

Клеточный, гуморальный иммунитет и их роль в защите от инфекций

Лекция 11



Иммунитет и инфекции

- ВОЗ ставит инфекционные заболевания на одно из ведущих мест среди главных причин смертности (после ИБС, инсульта и др.)
- По данным ВОЗ ежегодно умирает в мире около 51 млн человек, а треть среди них - от инфекционных заболеваний
- Инфекционные заболевания остаются актуальной проблемой не только для развивающихся, но и для благополучных стран
- В РФ ежегодно регистрируют около 35 млн случаев инфекционных болезней.

При попадании в организм антигена возможны три следствия:

- 1. Выработка иммунитета.
- 2. Возникновение иммунологической толерантности.
- 3. Развитие гиперчувствительности.

**Выработка иммунитета –
формирование невосприимчивости
организма не только к микробам, но и другим
патогенным агентам: гельминтам, веществам
животного и растительного происхождения,
обладающим антигенными свойствами.**

Основные факторы иммунитета, обеспечивающие защиту от латентных вирусных и бактериальных инфекций

Врожденный иммунитет



1. Система интерферонов
2. Система комплемента
3. Натуральные киллеры
4. Система фагоцитоза

Специфический иммунитет



1. Антиген-презентирующий Фагоцитоз
2. Т-лимфоциты
3. Нейтрализующие IgG

МАКРОФАГ (активированный)



Локальные эффекты цитокинов

- Активация сосудистого эндотелия
- Увеличение сосудистой проницаем.
- Увеличение дренажа л/у
- Активация лимфоцитов
- Активация синтеза антител
- Локальное разрушение тканей
- Активация лимфоцитов
- Активация синтеза антител
- Фактор хемотаксиса лейкоцитов
- усиление активности эффекторов
- активация NK
- CD4 ⇒ Th1

Системные эффекты цитокинов

- Лихорадка
- Метаболический шок
- Лихорадка
- Продукция IL-6
- Лихорадка
- индукция синтеза протеинов ОФ

Локализация возбудителя

Интрацеллюлярные

Экстрацеллюлярные

Цитоплазматические

Везикулярные

Интерстициональное пространство, кровь, лимфа

Эпителиальная поверхность

Вирусы
Хламидии
Риккетсии
Листерии
Протозойные

Микобактерии
Сальмонеллы
Лейшмании
Листерии
Трипаносомы

Легионелла
Криптококки
Гистоплазмы

Иерсиния пестис

Вирусы
Бактерии
Протозойные
Грибы
Гельминты

Гонококки
Гельминты
Микоплазмы
Пневмококки
Холерный вибрион

E.coli
Candida alb.
Helicobacter pylori

Протективный ответ на первичную инфекцию

СД 8 Т-клетки

Т-клеточный иммунитет

Антитела

Антитела (особенно IgA)

НК-клетки

Активированные макрофаги

Комплемент
Фагоцитоз

АЗКЦ (антитело-зависимая клеточная цитотоксичность)

Основные характеристики	Фазы иммунного ответа		
	Немедленная (0-4 часа)	Ранняя (4-96 часов)	Поздняя (позже 96 часов)
	Неспецифическая врожденная <ul style="list-style-type: none"> - Нет иммунологической памяти - Нет специфических Т-клеток 	Неспецифическая и специфическая (индуцированная) <ul style="list-style-type: none"> - Нет иммунологической памяти - Нет специфических Т-клеток 	Специфическая (индуцированная) <ul style="list-style-type: none"> - Индуцированная - Есть иммунологическая память - Специфические Т-клетки
Барьерные функции	<ul style="list-style-type: none"> - Кожа - Эпителий 	<ul style="list-style-type: none"> - Локальное воспаление - TNF-α 	<ul style="list-style-type: none"> - IgA-антитела - IgE-антитела на тучных клетках
Ответ на экстрацеллюлярные патогены	<ul style="list-style-type: none"> - Фагоцитоз - Альтернативный путь активации комплемента 	<ul style="list-style-type: none"> - Активация комплемента 	<ul style="list-style-type: none"> - IgG-антитела - IgM-антитела - Классический путь активации комплемента
Ответ на интрацеллюлярные патогены	<ul style="list-style-type: none"> - Макрофаги 	<ul style="list-style-type: none"> - Активация макрофагов - IL-1, IL-6, TNF-α, IL-12 	<ul style="list-style-type: none"> - Т-клеточная активация макрофагов с помощью IFN-γ
Ответ на вирус-инфицированные клетки	<ul style="list-style-type: none"> - NK-лимфоциты 	<ul style="list-style-type: none"> - IFN-γ, INF-β - NK-активированные клетки - IL-12 	<ul style="list-style-type: none"> - CD8T-клетки - IFN-γ

Фазы иммунного ответа

- в первые 0-4 часа после попадания возбудителя активируются механизмы врожденного иммунитета. Инфекционные агенты распознаются неспецифическими эффекторами (предсуществующими) и происходит удаление части инфекционного агента;
- спустя 4-96 часов развивается ранний индуцированный ответ адаптивного иммунитета, который сопровождается рекрутированием эффекторных клеток, наступлением стадии распознавания антигена и активации эффекторных клеток, что также приводит к удалению возбудителя;
- позже 96 часов имеет место поздний адаптивный ответ на инфекцию, который проявляется в транспортировке антигена к лимфоидным органам, распознавании антигена Т- и В-клетками и дифференцировке их в эффекторные клетки, способные к удалению возбудителя.

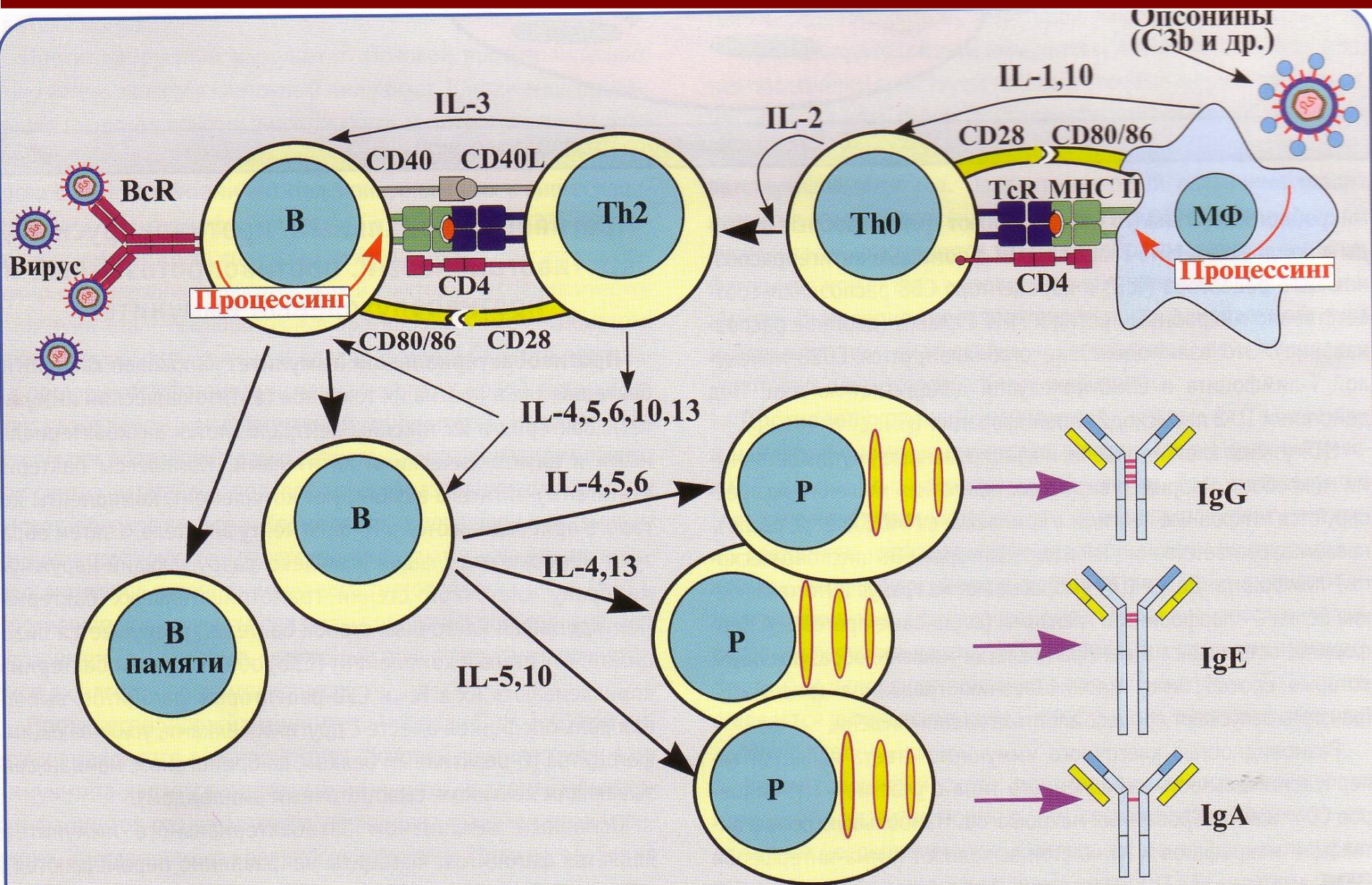
СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОЧНО-ОПОСРЕДОВАННОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

Характеристика	Клеточно-опосредованный иммунитет		Гуморальный иммунитет
Типичные возбудители	Вирусы	Микобактерии, лейшмании	Гноеродные кокки, клостридии
Локализация	Цитозоль АПК	Вакуоли в АПК	Внеклеточная жидкость
Типы АПК	ДК, инфицированные клетки	ДК, инфицированные макрофаги	АГ-специфические В-клетки
Эффекторные Т-лимфоциты	CTL, CD8(+)	Th1 CD4(+)	Th1\Th2 CD4(+)
Результат распознавания АГ и активации Т-лимфоцита	Уничтожение инфицированной клетки	Активация инфицированных Мф с повышением их биоцидности	Активация АГ-специфических В-клеток к продукции АТ

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

- Активация В-лимфоцитов (B2 CD5-) и их дифференцировка в антителообразующие (АОК) плазматические клетки:
- Иммуноглобулиновый рецептор В-лимфоцитов (BCR) распознает антиген и клетка его поглощает
- В-клетка представляет образовавшийся комплекс Тх-2 через TCR и CD4
- Активация покоящихся В-лимфоцитов, их пролиферация с участием цитокинов Тх-2
- Популяция (B1 CD5+) находится в лимфоидных образованиях слизистых, кожи и синтезирует преимущественно IgM, участвуя в антибактериальном иммунитете

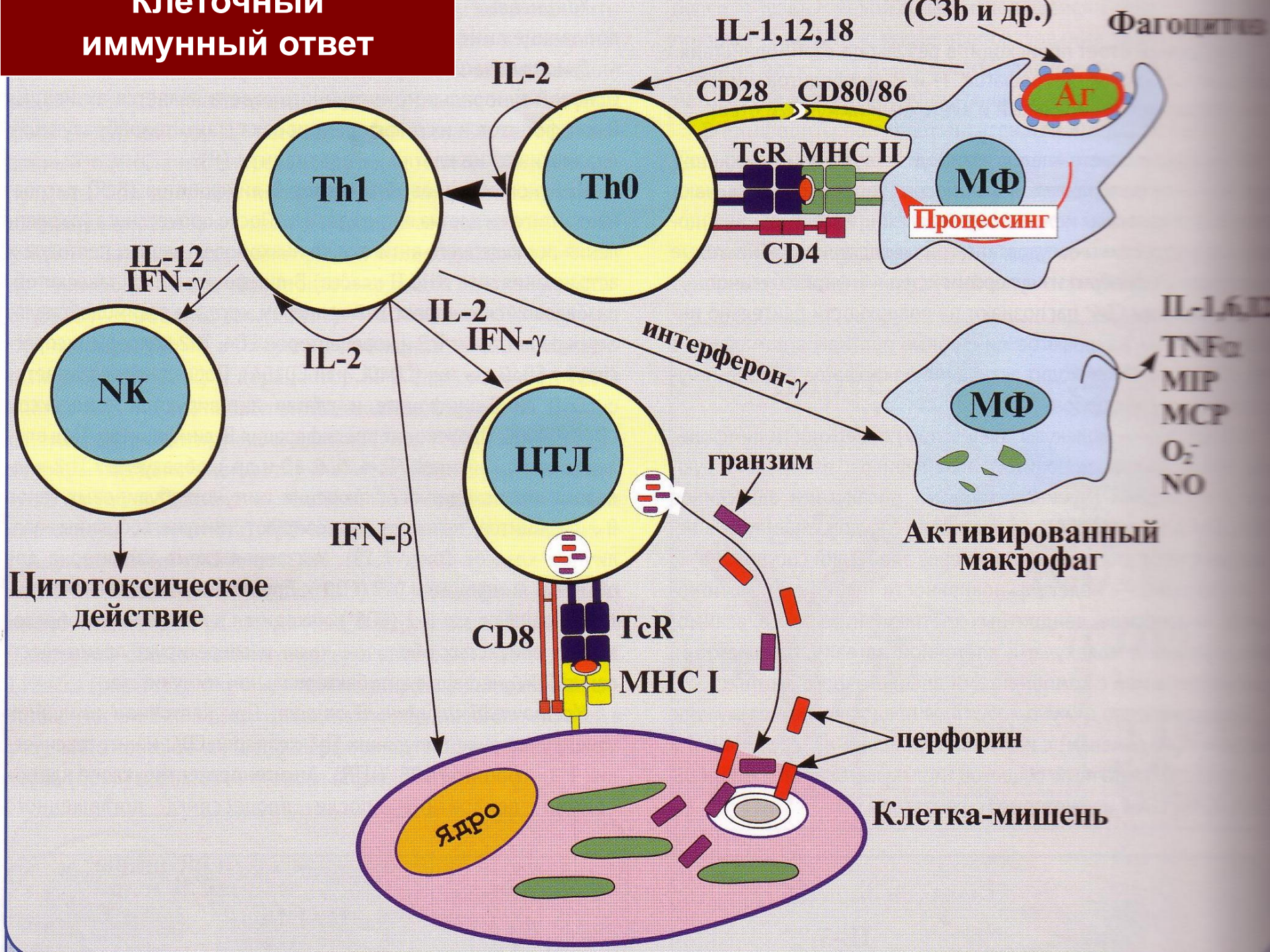
Схема гуморального иммунного ответа

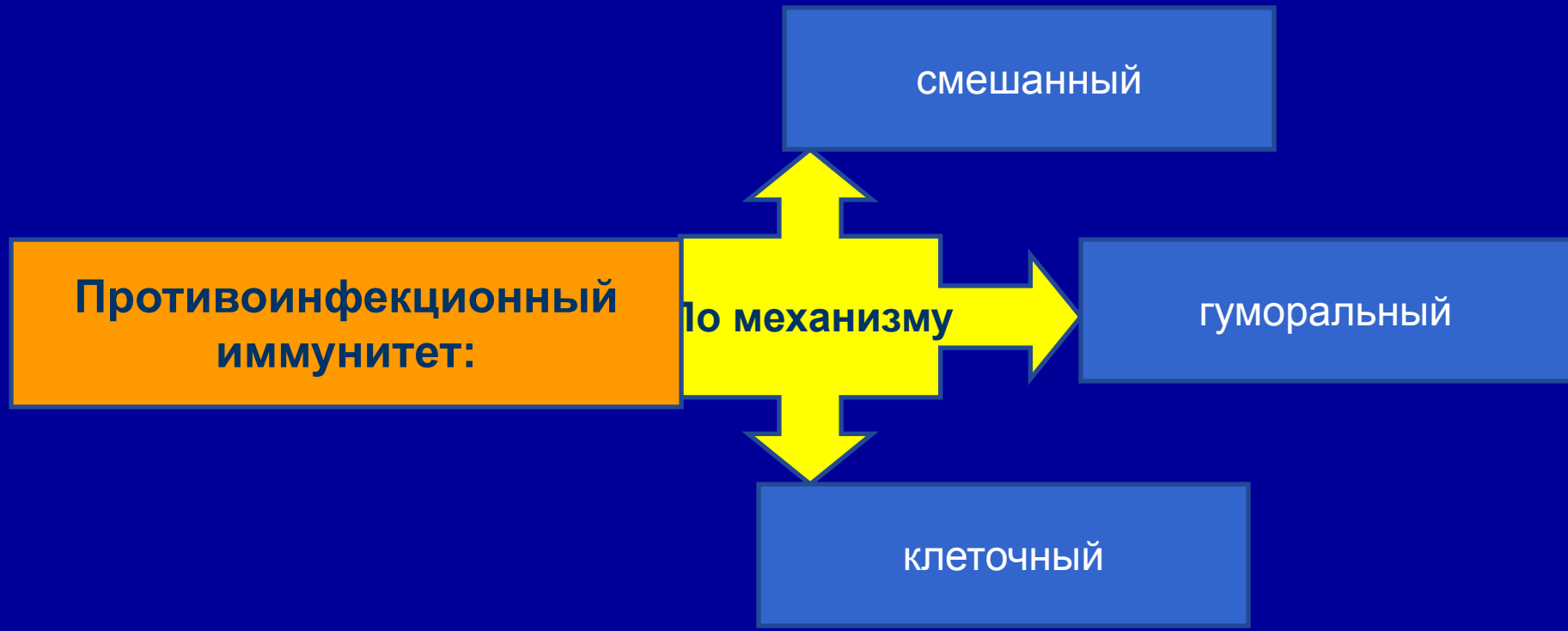


Клеточный иммунный ответ

- Участвуют популяции Тх-1 CD4+ и цитотоксические Т-лимфоциты (CD8+)
- Антигенпредставляющие клетки, обычно дендритные, после процессинга поглощенного АГ представляют ЦТЛ микробные пептиды в комплексе с МНС1
- ЦТЛ через TCR и CD8 распознают микробный пептид и МНС1 (двойное распознавание)
- Под действием ИЛ-2 происходит пролиферация ЦТЛ, их активация и уничтожение микробного агента путем выброса из гранул цитотоксических белков (сериновых протеаз) и конечного апоптоза клеток с нарушенной мембраной

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

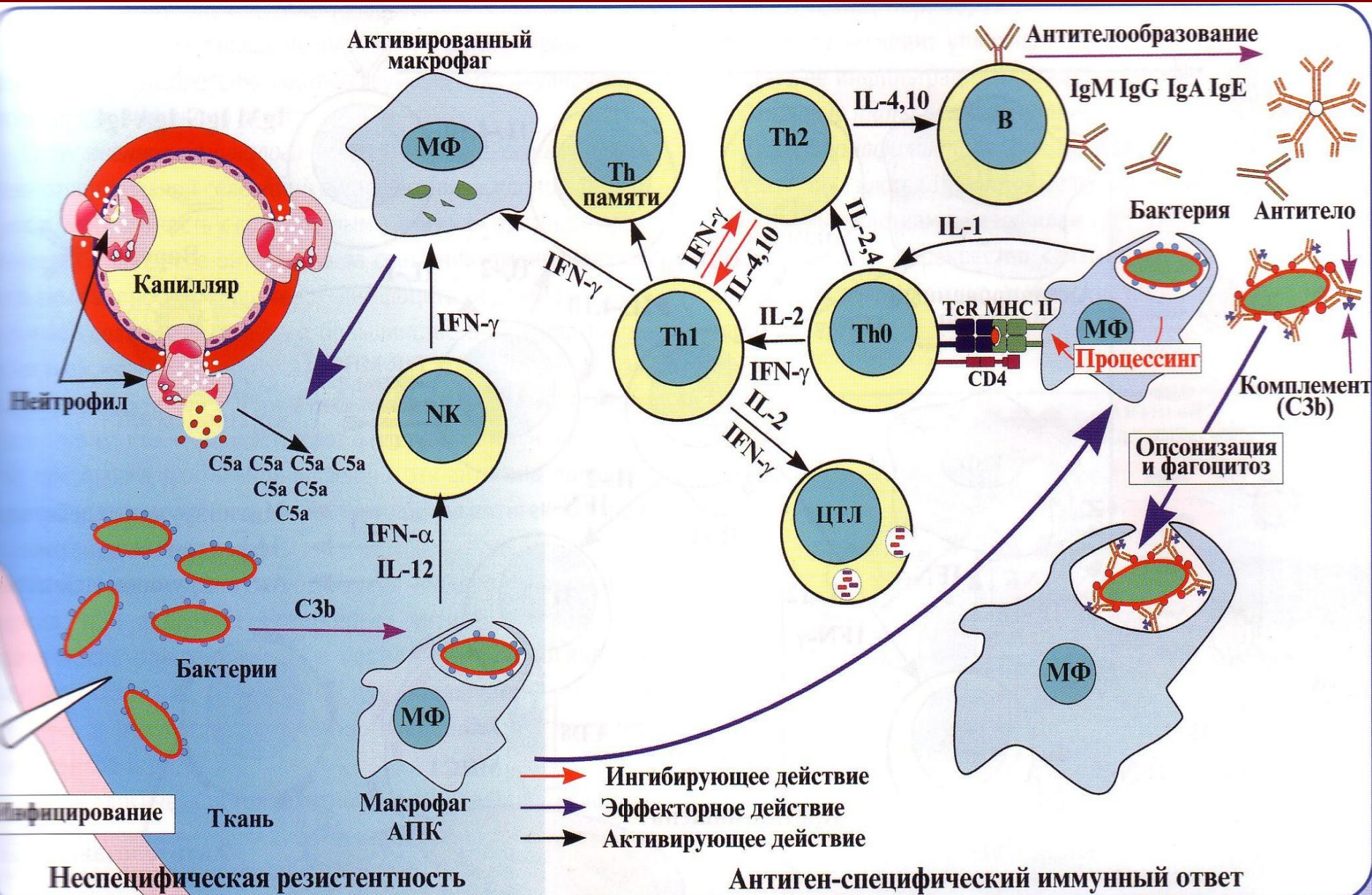




Противобактериальный иммунитет

- Направлен против бактерий и их токсинов
- Бактерии и токсины нейтрализуются антибактериальными и антитоксическими антителами
- Комплексы АГ-АТ активируют комплемент, мембранатакающий комплекс которого разрушает наружную мембрану грамотрицательных бактерий
- Пептидогликан клеточной стенки бактерий разрушается лизоцимом
- Антитела и комплемент (С3в) обволакивают бактерии для дальнейшего иммунного фагоцитоза
- Основной механизм противобактериального иммунитета – фагоцитоз
- Противобактериальная защита слизистых оболочек обусловлена секреторным IgA, который препятствует адгезии бактерий на эпителиоцитах

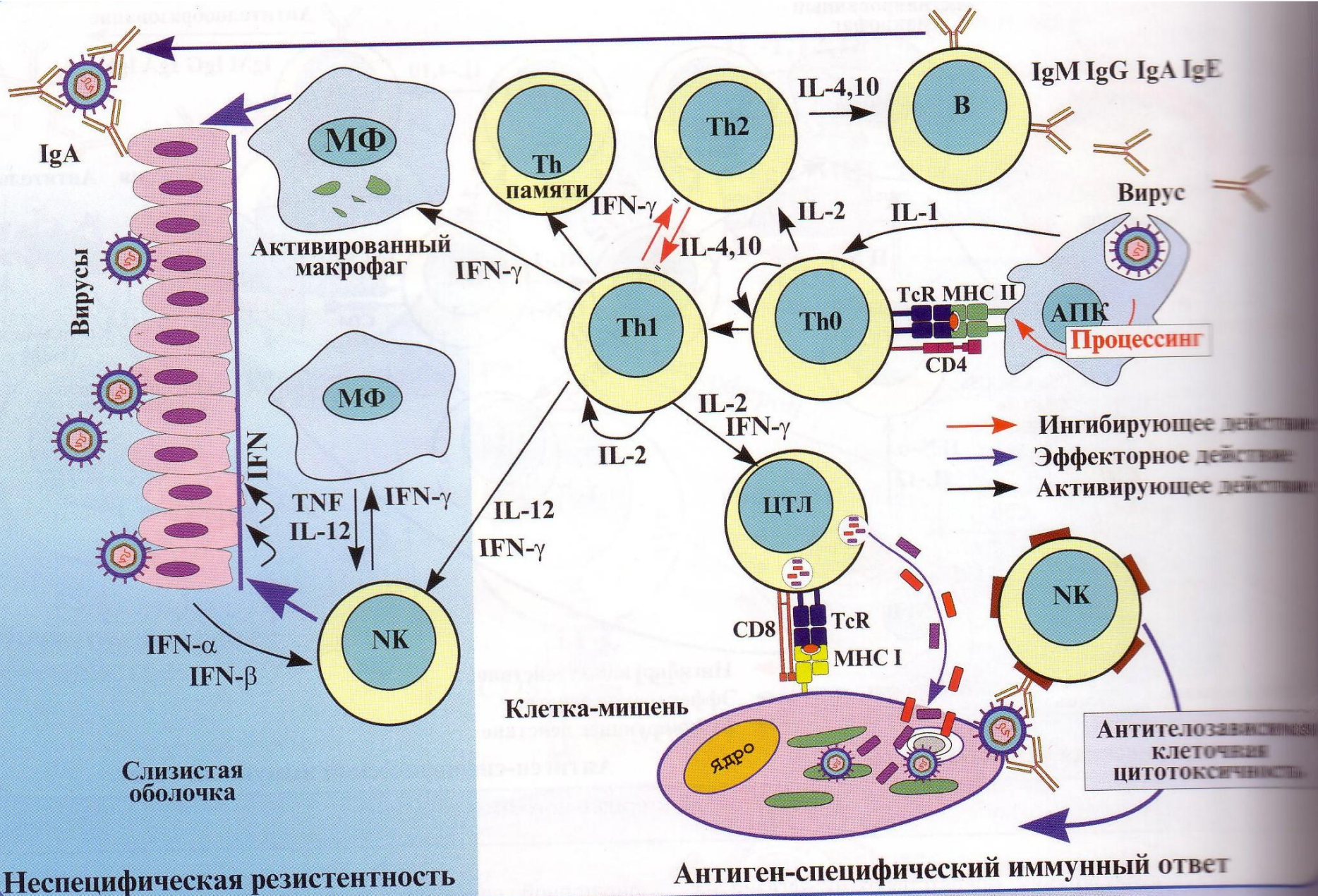
Антибактериальный иммунный ответ



Противовирусный иммунитет

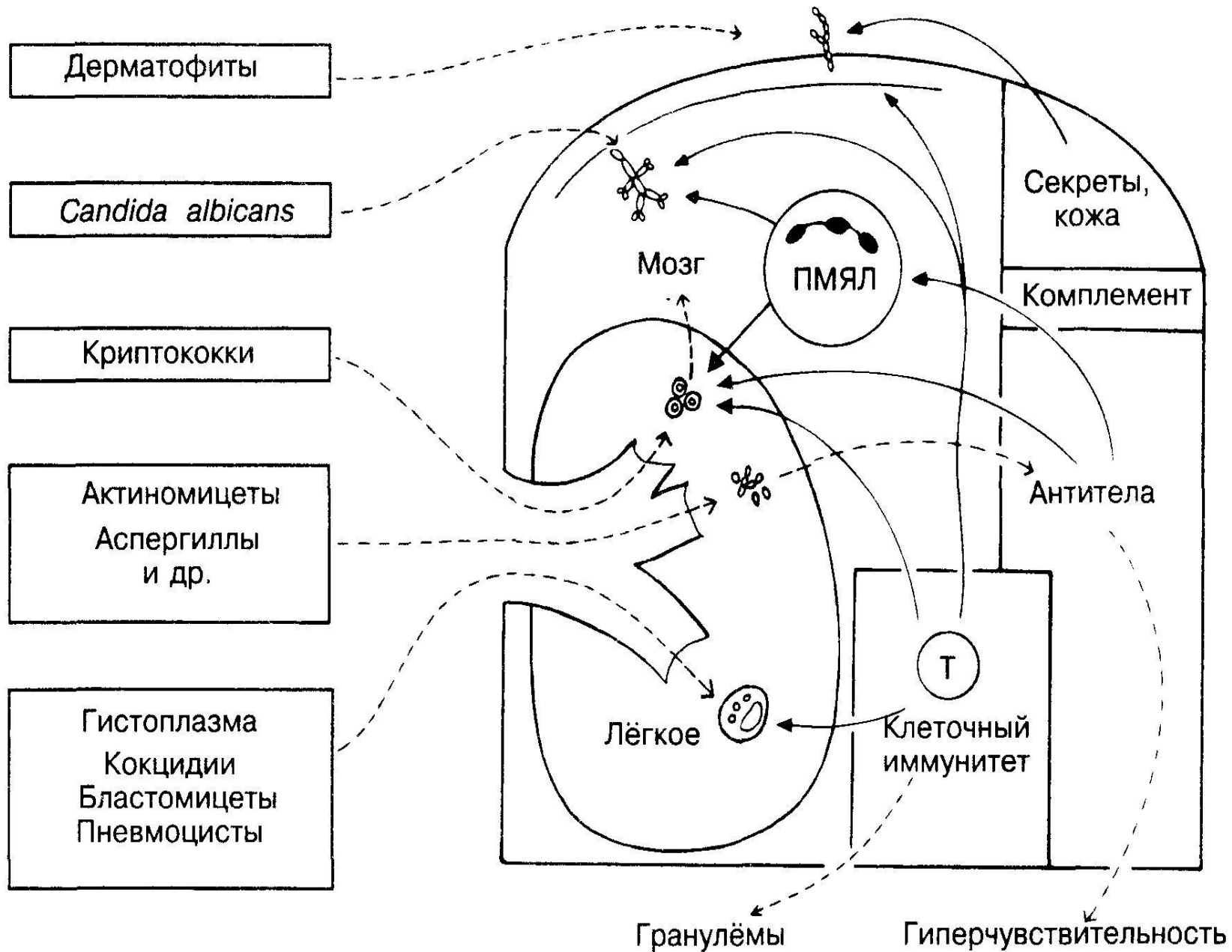
- Основой является клеточный иммунитет
- Клетки-мишени (инфицированные вирусом) уничтожаются цитотоксическими лимфоцитами, а также НК-клетками и фагоцитами
- Противовирусные антитела способны нейтрализовать только внеклеточно расположенные вирусы, после чего они поглощаются фагоцитами или выводятся с мочой, потом и др. («выделительный иммунитет»)
- Интерфероны оказывают иммуномодулирующее действие, усиливая в клетках экспрессию антигенов МНС
- Противовирусная защита слизистых обусловлена секреторным IgA, препятствующим адгезии вирусов к эпителиоцитам

Противовирусный иммунный ответ



Противогрибковый иммунитет

- Антитела (IgM, IgG) при микозах выявляются в низких титрах
- Основой противогрибкового иммунитета является клеточный иммунитет
- В тканях происходит фагоцитоз, развивается гранулематозная реакция, иногда – тромбоз кровеносных сосудов
- Микрозы, особенно, оппортунистические, часто развиваются после длительной антибиотикотерапии и при ИДС
- Микозы сопровождаются развитием ГЗТ
- После респираторной сенсibilизации фрагментами условно-патогенных грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* и др. возможно развитие аллергических заболеваний



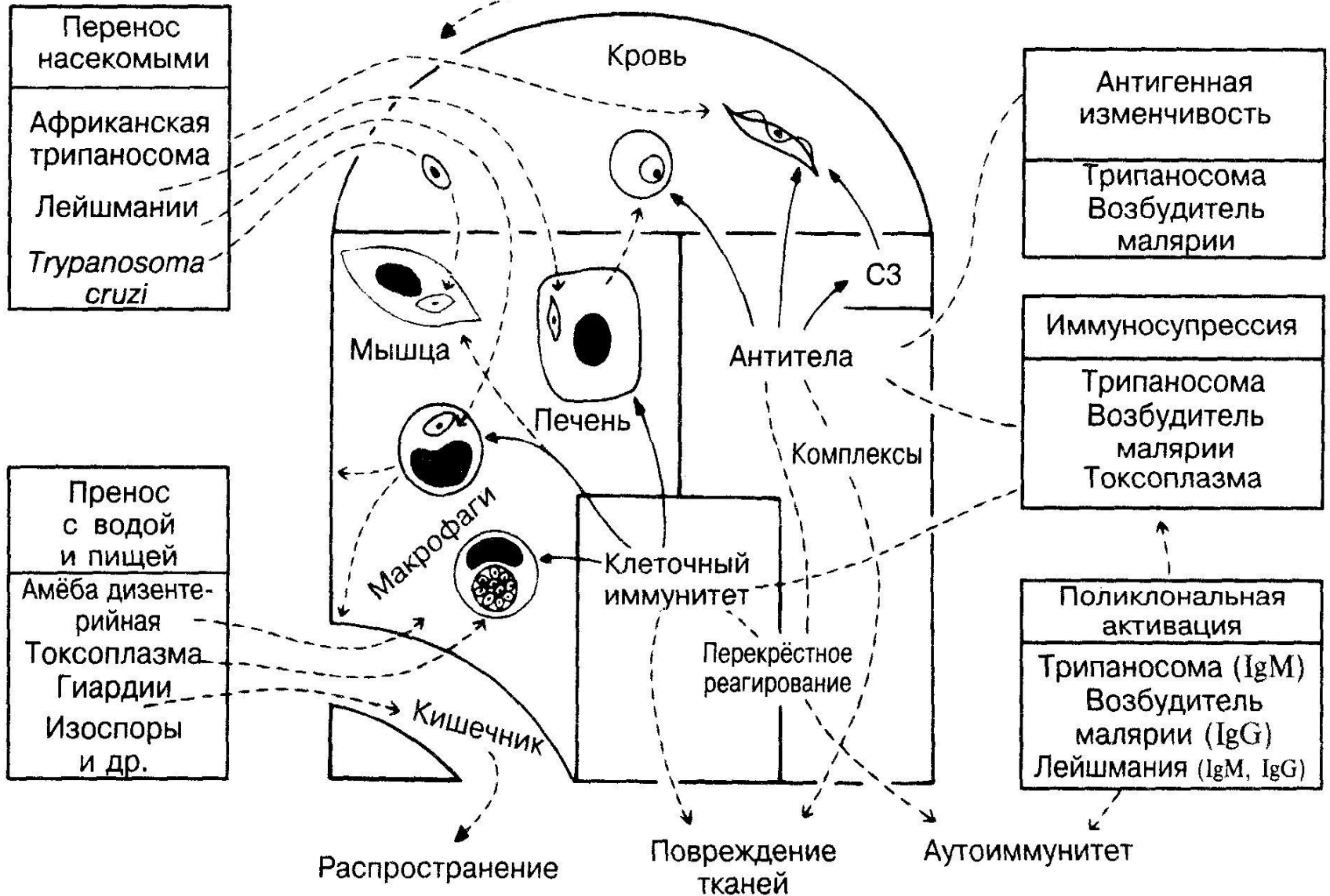
Для детей с микобактериальными инфекциями характерна:

- ✿ Пониженная способность отвечать продукцией ИЛ-12 при стимуляции интерфероном- γ .
- ✿ Значительное снижение CD3CD4 Th1-клеток и продукция IFN- γ .

Противопротозойный иммунитет

- Антитела (IgM, IgG) против простейших действуют на внеклеточные формы паразитов.
- Часто иммунитет является стадиоспецифическим (против различных форм и стадий развития паразита проявляются соответствующие антитела)
- Такие паразиты (малярийный плазмодий) как бы «ускользает» от ранее образовавшихся антител
- Фагоцитоз часто незавершенный (при лейшманиозах)
- Выявление ГЗТ используют при диагностике токсоплазмоза, лейшманиоза и др. протозойных инфекций

Проникновение/распространение
через укус



Иммунитет при гельминтозах

- Отличается слабой напряженностью и низкой специфичностью. Иммунологические показатели повышаются преимущественно в личиночную стадию развития паразита.
- Участвуют IgG, IgM, IgE (в основном) и в меньшей степени IgA. Особенно повышается уровень IgE. Действие антител опосредовано через опсонизацию фагоцитов и активацию комплемента.
- Определяющее значение в механизме специфической защиты организма от гельминтов играет антителоопосредованная и комплемент-зависимая цитотоксичность.
- Ферменты активированных клеток, супероксидный радикал и фосфолипаза В разрушают паразита, а гистаминаза и фосфолипаза D нейтрализуют амины тучных клеток, подавляя развитие аллергических реакций.
- несмотря на развитие иммунных реакций, гельминт способен длительное время сохраняться в организме вследствие наличия антигенов, общих с антигенами хозяина и сильными иммуносупрессивными свойствами гельминта (хронизации инвазии, риск возникновения других инфекций и онкологических заболеваний)

Некоторые механизмы, позволяющие паразитирующим организмам избежать воздействия иммунного ответа хозяина

Паразитирующий организм	Механизм, действия
<i>Trypanosoma brucei</i>	Антигенная изменчивость
Токсоплазмы	Предотвращение слияния лизосом с фагосомами
Возбудитель малярии, бабезии	Локализация внутри клеток хозяина
Шистосомы	Приобретение молекул хозяина Потеря поверхностных антигенов Изменения внутренних мембран Блокада иммунных комплексов
Филярии, лейшмании	Супрессия специфических Т-клеток
<i>Taenia</i> , амеба	Инактивация медиаторов воспаления

Противоопухолевый иммунитет

- Основан на Тх-1-зависимом клеточном иммунном ответе, активирующем ЦТЛ, макрофаги и НК-клетки.
- Роль гуморального иммунитета невелика, так как антитела маскируют рецепторы опухолевых клеток от ЦТЛ
- Опухолевый антиген распознается АПК (дендритные клетки, макрофаги) и непосредственно или через Тх-1 представляется ЦТЛ, разрушающим опухолевую клетку-мишень
- Неспецифические факторы, повреждающие опухолевые клетки : НК-клетки, система моноцито-макрофагов (усиливающаяся при действии ИЛ-2, ИФН – ЛАК-клетки), цитокины (ИФН, ФНО, ИЛ-2).

Адаптивный иммунный ответ к инфекционным агентам может сопровождаться:

- **образованием иммунных комплексов,**
- **синтезом перекрестно-реагирующих антител, которые связываются с хозяйскими тканями,**
- **индукцией Т-клеток, разрушающих инфицированную клетку человека.**

Это все приводит как к удалению возбудителя, так и к разрушению клеток хозяина:

Примеры инфекционных агентов

Примеры патологии

Образование иммунных комплексов

Вирус гепатита В

Поражения почек, сосудов

Streptococcus pyogenes

Гломерулонефриты

Treponema pallidum

Поражения почек при вторичном сифилисе

Большинство острых инфекций

Транзиторные поражения почек

Появление перекрестно-реагирующих антител к тканям хозяина

Streptococcus pyogenes

Ревматизм

Mycoplasma pneumoniae

Анемии

Активация клеточно-опосредованного иммунитета

Mycobacterium tuberculosis

Туберкулез

Mycobacterium leprae

Лепра

Вирус лимфоцитарного хореоменингита

Асептический менингит

HIV

СПИД

**Особенности диагностики
инфекционных
заболеваний**

Иммунологические методы, применяемые для диагностики инфекционных заболеваний

- РИА
- ИФЛА

Метод прямой иммунофлюоресценции применяют для выявления антигенов.

Метод непрямой иммунофлюоресценции позволяет выявить антитела к известному антигену.

Метод конкурентной иммунофлюоресценции основан на связывании стандартного меченого и присутствующего в исследуемой пробе немеченого антигенов с антителами, сорбированными на твердой подложке.

Поскольку меченый и немеченый антигены конкурируют за связывание с антителами, по количеству связанного меченого антигена можно определить концентрацию антигена в исследуемой пробе

Иммунологические методы, применяемые для диагностики инфекционных заболеваний

позволяют определить концентрацию антител в исследуемой пробе

- Методы, основанные на реакции преципитации

Иммунодиффузия — наиболее распространенный из всех методов, основанных на реакции преципитации

Простая радиальная иммунодиффузия

Двойная радиальная иммунодиффузия

Электрофорез

Иммуноэлектрофорез

**Встречный
электрофорез**

Методы, основанные на реакции агглютинации

**Реакция прямой
агглютинации**

**Реакция непрямой
агглютинации**

РСК

Твердофазный ИФА

Другие методы:

СРБ

**Холодовые
агглютинины**

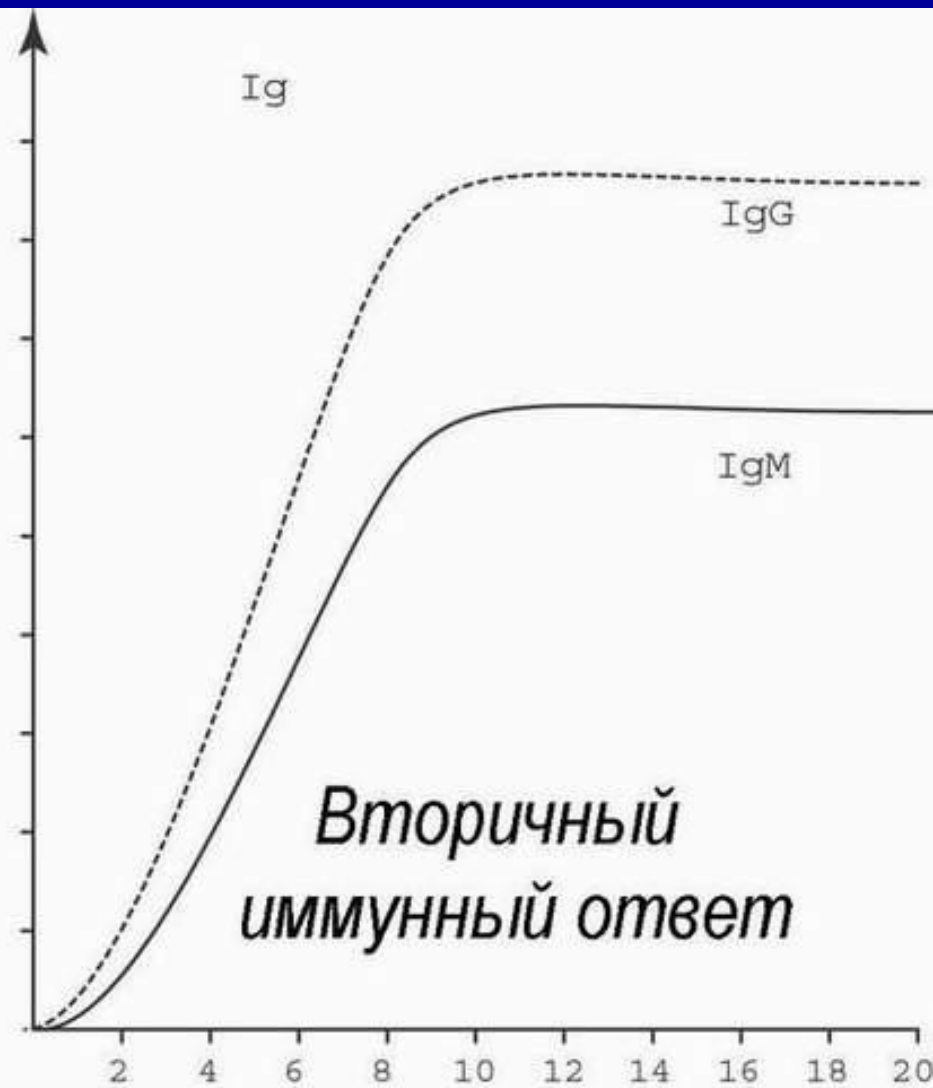
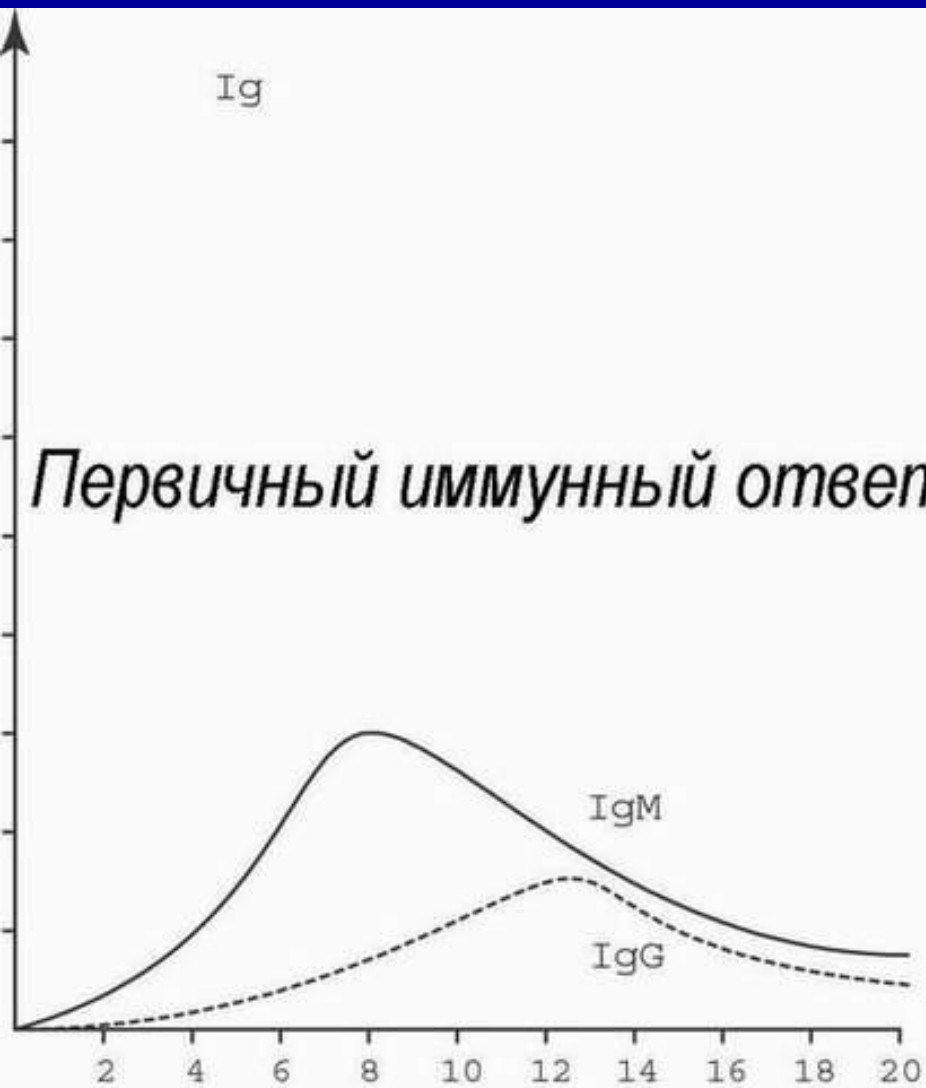
**Агглютинирующие
антитела
к возбудителю**

**Сыворотку для исследования
обычно собирают дважды: в
период разгара и в период
выздоровления (через
10—21 сут).**

**Бактериальные
инфекции**

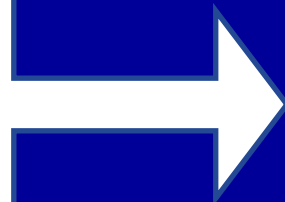
**Диагностически значимым
считается выявление ХА
в титре 1:32 или четырехкратное
повышение их титра в течение
7—14 сут.
(ОРЗ, грипп, микоплазменная
пневмония...)**

**При
сальмонеллезе, паратифе,
бруцеллезе,
туляремии, риккетсиозе и
других.
(четырекратное
повышение)**



Динамика образования антител

**Тесты,
определяющие
непосредственно
уровень АГ в
исследуемом
материале**



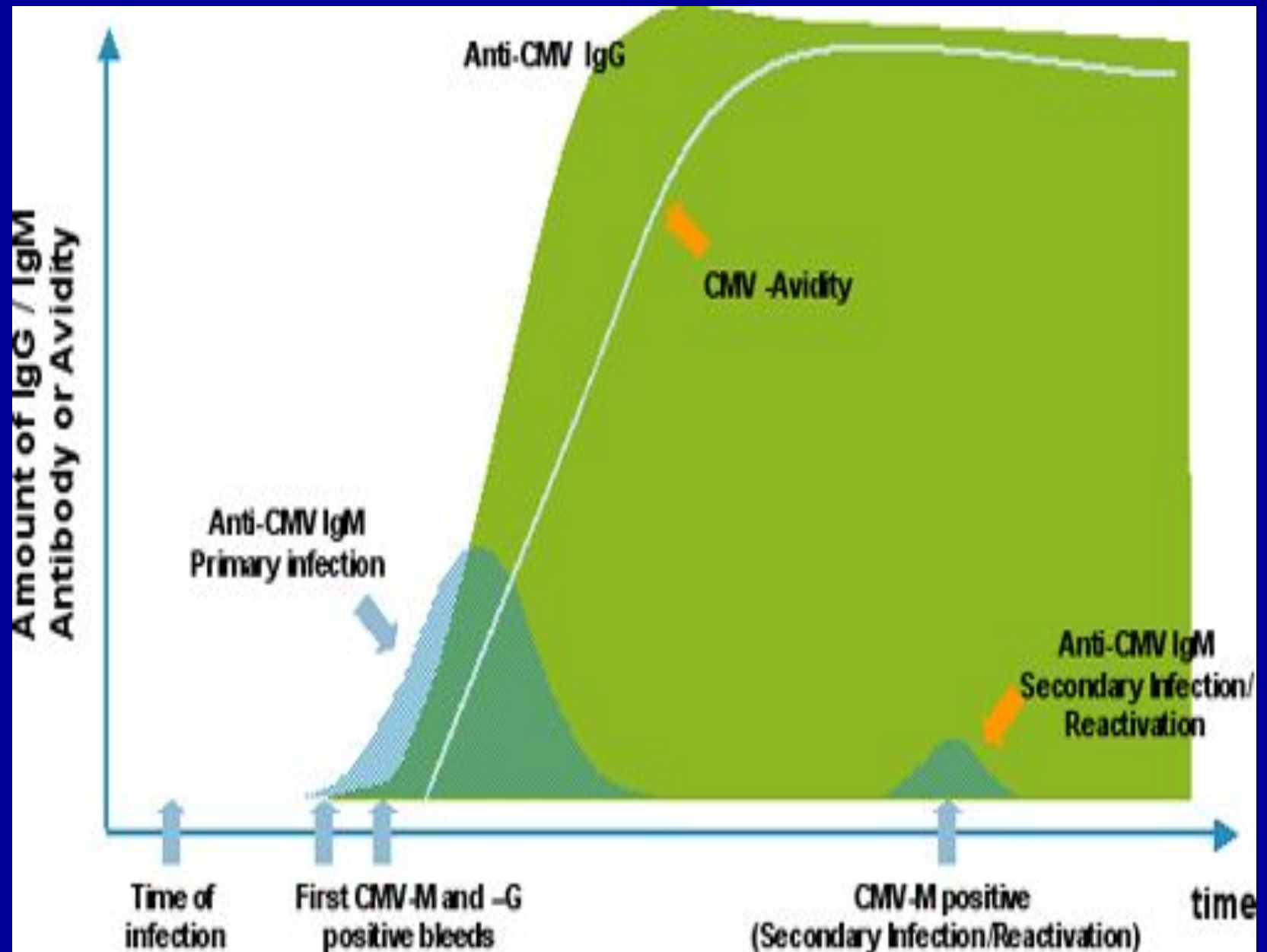
**отражают уровень содержания
инфекционного патогена или
другого агента**

**результаты анализа сильно зависят от выбора
материала для исследования, условий его
забора и др**

**Тесты, основанные
на выявлении АТ
различного класса,
к различным
антигенам**



**информация дает сведения о
стадии иммунного ответа**



Серологическое тестирование стадий инфекционного заболевания

Стадия	Диагностический титр АТ	Динамика
Острая	IgM – очень высокий IgG – очень высокий IgA – высокий	Быстрое угасание ИО: IgM , IgG, IgA —————→
Хроническая	Высокие титры специфических IgG, IgA	Титры не меняются длительное время
Реактивация инфекции	Очень высокие титры специфических IgM , IgG, IgA	Возможно достаточно быстрое угасание ИО
Бессимптомное течение	Повышенные титры IgA	Сохраняются длительное время
Состояние постинфекции	Повышенные и высокие титры IgG	Сохраняются длительное время, медленно снижаются

2-3-х кратное снижение специфических IgG, IgA в процессе лечения

–

эффективность терапии!!



Иммунодиагностика инфекций новорожденных



Диагностические критерии различных вариантов латентных инфекций и уровень опасности инфицирования плода

Форма инфекции	Наличие Аг в сыворотке (ПЦР)	Наличие Аг в тканях (ПЦР)	Специфические IgM,IgG,IgA	Опасность инфицирования плода
Латентная	—	Внутриклеточно	Диагностический титр IgG	нет
Персистирующая	—	Внутриклеточно	Диагностический титр IgG	В 2% случаев
Острая первичная	+	Внутри- и внеклеточно	Диагностический титр IgM с нарастанием IgG	В 50% случаев и более
Реактивированная	+	Внутри- и внеклеточно	Диагностический титр IgG, Часто и IgM	В 8% случаев

Диагностический диапазон титров антител Ig G, Ig A, IgM (хламидиоз)

Стадия заболевания	Диапазон титров IgG	Диапазон титров IgA	Диапазон титров Ig M
Первичная/острая. Определяются Ig M	>100-6400	> 50-1600	> 50-3200
Хроническая. Определяются Ig A	> 100-1600	<50	>50-200
Реактивация/ Реинфекция. Определяются Ig G, Ig A	>100-51200	>50-400	<50
Состояние после реконвалесценции. Определяется Ig G	> 100-400	<50	<50

Очень ранняя стадия инфекции (сомнительно). “Пограничные титры” в первой сыворотке

Титр IgG	Титр IgA	Титр IgM	Заключение о наличии хламидийной инфекции	Антибактериальное лечение
<100	<50	<50	Сомнительно	Не показано

Острая первичная инфекция. “Диагностические титры” во второй сыворотке через 10-14 дней

Титр IgG	Титр IgA	Титр IgM	Заключение о наличии хламидийной инфекции	Антибактериальное лечение
>200	>=100	=<50	Имеется	Показано

Отсутствие хламидийной инфекции. “Диагностические титры” во второй сыворотке через 10-14 дней

Титр IgG	Титр IgA	Титр IgM	Заключение о наличии хламидийной инфекции	Антибактериальное лечение
<100	<50	<50	Отсутствует	Не показано

ЦМВИ

IgG-, IgM-

- Пациент серонегативен, инфицирования нет
- Начальная стадия первичной инфекции до появления иммунного ответа
- Возможна сильная иммуносупрессия. При наличии клинических проявлений необходимо подтверждение ЦМВИ выявлением вируса или его ДНК.

IgG-, IgM+

Начальная стадия первичной инфекции. Повторное определение IgG и IgM через 1-2 недели.

IgG+, IgM-

Латентная инфекция (возможна хроническая вялотекущая инфекция)

IgG+, IgM+

- Развитие недавнего первичного инфицирования
- Реактивация латентной инфекции или реинфекция

Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вируса гепатита А

Маркер	Обозначение	Клинико-эпидемиологическое значение
Антиген вируса гепатита А	HAVAg	Обнаружение в фекалиях у детей в очагах инфекции является показателем опасности для окружающих в отношении заражения (но не критерием постановки диагноза)
Суммарные антитела к вирусу гепатита А	abHAV	Показатель перенесенного в прошлом или переносимого в настоящее время вирусного гепатита А и критерий для вакцинации
Антитела класса М к вирусу гепатита А	abHAV-IgM	Маркер острого вирусного гепатита А
РНК вируса гепатита А	RNA-HAV	Маркер наличия вируса в

Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вируса гепатита В

Поверхностный антиген (s) вируса гепатита В	HBsAg	Маркер вирусного гепатита В (острого или хронического), требует дополнительных исследований на а bHBc-суммарные, abHBc-IgM).
Антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В	abHBs	Стадия развития гепатита В и прогноза течения, контроль за специфического иммунного ответа, определение целесообразности и эффективности вакцинации. Маркер благоприятного исхода
Сердцевинный антиген (c) вируса гепатита В	HBcAg	Маркер наличия вируса гепатита В в гепатоците (при остром или хр. гепатите В)
Антитела к сердцевинному антигену вируса гепатита В (суммарные или класса G)	a bHBc	Маркер острого или хронического вирусного гепатита В (в комбинации с другими маркерами), носительства вируса гепатита В (в комбинации с другими маркерами), маркер инфицированности вирусом гепатита В в прошлом или настоящем. Контроль донорской крови и её препаратов.
IgM к сердцевинному антигену вируса геп/В	abHBc-IgM	Маркер острого вирусного гепатита В, а также обострения хронического
e-антиген вируса гепатита В (антиген инфекционности)	HBеAg	Определение интенсивности репликации вируса гепатита В и степени инфекционной опасности больного. Используется в дифференциальной диагностике ВГ, контроле за течением и прогнозировании исхода заболевания. Маркер активной репликации вируса. Маркер неблагоприятного исхода

Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вируса гепатита С и D

Антитела к вирусу гепатита С (суммарные)	abHCV	Маркер инфицирования вирусом гепатита С. Не позволяет судить о стадии болезни
Антитела к сердцевинному антигену вируса гепатита С класса М	abHcC-IgM	Маркер острого вирусного гепатита С, но может определяться и при реактивации хронического
РНК вируса гепатита С	RNA-HCV	Маркер наличия вируса в крови после 10 дня заболевания
Антитела к вирусу гепатита D (суммарные)	abHD	Маркер инфицирования вирусом гепатита D. Не позволяет судить о стадии болезни
Антитела к вирусу гепатита D класса М	abHD-IgM	Маркер острого вирусного гепатита D
РНК вируса гепатита D	RNA-HDV	Маркер наличия вируса в крови
Суммарные антитела к вирусу гепатита E	abHEV	Маркер инфицирования вирусом гепатита E в настоящем или в прошлом. Маркер заболевания



NB!!!

Традиционные серологические методы имеют ряд ограничений:

- Часто невозможно дифференцировать первичную инфекцию, реинфекцию, обострение (нетипичная динамика антителогенеза – наличие IgM – не достаточно)
- IgM можно выявлять в крови спустя месяцы или даже годы после наступления сероконверсии – «хронические IgM»
- Выявление IgM может дать ложноположительные результаты (экзогенная реинфекция, эндогенная реактивация)
- Специфические IgA также могут присутствовать в сыворотке крови через 2-3,5 года с момента сероконверсии
- Определение специфических IgG может быть полезным для определения отличий активного периода болезни от перенесенной в прошлом и уже неактивной инфекции, однако этот метод:
- **Не позволяет дифференцировать первичную и реинфекцию**
- **У пациентов с реактивацией хронического процесса не всегда достоверно растет IgG**

Для того, чтобы установить точный момент инфицирования и разграничивать первичную, реинфекцию или реактивацию инфекции, был предложен тест на определение авидности IgG-АТ (1988)

Афинность АТ



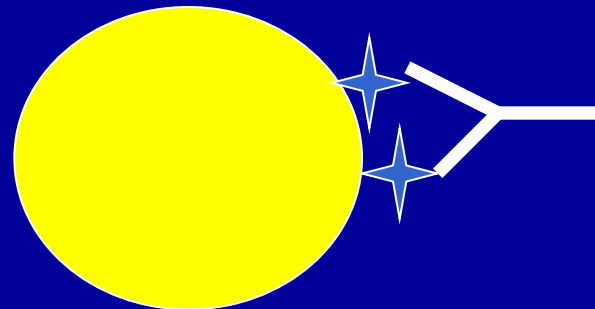
Степень специфического сродства активного центра АТ и АГ-детерминанты

Авидность АТ



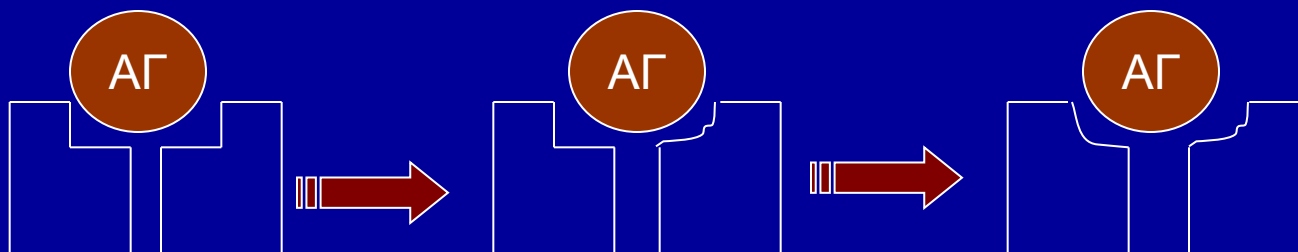
«Функциональная афинность» - прочность связи между АГ и АТ

Величина авидности зависит от афинности



- После первого контакта с АГ – афинность слабая, и затем она возрастает в течение последующих недель или месяцев (от 1 до 7)
- В конце первого месяца после инфицирования афинность IgG возрастает и высокоафинные антитела остаются в организме длительное время. За счет них развивается быстрый вторичный иммунный ответ в случае повторного контакта с АГ

Увеличение афинности антител



- Низкие дозы Аг приводят к быстрому возрастанию авидности, а высокие – к более медленному
- Т.о. низкоавидные антитела образуются в течение первой стадии инфекции, когда содержание антигенов обычно высокое
- С возрастом эффективность селекции антител падает – неэффективность вакцинации и меньшая устойчивость к инфекциям

Методы оценки авидности IgG-антител

- Метод агглюцинации
- РИА
- РСК
- ИФА
- Электроблотинг
- электрофорез

Метод ИФА для определения авидности антител

- Инкубация сыворотки крови с адсорбированными на планшете Аг – образование ИК «Аг-Ат»
- Отмывка ФР и добавление денатурирующего раствора для удаления «ранних» IgG с низкой авидностью
- Оценка интенсивности окраски комплекса хромогеном, спектрофотометрия
- Присутствие в исследуемом образце вирусспецифических IgG с низкой авидностью определяется снижением интенсивности окрашивания по сравнению с лунками, обработанными раствором сравнения
- Расчет индекса авидности $IA = OP1 \times 100 / OP2$, где:
 - OP1 – оптическая плотность в лунках с Аг после обработки денатурирующим агентом
 - OP2 – оптическая плотность в лунках с той же сывороткой после обработки раствором сравнения

Интерпретация результатов

- Авидность ниже 30-50% - свежая первичная инфекция
- Авидность выше 50% - наличие в сыворотке высокоавидных антител – маркеров перенесенной в прошлом инфекции или персистирующей инфекции
- Авидность в интервале 31-49% может свидетельствовать о поздней стадии первичной инфекции или недавно перенесенной инфекции только при условии выявления высокой концентрации Ат
- Интерпретацию результатов определения ИА надо проводить в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя

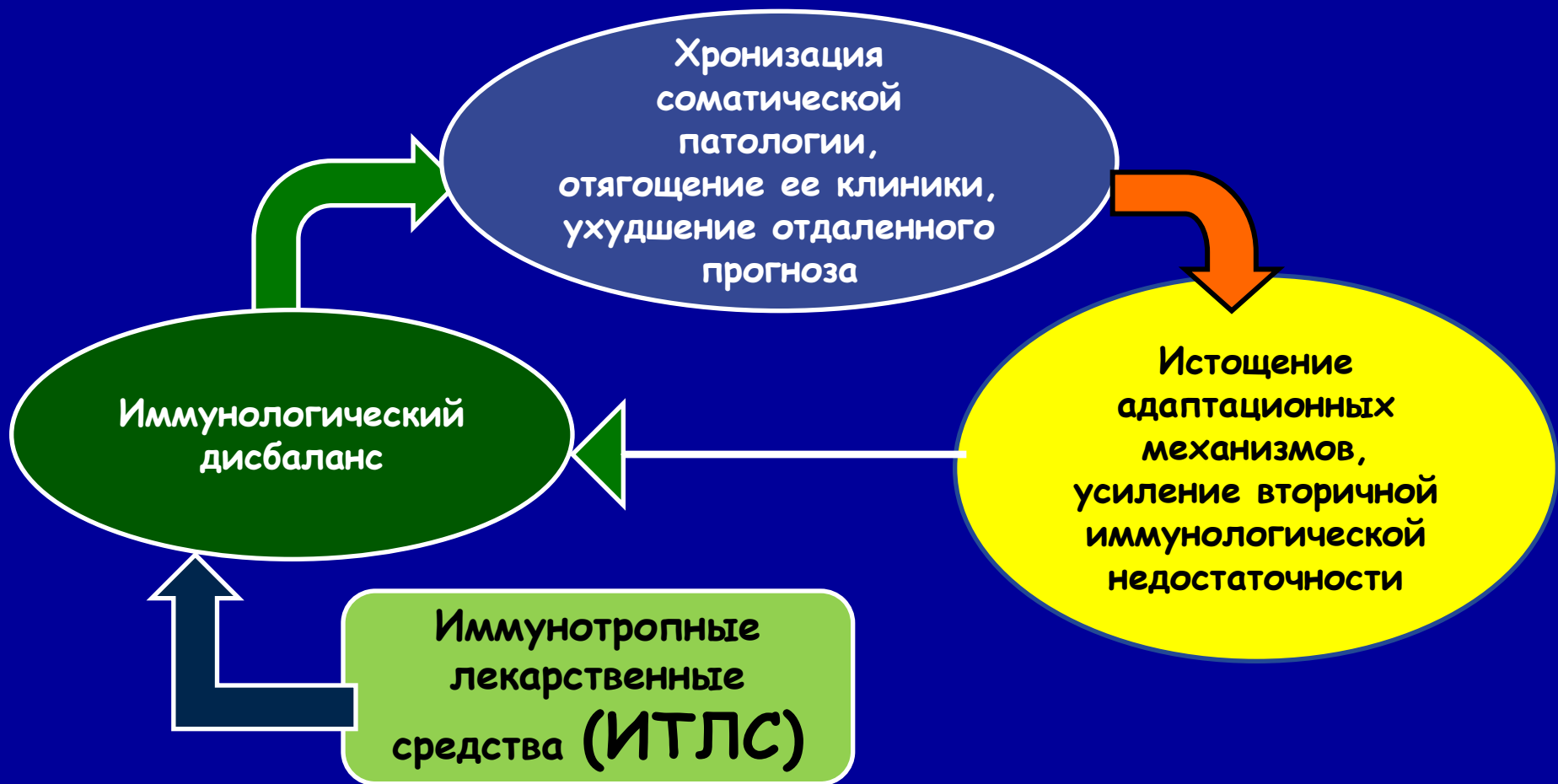


ЗАЩИТА ОТ ИНФЕКЦИИ

Антибиотики –
незаменимые
средства,
спасшие
миллионы жизней

Врожденный и
адаптивный
иммунитет

Иммунологический дисбаланс и формирование порочного круга при хронических воспалительных заболеваниях



В отличие от адаптивной иммунной системы, тонко настраиваемой на каждый проникший в организм антиген, система врожденного иммунитета сфокусирована на нескольких высоко консервативных структурах, общих для многих видов микроорганизмов.

PAMP

патоген-ассоциированные молекулярные образы (паттерны)
pathogen-associated molecular patterns



- Липополисахарид (грам-отрицательные бактерии)
- Липотейхоевые кислоты (грам-положительные)
- Пептидогликан
- Маннаны
- Бактериальная ДНК
- Двуспиральная РНК (вирусы)
- Глюканы (грибы)

Рецепторы врожденного иммунитета

- Рецепторы-мусорщики (scavenger-рецепторы)
- Маннозные
- Рецепторы к компоненту (CR1, CR3, CR4)
- Лектиновые
- Паттерн-распознающие (PRR)



Распознают общие для многих микроорганизмов структуры - патоген-ассоциированные молекулярные паттерны - PAMP

- Toll-подобные (TLR)
- NOD-1, NOD-2 др.

Лиганды TLR

HSP60, HSP70, GP96
Пептидогликан
Липопротейны
Зимозан
Некоторые формы ЛПС
Липотейхоевая кислота

HSP60, HSP70, GP96
фибронектин
фибрин/фибриноген
Дефенсины
Эластаза
ЛПС

ф
л
а
г
е
л
л
и
н

Зимозан
Диацилированные липопептиды
Пептидогликан
Липотейхоевая кислота

Триацелированные липопептиды

?

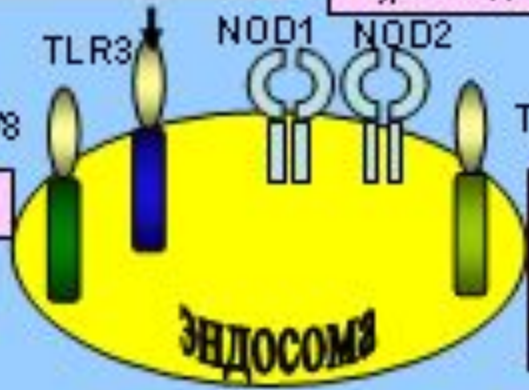
Уропатогенные бактерии

мРНК хозяина
Двухцепочечная РНК

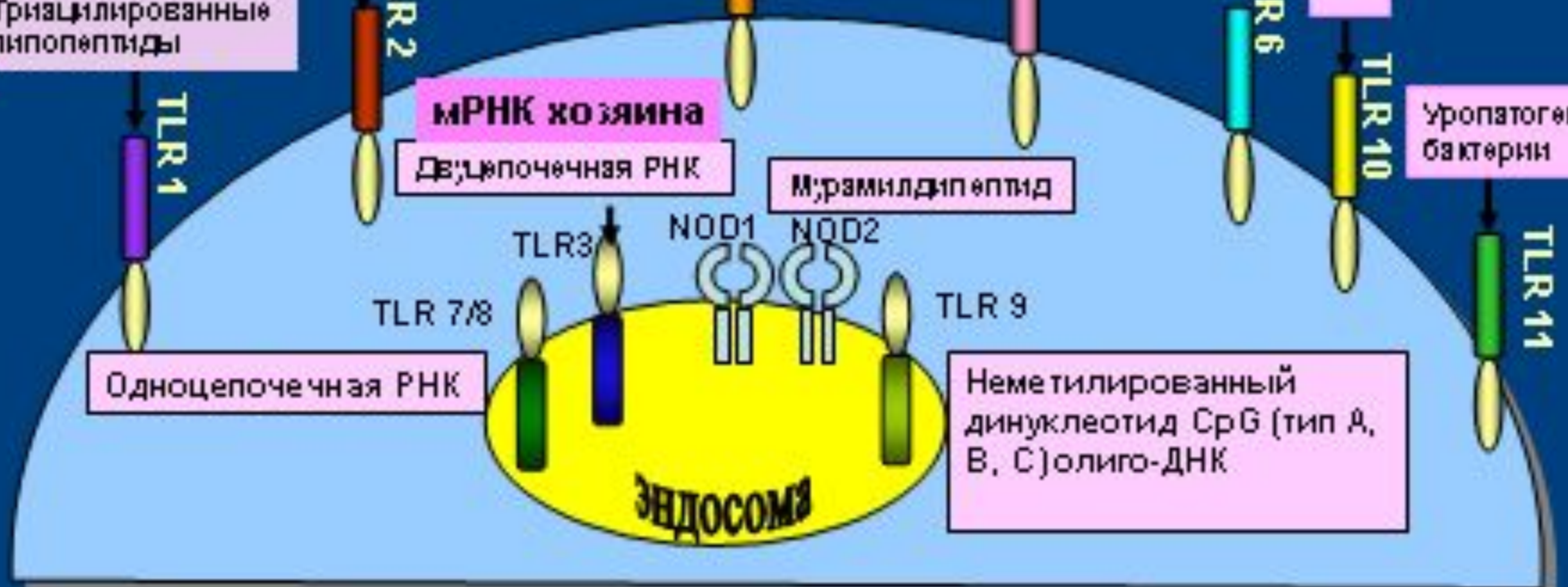
Мурамилдипептид

Одноцепочечная РНК

Неметилированный динуклеотид CpG (тип A, B, C) олиго-ДНК



ЭНДОСОМА



Treating Infectious Diseases in a Microbial World: Immunomodulation

National Academy of Sciences, USA

ISBN: 0-309-65490-4, 103 pages, 8 1/2 x 11, (2006)

Лечение инфекционных заболеваний в микробном мире: Иммуномодуляция

Национальная Академия Наук, США

ISBN: 0-309-65490-4, 103 с, 8 1/2 x 11, (2006)



TREATING INFECTIOUS DISEASES IN A MICROBIAL WORLD

Report of Two Workshops on Novel Antimicrobial Therapeutics

→ Комитет определил круг потенциальных «молекул» - активаторов врожденного иммунитета, и это, прежде всего - агонисты Toll-рецепторов, и других рецепторов врожденного иммунитета (NOD-рецепторы), включая структурную единицу пептидогликана - мурамилдипептид.

Революция в иммунотерапии

Новый взгляд на лекарственные препараты:

Это активаторы врожденного иммунитета!

«The Committee identified three potential boosters of innate immunity as having particular promise: TLR agonists and agents that modulate the TLR response pathway, cationic host-defense peptides, and direct expansion of the effector cells normally activated by the innate immune system... Other modulators acting through PRRs include the peptidoglycan subunit muramyl dipeptide,» - p. 45

Классификация иммуномодуляторов (Юшков В.В., 2012)

Тактивин, тималин

Иммунорегуляторные пептиды

Цитокины

Ронколейкин, беталейкин,
виферон

пентаглобин, интраглобин,
октагам

Препараты антител

Нуклеиновые кислоты

ридостин , деринат

галавит, полиоксидоний, тимоген,
иммунофан

Синтетические иммуномодуляторы

Бактериальные
иммуномодуляторы

- Лизаты бактерий (бронхомунал, рибомунил, ИРС19, Иммудон, Рузам и др.)
- Полусинтетические бактериальные препараты (Ликопид)

иммунал, иммуномакс,
настойка эхинацеи

Иммуномодуляторы растительные

Иммунодепрессанты

Метотрексат, азатиоприн,
циклофосфамид

- **Ликопид** - результат оригинального исследования российских ученых, которое проводилось параллельно с разработкой аналогов МДП западными специалистами.
- Из гидролизата *Lactobacillus bulgaricus* ученые выделили компонент клеточной стенки этих бактерий - **N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглютамин** (ГМДП), обладающий высокой иммуностимулирующей активностью и слабой пирогенностью.



Т.М. Андропова, ИБХ АН СССР
E. Lederer, Institut Pasteur, France

E. Lederer - синтез и описание молекулы МДП (мурамилдипептида),
Т.М. Андропова - синтез и описание молекулы ГМДП



Экспериментальные исследования ГМДП создали основу для разработки лекарственного препарата - ЛИКОПИД

В 1995 году лекарственная форма ГМДП – препарат **Ликопид**, был зарегистрирован в России в качестве иммуномодулятора для лечения и профилактики вторичных иммунодефицитных состояний у детей и взрослых:

Клинические испытания были проведены в соответствии со стандартами GCP более чем на 1000 больных



Спасибо за внимание!