Т- и В- лимфоцитам, кооперативные взаимодействия клеток участвующих в иммунном ответе).

ВТОРОЙ ЭТАП (лог-фаза) - синтез антител и логарифмическое удвоение их титра. На этом этапе образовавшиеся плазматические клетки осуществляют синтез специфических антител, причем их титр удваивается каждые 2-4 ч. по мере включения клеток клона в иммунный ответ. К 10 - 12 суткам титр антител достигает максимума. 3 ЭТАП стабилизация синтеза антител. Этот период характеризуется динамическим равновесием между продукцией иммуноглобулинов и их элиминацией в составе иммунных комплексов. При элиминации антигена наступает 4 ЭТАП — снижение титра антител.

При первичном иммунном ответе в основном синтезируются антитела, относящиеся к **Ig M**. Лишь в конце первичного иммунного ответа происходит синтез антител класса Ig G.

При ВТОРИЧНОМ ИММУННОМ ОТВЕТЕ, при повторном контакте с антигеном, первыми в иммунный ответ вступают клетки памяти. При вторичном иммунном ответе латентный период и период логарифмического увеличения титра антител сокращаются примерно вдвое. В основном синтезируются **Ig G**, максимальный уровень которых превышает максимальный уровень антител при первичном иммунном ответе.

**4 Моноклональные антитела (МАТ).** Моноклональные антитела разработаны на основе гибридной технологии. Такие антитела моноспецифичны и направлены к одному эпитопу (антигенной детерминанте) антигена. Получение МАТ буквально революционизировало современную иммунологию и медицину.

Принцип гибридной технологии. Первоначально проводят иммунизацию мышей антигеном. Из селезенки иммунизированных животных получают В-лимфоциты. Затем проводят слияние этих антителообразующих В-клеток, которые долго не живут на искусственных средах, с клетками опухоли — плазмцитомы (миеломы), которые обладают способностью опухолевых клеток непрерывно делиться, «бессмертные» клетки, которые можно длительно культивировать вне организма.

**Слияние** этих клеток с помощью **полиэтиленгликоля**, приводит к появлению гибридных клеток - **гибридом**. Получившаяся гибридома приобретает способность к синтезу специфических антител (от иммунных В-лимфоцитов) и становится долгоживущей, непрерывно делящейся (как миеломные). Накопившийся клон клеток продуцирует моноклональные АТ направленные к **единственной антигенной детерминанте изучаемого антигена**. Масштабное культивирование и длительное рекультивирование гибридного клона клеток позволяет получать МАТ в больших количествах. (Подробнее см. учебник А.А.Ярилин, 1999, с. 335-339, а так же лекционный материал).

МАТ оказались исключительно удобным и широко применяемым в настоящее время диагностическим средством. С их помощью определяют маркеры клеточных популяций, гормоны, медиаторы, опухолевые маркеры и т.д. даже в очень низких концентрациях. МАТ широко применяются в ИФА.

Для лечения их используют реже, так как при введении человеку они вызывают выработку антител к иммуноглобулинам мыши и аллергические реакции.

Однако в последнее время получены **гетерогбридомы** (человеческая антителообразующая клетка + мышиная опухолевая В-клетка), которые образуют **антитела человека** против нужных антигенов. **Они не вызывают иммунного ответа при введении человеку!** Поэтому буквально в последние годы такие гуманизированные или их еще называют химерные МАТ стали широко применяться в терапевтической практике.

Например, фармпрепараты: **Infliximab** (chimeric anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody) - **Инфликсимаб (REMICADE® Ремикейд)** представляет моноклональные антитела, специфичные (то есть способные распознавать и практически необратимо связывать) к одному из ключевых пептидов, вовлеченных в развитие воспалительных процессов, - **фактору некроза опухоли** (tumor necrosis factor alpha - TNF-alpha).

**Мабтера - Mabthera (Rituxan, Rituximab** (ритуксимаб) "F.Hoffmann-La Roche Ltd.". - гуманизированные химерные человеческо-мышинные антитела против антигена CD20 В-лимфоцитов человека. Они состоят из варибельной области мышинных МАТ и константной области человеческого IgG. Rituxan применяется при лечении В-клеточных **неходжкинских лимфом** низкой степени дифференцировки, а также фолликулярных лимфом и хронического лимфолейкоза.

Антиген CD20 был выбран в качестве мишени для терапии антителами благодаря ряду присущих ему уникальных свойств: CD20-антиген постоянно экспрессируется на всех стадиях созревания В-лимфоцитов; CD20 не обнаруживается в свободном виде в сыворотке крови в клинически значимых концентрациях; молекула CD20 не поглощается внутрь клетки и не сбрасывается во внеклеточное пространство после связывания с МАТ.

Омализумаб, натализумаб, анакинра, бексар, трастузумаб – являются терапевтическими МАТ.

Две награды 2001 г. («Лидирующая компания» и «Лучшая стратегия разработки лекарственных средств») вручены компании «Genentech» за наибольший вклад в развитие производства противоопухолевых препаратов МАТ в американской биотехнологической промышленности.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ **Ig** в сыворотке крови по МАНЧИНИ (метод радиальной иммунодиффузии в агаре)

**ПРИНЦИП:** Антиген (сыворотка крови), внесенный в лунку агарового слоя, содержащего специфические антитела, диффундируя, образует кольцо преципитации. Диаметр колец увеличивается до тех пор, пока весь внесенный в лунку антиген не будет связан содержащимися в геле антителами. Величина преципитата отражает количество антител в геле, эквивалентное концентрации антигена, внесенного в лунку.

Диаметр кольца преципитата прямо пропорционален количеству внесенного в лунку антигена.

**ХОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ:** На стеклянную пластину (9x12см) помещают П-образную рамку, сверху покрывают второй стеклянной пластиной и скрепляют зажимами. Пространство между ними заливают смесью агара и моноспецифической сыворотки к иммуноглобулину G (или A, или M в зависимости от того, концентрация какого Ig определяется).

Для получения смеси 3%-й агар в веронал-мединаловом буферном растворе смешивают при температуре 55-56 С с равным объемом сыворотки против Ig G (или Ig M, или Ig A), взятого в таком разведении, чтобы конечная концентрация соответствовала разведению, указанному на ампуле.

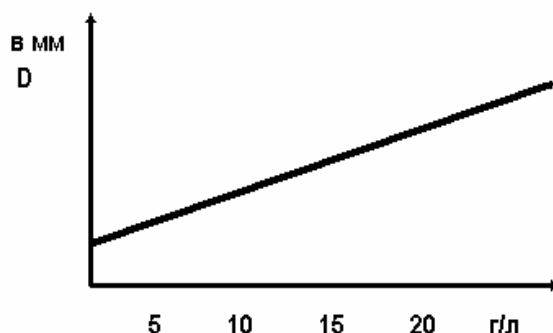
После застывания смеси верхнее стекло снимают. В слое агара пробойником вырезают лунки диаметром 2 мм на расстоянии 15 мм одна от другой.

В первый ряд лунок микропипеткой по 2 мкл вносят *контрольные образцы* стандартной сыворотки с известной концентрацией иммуноглобулинов в разведениях 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, а в остальные лунки — по 2 мкл исследуемой сыворотки. Пластины помещают во влажную камеру и инкубируют 1 сутки при 4°C (IgA и IgG), 2-е суток - IgM.

Через 24 часа пластины погружают в камеру с изотоническим раствором NaCl и отмывают от несвязавшихся белков в течение 2 суток. Затем пластины сушат фильтровальной бумагой и окрашивают амидо-черным. Учет результатов возможен и в неокрашенных пластинах на темном поле с косым освещением.

Определив диаметр (D) колец преципитации в стандартной сыворотке с известным уровнем Ig, строят кривую на полулогарифмической бумаге, где на оси ординат откладывают концентрацию иммуноглобулинов, а на оси абсцисс — диаметр колец. Такую кривую строят для каждой пластины. Далее, измерив диаметр колец (D), определяют по стандартной кривой концентрацию Ig в исследуемой сыворотке. ↓Пример стандартной кривой:

Результат:



Запишите, в какой лунке расположены, на предоставленной Вам пластине с поставленной реакцией Манчини, сыворотки с наибольшим содержанием иммуноглобулина....., а в какой лунке содержится сыворотка с наименьшим содержанием иммуноглобулина.....

Запомните:

**ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ** метода высока **в оценке первичных и вторичных иммунодефицитов**, проявляющихся блокированием синтеза или врожденным отсутствием отдельных классов Ig или их всех классов –агаммаглобулинемия – болезнь Брутона (пангипоиммуноглобулинемия).

**ВЫСОКОЕ СОДЕРЖАНИЕ** сывороточных иммуноглобулинов А, М, G наблюдается при СКВ, хроническом активном гепатите, ювенильном ревматоидном артрите. **ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ТОЛЬКО Ig A**, патогномонично для неспецифического язвенного колита, геморрагического нефрита.

Высокое значение Ig M характерно для ревматоидного артрита, особенно в начальном, трудном для диагностики, периоде заболевания, при обострении СКВ.

Определение Ig в других биологических жидкостях имеет большую диагностическую ценность. Появление Ig M **в моче** наблюдается только при волчаночной нефропатии и при амилоидозе. Уровень Ig G в желчи позволяет дифференцировать воспалительные заболевания желчевыводящих путей. Большую роль в диагностике заболеваний женской половой сферы, изучение причин бесплодия играет характеристика Ig в шейном секрете.

**В-лимфоциты** – это те клетки, которые обеспечивают выработку антител и являются основным клеточным субстратом гуморального иммунного ответа.

В процессе дифференцировки В-лимфоцитов выделяют 2 основных ЭТАПА:

1. **АНТИГЕННЕЗАВИСИМЫЙ** и
2. **АНТИГЕНЗАВИСИМЫЙ**.

АНТИГЕННЕЗАВИСИМАЯ дифференцировка В-клеток происходит в костном мозге без участия антигена, причем происходит постоянно по следующей схеме:

- ↓ Стволовая кроветворная клетка (гемопоэтическая стволовая клетка, англ. HSC)
- ↓ Общий предшественник Т- и В-лимфоцитов
- ↓ Про В-клетка
- ↓ Предшественник В лимфоцитов (Пре-В-клетка)
- ↓ Незрелые В-лимфоциты

В-лимфоциты (зрелые) - прямые предшественники антителообразующих клеток.

Принципиальной основой В-лимфопоэза является образование зрелых лимфоцитов, несущих на поверхностной мембране молекулы Ig M (мембранная форма IgM – sIgM), выполняющих функции рецепторов специфичных к одному определенному антигену. Кроме того, появляются другие мембранные структуры, значимые для функционирования лимфоцита. Важным является процесс формирования различных индивидуальных для каждой В-клетки антигенраспознающих рецепторов. Это достигается реаранжировкой генов кодирующих переменные домены тяжелых (μ) и легких цепей. Перестройка фрагментов генов (V, D, J) обеспечивает большое разнообразие и индивидуальность образующихся антигенраспознающих рецепторов.

В-лимфоциты в костном мозге проходят обязательный этап – селекцию, заключающуюся в запрограммированной гибели (*апоптозе*) аутореактивных клонов лимфоцитов, что называется *делецией клона* (clonal deletion). Этот механизм обеспечивает толерантность к собственным (аутологичным) антигенам организма.

Второй этап. В-лимфоциты, встретив и распознав антиген своим иммуноглобулиновым рецептором, размножаются, образуя клон идентичных клеток, и дифференцируются в плазматические клетки – продуценты антител.

Таким образом, вторым этапом развития В-лимфоцитов является их иммуногенез – **АНТИГЕНЗАВИСИМАЯ** дифференцировка, которая происходит в периферических органах иммунной системы. В отличие от антигеннезависимой дифференцировки не все клоны В-лимфоцитов претерпевают антигензависимую дифференцировку. Этот этап развивается лишь в том случае, если клон В-лимфоцитов **реагирует** на внедрившийся в организм **АНТИГЕН**. При этом с антигеном будут взаимодействовать только те клоны В-лимфоцитов, антигенраспознающие рецепторы которых специфичны к его антигенным детерминантам. **Плазматические клетки** - конечная стадия полностью дифференцировавшихся В-лимфоцитов и продуцирующих антитела к определенному антигену. Каждый В-лимфоцит способен синтезировать только единственный вид антител к определенной антигенной детерминанте (эпитопу).

Антигензависимая дифференцировка зависит не только от распознавания антигена клоном В-лимфоцитов. В этом процессе **участвуют антигенпрезентирующие клетки и Т-лимфоциты**, если антиген Т-зависимый.

**В-лимфоциты** на своей поверхности содержат важные идентификационные и функциональные маркеры. Они называются дифференцировочные антигены или кластеры дифференцировки – **CD**. С их помощью можно достоверно охарактеризовать лимфоциты зрелые или нет, а так же их функциональную активность и это имеет высокое диагностическое значение, особенно при лимфопролиферативных заболеваниях и оценке состояния гуморального иммунитета.

**CD19** – важная роль в активации В-клеток. Маркерная молекула, так как экспрессирована на всех клетках В-ряда и отсутствует на лимфоидных клетках других типов. Плазматические клетки утрачивают её.

**CD20 (B1), CD72** – так же маркерные молекулы клеток В-ряда.

**CD45 (B220), CD43** – одновременное наличие этих CD-антигенов характерно для про-В-лимфоцитов, самых ранних клеток В-лимфопоэза.

**CD45 (B220), CD19** – фенотип пре-В-клеток.

**CD45, CD19, CD40** – фенотип характерный покоящимся В-клеткам.

**CD45, CD19, CD40, CD80, CD86** – фенотип характеризующий активированные В-клетки. CD80, CD86 являются важными костимулирующими молекулами в межклеточных взаимодействиях.

В-лимфоциты памяти имеют молекулы **CD86, CD20, CD39**.

Большая часть В-лимфоцитов имеет на поверхности антигены HLA класса II. На зрелых В-лимфоцитах экспрессируются IgM и IgD, а так же рецепторы для активированного третьего компонента комплемента (CD21/CR2, CD35/CR1), Fc рецепторы для IgG (CD32).

Запомните, важными дифференцировочными CD маркерами В-лимфоцитов периферической крови являются – **CD 19, CD 20, CD 72**.

### **Методы исследования, используемые для оценки состояния гуморального иммунитета (В-системы иммунитета)**

К тестам 1-го уровня оценки В-системы иммунитета, позволяющим выявить грубые поломки в иммунной системе (с помощью которых диагностируются наиболее частые нарушения в данном компоненте иммунной системы), относятся:

- Определение содержания иммуноглобулинов основных классов (А, М, G) в сыворотке крови. Наиболее распространенный метод радиальной иммунодиффузии в агаре или с помощью нефелометрии;
- Определение содержания IgE в сыворотке крови. Используется ИФА. Причем можно определять суммарное количество IgE в сыворотке крови и уровень аллерген-специфического IgE;
- Определение процентного и абсолютного количества В-лимфоцитов (CD19, CD20, CD72) в периферической крови (**10 – 23%; 150-600 в 1 мкл**).

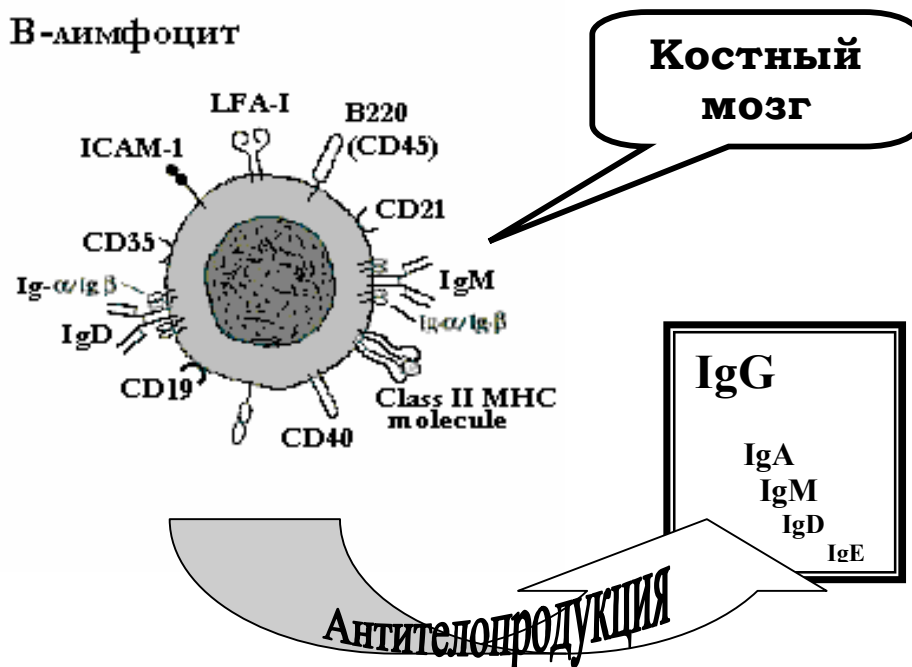
Все остальные тесты оценки состояния гуморального иммунитета относятся к развернутым тестам 2-го уровня. Наиболее важные из них:

- Определение субклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) в сыворотке крови;
- Определение концентрации sIgA в секретах слизистых. Именно этот иммуноглобулин обеспечивает местную защиту слизистых;



- Определение содержания антител к бактериальным белковым и полисахаридным антигенам в сыворотке крови. Ведь именно конкретные антитела к конкретному возбудителю обеспечивают защиту организма, а не общий уровень антител (иммуноглобулинов);
- Определение способности лимфоцитов давать пролиферативный ответ на митогены (липополисахариды, митоген лаконоса). Позволяет оценить важную патогенетическую способность В-лимфоцитов – пролиферировать при контакте с митогенами, антигенами;
- Определение поверхностных маркеров В-лимфоцитов (рецепторов интерлейкина-2, трансферрина, DR-антигенов HLA и других);
- Определение циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови.
- Другие тесты, позволяющие количественно оценить способность В-лимфоцитов синтезировать иммуноглобулины, функциональные способности В-клеток, полноценность иммуноглобулинов.

Выявлено, что при нормальном уровне иммуноглобулинов в сыворотке крови и даже при высоком титре антител к определенному возбудителю, у человека могут быть хронические, рецидивирующие заболевания, вызванные этим возбудителем. Связано это, в ряде случаев, с **низким аффинитетом антител** или **низким гликозилированием молекул IgG**. (Низкий аффинитет приводит к неэффективному связыванию антитела с антигеном и, как следствие, низкая элиминация антигена. Молекула IgG является гликопротеином и степень гликозирования важна при взаимодействии Ig с Fc-рецепторами фагоцитов. Не полностью гликозилированные молекулы IgG неэффективно вступают во взаимодействие с фагоцитами, с их Fc-рецепторами.)



- Знаете ли Вы, что есть одновалентные антитела? Что это такое? Как их выявить?
- Знаете ли Вы, что такое микроглобулины?
- Знаете ли Вы, что такое мабтера?
- Знаете ли Вы, что такое омализумаб?

Это вопросы для сильных студентов, знающих врачей.

**Помните.** Справочные и теоретические материалы пригодятся Вам на клинической иммунологии, которую Вы будете изучать на 6 курсе, а так же в лечебной работе.

## УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ЗАНЯТИЯ

### Мотивация

Важно знать строение и функцию основных классов иммуноглобулинов и их роль в иммунологических реакциях. Это связано с тем, что физико-химические свойства и структура иммуноглобулинов обуславливают их биологические особенности. Иммуноглобулины обеспечивают гуморальный иммунный ответ, но, кроме того, фиксированные на поверхности мембран макрофагов и лимфоцитов, они функционируют в качестве антигенных рецепторов, т.е. участвуют и в клеточном иммунном ответе. Врач должен знать основные методы оценки гуморального иммунитета.

### Цель.

#### 1. Студент должен знать:

- А. Гуморальный иммунитет и роль его в иммунологических реакциях.
- Б. Основные этапы дифференцировки В-лимфоцитов, а также рецепторы и антигены на их поверхности.
- В. Структуру и характеристику различных классов иммуноглобулинов.
- Г. Роль иммуноглобулинов в иммунологических реакциях.
- Д. Методы оценки В-системы иммунитета.

#### 2. Студент должен уметь:

Применить полученные знания для оценки гуморального иммунитета.

### Для усвоения темы необходимо вспомнить, повторить:

- 1. По биохимии – структуру иммуноглобулинов.
- 2. По гистологии – развитие лимфоцитов.
- 3. По микробиологии – роль антител в противои инфекционном иммунитете.  
– Вопросы для самоподготовки по теме занятия:

- 1. Дайте понятие гуморального иммунитета.
- 2. Какова его роль в иммунологических реакциях?
- 3. Каковы основные этапы дифференцировки В-лимфоцитов?
- 4. Как взаимодействуют В-лимфоциты с тимусзависимыми и тимуснезависимыми антигенами?
- 5. Какие рецепторы имеются на поверхности В-лимфоцитов?
- 6. Дайте характеристику различных классов Ig. Какова их структура?
- 7. Строение и функции Fab и Fc-фрагментов.
- 8. Роль основных классов Ig в иммунологических реакциях.
- 9. Какие есть методы исследования В-системы иммунитета? (Реакция Манчини).

### – ЛИТЕРАТУРА ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

- 1. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология. Учебник. – 3-е изд., М., Медицина, 2010. – 752 с. – [с. 169 - 214].
- 2. Хаитов Р.М. Иммунология: учебник для студентов медицинских ВУЗов. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2006. – 320с. – [с. 67 – 83].
- 3. Новиков Д.К. и соавт. Медицинская иммунология. Витебск, 1998, 1999 г.
- 4. Методическая рекомендация.
- 5. Ройт А. Иммунология. М., Мир, 2000, с.97-107.
- 6. А.Я.Курильников Мабтера – первые моноклональные антитела в терапии неходжкинских лимфом. Современная онкология 2002:Т4; N 1.

### СМОЖЕТЕ ЛИ ВЫ ОТВЕТИТЬ?



(Впишите дома. Это позволит судить об уровне Вашей подготовки. На занятии Вы проверите правильность ответов, дополните или исправите их). Ответы 1 – 21 вписать!


- 1. Расположите классы иммуноглобулинов в порядке убывания их концентрации в крови  
Ig\_\_\_\_, Ig\_\_\_\_, Ig\_\_\_\_, Ig\_\_\_\_, Ig\_\_\_\_.
- 2. На каких клетках содержатся рецепторы к Fc-фрагменту Ig E? .....
- 3. Концентрация какого класса иммуноглобулина в сыворотке крови наименьшая? Ig .....
- 4. Повышение концентрации какого иммуноглобулина происходит при ряде аллергических реакций немедленного типа? Ig .....
- 5. Какой иммуноглобулин имеет наибольшую молекулярную массу? Ig .....
- 6. Какой Ig имеет десять антигенсвязывающих центров? .....
- 7. Какими доменами формируются активные центры антител? .....

8. Что такое секреторный иммуноглобулин А? .....
- Где он содержится в организме человека в наибольших концентрациях? .....
9. Что такое Fab ? .....
10. Что такое Fc ? .....
11. Укажите, что расположено в CH2 домене IgG .....
12. Сколько всего доменов в молекуле IgG? .....
13. Сколько всего доменов в молекуле IgM ? .....
14. Сколько переменных доменов в молекуле IgM ? .....
15. Наличие какого иммуноглобулина в сыворотке крови новорожденного свидетельствует о внутриутробном инфицировании плода? ..... Почему?
16. Какие клетки продуцируют антитела (являются продуцентами антител)? .....
17. Концентрация какого класса Ig в крови наибольшая? .....
18. Чем важно естественное вскармливание молоком матери грудного ребенка? .....
19. Что такое моноклональные антитела, как их получают ? .....
20. Где можно применить МАТ к IgE? .....
21. Вспомните, что такое ИФА? Принцип постановки. ....
- .....
- .....
- Для чего применяется ИФА? .....
- .....

☞ Методическая рекомендация не заменяет учебник и лекции, но значительно облегчает подготовку к занятию.

Как называется этот фрагмент? .....

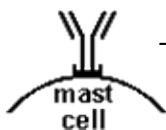
Укажите где находится активный центр антитела?  
Сколько их в Ig G? .....



Сколько легких и тяжелых цепей в молекуле Ig G ?  
L - .... H - ....

**Впишите!**

Как называется этот фрагмент? .....



- Какой это иммуноглобулин? .....