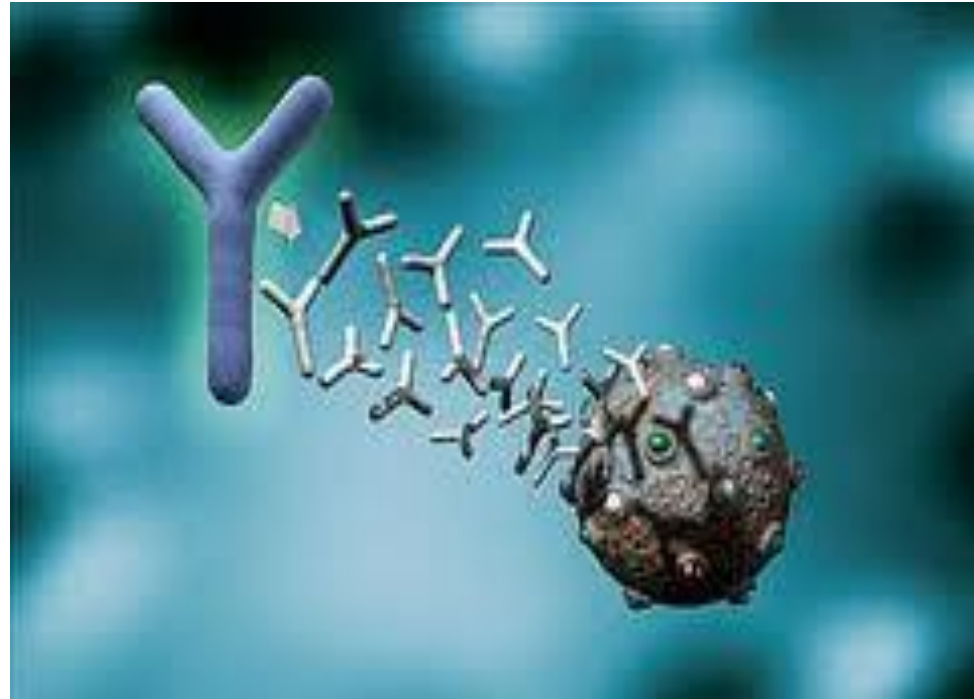


Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
ОмГМУ

Телевная Любовь Григорьевна,
к.м.н., старший преподаватель

ЛЕКЦИЯ №4

Антитела

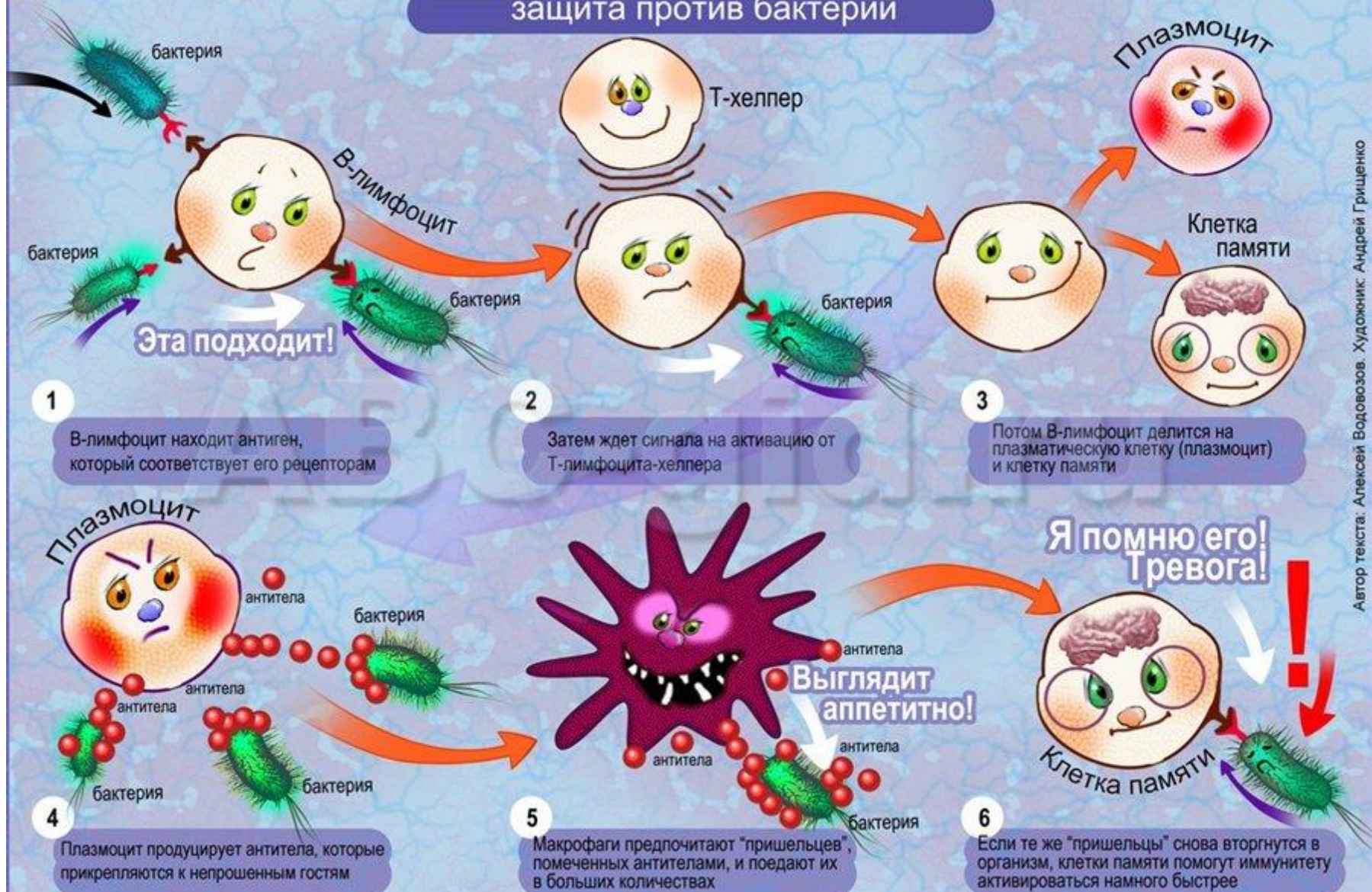


План лекции.


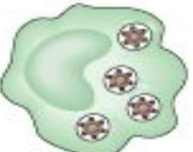





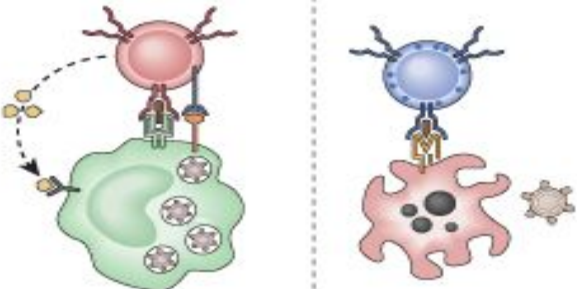
- 1. Гуморальный иммунитет.**
- 2. Иммуноглобулины, классы иммуноглобулинов.**
- 3. Роль антител в иммунном ответе.**
- 4. Моноклональные антитела (МКАТ).**
- 5. Применение препаратов антител в медицине.**

КАК НА САМОМ ДЕЛЕ РАБОТАЕТ ИММУНИТЕТ

защита против бактерий

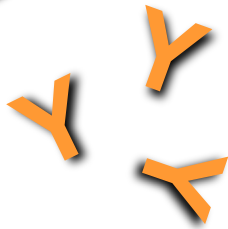
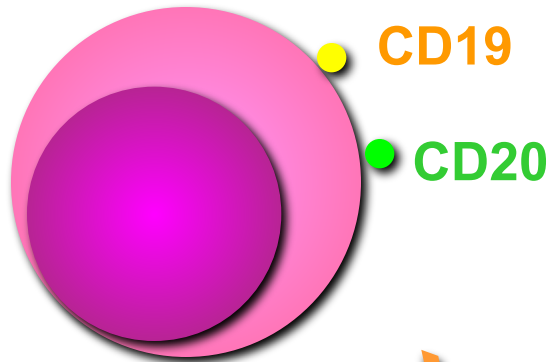


Гуморальный и клеточный адаптивный ответ

| | Гуморальный ответ | Клеточный ответ | |
|----------------------|--|---|---|
| Патогены |  <p>Внеклеточные патогены</p> |  <p>Макрофаг с патогеном</p> |  <p>Внутриклеточные патогены</p> |
| Лимфоциты |  <p>В клетки</p> |  <p>Т-хелперы</p> |  <p>Т-киллеры</p> |
| Эффекторный механизм |  |  | |
| Перенос | Антитела | Т лимфоциты | |
| Функции | Удаление внеклеточных патогенов | Активация макрофагов для разрушения патогенов | Киллинг инфицированных клеток |

Субтипы лимфоцитов

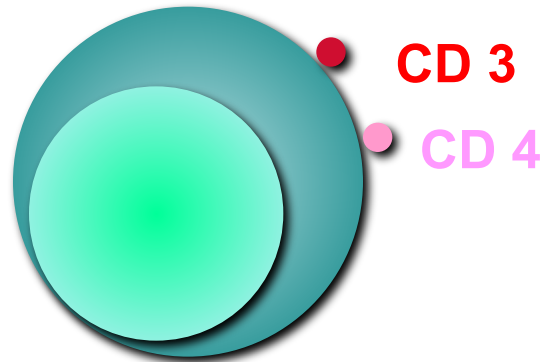
В-ЛИМФОЦИТЫ



Секреция антител

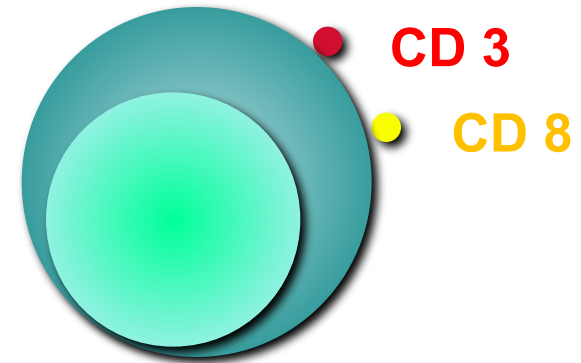
ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

Т ЛИМФОЦИТЫ



Клетки хелперы

Помогают В-Лимфоцитам
отвечать на сигнал
Помогают цитотоксическим
лимфоцитам уничтожать
инфицированные
клетки



Цитотоксические клетки

Ответственны за
уничтожение
инфицированных и
опухолевых клеток

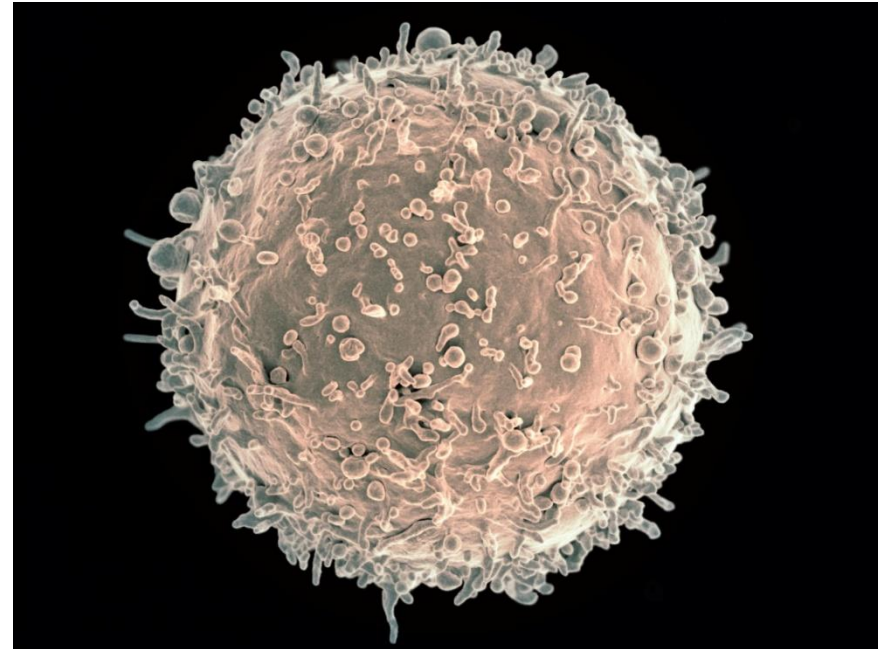
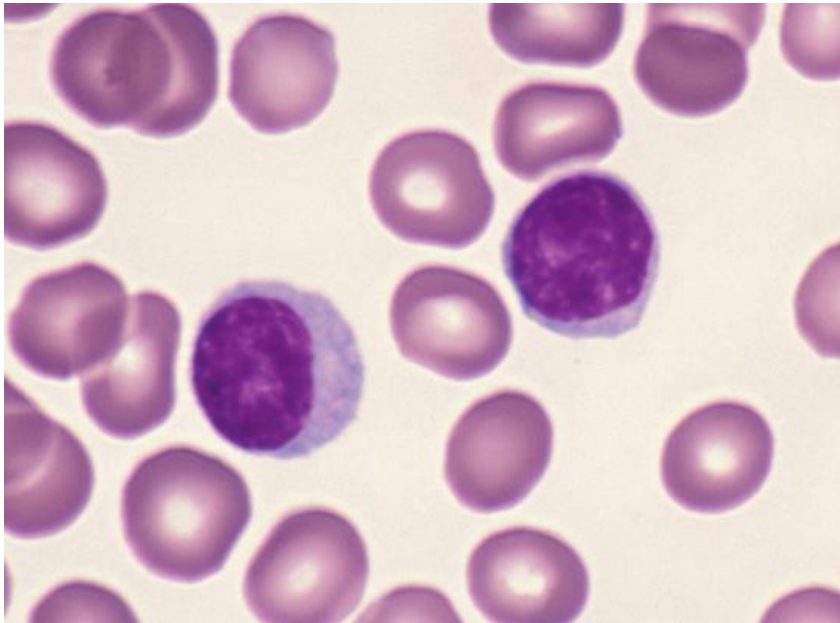
КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ

Для **гуморального иммунитета** характерна выработка специфических белков **иммуноглобулинов (Ig)**, обладающих свойствами антител.

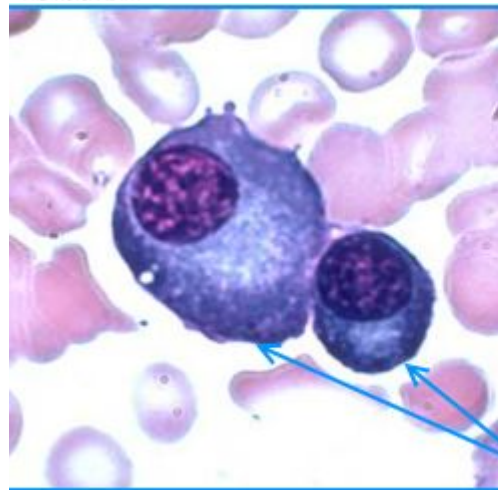
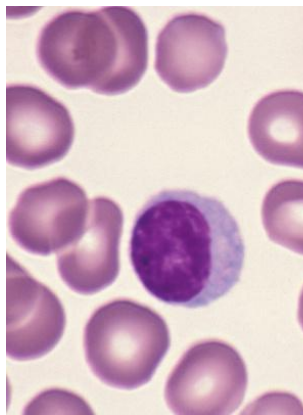
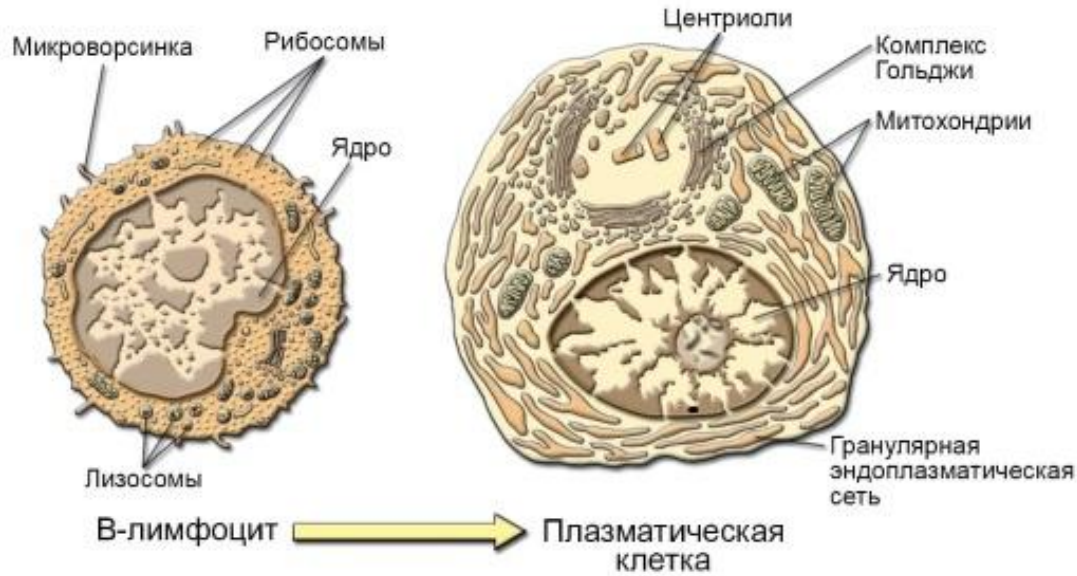
**Антитела (АТ, Аt)=иммуноглобулины (Ig)=
= гаммаглобулины** это специфические белки,

- вырабатываются в ответ на введение антигенов,
- способные специфически связываться с Аг и участвовать в иммунологических реакциях.

Иммуноглобулины (Ig) вырабатываются только и исключительно **В- лимфоцитами**, которые после контакта с антигеном превращаются в **плазматическую клетку**, являющуюся конечной формой дифференцировки В-лимфоцитов.



Плазматическая (антителосекретирующая) клетка



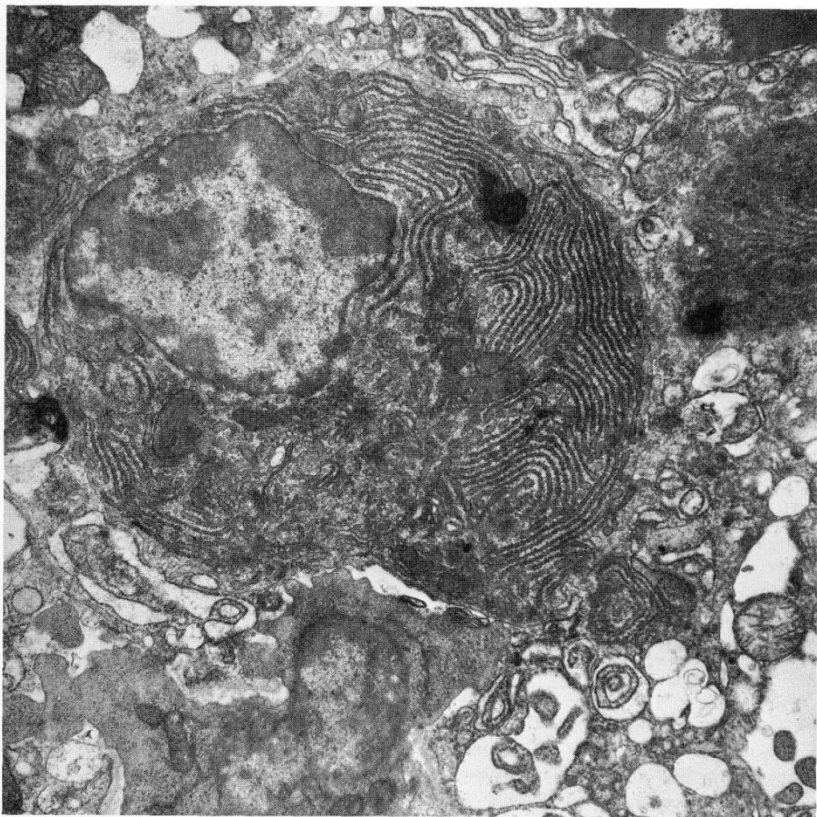
Плазмоциты в мазке крови

Плазматические клетки -
конечный этап развития
В-лимфоцитов.

Плазмоциты вырабатывают
антитела, за 1 секунду -
несколько тысяч
молекул
иммуноглобулинов.

Плазматическая (антителосекретирующая) клетка

Плазматические клетки живут до 3-х недель,
синтезируя за это время тысячи молекул Ат.



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

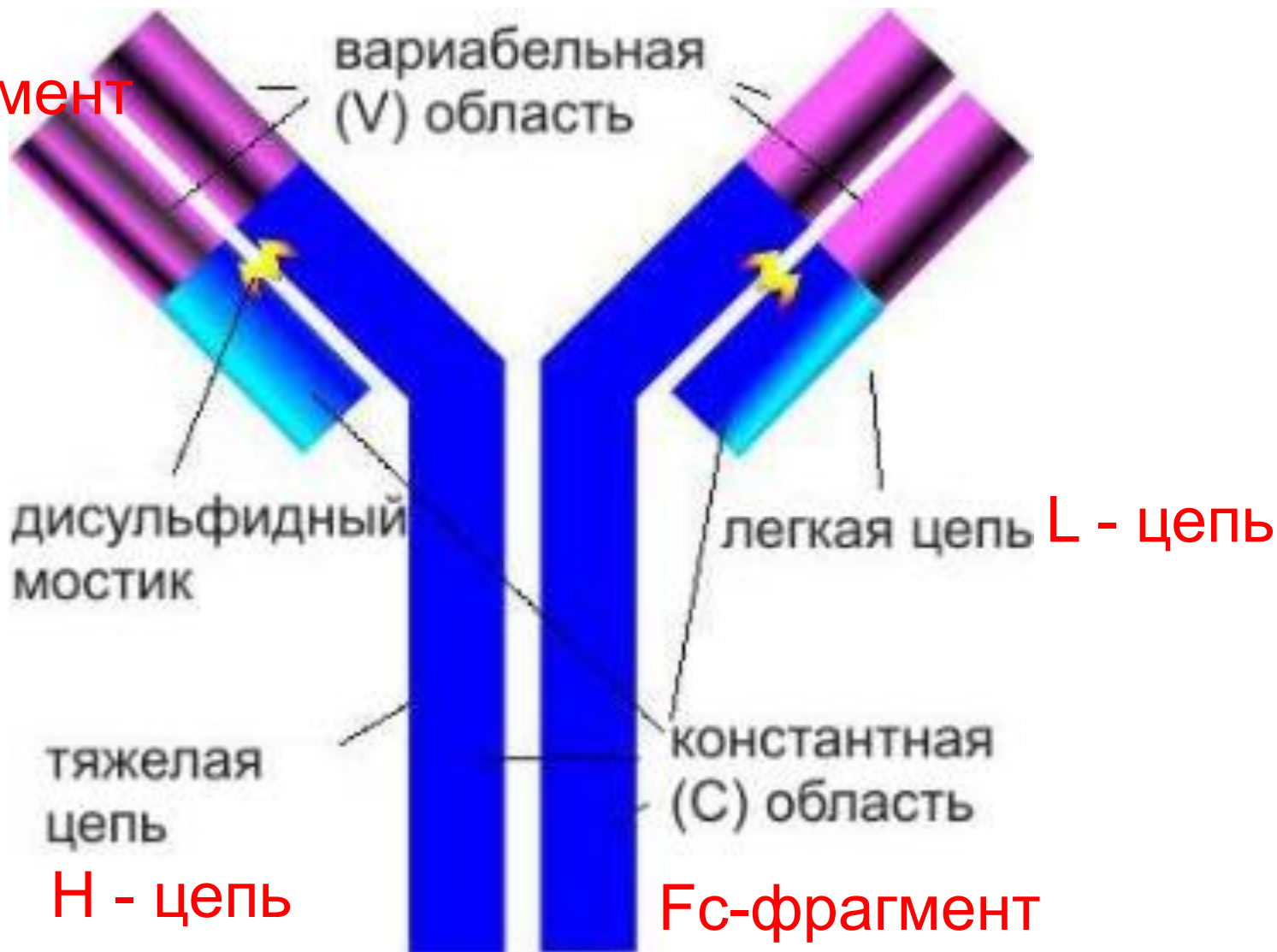
-сывороточные (в крови);

-секреторные (в содержимом ЖКТ, слезном секрете, слюне, в грудном молоке) обеспечивают иммунитет слизистых;

- поверхностные (на поверхности иммунокомпетентных клеток, особенно В-лимфоцитов).

Строение мономера иммуноглобулина

Fab -
фрагмент



Молекула мономера антител имеет Y-образную форму (рогатки) и состоит из двух тяжелых (H) и двух легких (L) цепей, связанных дисульфидными мостиками.

Каждая молекула антител имеет

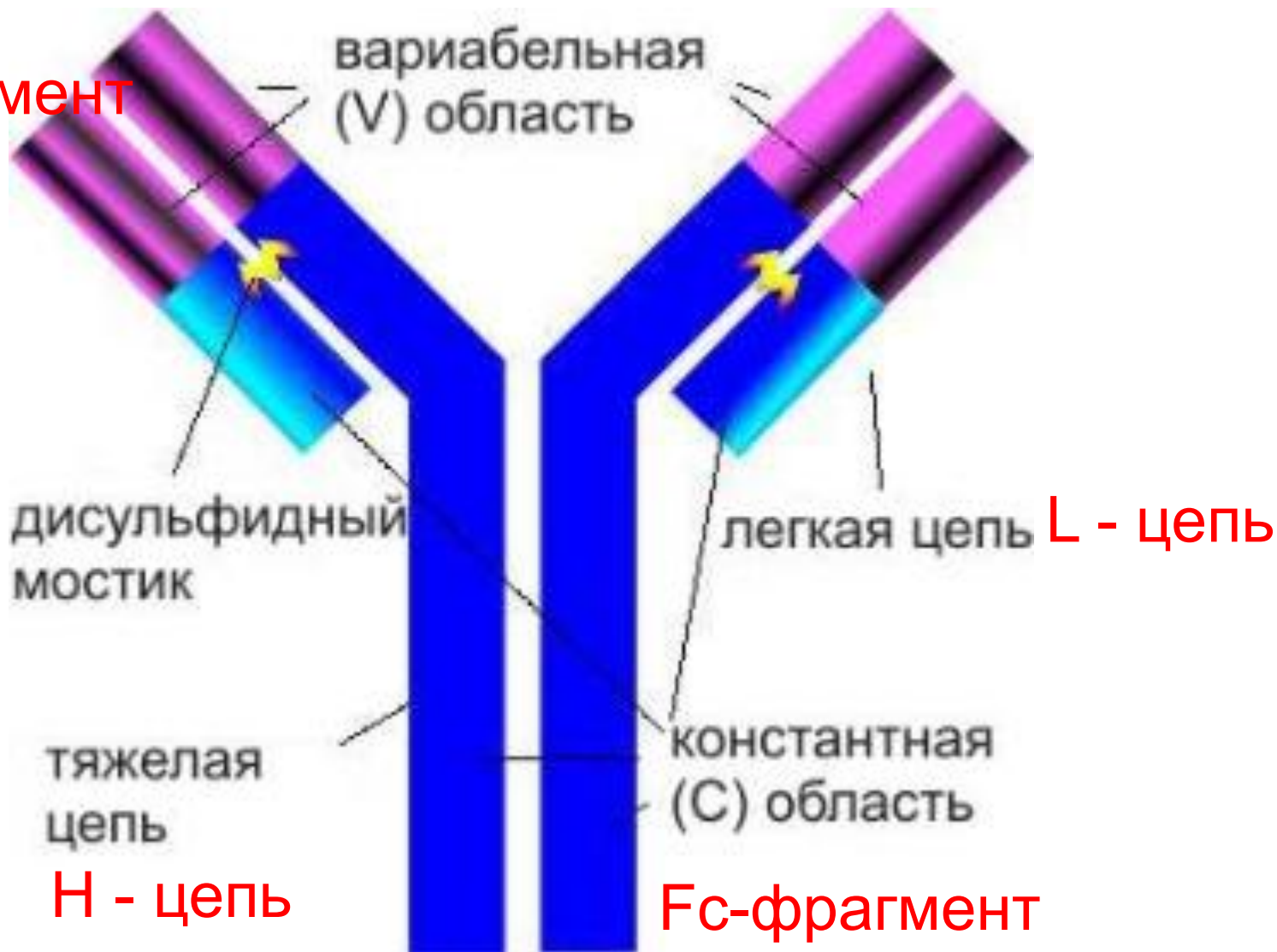
- два одинаковых **Fab фрагмента (fragment antigen binding)**, связывающих Аг и определяющих антительную специфичность, и
- один **Fc (fragment constant) фрагмент**, который не связывает антиген, но обладает эффекторными биологическими функциями. Он взаимодействует со “своим” рецептором в мембране клеток (макрофаг, тучная клетка, нейтрофил).

Концевые участки легких и тяжелых цепей молекулы иммуноглобулина переменны по составу (аминокислотным последовательностям) и обозначаются как VL и VH области. В их составе выделяют **гипервариабельные участки**, которые определяют структуру **активного центра антител** (*антигенсвязывающий центр или паратоп*).

Именно с ним взаимодействует антигенная детерминанта (**эпитоп**) антигена.

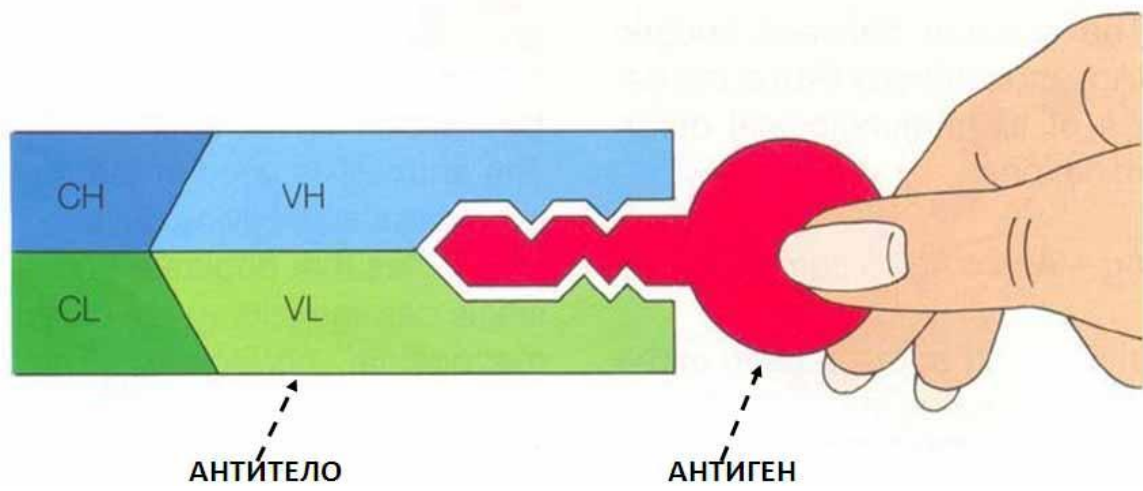
Строение мономера иммуноглобулина

Fab -
фрагмент



Антигенсвязывающий центр антител комплементарен эпитопу антигена по принципу “ключ - замок” и образован переменными областями L- и H-цепей.

Антитело свяжется антигеном (ключ попадет в замок) только в том случае, если детерминантная группа антигена полностью влезет в щель активного центра **антител.**





ACTION OF IMMUNOGLOBULINS

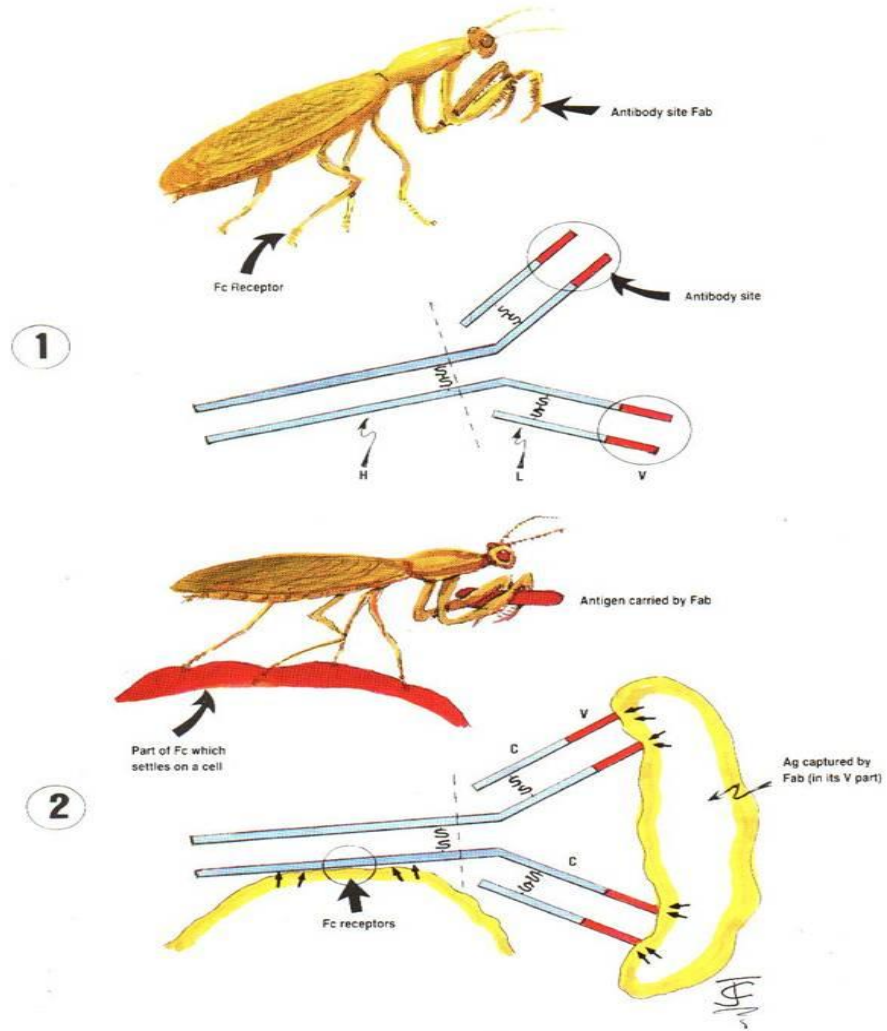
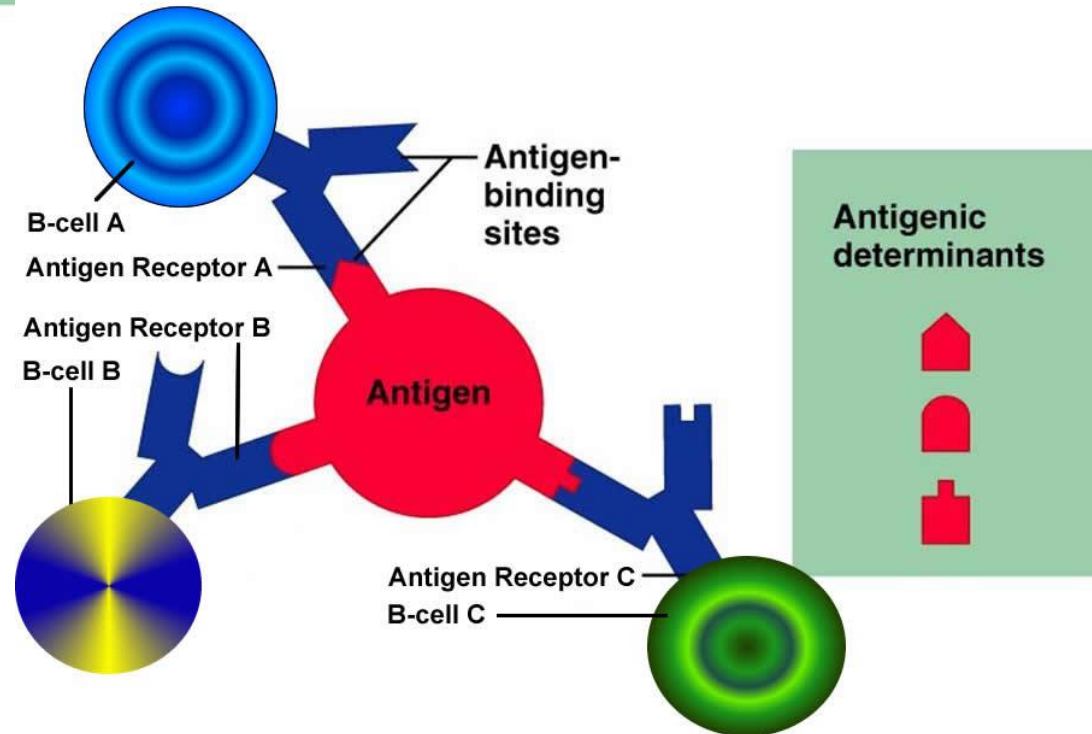
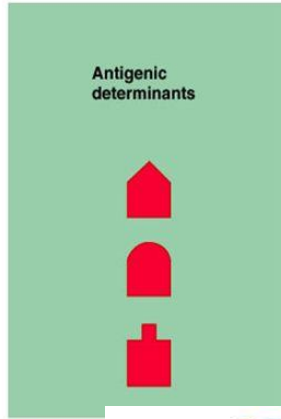
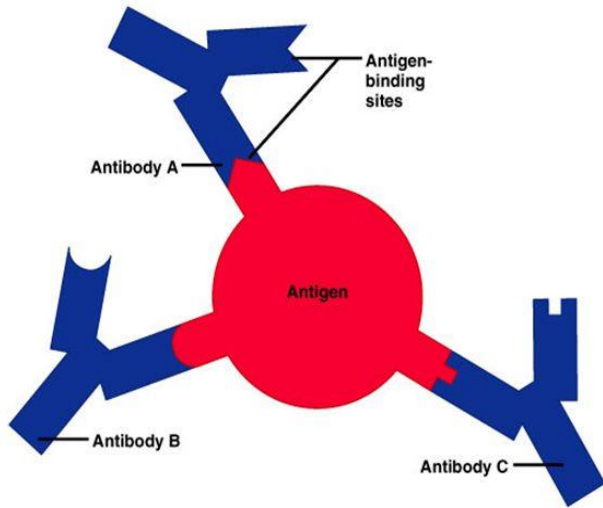
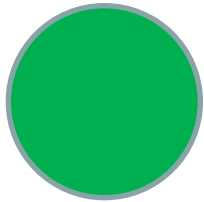
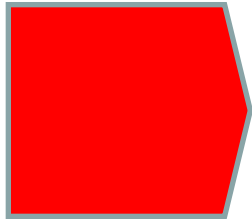


Figure 22

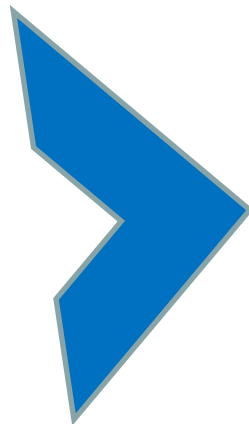
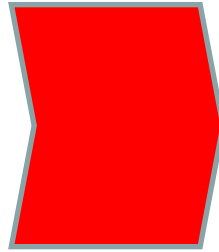
ANTIGENIC DETERMINANTS



АГ



АТ

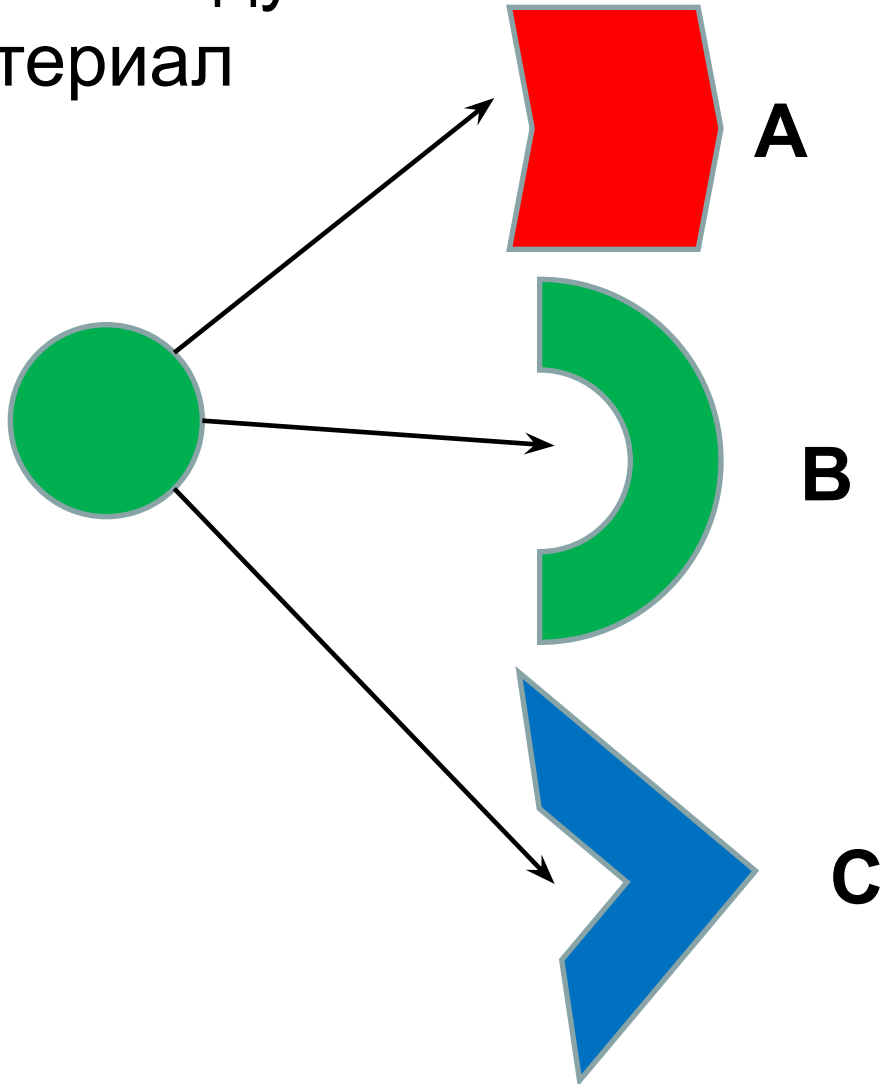


Специфичность

этого взаимодействия
чрезвычайно высока.
Именно высокая
специфичность
взаимодействия
позволяет использовать
Аг и Ат для
диагностики,
профилактики и
лечения инфекционных
и неинфекционных
заболеваний.

Серотипирование

АГ-исследуемый
материал

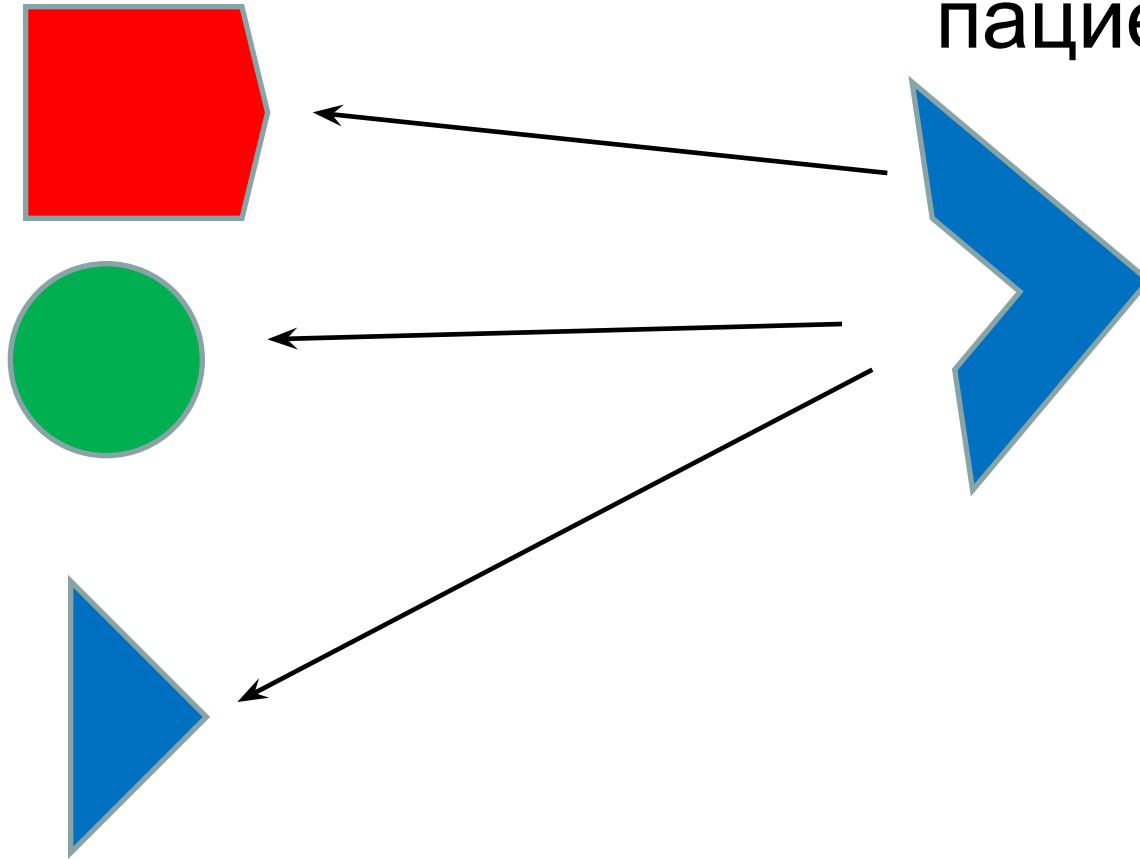


АТ- диагностические
сыворотки

Серодиагностика

АГ - антиген

АТ – сыворотка
пациента



Молекула Ig состоит из
2 тяжелых (H – Heavy) и
2 лёгких (L- Light) белковых цепей.

L- цепи бывают 2-х типов –

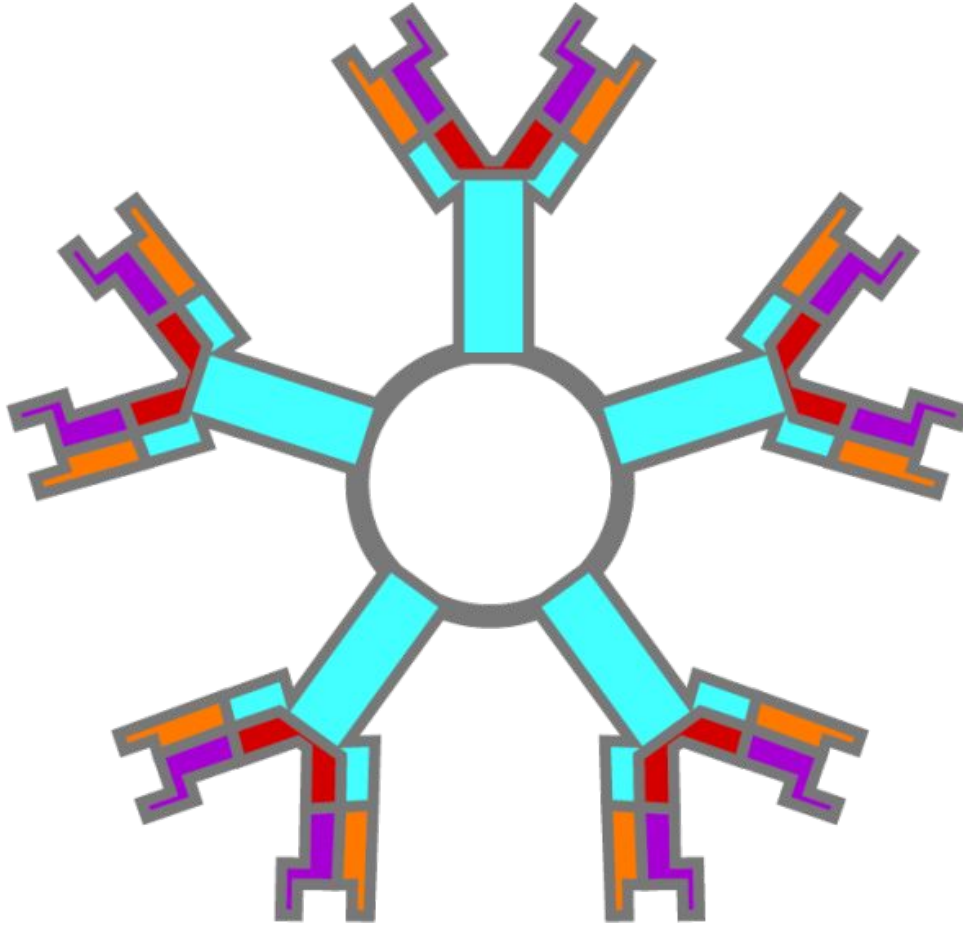
κ – каппа и λ – лямбда

и одинаковы у всех классов Иг.

По типу **H-цепей** различают 5 классов ИГ:

- у иммуноглобулина **A - α (альфа)**,
- у иммуноглобулина **G - γ (гамма)**,
- у иммуноглобулина **M- μ (мю)**,
- у иммуноглобулина **E - ϵ (эпсилон)**,
- у иммуноглобулина **D - δ (дельта)**.

Artwork by Joanne Kelly. ©2004.



IgM

IgM. Молекула представляет полимерный *Ig* из пяти мономеров, соединенных дисульфидными связями и дополнительной *J*-цепью, имеет 10 антиген - связывающих центров.

- Филогенетически это наиболее древний иммуноглобулин.
- *IgM*- наиболее **ранний** класс антител, образующихся при первичном попадании антигена в организм. Наличие *IgM*- антител к возбудителю свидетельствует о свежем инфицировании (текущем инфекционном процессе).

Концентрация ***IgM* в крови 0,5- 2,0 г/л**, период полураспада - около недели.

IgM способны агглютинировать бактерии, нейтрализовать вирусы, активировать комплемент, активизировать фагоцитоз, связывать эндотоксины грамотрицательных бактерий.

IgM обладают большей, чем *IgG* авидностью (10 активных центров), аффинность (средство к антигену) меньше, чем у *IgG*.

IgM у новорожденных- это показатель внутриутробного заражения (внутриутробные инфекции), поскольку материнские *IgM* через плаценту не проходят.



IgG

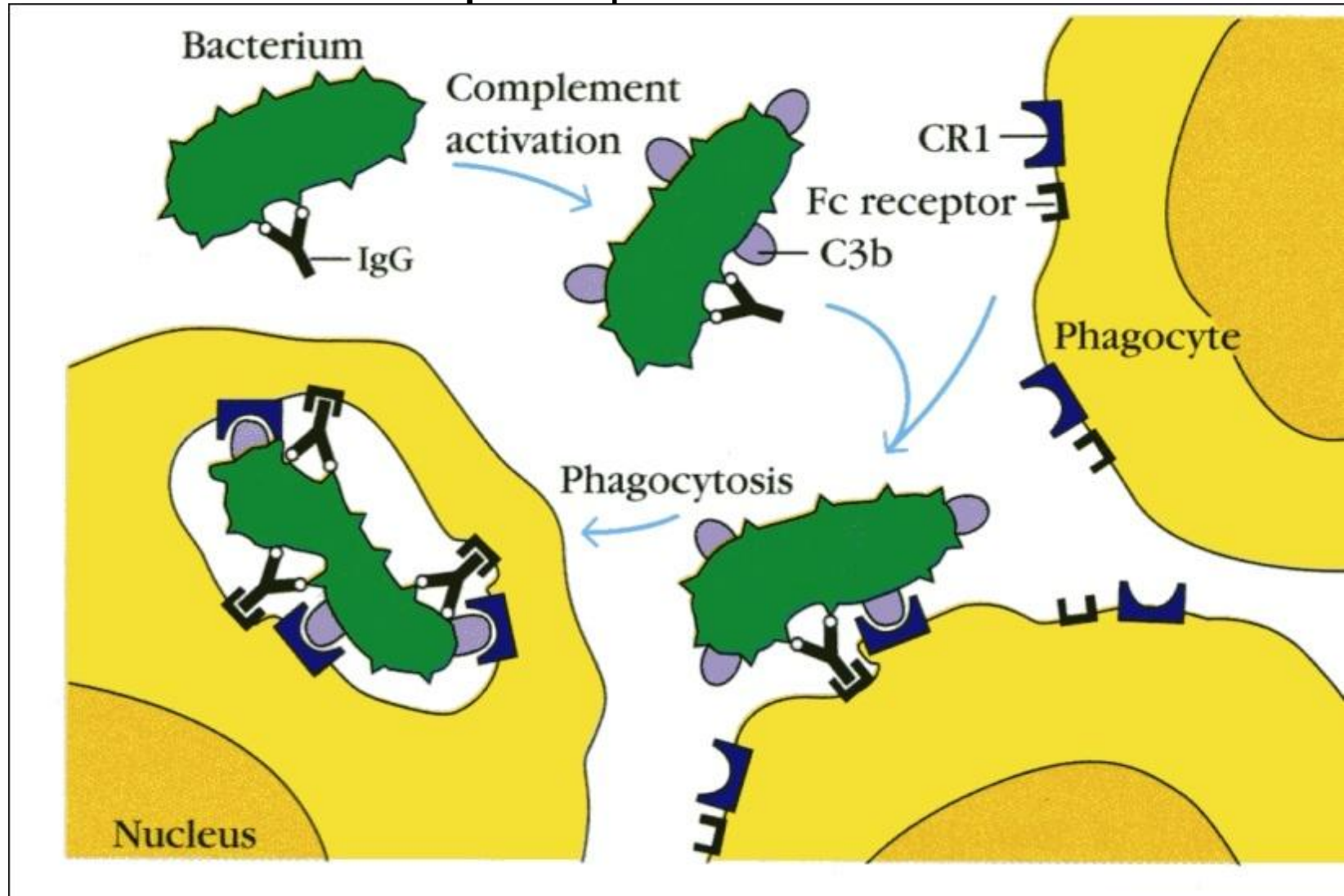
Характеристика основных классов иммуноглобулинов

Ig G. Мономеры, включают четыре субкласса. Концентрация в крови- 8 - 17 г/л, период полураспада- 3- 4 недели. Это основной класс Ig, защищающий организм от бактерий, токсинов и вирусов. В наибольшем количестве IgG- антитела вырабатываются на стадии выздоровления после инфекционного заболевания (**поздние** антитела), при вторичном иммунном ответе. Они появляются позже и более длительно выявляются в крови, чем IgM.

IgG1 и IgG4 специфически (через *Fab*- фрагменты) связывают возбудителей (**опсонизация**), благодаря Fc-фрагментам IgG взаимодействуют с Fc- рецепторами фагоцитов, способствуя фагоцитозу и лизису микроорганизмов. IgG способны нейтрализовать бактериальные экзотоксины, связывать комплекс.

Только **IgG** способны проходить через плацентарный барьер и обеспечивать защиту материнскими антителами плода и новорожденного (**пассивный естественный иммунитет**).

Опсонизация бактерий антителами и комплементом для повышения эффективности фагоцитоза



Через аналогичные рецепторы, расположенные на плаценте, происходит проникновение антител класса IgG в организм плода, что создает ему пассивный иммунитет. Примечательно, что внутриутробно у ребенка не синтезируются антитела, но у новорожденного в крови концентрация материнских антител равна их содержанию у матери. Кроме того, антитела этого класса из грудного молока могут проходить через слизистые оболочки ребенка, что также вносит вклад в его пассивный иммунитет. Благодаря относительно медленному катаболизму IgG (период полувыведения составляет 21 день) антител данного класса в достаточно высокой концентрации циркулирует в организме ребенка до 4-6-9 месячного возраста.

Иммуноглобулины в сыворотке взрослого,

%
100

Материнские
IgG

Временная
гипогаμμα-
глобулин-
емия

IgM

IgG

IgA

0

-6

-3

Роды

3

6

9

1

2

3

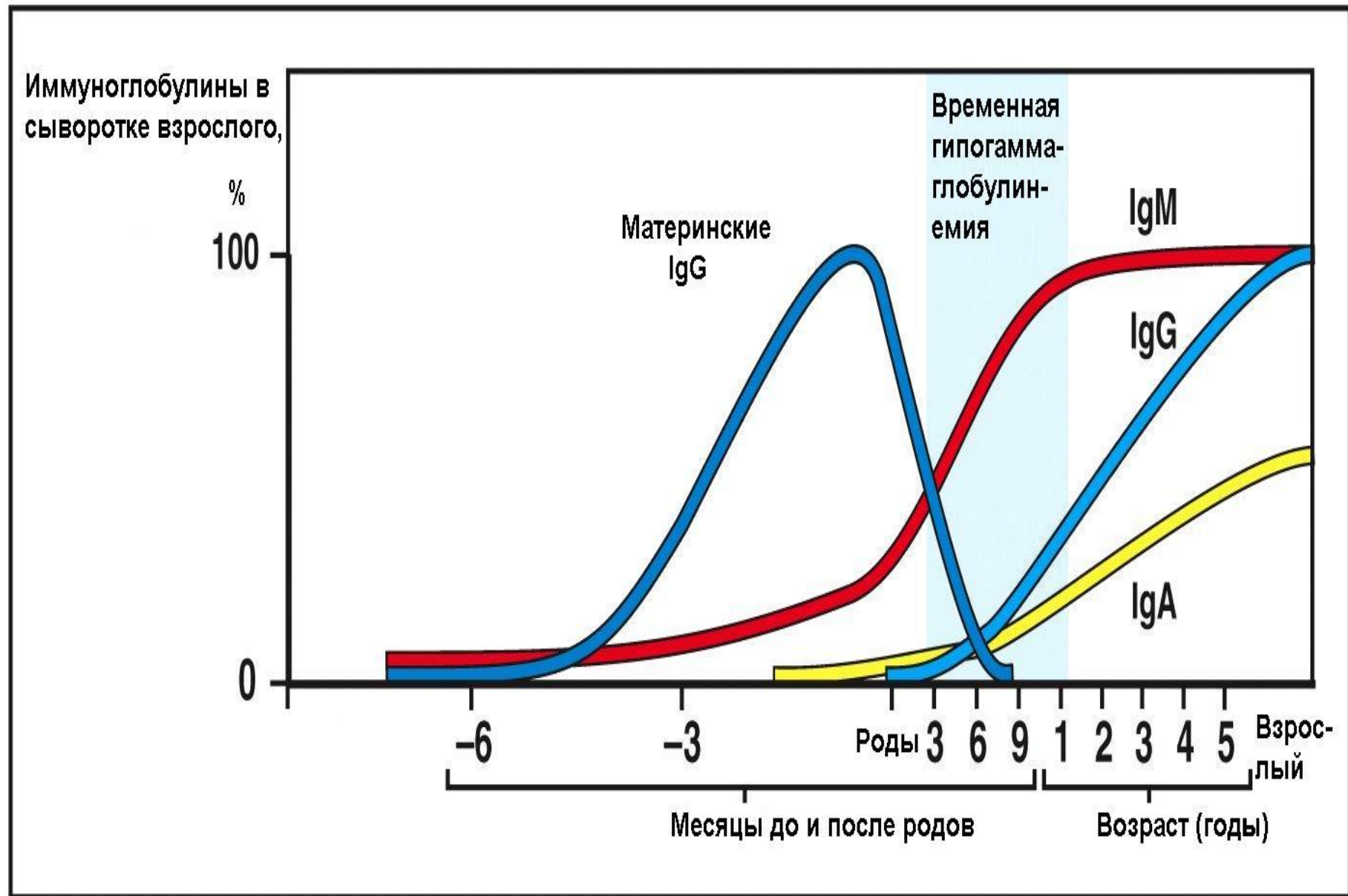
4

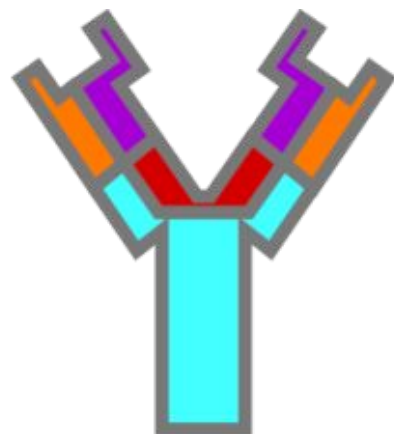
5

Взрос-
лый

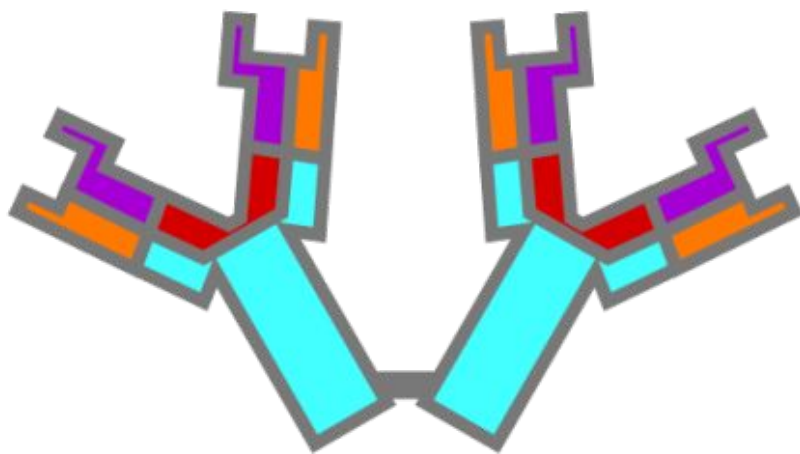
Месяцы до и после родов

Возраст (годы)





IgA сывороточный



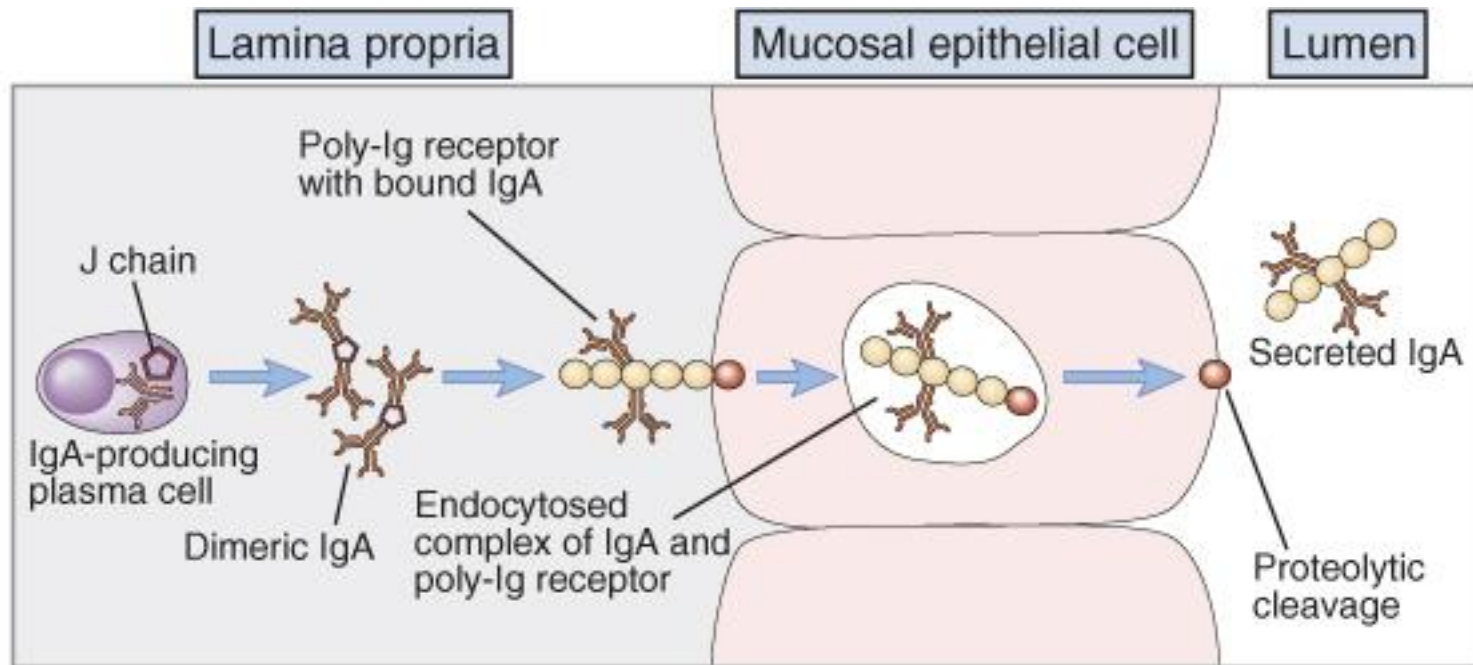
IgA секреторный

IgA. Выделяют **сывороточные IgA** (мономер) и **секреторные IgA (IgAs)**. Сывороточные IgA составляют 1,4- 4,2 г/л.

IgAs находятся в слюне, пищеварительных соках, секрете слизистой носа, в молозиве. Они являются первой линией защиты слизистых. IgAs состоят из 2-х мономеров, J-цепи и гликопротеина (**секреторного компонента**). Выделяют два субкласса- IgA1 преобладает в крови, IgA2 - в секретах.

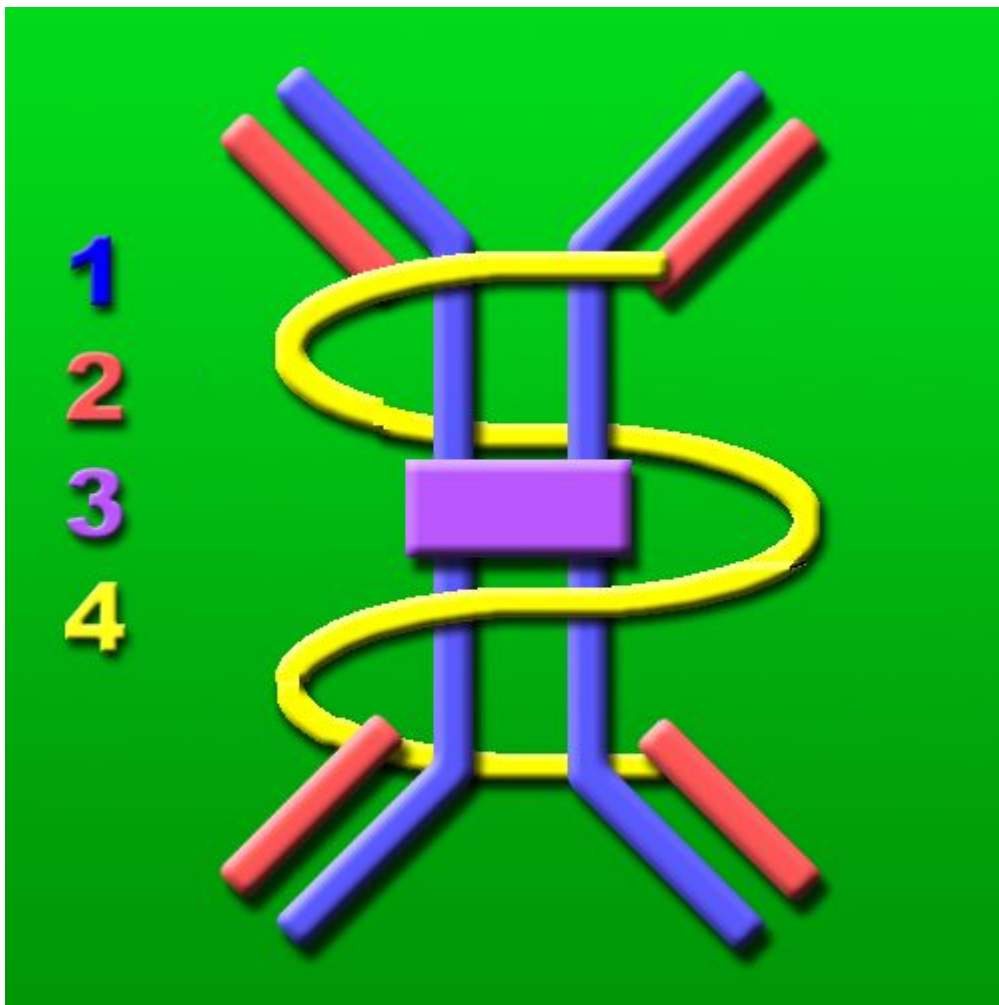
Основная роль IgA- обеспечение местного иммунитета слизистых. Они препятствуют прикреплению микробов к слизистым, обеспечивают транспорт полимерных иммунных комплексов с IgA, нейтрализуют энтеротоксин, активируют фагоцитоз и систему комплемента.

Транспорт IgA через эпителиальные клетки



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

Циркулирующие в крови IgA захватываются рецептором, расположенным на эпителиальных клетках со стороны базальной мембраны. Комплекс IgA+рецептор эндоцитируется и выносится на поверхность слизистой оболочки с частью рецептора, выполняющего роль секреторного компонента IgA. Секреторный компонент защищает IgA от протеолиза.



Секреторный
иммуноглобулин А –
димер

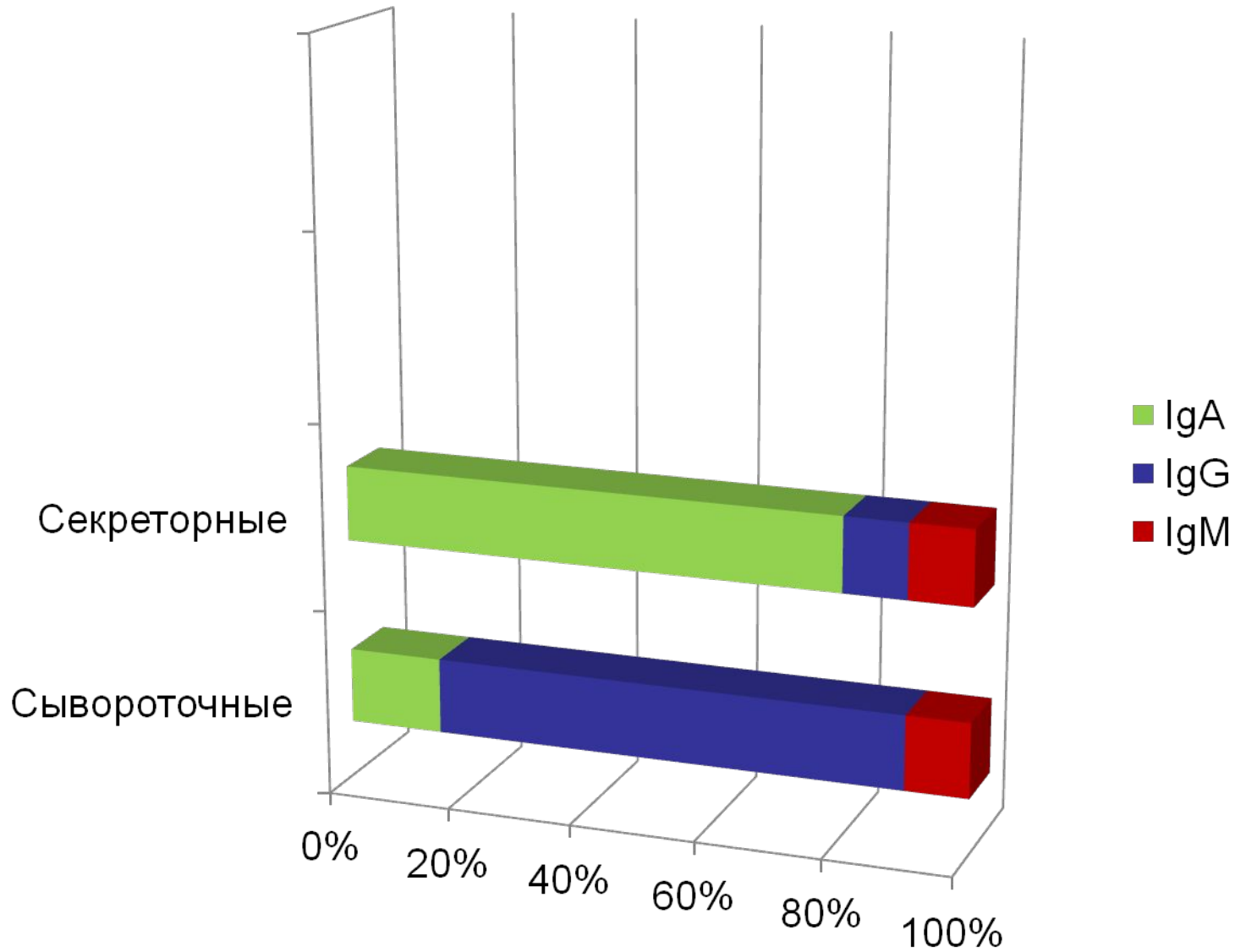
1 Н- цепь

2 L-цепь

3 J-цепь

4 секреторный
компонент

Соотношение классов иммуноглобулинов в сыворотке крови и секретах

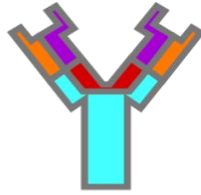


IgE. Представляет мономер, в сыворотке крови находится в низких концентрациях. Основная роль- Fc- фрагментами прикрепляется к тучным клеткам и базофилам и опосредует *реакции гиперчувствительности немедленного типа.* К IgE относятся “антитела аллергии” - ***реагины.*** Уровень IgE повышается при аллергических состояниях.

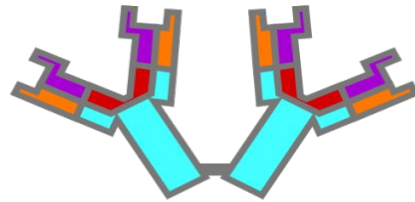
IgD. Мономеры IgD обнаруживают на поверхности развивающихся В- лимфоцитов, в сыворотке находятся в крайне низких концентрациях.

IgD участвуют в дифференциации В-клеток, участвуют в аутоиммунных процессах.

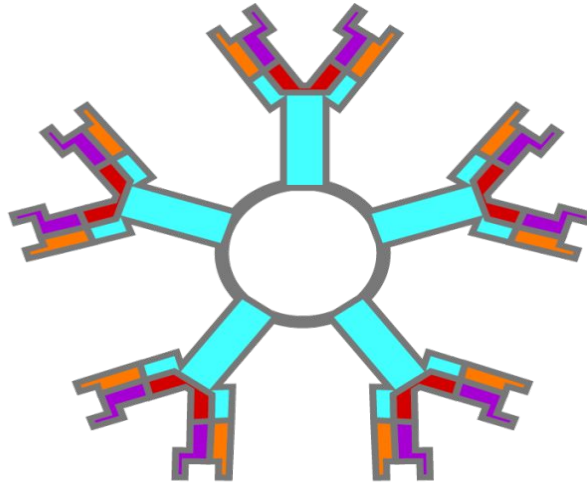
Иммуноглобулины - Ig



IgG, IgD, IgE, и сывороточный IgA



Секреторный IgA



IgM

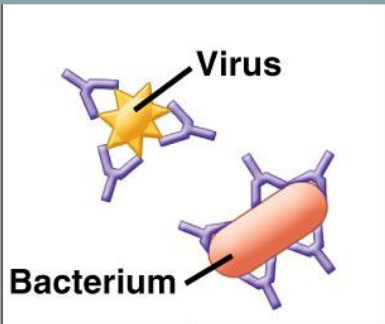
Роль антител в формировании иммунитета.

Антитела формируют приобретенный **постинфекционный и поствакцинальный** иммунитет.

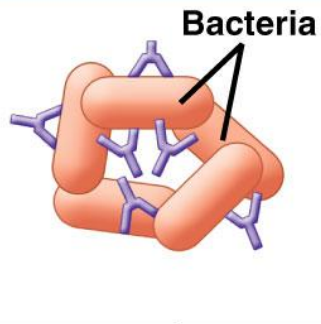
1. Связываясь с токсинами, антитела нейтрализуют их, обеспечивая **антитоксический иммунитет**.
2. Антитела участвуют в **опсонизации** бактерий, способствуя более эффективному фагоцитозу.
3. Комплекс антиген - антитело запускает **классический путь активации комплемента с его эффекторными функциями** (лизис бактерий, опсонизация, воспаление, стимуляция макрофагов).
4. Блокируя рецепторы вирусов, антитела препятствуют адсорбции вирусов на клетках, участвуют в **противовирусном** иммунитете.
5. Антитела способствуют выведению из организма (с мочой, желчью) растворимых антигенов в виде **циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК)**.

Связывание антител с антигеном

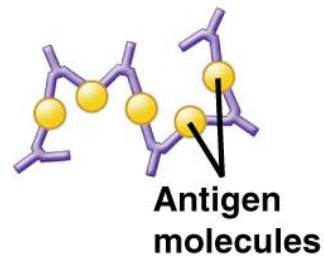
Нейтрализация вирусов и бактерий



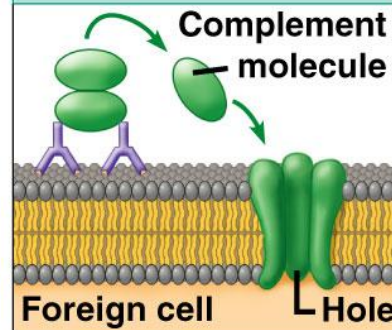
Агглютинация бактерий



Преципитация растворимых антигенов

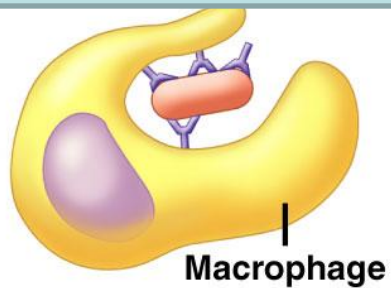


Активация системы комплемента



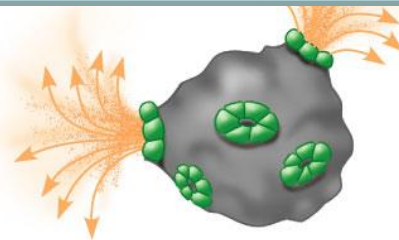
Enhances

Фагоцитоз



Leads to

Лизис клеток



IgG принадлежит наибольшая роль в анитоксическом иммунитете,

IgM- в антимикробном иммунитете (фагоцитоз корпускулярных антигенов), особенно в отношении грамотрицательных бактерий,

IgA- в противовирусном иммунитете (нейтрализация вирусов),

IgAs- в местном иммунитете слизистых оболочек,

IgE- в реакциях гиперчувствительности немедленного типа.

Практическое использование антител

Определение иммуноглобулинов разных классов в сыворотке и секретах позволяет оценить иммунный статус, выявить дефекты иммунной системы.

Определение антител к конкретному возбудителю даёт возможность выявить причину инфекционного заболевания, определить его стадию, активность процесса и прогноз.

Препараты иммуноглобулинов используются:

- для профилактики и лечения инфекционных заболеваний (противодифтерийная сыворотка, противостолбнячная сыворотка, противостафилококковый гаммаглобулин и др.)
- для заместительной терапии при иммунодефицитных состояниях.

Препараты иммуноглобулинов человека назначается при следующих заболеваниях: иммунодефицитные состояния; аутоиммунные болезни; тяжелые вирусные, бактериальные, грибковые инфекции; профилактика заболеваний у лиц из группы риска (например, у детей, родившихся глубоко недоношенными).

Существуют также антитела против отдельных состояний. Например, антирезусный иммуноглобулин следует использовать при резус-конфликте во время беременности.

Пентаглобин

Иммуноглобулин человека
нормальный (IgG+IgM+IgA)
Раствор для внутривенного введения

В 1 мл раствора содержится:

Действующее вещество:

Белки плазмы человека 50 мг

Из них иммуноглобулин не менее 95%

IgM 6 мг, IgA 6 мг, IgG 38 мг

Вспомогательные вещества:

Моногидрат глюкозы 27,5 мг


Ионы натрия 78 мкмоль

Ионы хлора 78 мкмоль

Вода для инъекций до 1 мл

50 мл

Биотест Фарма ГмбХ
63303 Драйайх,
Германия

 **Biotest**

МИКРОХИГЕН



**Иммуноглобулин
человека нормальный**
раствор для внутримышечного введения

10 ампул по 1 дозе (1,5 мл)

Отпускается по рецепту врача

Стерильно





БИ ФАРМА



ГАММАЛИН®

Gammalinum®

Иммуноглобулин

против вируса герпеса простого 1 типа человека

Жидкость

Антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, гепатиту С
и HBsAg в сырье отсутствуют

10 ампул
по 1.5 мл
(1 доза)

Стерильно
Внутримышечно

БИ ФАРМА



Пані Аптека

Иммуноглобулин

человека против вируса Эпштейн - Барр

Immunoglobulinum humanum
contra virus Epstein-Barr

Жидкость

Антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, гепатиту С
и HBsAg в сырье отсутствуют

10 ампул
по 1.5 мл
(1 доза)

Стерильно
Внутримышечно

Україна, БЦТ "Біофарма"
Україна, ФАБ "Біофарма"
02028, Київ-28, вул. М. Радомська, 9
02028, Київ-28, ул. М. Радомская, 9
тел. (044) 275-16-04, 275-91-50, 521-15-38
Регістраційний номер

Штриховий код

БИ●ФАРМА 

Пані Аптека

ЗОСТЕВИР®

(имунобулін против вірусу Varicella
Zoster человека жидкий)

Zostevirum®

Жидкость

Антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, гепатиту С
и HBs Ag в сырье отсутствуют

10 ампул
по 1.5 мл
(1 доза)

Стерильно
Внутримышечно

Застосовувати тільки за призначенням лікаря! Застосовувати тільки за призначенням лікаря!
Застосовувати тільки за призначенням лікаря! Застосовувати тільки за призначенням лікаря!
Застосовувати тільки за призначенням лікаря! Застосовувати тільки за призначенням лікаря!

РЕЗОНАТИВ

Иммуноглобулин человека антирезус Rh(D)
Раствор для внутримышечного введения

625 ME/мл

РЕЗОНАТИВ

Иммуноглобулин человека антирезус Rh(D)

Раствор для внутримышечного введения

625 ME/мл

1 ампула по 2 мл.
1250 ME/2 мл

В 1 мл раствора содержится:

иммуноглобулин человека антирезус Rh (D) 625 ME

вспомогательные вещества:

глицин 20 мг

натрия ацетат, натрия хлорид,

соответствует содержанию натрия 1,6 мг

вода для инъекций до 1 мл

octapharma

Авторы гибридной технологии-лауреаты Нобелевской премии 1976 г.

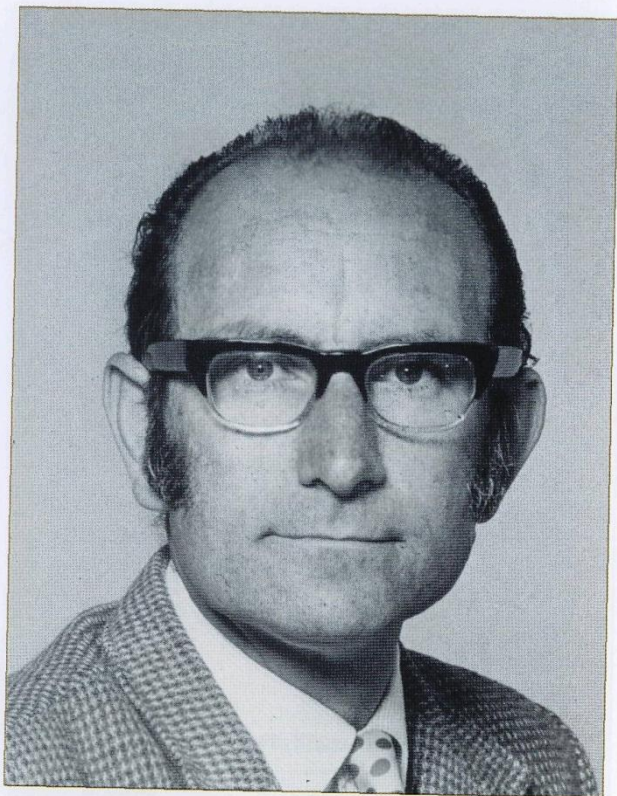


Figure 9 César Milstein

Цезарь Мильштейн

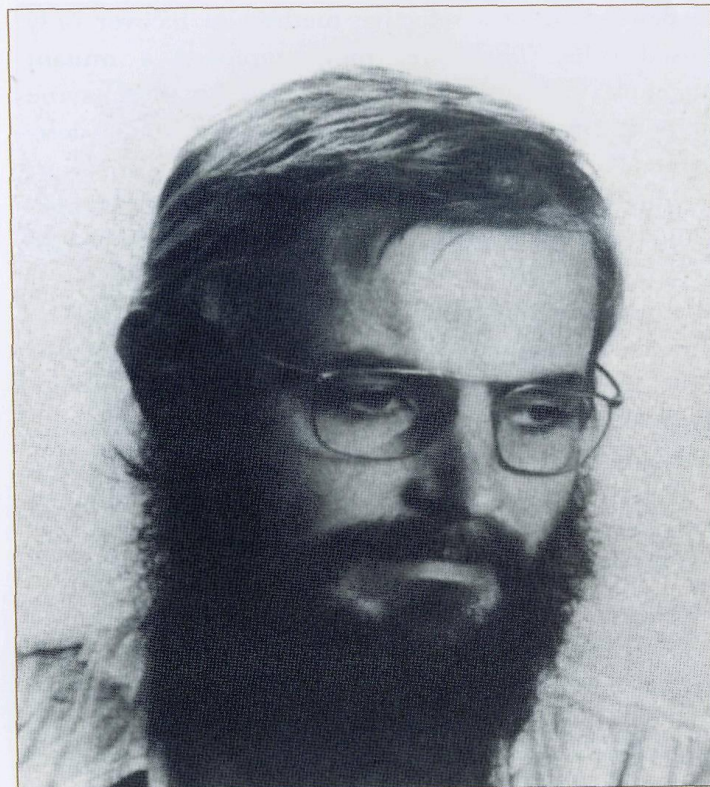
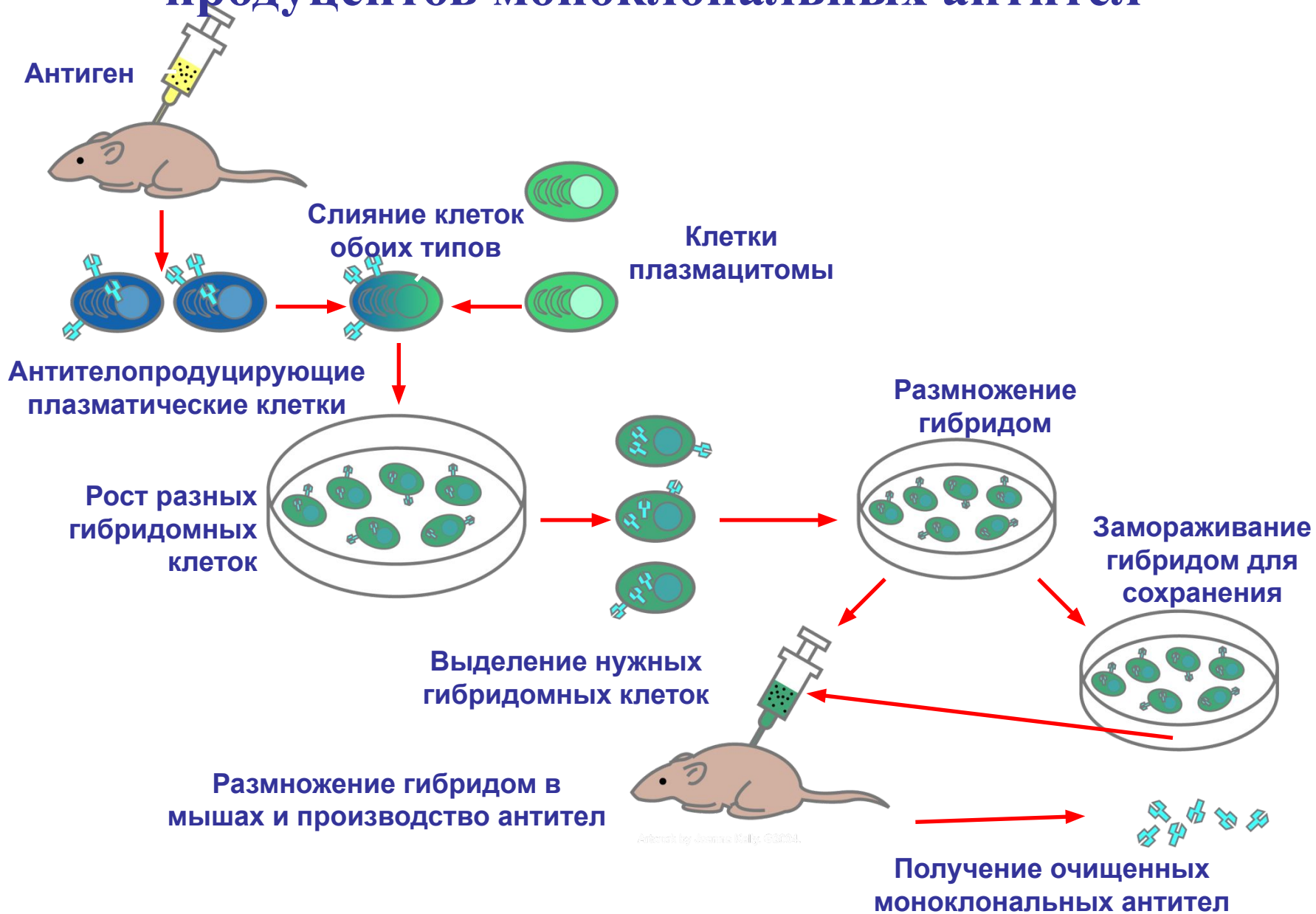


Figure 8 Georges J. F. Köhler

Георг Кохлер

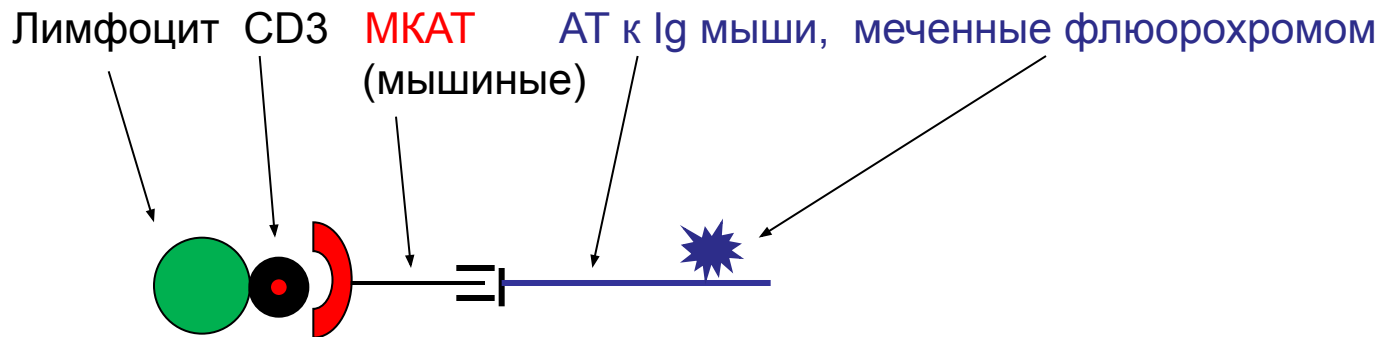
Получение гибридом- продуцентов моноклональных антител



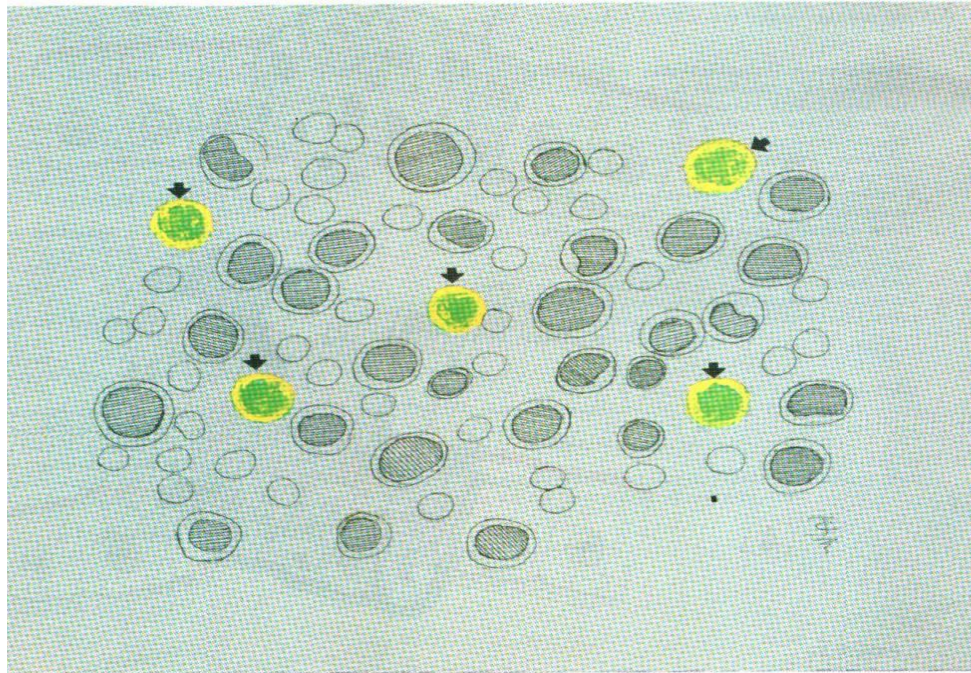
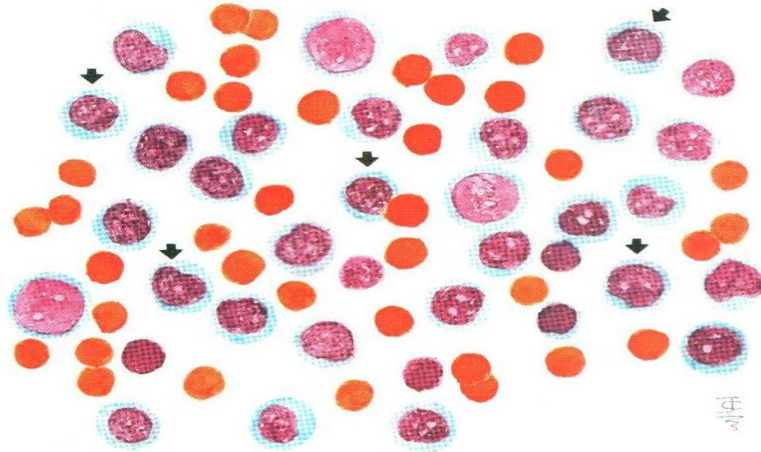
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ (РИФ) С ПОМОЩЬЮ МКАТ

На поверхности лимфоцитов находятся группы рецепторов, называемые кластерами детерминант (CD). Для каждой субпопуляции лимфоцитов характерны определенные CD.

Принцип метода основан на том, что мышинные моноклональные антитела - МКАТ присоединяются к соответствующим рецепторам на поверхности лимфоцитов, а участки их фиксации выявляются с помощью антител к иммуноглобулинам мыши, меченных флюорохромом (краситель, светящийся в ультрафиолетовых лучах).



CELLULAR MARKING



Применение МКАТ.

Диагностика - приготовление тест-систем для диагностики инфекционных заболеваний, обнаружения опухолевых антигенов, диагностика лейкозов, определение групп крови, антигенов гистосовместимости (HLA) и др.

Фармацевтические задачи – получение лекарственных препаратов, содержащих Ат к опухолевым клеткам, различным бактериям и вирусам, к лимфоцитам, вызывающим отторжение трансплантата.

Вакцинология – с помощью МКАТ отбираются «нужные Аг», на основе которых готовятся вакцины.

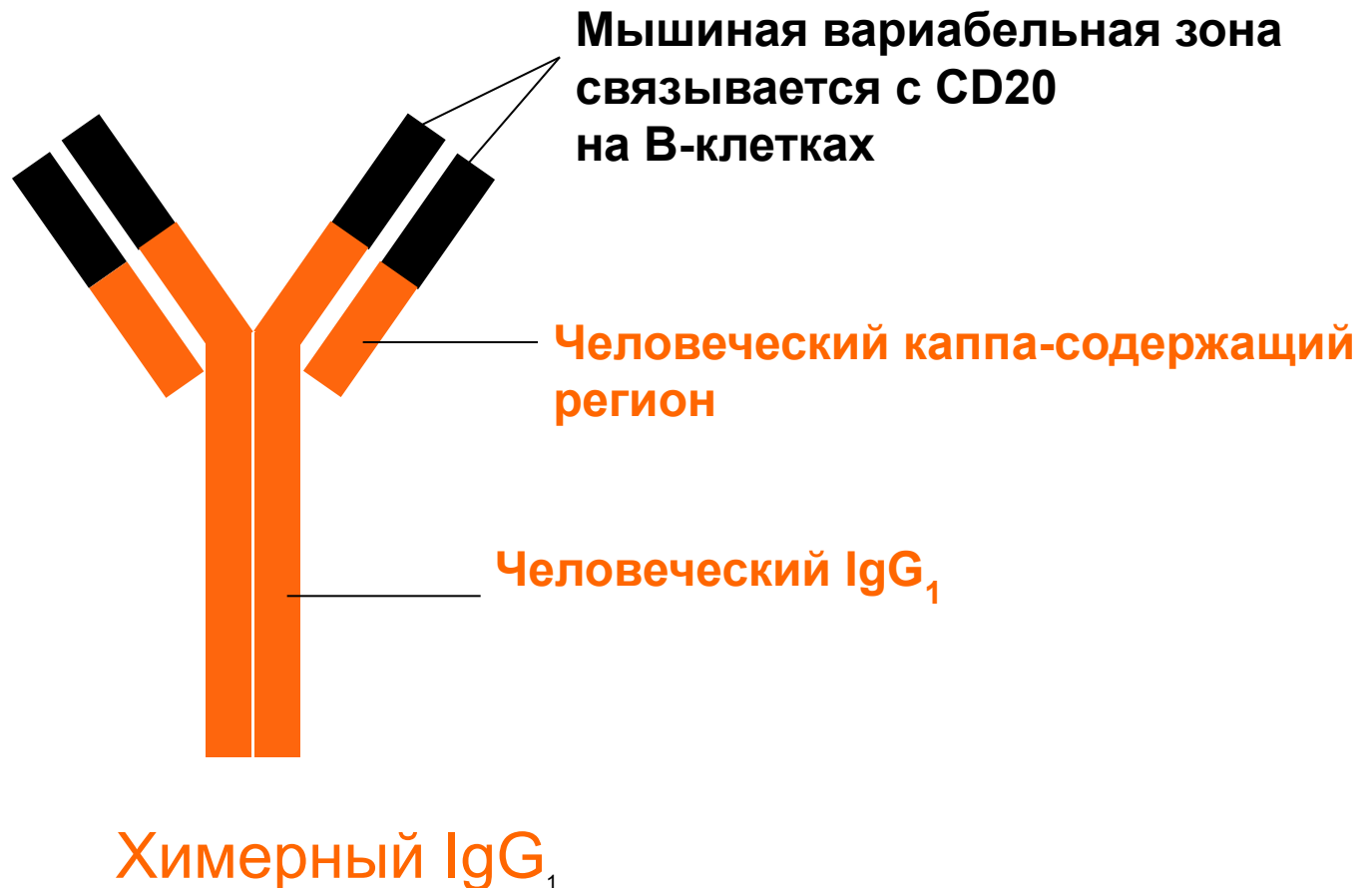
Итак, гибридная технология, базируясь на последних достижениях иммунологии, молекулярной биологии, вносит значительный вклад в решение актуальных задач как прикладной иммунологии, так и здравоохранения в целом.

Моноклональные антитела

| Препараты | Описание | Показания |
|--------------------|--|--|
| Abciximab | Химерный моноклональный Fab фрагмент к тромбоцитам Пб/Ша | Острый инфаркт миокарда; после перкутанной ангиографии |
| Adalimumab | Человеческое МАТ к TNF- α | Ревматоидный артрит, псориаз |
| Alemtuzumab | Человеческое МАТ к CD52 | Хроническая лимфоцитарная лейкемия |
| Basiliximab | Химерное МАТ к IL-2R | Острое отторжение трансплантата почки |
| Bevacizumab | Человеческое МАТ к VEGF | Метастатический колоректальный рак |

Ритуксимаб (Мабтера) - химерные (человек-мышь) моноклональные антитела к CD 20 рецептору

CD20- вовлечен в сигналинг через В-клеточный рецептор и участвует в регуляции пролиферации и дифференцировки.



МабТера® снижает число В-клеток
с помощью различных механизмов

**Задействует иммунные эффекторные механизмы
хозяина через человеческий Fc домен иммуноглобулина**

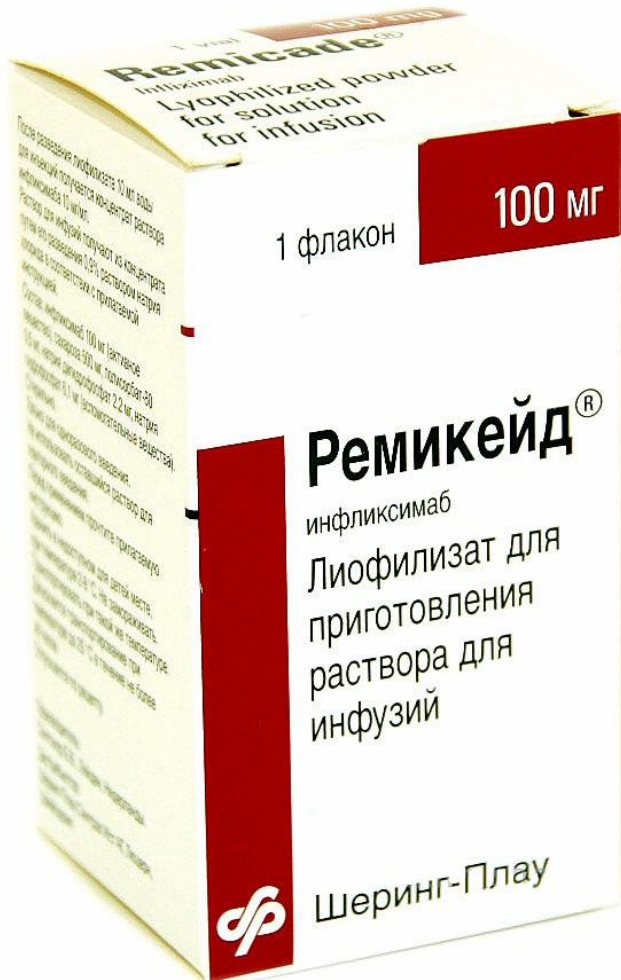


Механизм действия

Препараты моноклональных антител



Антитела к ФНО



АртроФоон

Противовоспалительный препарат для патогенетической терапии артропатий

№ 000078/01-0001

Наука малых доз

Постановлением Правительства РФ от 20.02.06 г. № 95 за создание, внедрение в производство и медицинскую практику нового высокоэффективного лекарственного препарата на основе сверхмалых доз антител к аутогенным регуляторам (в данной группе присутствуют препараты компании «Материя Медика Холдинг», такие как АНАБЕРОН, ТЕНОТЕН, ПРОПРОГЕН, АРТРОФООН, ИМПАЗА) присуждена Премия Правительства РФ 2005 года в области науки и техники.

АРТРОФООН содержит сверхмалые дозы антител к ФНО- α .

АРТРОФООН обладает высокой специфичностью, которая обеспечивает селективное воздействие на ключевые звенья патогенеза артропатий.

АРТРОФООН эффективно влияет на местные и общие симптомы воспаления, не вызывая осложнений, характерных для нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП).

АРТРОФООН совершенно безопасен в том числе при длительном применении. Практически не имеет побочных эффектов, может применяться совместно со средствами симптоматической и базисной терапии артрозов и артритов.

АРТРОФООН уменьшает потребность в симптоматических противовоспалительных средствах. При комбинированном приеме позволяет снижать дозу принимаемых НПВП, вплоть до отмены их.

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ФИРМА
Материя Медика Холдинг
Лицензия № 191-04-000093

Россия, 127473 г. Москва, 3-й Савельевский проезд, дом 8
Телефон/факс: (495) 884-4533
e-mail: medic@matiermedica.ru
www.matiermedica.ru



С ПРАЗДНИКОМ
ПОБЕДЫ!

9 МАЯ



Схема получения моноклональных антител

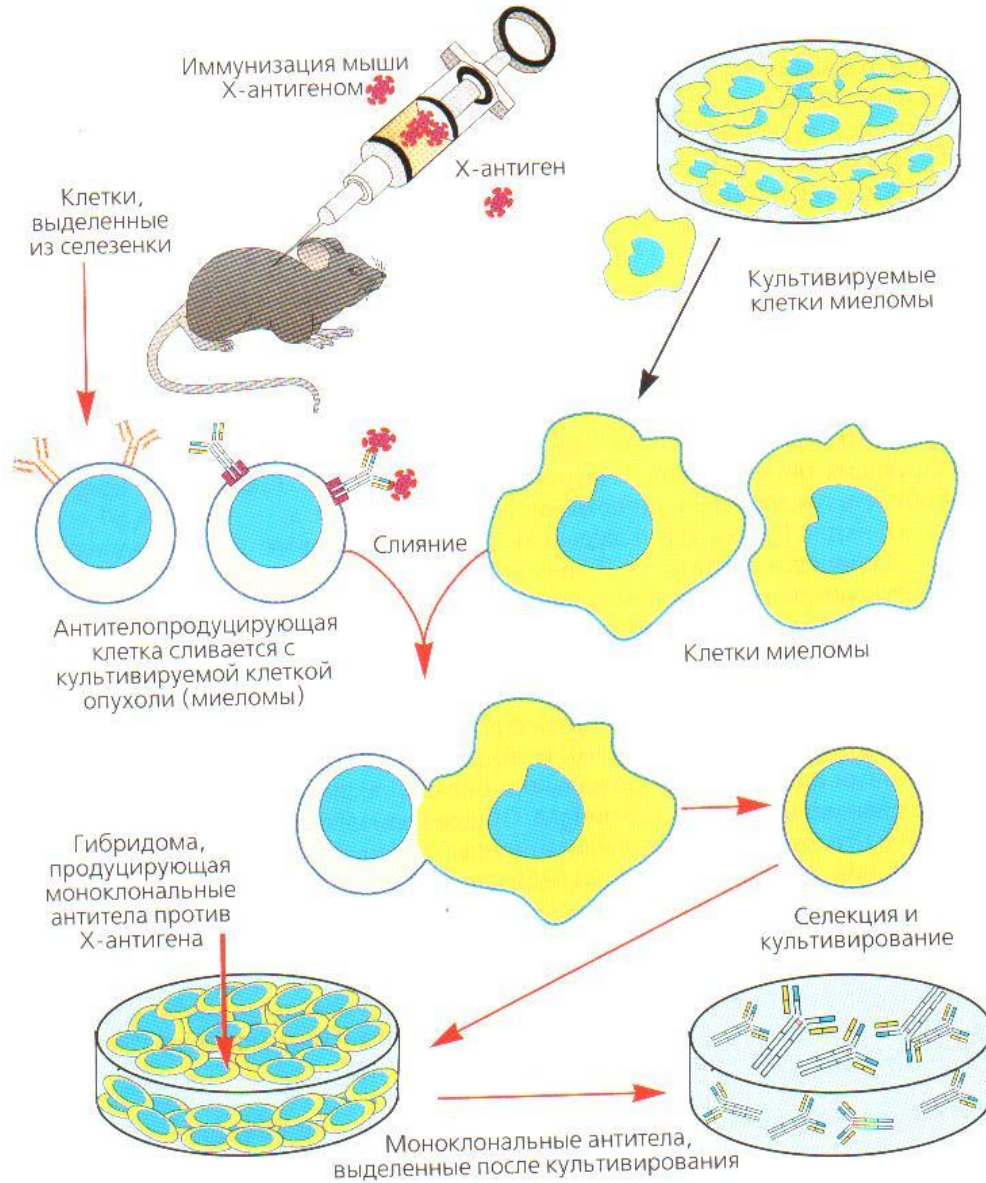
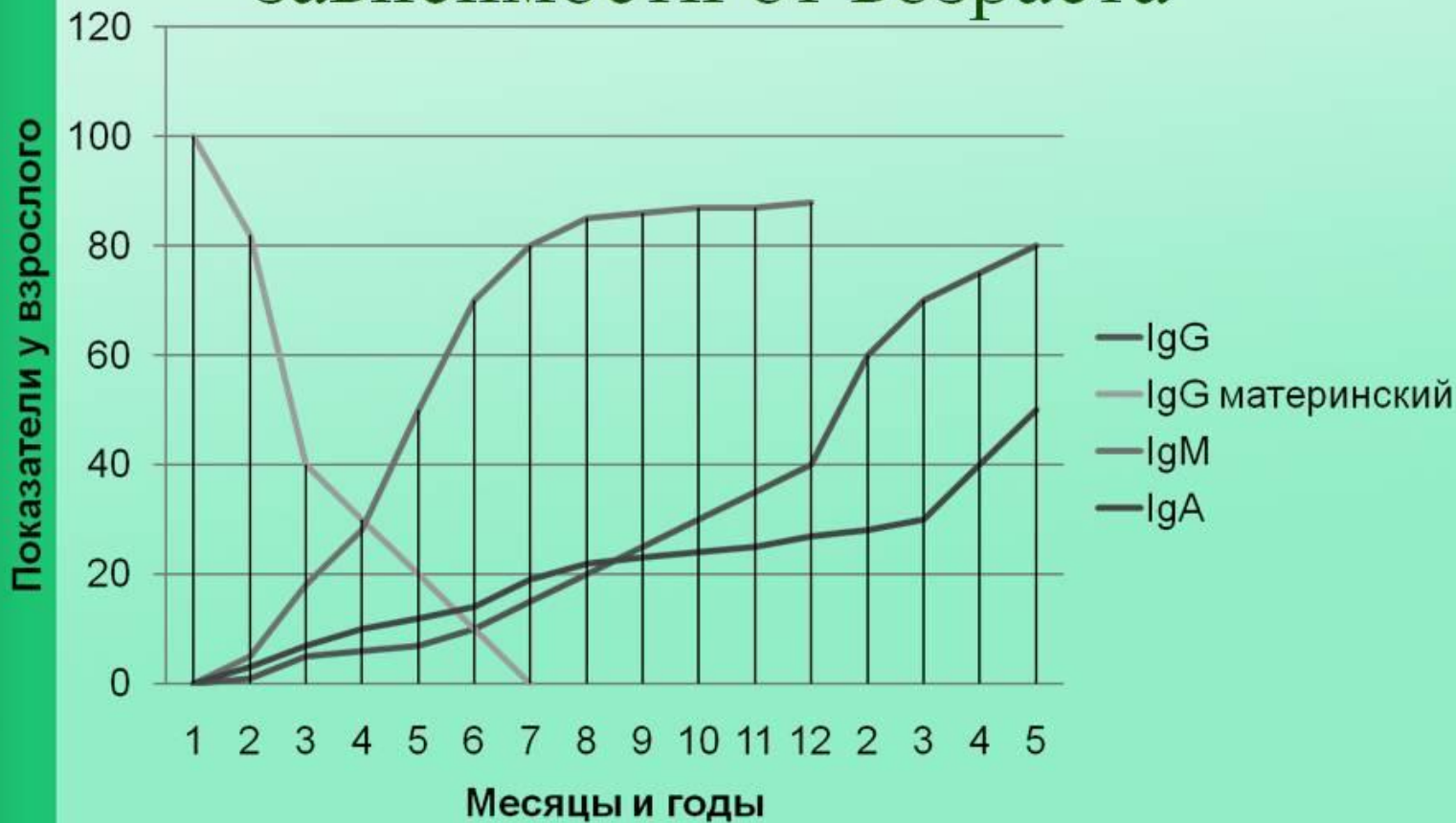


Рис. 1.38. Схема получения моноклональных антител

Растворимые компоненты иммунной системы грудного молока

| | |
|--|---|
| Иммуноглобулины | sIgA, IgA, IgM, IgG, IgE, IgD |
| Цитокины | IL-1, 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 18, IFN гамма, TNF альфа |
| Хемокины и рецепторы | IL-8, RANTES, CD14, sFas, sFasL |
| Факторы роста | G-CSF, эритропоэтин, TGF, NGF |
| Факторы неспецифического иммунитета | Комплемент, лактоферрин, лизоцим, пропердин, манноз-связывающий белок, альфафетопротейн, муцины, дефенсины |
| Гормоны | Пролактин, кортизол, инсулин, тироксин, протагландины |

Изменения содержания иммуноглобулинов в крови детей в зависимости от возраста



Функции антител

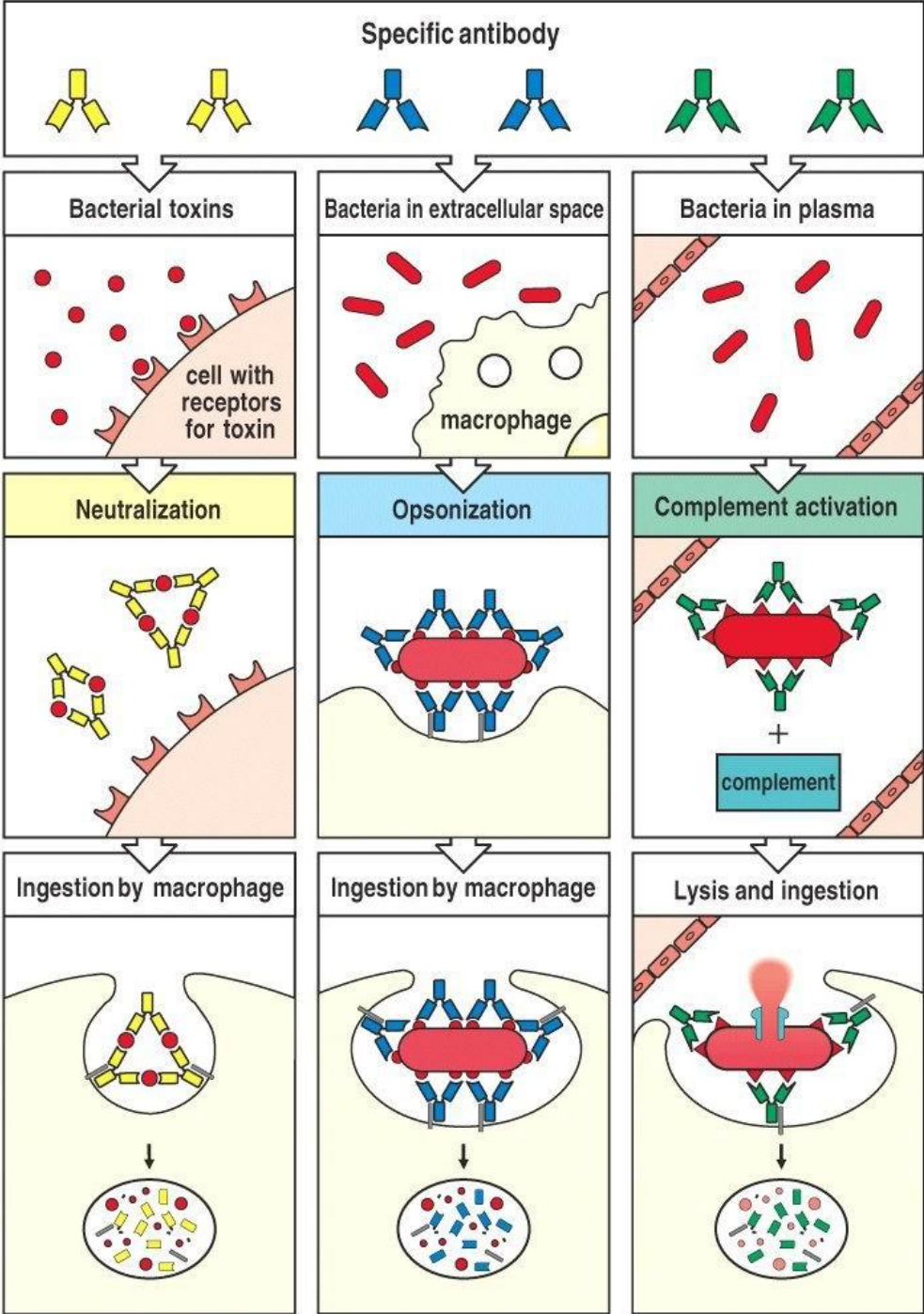


Figure 1-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

CLASSES OF IMMUNOGLOBULINS

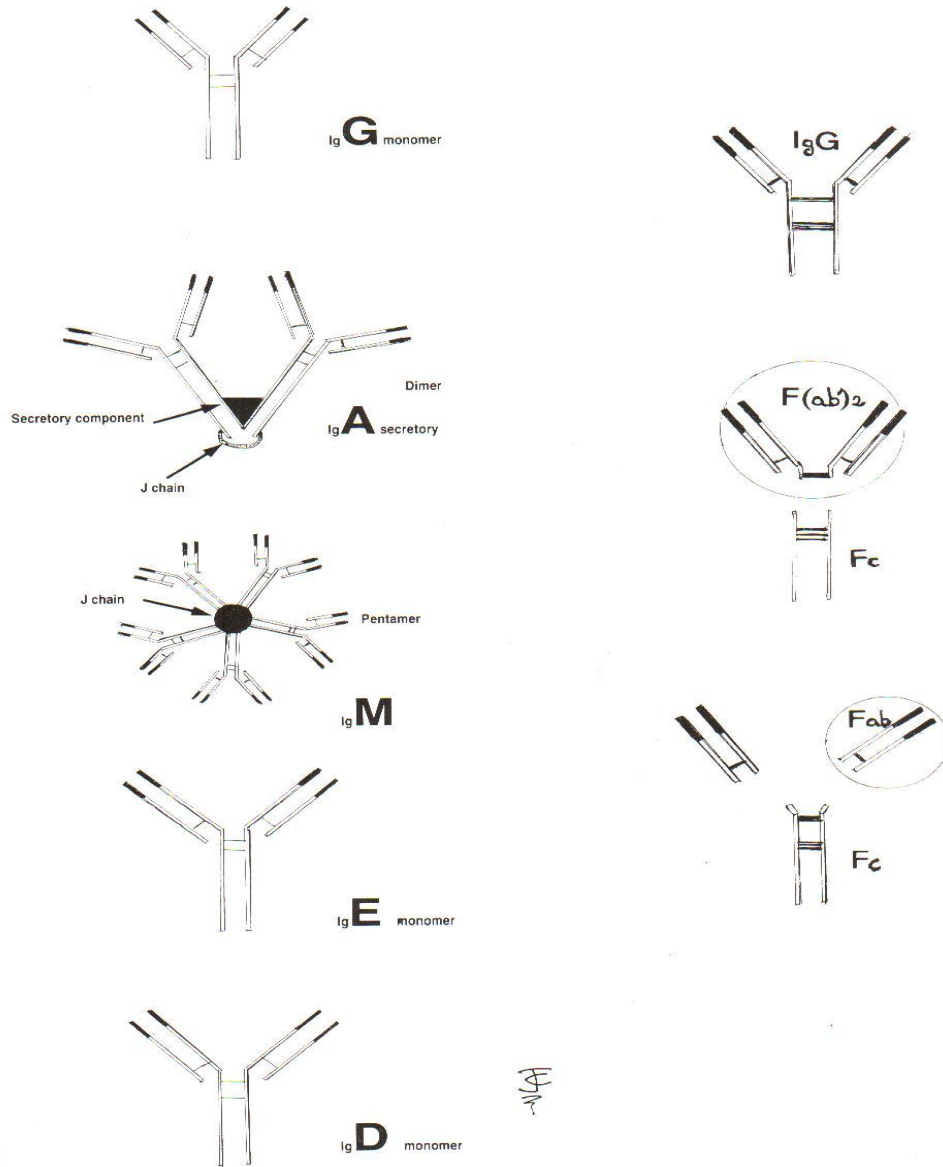
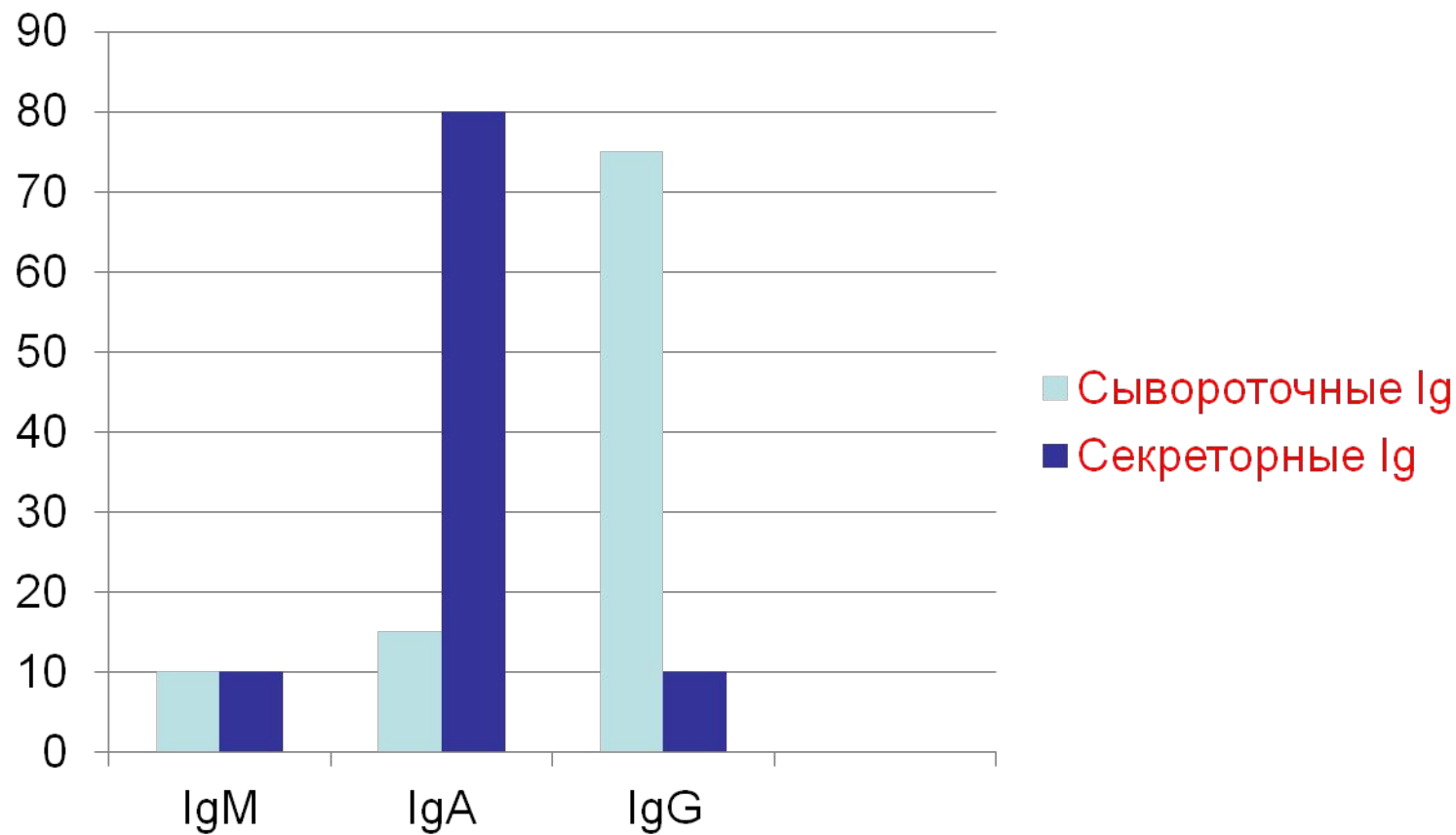


Figure 23

Handwritten mark resembling the letter 'A' with a horizontal line through it.

Содержание иммуноглобулинов (%)



B and T LYMPHOCYTES

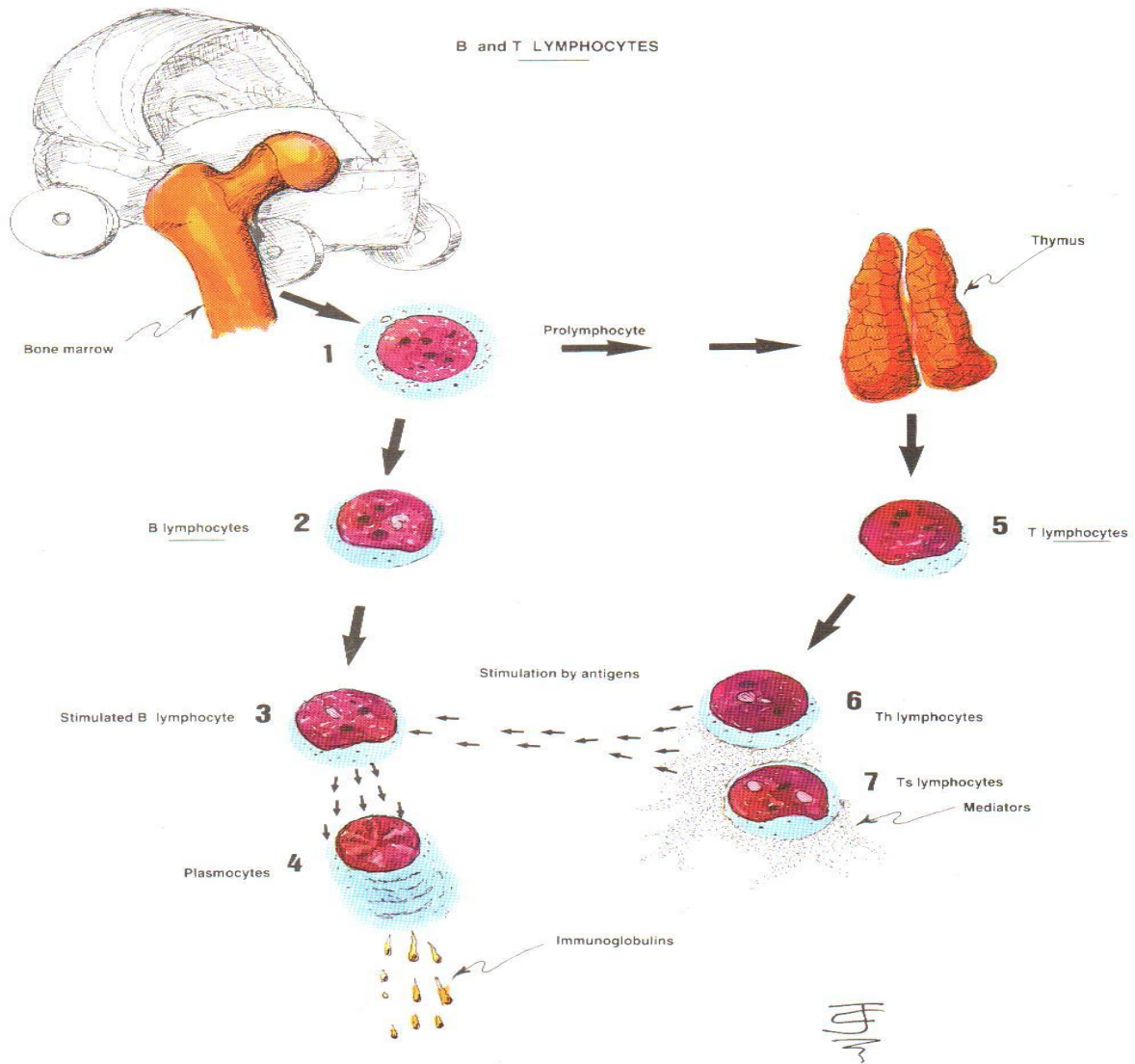


Figure 15