

**ГБОУ ВПО Тверская ГМА
кафедра микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии**

Р.В. Майоров, Е.В. Нусинов

Методы оценки иммунного статуса.

рекомендации для студентов.



г. Тверь
2012

УДК 616-021.3
ББК 52.54

Под редакцией *Е.В. Нусинова* – к.м.н., доцента, заведующего курсом иммунологии.

Рецензенты:

В.К. Макаров – профессор, д.м.н. зав. кафедрой инфекционных болезней ТГМА, врач иммунолог высшей категории, главный иммунолог г. Тверь

Методическое пособие одобрено на заседании ЦКМС ТГМА от _____, протокол № _____

Майоров Р.В., Нусинов Е.В.

В рекомендациях с современных позиций рассматривается информация по основным методам оценки иммунного статуса. Рассмотрены иммунодиагностические методы 1 и 2 уровней. Описаны показания к назначению, подходы к интерпретации иммунодиагностических методов.

Издание предназначено для студентов лечебного и педиатрического факультетов ТГМА, ординаторов, а также врачей терапевтов, педиатров, аллергологов-иммунологов.

Авторы: Роман Владимирович Майоров – канд. мед. наук, доцент кафедры иммунологии, врач аллерголог-иммунолог.

Евгений Владимирович Нусинов – канд. мед. наук, доцент кафедры иммунологии, заведующий курсом иммунологии ТГМА, врач аллерголог-иммунолог.

УДК 616-021.3
ББК 52.54

Цель: дать основные представления о современных методах оценки иммунного статуса. Указать основные отличия и охарактеризовать иммунодиагностические методы 1-го и 2-го уровней.

После усвоения материала студент должен знать:

1. Что такое иммунный статус.
2. Что такое иммунная диагностика.
3. Основные показания, характеристики и отличия тестов 1-го и 2-го уровней.
4. Биологические материалы, используемые для иммунодиагностики.
5. Патогенетический принцип оценки функций иммунной системы.
6. Определение термина иммунорегуляторный индекс.
7. Современные методы иммуноанализа.
8. Клиническое значение изменения содержания в крови основных субпопуляций лимфоцитов.
9. Современные подходы к определению функции фагоцитоза
10. Клиническое значение изменения содержания в крови компонентов комплемента.

Вопросы для самоконтроля

1. Что такое иммунный статус?
2. Сформулируйте основные подходы к оценке иммунной системы человека.
3. В чем состоит двухэтапный принцип оценки иммунного статуса? Перечислите тесты уровней 1 и 2.
4. Какие биологические материалы используются для оценки состояния иммунной системы человека?
5. Перечислите основные методы оценки процессов распознавания, активации пролиферации, дифференцировки, регуляции иммунного ответа. Обоснуйте патогенетический подход.
6. В чем состоит патогенетический принцип оценки иммунной системы?
7. В чем состоит этиологический принцип оценки иммунной системы?

Основной теоретический материал.



Можно выделить 2 разновидности лабораторной деятельности, имеющей отношение к иммунологии:

1. использование иммунологических методов для оценки неиммунологических показателей;
2. определение иммунологических показателей для характеристики состояния иммунной системы (иммунного статуса).

Пример деятельности первого рода - широкое использование методов иммунохимического анализа для определения гормонов и других физиологически значимых молекул в сыворотке крови и других биологических субстратах. В последние десятилетия с этой целью используют практически исключительно количественные методы иммунолигандного анализа: в недалеком прошлом радиоиммунологического, и настоящее время иммуноферментного. С той же целью используют иммуноблоттинг. Преимущества иммунологических методов состоят в специфичности, высокой чувствительности, относительной простоте и дешевизне. Это направление лабораторной диагностики имеет отношение к использованию иммунологических методов, но только иногда — к решению иммунологических (т.е. собственно иммунодиагностических) задач — при определении антител, цитокинов и других молекул, непосредственно участвующих в иммунологических процессах (*подробнее о современных методах иммуноанализа смотри материалы к занятию №4*)

Одна из первоочередных задач современной иммунологии – это оценка функционирования иммунной системы в норме и при заболеваниях человека. Сложность этой проблемы обусловлена достаточно сложной, многокомпонентной организацией иммунной системы, разнообразием её структур на клеточном и молекулярном уровне, зависимостью от регуляторных сигналов со стороны нервной, эндокринной, кровеносной и многих других систем организма. Тем не менее, необходимость оценивать иммунную систему — современная реальность.

К сожалению, в настоящее время не придумали единого теста для оценки иммунной системы в целом.

Современный взгляд на оценку иммунной системы начал формироваться с начала 70-х годов XX века, когда стало ясным, что в этой системе существуют клеточное и гуморальное звенья. Основы такого представления об иммунной системе человека были заложены в учении о первичных иммунодефицитах.

Первичные иммунодефициты – это генетически обусловленные заболевания, связанные с тем, что у больного не вырабатываются те или иные компоненты иммунной системы. Оценивая изменения в лабораторных анализах и сравнивая их с клинической картиной заболевания, делали заключение о функции нарушенных звеньев иммунной системы.

В дальнейшем стали появляться тесты для оценки как количественных, так и качественных характеристик параметров иммунной системы на клеточном, молекулярном и позже на геномном уровне.

На сегодняшний день в иммунологии огромное значение придают лабораторным исследованиям, и в первую очередь оценке такого состояния, как иммунный статус.

Иммунный статус - комплекс количественных и функциональных показателей, отражающих конкретное состояние иммунной системы, определяемое с помощью стандартных общепринятых тестов.

Кроме того, выделяют понятие «иммунодиагностика».

Иммунодиагностика - проведение лабораторного и клинического исследований, которые помогают выявить конкретные нарушения в иммунной системе, позволяющие:

- 1) выявить нарушенное звено в стройной системе функционирования иммунной системы;
- 2) провести анализ этиологии, патогенеза, прогноза заболевания;
- 3) выбрать средство иммунокоррекции;
- 4) провести оценку эффективности проводимой иммунокорректирующей терапии.

В настоящее время выделяют иммунодиагностические методы 1-го и 2-го уровня. Их основные отличительные характеристики представлены в таблице 1.

Таблица 1 Отличительные особенности иммунодиагностических тестов 1 и 2 уровня.

Тесты 1-го уровня	Тесты 2-го уровня
Ориентировочные	Аналитические
Методики доступны	Методики трудоемкие
Получение результата в течении нескольких суток	Получение результата в течении суток, недель.
Информативны	Высокая информативность
Возможно проведение в гематологических и биохимических лабораториях	Возможно проведение только в специализированных лабораториях

Суть двухуровневого принципа сводится к следующему. На первом этапе выявляют более общие («грубые») дефекты клеточного и гуморального звена адаптивного (суб-

популяции лимфоцитов, изотипы иммуноглобулинов и др.) и врожденного иммунитета (активность фагоцитов и компонентов комплемента). Для этого используют простые, но довольно точные (так называемые ориентирующие) тесты.

Иммунодиагностические методы 1-го уровня



Иммунодиагностические методы 1-го уровня включают в себя определение:

- 1) относительного и абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови (общепринятый анализ крови клинический);
- 2) относительного и абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, НК-клеток с использованием моноклональных антител против CD3-, CD 19- (или CD 20-, CD 72)- и CD16- CD56- маркеров соответственно;
- 3) субпопуляций Т-лимфоцитов: Т-хелперов (CD3,CD4) и Т-киллеров (CD3,CD8) и их соотношения (CD4/CD8);
- 4) концентрации сывороточных иммуноглобулинов основных классов (IgM, IgG, IgA);
- 5) фагоцитарной активности лейкоцитов, выработки активных форм кислорода;
- 6) активности комплемента;
- 7) возможен анализ других показателей (например, цитокинов).

Минимальный набор тестов должны выполнять все лаборатории и центры клинической иммунологии, входящие в систему иммунологической службы РФ.

Ниже дана общая характеристика изменений в иммунодиагностических методах 1 уровня.

Изменение количества лейкоцитов.

Повышение числа лейкоцитов может происходить при остром инфекционном процессе, воспалении, при лейкозах.

Снижение числа лейкоцитов является лабораторным критерием иммунодефицитного состояния, чаще всего транзиторного (временного), возникшего в результате перенесенной острой инфекции, терапии антибиотиками, интерферонами.

Напомним, что в норме абсолютное число лейкоцитов в крови у взрослого человека составляет:

$$4.0-9.0 \times 10^3 \text{ в } 1 \text{ мл}$$

Изменение количества лимфоцитов

У взрослого человека, в норме относительное число лимфоцитов: **19-37%**, абсолютное число лимфоцитов **$1.2-2.5 \times 10^3$ в 1 мл.**

Лимфопения относительная или абсолютная – это снижение относительного или абсолютного числа лимфоцитов. Так как лимфоциты являются частью лейкоцитов, то относительная лимфопения иногда компенсируется за счет увеличения общего числа лейкоцитов, а абсолютная лимфопения может быть следствием лейкопении. При нормальном количестве лейкоцитов относительная лимфопения соответствует абсолютной.

Причины стойкой лимфопении:

- ✓ - хронические инфекционные, преимущественно вирусные, заболевания (в том числе ВИЧ-инфекция);
- ✓ - состояние после химиотерапии или рентгеновского облучения;
- ✓ - состояние после длительного лечения антибиотиками;

- ✓ - при аплазии костного мозга;
- ✓ - состояние хронического стресса;
- ✓ - наркомания и/или алкоголизм.

Лимфопения является одной из характерных черт иммунодефицитного состояния. Лимфоцитоз относительный или абсолютный - повышение относительного или абсолютного числа лимфоцитов.

При нормальном количестве лейкоцитов относительный лимфоцитов соответствует абсолютному.

Причины лимфоцитоза:

- ✓ хронический инфекционный процесс, вызванный бактериями или простейшими;
- ✓ аутоиммунные и аллергические заболевания;
- ✓ лимфопролиферативные заболевания.

Изменение количества Т-лимфоцитов (CD3-)

У взрослого человека в норме относительное число Т-лимфоцитов: **55-80%**, абсолютное число лимфоцитов **950-1800 в 1 мл.**

Относительное число Т-клеток может быть как сниженным, так и повышенным. Повышение относительного числа Т-клеток чаще отмечается при резко поляризованном Тх1 типе иммунного ответа на вирусный антиген.

Снижение относительного числа Т-клеток бывает как при иммунодефицитном состоянии, так и при резком увеличении доли В-лимфоцитов при Тх2 типе ответа.

(Вспомните, когда развиваются Тх1 и Тх2 типы иммунного ответа. Ответ на этот вопрос вы сможете найти в методическом пособии, посвященном клеточному иммунному ответу и регуляции иммунного ответа.)

Увеличение абсолютного числа Т-клеток может быть связано с лимфоцитозом (при нормальном относительном числе Т-лимфоцитов), а также с увеличением относительного числа Т-лимфоцитов при резко поляризованном Тх I ответе. Снижение абсолютного числа Т-клеток может быть вызвано лимфопенией, кроме этого, может быть при наличии Т-клеточного иммунодефицита.

Изменение количества Т-лимфоцитов хелперов (CD4--)

У взрослого человека в норме относительное число Т-лимфоцитов: **31-51%**, абсолютное число лимфоцитов **570-1100 в 1 мл.**

Увеличение относительного числа Т-хелперов может отмечаться при Тх2 типе иммунного ответа. Из патологических состояний подобные нарушения наблюдаются при обострении аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Снижение относительного числа Т-хелперов может быть одной из черт Т-клеточного иммунодефицита, в том числе и при ВИЧ-инфекции.

Увеличение числа Т-хелперов абсолютное может быть обусловлено:

- ✓ лимфоцитозом и большим из-за этого числом клеток в популяции Т- лимфоцитов;
- ✓ увеличением числа Т-хелперов при Тх2 типе иммунного ответа;
- ✓ при аллергическом или, реже, аутоиммунном заболевании.

Снижение абсолютного числа Т-хелперов сопровождается Т-клеточные иммунодефициты. Например, определенное, сниженное абсолютное количество Т-хелперов характеризует каждую из стадий ВИЧ-инфекции.

Изменение количества Т-лимфоцитов киллеров (CD8--)

У взрослого человека в норме относительное число Т-лимфоцитов: **19- 37 %**, абсолютное число лимфоцитов **450-850 в 1 мл.**

Повышение относительного числа Т-киллеров может происходить при инфекции, в момент, когда идет увеличение специфических цитотоксических клеток. Аналогичные изменения наблюдаются при опухолевом росте, в поствакцинальном периоде, при аллотрансплантации.

Снижение относительного числа Т-киллеров может иметь место при аутоиммунных и аллергических заболеваниях. Учитывая, что при инфекционной и опухолевой патологии может наблюдаться миграция CD8-лимфоцитов в патологический очаг, в периферической крови может наблюдаться снижение относительного числа Т-киллеров.

Повышение абсолютного числа Т-киллеров может быть связано с лимфоцитозом и увеличением абсолютного числа Т-клеток. Повышение абсолютного числа Т-киллеров может быть связано с увеличением абсолютного числа антиген - специфических цитотоксических клеток - в ходе иммунного ответа на инфекционный, вакцинальный, опухолевый, трансплантационный антигены.

Снижение абсолютного числа Т-киллеров выявляется при аутоиммунных и аллергических заболеваниях, а также при инфекционных и опухолевых заболеваниях (миграция цитотоксических -лимфоцитов в патологический очаг).

Изменение соотношения CD4/ CD8

В норме иммунорегуляторный индекс (**соотношение CD4/ CD8**) = **1-2.0**

Увеличение соотношения CD4/ CD8 может происходить за счет:

- 1) увеличения Т-хелперов (при нормальном количестве Т-киллеров),
- 2) снижения CD8 лимфоцитов;
- 3) увеличения CD4 и снижения CD8 лимфоцитов.

В первом случае это может быть следствием поляризованного Тх2 иммунного ответа на алло- или аутоантиген. Во втором случае - отражать миграцию Т-киллеров в патологический очаг при инфекционной патологии, аутоиммунных и аллергических заболеваниях.

Увеличение соотношения CD4/ CD8 за счет увеличения CD4 и снижения CD8 лимфоцитов обычно выявляется при смешанном Тх1/Тх2 ответе на алло- или аутоантиген.

Снижение соотношения CD4/ CD8 может происходить за счет:

- 1) увеличения Т-киллеров (при нормальном количестве Т-хелперов)
- 2) снижения CD4 лимфоцитов
- 3) увеличения CD8 и снижения CD4 лимфоцитов.

В первом случае это может быть следствием поляризованного Th1 ответа при вирусной инфекции в тот период, когда нарастает число антигенспецифических цитотоксических Т-клеток.

Снижение CD4 лимфоцитов может происходить по многим причинам, в частности, за счет усиленного апоптоза Т-хелперов. Эти эффекты наблюдаются при ВИЧ-инфекции. Существует представление, что прогрессивное снижение коэффициента CD4/ CD8 коррелирует с прогрессией ВИЧ-инфекции, достигая в терминальной стадии 0,1.

Изменение количества В-лимфоцитов киллеров (CD19--, CD20-, CD72-)

У взрослого человека в норме относительное число В-лимфоцитов: **5-19 %**, абсолютное число лимфоцитов **100-500 в 1 мл**.

Увеличение относительного числа В-лимфоцитов может происходить:

- при Th2 иммунном ответе, который характерен для инфекций, вызванных бактериями, простейшими, грибами;
- при аутоиммунных и аллергических заболеваниях, протекающих по Th2 типу.

Увеличение относительного числа В-лимфоцитов необходимо соотносить с наличием или отсутствием плазматических клеток в клиническом анализе крови и уровнем иммуноглобулинов А,М,Г. Увеличение В-лимфоцитов, появление значительного числа «нулевых» клеток при изучении субпопуляций с использованием стандартного набора моноклональных антител требует исключения гематологического заболевания.

Уменьшение относительного числа В-лимфоцитов может отмечаться в случае:

- первичного В-клеточного иммунодефицита, в частности, болезни Брутона,
- накопления В-лимфоцитов в органе мишени.

Увеличение абсолютного числа В-лимфоцитов может быть следствием абсолютно лимфоцитоза, отражать Th2 ответ на антигены.

Уменьшение абсолютного числа В-лимфоцитов может быть результатом лимфопении, наблюдаться в случае активного антителообразования и при первичном В-клеточном иммунодефиците, в частности, болезни Брутона, а также в случае накопления В-лимфоцитов в органе мишени.

Изменение количества НК клеток (CD16- CD56-)

В норме относительное число В-лимфоцитов: **6-20 %**, абсолютное число лимфоцитов **150-500 в 1 мл**.

Увеличение относительного числа естественных киллеров может вывлекаться при вирусных и бактериальных инфекциях, при опухолевом процессе, т.е. во всех случаях массивного поступления антигена, когда, кроме антиген-специфических механизмов элиминации патогена, задействованы антиген-неспецифические. Повышение относительного числа естественных киллеров может также наблюдаться и при аллергических и аутоиммунных заболеваниях.

Снижение относительного числа естественных киллеров выявляется при длительно текущей хронической инфекции, при злокачественном росте, в ряде случаев отмечается при аллергических и аутоиммунных заболеваниях (при миграции НК-клеток в патологический очаг).

Увеличение абсолютного числа НК-клеток может быть следствием абсолютного лимфоцитоза. Остальные причины увеличения абсолютного числа НК-клеток идентичны тем, которые вызывают увеличение относительного числа клеток данной субпопуляции.

Уменьшение абсолютного числа НК-клеток может быть результатом лимфопении, выявляться при длительно текущей инфекции, злокачественном росте, миграции клеток в патологический очаг, в том числе при аллергических и аутоиммунных заболеваниях.

Изменение содержания компонентов комплемента

Содержание компонентов комплемента в сыворотке

Clq	100-250 мкг/мл
С3	700-1800 мкг/мл
С3а	0,05-0,15 мкг/мл

C4	200-500 мкг/мл
C1 inh	150-350 мкг/мл

(вспомните функцию системы комплемента и её отдельных компонентов)

Снижение уровня компонента комплемента C1q наблюдается при болезнях иммунных комплексов, гнойных заболеваниях, включая менингиты, а также при некоторых опухолях.

Стабильное снижение уровня компонента комплемента C3 связывают с хроническими бактериальными и грибковыми инфекциями.

Повышение C3а связано с существованием источников активации комплемента, что, как правило, бывает при инфекционных заболеваниях, болезнях иммунных комплексов, сепсисе, обострении аллергических заболеваний.

Снижение уровня C4 может быть связано с продолжительной активацией комплемента циркулирующими или находящимися в тканях иммунными комплексами. Дефицит C4 встречается при аутоиммунных заболеваниях, например, системной красной волчанке. Увеличение уровня C4 часто наблюдается при болезнях почек, отторжении трансплантата, острых воспалительных процессах, при патологии ЖКТ.

Известны первичный и вторичный дефициты C1-ингибитора, при которых развивается характерный клинический синдром — ангионевротический отек. Определение уровня C1-ингибитора позволяет уточнить диагноз ангионевротического отека.

Изменение концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови.

Количественное содержание иммуноглобулинов служит основным показателем состояния гуморального иммунитета, и знание этого параметра необходимо для оценки функциональной полноценности иммунной системы и диагностики патологических нарушений её работы

IgM. Уменьшение концентрации данного иммуноглобулина отмечается при первичных иммунодефицитах. Повышение при остром воспалительном инфекционном процессе.

IgG. Снижение концентрации данного иммуноглобулина характерно для врожденных иммунодефицитов, а также может наблюдаться при длительно существующих воспалительных процессах (аутоиммунное заболевание). Повышение при инфекционных заболеваниях, чаще бактериальной природы.

IgA. Причины снижения те же, что и для IgG. Повышение, как правило, ассоциируется с острыми воспалительными заболеваниями, связанными с поражением слизистых оболочек, и т.д.;

IgE. Сверхвысокие количества (более 1000 МЕ/мл) этого иммуноглобулина обнаруживают при редком иммунодефиците - гипер-IgE-синдроме. Высокое содержание IgE может быть у больных аллергическими заболеваниями, паразитарными инфекциями.

Среднее содержание иммуноглобулинов в разных возрастных группах.

(справочная информация)

Возрастные группы	Количество иммуноглобулинов, МЕ/мл					
	IgG		IgA		IgM	
	среднее	границы	среднее	границы	среднее	границы

	значение	колебаний	значение	колебаний	значение	колебаний
До 1 года	60	33-109	36	14-80	84	47-154
От 1 года до 3 лет	95	62-143	68	33-143	99	55-180
От 3 до 7 лет	109	70-168	108	58-201	106	64-176
От 7 до 16 лет	111	72-172	160	80-319	103	63-172
От 20 до 35 лет	129	86-195	214	128-359	120	69-206
От 19 до 60 лет	150	95-235	110	55-250	160	60-405

Оценка фагоцитоза.

Фагоцитоз - комплекс клеточных реакций, направленных на распознавание, поглощение и элиминацию из организма корпускулярных частиц размером более 0,5 мкм.

Оценка каждой стадии фагоцитоза имеет определённое значение в идентификации поломок, возникающих в результате наследственных или приобретённых дефектов фагоцитарного процесса. Целесообразно исследовать все стадии фагоцитоза, а также цитокины, влияющие на функциональную активность фагоцитарных клеток.

Для оценки стадии хемотаксиса определяют экспрессию на поверхности фагоцитов рецепторов к основным хемокинам (IL8, некоторым компонентам комплемента).

Для определения адгезивных свойств фагоцитов проводят идентификацию молекул адгезии на их поверхности с помощью моноклональных антител. Чаще всего определяют следующие антигены: CD18, CD11a, CD11b, CD11c, CD62L, CD62E методом проточной цитометрии.

Нарушение адгезивных свойств фагоцитирующих клеток ведёт к их неспособности мигрировать в зону проникновения патогенного агента. Следствием таких нарушений является развитие тяжёлых гнойных рецидивирующих инфекций.

К традиционным методам оценки стадии поглощения относится подсчёт в окрашенных препаратах числа частиц, захваченных нейтрофилами и моноцитами (фагоцитарный индекс), и количества частиц, захваченных одной клеткой (фагоцитарное число). Анализ таких препаратов можно проводить с помощью светового и люминесцентного микроскопов. В качестве объекта фагоцитоза используют различные бактерии, дрожжевые грибы, простейшие или синтетические частицы.

Определение указанных показателей имеет значение при комплексной диагностике как первичных (т.е. врожденных, генетически обусловленных) дефектов фагоцитов, так и вторичных иммунодефицитных состояний. Указанные состояния могут проявляться часто рецидивирующими гнойно-воспалительными заболеваниями, длительно не заживающими ранами, склонностью к послеоперационным осложнениям, и т.д.

Одним из самых распространенных способов определения способности образования активных форм кислорода на стадии переваривания является постановка НСТ-теста.

(подробнее о постановке НСТ теста вы читали в методических рекомендациях, посвященных фагоцитозу)

Повышение интенсивности образования активных форм кислорода происходит при бактериальных инфекциях, что позволяет дифференцировать их от острых вирусных инфекций,

а также при некоторых аутоиммунных процессах (ревматоидный артрит, неспецифический язвенный колит - болезнь Крона), при аллергических заболеваниях. Интенсивность образования активных форм кислорода снижается при иммунодефицитах, обусловленных недостаточностью фагоцитарной системы.

Если выявлены отклонения показателей в тестах 1 уровня и полученная информация является недостаточной для диагностики и лечения, рекомендуется более тщательно анализировать иммунный статус с помощью тестов 2 уровня. Но чаще всего, тесты 2 уровня используются не в клинической работе, а при научных исследованиях. Комплекс тестов второго уровня может существенно варьировать в зависимости от поставленных врачом задач. Количество и качество их постоянно растут.

Иммунодиагностические методы 2-го уровня включают в себя определение:

1. относительное и абсолютное количество субпопуляций Т-лимфоцитов: Th1 типа, Th 2 типа, Th 3 типа;
2. фенотипические характеристики клеток иммунной системы на разных этапах иммуногенеза и иммунопоэза. Подобные исследования очень важны, например, для диагностики лейкозов и других онкологических заболеваний;
3. экспрессию активационных маркеров на поверхности иммунокомпетентных клеток. К таким маркерам относят: CD25, CD69, CD71, HLA-DR и др.;
4. оценку способности Т- и В-лимфоцитов давать пролиферативный ответ на различные стимуляторы (антигены);
5. показатели апоптоза лимфоцитов;
6. оценка концентрации цитокинов, вырабатываемых Th 1 и 2 типа (ИФН-гамма, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5);
7. активность киллерных лимфоцитов (Т-киллеров, НК-клеток и др.) с определением способности вырабатывать гранзимы и перфорин;
8. классы и подклассы иммуноглобулинов (IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgE);
9. наиболее типичные цитокины в сыворотке крови и различных биологических жидкостях;
10. различные этапы фагоцитоза и рецепторного аппарата фагоцитов;
11. другие показатели.

Для исследования иммунной системы используют различные биологические материалы:



1. цельная периферическая кровь (как правило, венозная) является наиболее частым материалом;
2. сыворотку крови - жидкую фракцию крови, освобожденную от фибриногена;
3. плазму крови жидкую фракцию крови, содержащую фибриноген и, следовательно, способную к образованию сгустков фибрина;
4. клеточные элементы крови;
5. спинномозговую жидкость;
6. синовиальную жидкость;
7. бронхоальвеолярную жидкость;
8. выделения слизистых секретов половых органов (из канала шейки матки, влагалища, семенная жидкость);
9. выделения из носа (смывы или адсорбция на пористые материалы);
10. мочу;

11. слезную жидкость, зубодесневую жидкость и пр.;
12. супернатант с культивируемых *in vitro* клеток;
13. гомогенаты тканей (биопсия или *post mortem*);
14. цитоплазматические и ядерные компоненты клеток.



ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРИНЦИП ОЦЕНКИ ФУНКЦИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

При анализе иммунограмм чаще всего прибегают к патогенетическому принципу их интерпретации.

Он основан на лабораторной оценке ключевых этапов иммунного ответа, позволяющей установить уровень патогенетического дефекта в иммунной системе.

С этой целью оценивают показатели, характеризующие различные стадии развития иммунного ответа, включая **распознавание, активацию, пролиферацию, дифференцировку, эффекторные механизмы, формирование иммунной памяти, регуляцию и апоптоз.**

Для оценки патогенетических механизмов иммунного процесса предложены разнообразные тесты, число которых постоянно растет.

Для оценки процессов распознавания предложены следующие тесты:

1. взаимодействие лимфоцитов с макрофагами *in vitro*;
2. определение экспрессии молекул МНС класса II (презентация антигена);
3. оценка образования цитокинов (ИФН-гамма, ИЛ-4 и др.) Т-клетками при распознавании специфического антигена;
4. выявление специфических CD4 и/или CD8 Т-лимфоцитов с использованием комплексов рекомбинантных молекул.

Для оценки активации лимфоцитов определяют:

1. экспрессию лимфоцитами и другими клетками иммунной системы маркеров активации: CD25, CD69, CD71, HLA-DR и др.;
2. внутриклеточные сигнальные молекулы лимфоцитов, в том числе внутриклеточную концентрацию ионов Са;
3. уровень провоспалительных цитокинов (ФНО-альфа, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и др.) в сыворотке крови и других биологических жидкостях;

Если активация лимфоцитов блокируется до вступления в пролиферацию, то клетки подвергаются апоптозу и погибают. Такая массовая гибель активированных лимфоцитов лежит в основе феномена «**апоптоза, индуцированного активацией**». Этот феномен играет большую роль в патогенезе многих заболеваний человека, включая ВИЧ-инфекцию. Возникает парадоксальная ситуация: выраженная активация клеток иммунной системы приводит к развитию иммунодефицита.

Для исследования пролиферативной активности иммунокомпетентных клеток используют тесты на определение:

1. способности Т- и В-лимфоцитов усиливать пролиферацию в ответ на различную стимуляцию (митогенами, антигенами).

Оценка эффекторных функций иммунокомпетентных клеток проводится с использованием следующих тестов:

1. оценка клеточной цитотоксичности (Т-киллеры, НК-клетки и др.);
2. образование иммуноглобулинов в культуре В-лимфоцитов *in vitro*;
3. образование клетками иммунной системы цитокинов и ответ на них *in vitro*.

Цитотоксические тесты проводят, чтобы оценить способность Т-киллеров, НК-клеток, макрофагов убивать соответствующие клетки-мишени *in vitro*.

Определение синтеза иммуноглобулинов в культуре антитело-образующих клеток *in vitro*, а также в сыворотке главные методы оценки функциональной активности В-лимфоцитов.

В настоящее время важное значение придают оценке **иммунорегуляторного звена**. Хотя до сих пор методы оценки числа и функций регуляторных Т-клеток трудоемки, некоторые из них находят применение в практике клинической иммунологии. Более доступны методы определения:

1. соотношения числа CD4 и CD8 Т-лимфоцитов;
2. соотношения про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке и различных биологических жидкостях;



В настоящее время все чаще в практической медицине используют **этиологический принцип оценки иммунной системы**, заключающийся в подборе определенных методов исследования, которые позволяют получить максимум информации о данной патологии исходя из этиологического фактора иммунопатологии. Например, при вирусной инфекции постановка всех тестов оценивающих иммунный статус необязательна. В этом случае, достаточную информацию дают:

1. оценка системы интерферонов;
2. исследование цитотоксических клеток (НК-клеток, Т-киллеров и др.), включая определение их количества и функциональной активности;
3. определение цитокинов, играющих важную роль в противовирусной защите (ФНО-альфа, ИФН-гамма, ИЛ-12 и др.).

Тестовые задания по теме.

Выберите один или несколько правильных ответов.

- 1) Дайте определение иммунного статуса.

*** **

- 2) Какой тип тестов иммунодиагностики обладает наибольшей информативностью?
 1. Тесты 1 уровня
 2. Тесты 2 уровня
 3. Тесты 3 уровня

4. Тесты 4 уровня

*** **

3) Выберите тесты, относящиеся к тестам 1 уровня

1. определение относительного и абсолютного числа лейкоцитов
2. определение сывороточной концентрации IgE
3. определение иммунорегуляторного индекса
4. определение экспрессии маркеров: CD25, CD69

*** **

4) Какие биологические материалы могут быть использованы для проведения иммунодиагностических тестов 1 уровня:

1. цельная периферическая кровь;
2. спинномозговую жидкость;
3. синовиальную жидкость;
4. бронхоальвеолярную жидкость;
5. все варианты.

*** **

5) Какие биологические материалы могут быть использованы для проведения иммунодиагностических тестов 2 уровня:

1. цельная периферическая кровь;
2. спинномозговую жидкость;
3. синовиальную жидкость;
4. бронхоальвеолярную жидкость;
5. все варианты.

Ответы:

вопрос №1 , Иммунный статус – это комплекс количественных и функциональных показателей, отражающих конкретное состояние иммунной системы, определяемое с помощью стандартных общепринятых доступных тестов, которые позволяют получить ориентировочные сведения об общих параметрах иммунной системы.

вопрос №2 , ответ 2.

вопрос №3 , ответ 1, 3.

вопрос №4 , ответ 1.

вопрос №5 , ответ 5.

Пример ситуационных задач по теме

Пациент К. 16 лет сдал анализ крови на иммунограмму 1 уровня.

показатель	Значение у пациента	норма
CD3, %	70	70-76
CD3, абс	1.8	1.4-2.0
CD4, %	37	30-40
CD4, абс	0.8	0.7-1.1
CD8, %	30	27-35

CD8, абс	0.8	0.6-0.9
CD19, %	5	12-22
CD19, абс	0.15	0.3-0.5
CD16, CD56 %	12	9-16
CD16, CD56, абс	0.3	0.2-0.3
IgM, г/л	0.2	0.55-3.5
IgG, г/л	3.1	6.5-13.5
IgA, г/л	0.7	0.7-3.15

Ответьте на следующие вопросы:

- 1) какие показатели отклоняются от нормы?
- 2) Назовите функцию нарушенных параметров иммунной системы?
- 3) охарактеризуйте изменения в соответствии с патогенетическим принципом оценки функции иммунной системы

Правильные ответы:

- 1) IgG, IgM, CD19-клетки
- 2) IgG- антитела, участвующие во вторичном гуморальном адаптивном иммунитете
IgM – антитела, участвующие в первичном гуморальном адаптивном иммунитете
CD19- В – лимфоциты
- 3) Отмечается нарушение эффекторных функций (снижение показателей гуморального адаптивного иммунитета)

Список рекомендуемой литературы по теме.

- 1) Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии : учебник / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 640 с.
- 2) Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология. Учебник. – 3-е изд., М., Медицина, 2010. – 752 с.
- 3) Г.-Р. Бурместер, А. Пецутто, Т. Улрихс, А. Айхер Наглядная иммунология Color Atlas of Immunology. Издательство: Бином. Лаборатория знаний, 2009 г. - 320 стр.
- 4) Иммунология : практикум : учеб. пособие / [Ковальчук Л. В. и др.]; под ред. Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатъевой, Л. В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 176 с.
- 4) Иммунология: учебник / А. А. Ярилин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.
- 5) лекции кафедры

Дополнительная литература:

- 1) Клиническая иммунология : учебник / под ред. А.М. Земскова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 432 с.
- 2) Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: том 1 : учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко, - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010.
- 3) Руководство по лабораторным методам диагностики. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 800 с.