

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кафедра иммунологии

Врожденный и приобретенный иммунитет. Клеточные и гуморальные механизмы.

Практические занятия.
Занятие № 3.

Контроль исходного уровня знаний: фронтальный опрос

1. **Определение врожденного иммунитета.**
2. **Свойства врожденного иммунитета.**
3. **Клетки врожденного иммунитета.**
4. **Рецепторы клеток врожденного иммунитета.**
5. **Способы распознавания «чужого» во врожденном иммунитете.**
6. **Этапы хемотаксиса и фагоцитоза.**
7. **Активность натуральных киллеров.**
8. **Гуморальные факторы врожденного иммунитета.**
9. **Сопоставление характерных особенностей врожденного и адаптивного иммунитета.**
10. **Сочетанное действие врожденного и адаптивного иммунитета.**

Вопросы занятия № 3

- Определение антигена.
- Виды антигенов.
- Основные свойства антигенов.
- Строение главного комплекса гистосовместимости (МНС).
- Молекулы МНС I класса.
- Молекулы МНС II класса.
- Антигенпрезентирующие клетки.
- Процессинг и предоставление эндогенных антигенов.
- Процессинг и предоставление экзогенных антигенов.
- Наличие генетической предрасположенности к различным заболеваниям при определенных гаплотипах молекул МНС.

Основные понятия: «СВОЕ - ЧУЖОЕ»

- Антиген – молекула (чаще белковой или полисахаридной природы), несущая признаки генетически чужеродной информации, распознающаяся организмом как «чужое», способная вызывать комплекс эффекторных реакций и вступать во взаимодействие с продуктами этих реакций.

Характеристики антигенов

- Молекулы антигенов различаются по молекулярной массе, конформации, наличию на поверхности молекулы группировок, несущих заряд, способности к катаболизму.
- По структуре антигены разнообразны, большинство антигенов имеют белковую природу, содержат разнообразные эпитопы, на каждый из которых может развиваться иммунный ответ.
- В антигенах углеводной природы, как правило, присутствуют часто повторяющиеся однотипные участки.

Свойства антигенов

- Антигенность - антиген несет признаки генетически чужеродной информации и распознается иммунной системой как чужеродная субстанция.
- Имуногенность - способность антигена вызывать иммунный ответ.
- Специфичность - в молекуле антигена может присутствовать несколько детерминант или эпитопов.

Свойства антигенов: антигенность

- Способность вызывать иммунный ответ
Антигенность определяется
размером и структурой АГ; количеством
эпитопов; чужеродностью; вторичной и
третичной структурой молекулы АГ.

Свойства антигенов: иммуногенность

- Способность формировать иммунный ответ и иммунологическую память.
- (для усиления действия вакцин используют адъюванты - усилители иммунного ответа).

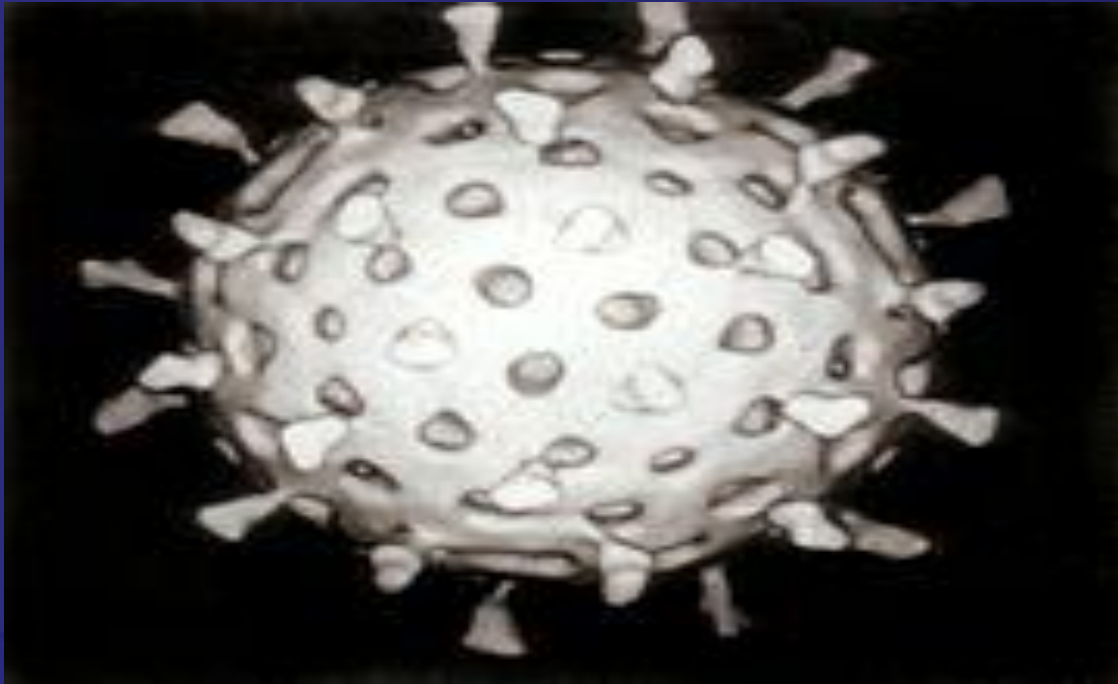
Свойства антигенов: специфичность

- Строение химической структуры молекулы АГ; наличие эпитопов.
- Каждый эпитоп распознается отдельным Т или В клеточным рецептором
- ЭПИТОПЫ АНТИГЕНА БЫВАЮТ:
- Линейными.
- Отдаленными в линейной последовательности аминокислот, но в третичной структуре белка-близлежащими.

Свойства антигенов: чужеродность

- Ксеноантигены – АГ других биологических видов
 - Аллоантигены – АГ разных особей одного вида
 - Изоантигены – АГ однояйцевых близнецов
 - Аутоантигены – АГ собственного организма
- 
- A decorative wavy line in a lighter shade of blue, starting from the left side of the slide and curving upwards and then downwards towards the right, creating a stylized wave or ribbon effect.

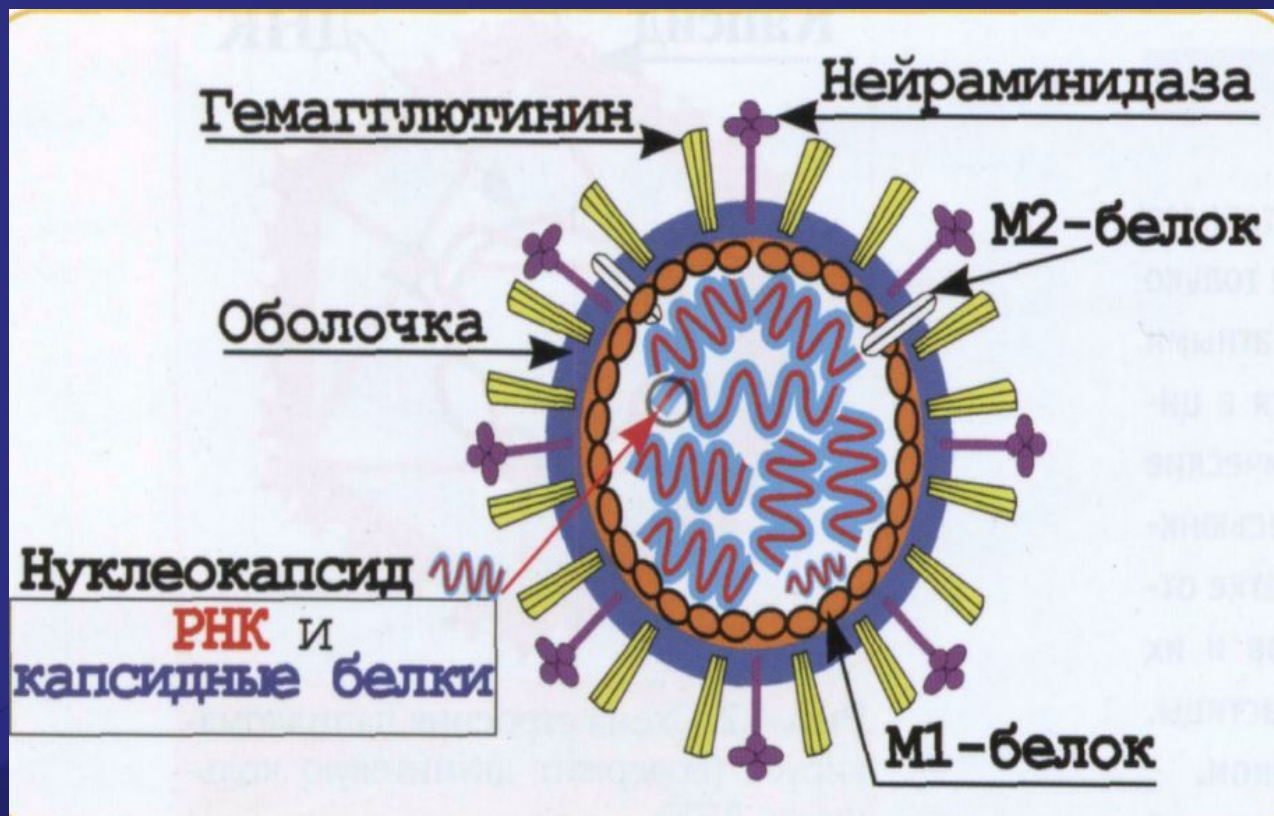
Rotavirus



ЭПИТОП

- Наименьшая часть антигена, способная вызывать развитие иммунного ответа.

Эпитопы вируса гриппа



Виды антигенов: тимус - зависимые антигены

- Антигены, иммунный ответ на которые развивается с обязательным участием Т-лимфоцитов- хелперов.
- Иммунный ответ на них запускается с участием Т и В- лимфоцитов.
- В основном Т-зависимые АГ –белковой природы (их –большинство).

Виды антигенов: тимуснезависимые антигены

- Иммунный ответ на них запускается без участия Т-лимфоцитов.
- Сами В лимфоциты активируются в ответ на взаимодействие с такими антигенами – без помощи Т- лимфоцитов-хелперов.
- Т- независимые АГ – это в основном крупные полисахаридные молекулы бактериальной стенки –липолисахарид и др.

Суперантигены

- АГ неспецифически (вне антигенсвязывающего центра) взаимодействующие с рецепторами лимфоцитов и вызывающие поликлональную активацию лимфоцитов.
- Примеры: стафилококковые энтеротоксины; пирогенный токсин стрептококка и др.

Аллергены

- Антигены, вызывающие выработку иммуноглобулинов класса Е.
- Обычно это- безвредные для организма белки.
- Пыльца растений; белки домашних животных; пищевые аллергены и др.

Гаптены

- Вещества, несущие признаки чужеродности, но не являющиеся антигенами – они не способны вызывать иммунный ответ, при этом с готовыми антителами они могут взаимодействовать.
- Гаптены приобретают свойства полноценных антигенов только после соединения с крупномолекулярными веществами.

Лекарства - гаптены

- Большинство лекарственных препаратов — гаптены - они становятся истинными антигенами только после прочного соединения с белками организма.
- Гаптенами являются не только лекарственные препараты, но и продукты их расщепления (при катаболизме, размыкании циклических структур).

Взаимодействие гаптенa с белками

- Строение лекарственных препаратов :
циклы, их амино-; нитро-; карбино- группы прочно связываются с:
карбоксильными и сульфгидрильными группами белков организма.

Что это за белки?

- белки, образующиеся *de novo* в очаге воспаления - под действием протеаз, оксидантов.
- т.е. наиболее часто лекарственные гаптены связываются с модифицированными белками организма .

Толерогены

- Толерогены - антигены с очень низкой молекулярной массой —они не захватываются АПК ; не процессируются и не предоставляются лимфоцитам; соответственно, не вызывают иммунный ответ.

(Толерантность – терпимость; неответчаемость).

АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ (АПК)

- Антигенпрезентирующие клетки – гетерогенная популяция лейкоцитов с выраженными иммуностимулирующими свойствами, обладающие способностью осуществлять процессинг антигена и предоставлять его иммунокомпетентным клеткам.
- Процессинг антигенов – это частичный протеолиз белковых антигенов(до 5 - 20 аминокислотных остатков), упаковывание таких фрагментов антигена в молекулы главного комплекса гистосовместимости 1 и 2 классов.

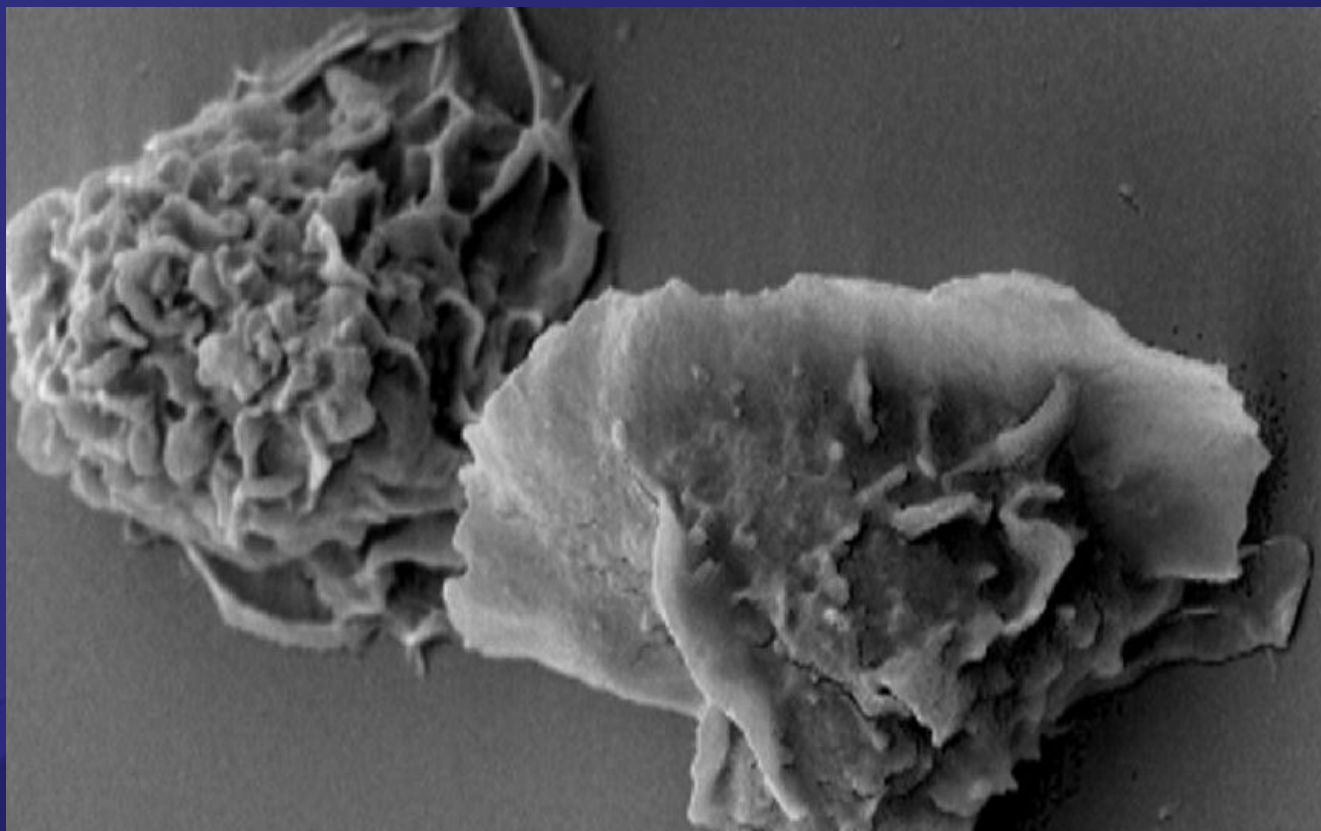
АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ

- С последующей экспрессией образующихся комплексов на поверхность антигенпредставляющей клетки – т.е. презентация антигена в иммуногенной форме.
- К «профессиональным» антигенпрезентирующим клеткам относятся дендритные клетки, макрофаги, В-лимфоциты.

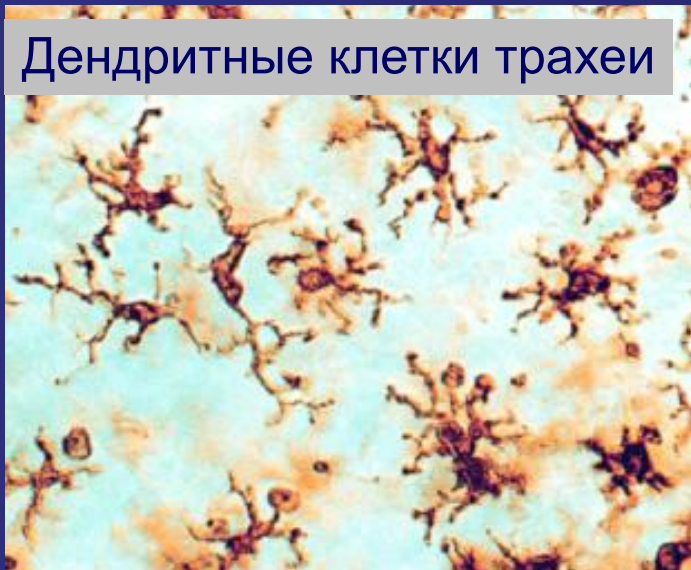
НЕПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ

- Наряду с «профессиональными» АПК, некоторые типы соматических клеток (кератиноциты, тироциты, эндотелиоциты) при различных хронических воспалительных процессах в условиях гиперактивации цитокинами также приобретают способность участвовать в презентации антигенов.

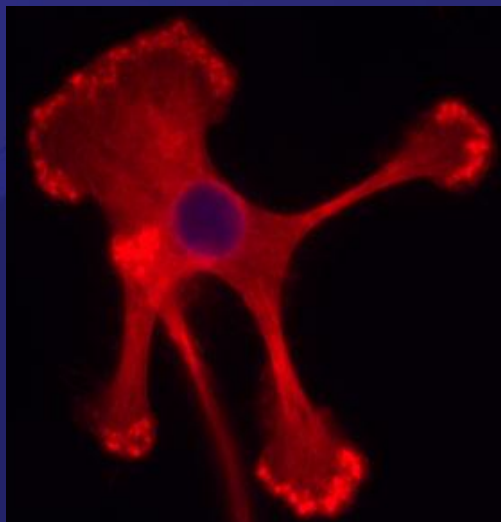
Моноцит x 5000



Дендритные клетки трахеи

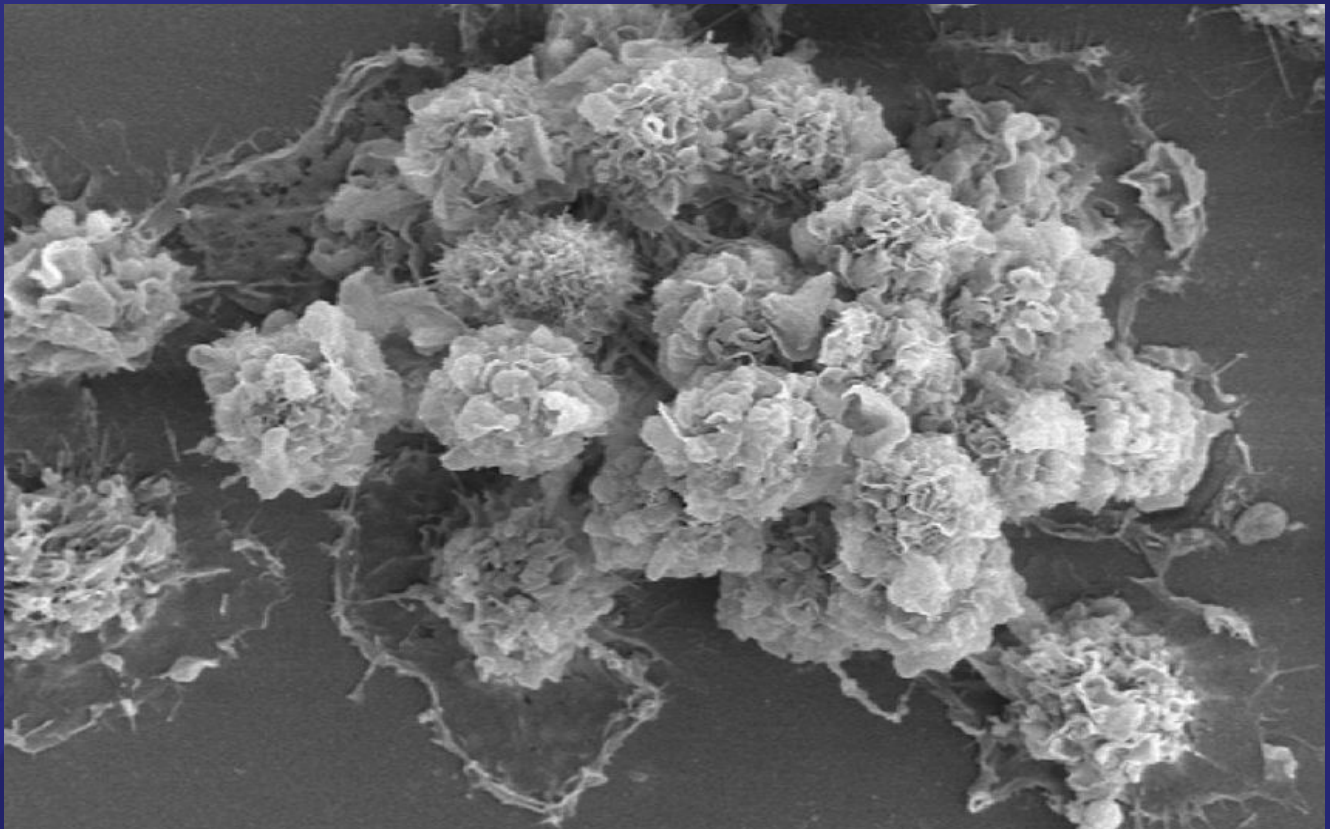


Клетки Лангерганса

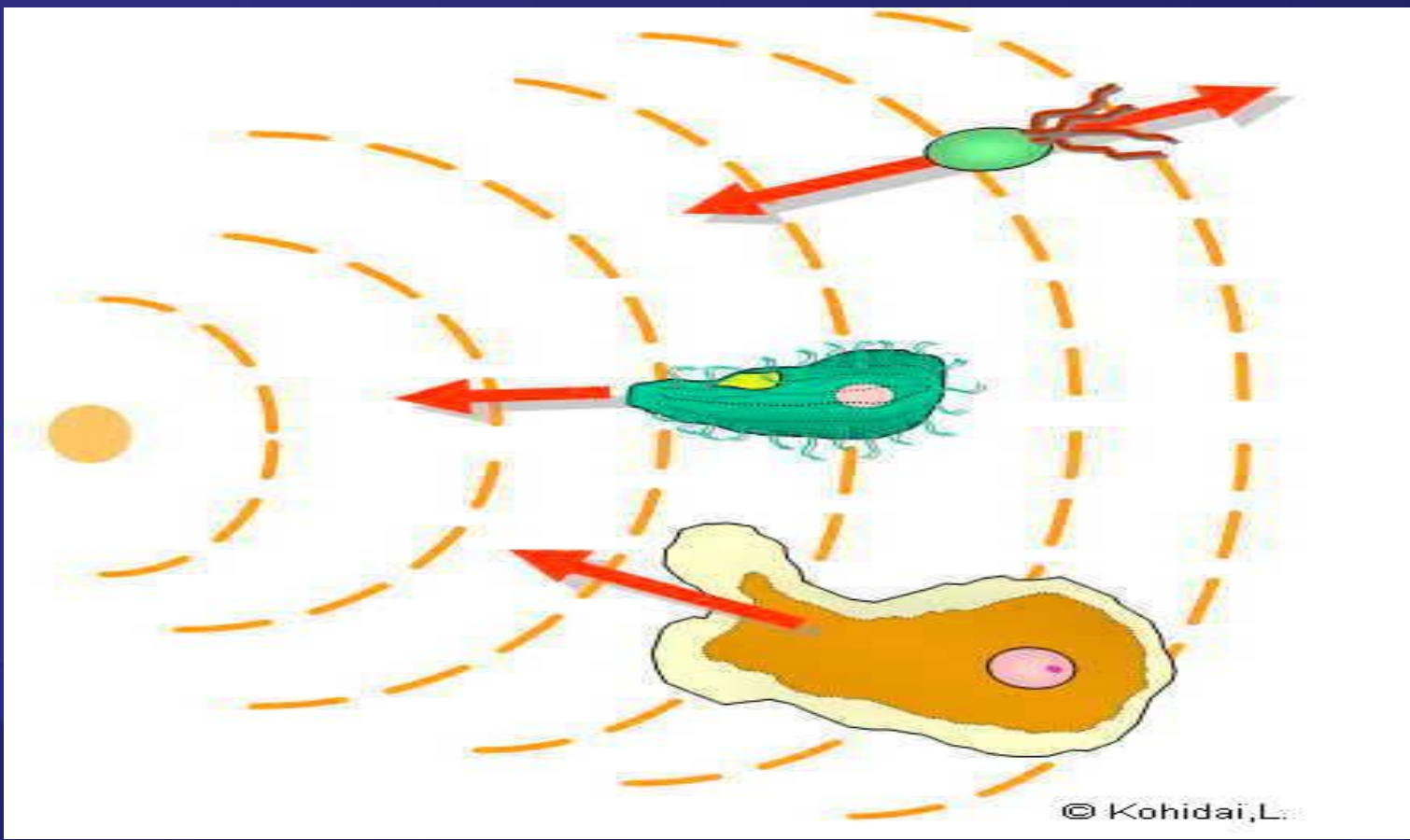


In-vitro -ПОЛУЧЕННЫЕ
ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ
ИЗ МОНОЦИТОВ

Дендритная клетка x 5000



Хемотаксис – направленное движение клеток по градиенту хемоаттрактантов



Эндоцитоз

Фагоцитоз («фаго» – «есть»)

Макрофаги и нейтрофилы поглощают крупные частицы

(более 0.5 мкм):

- бактерии,
- клетки,
- фрагменты поврежденных тканей.

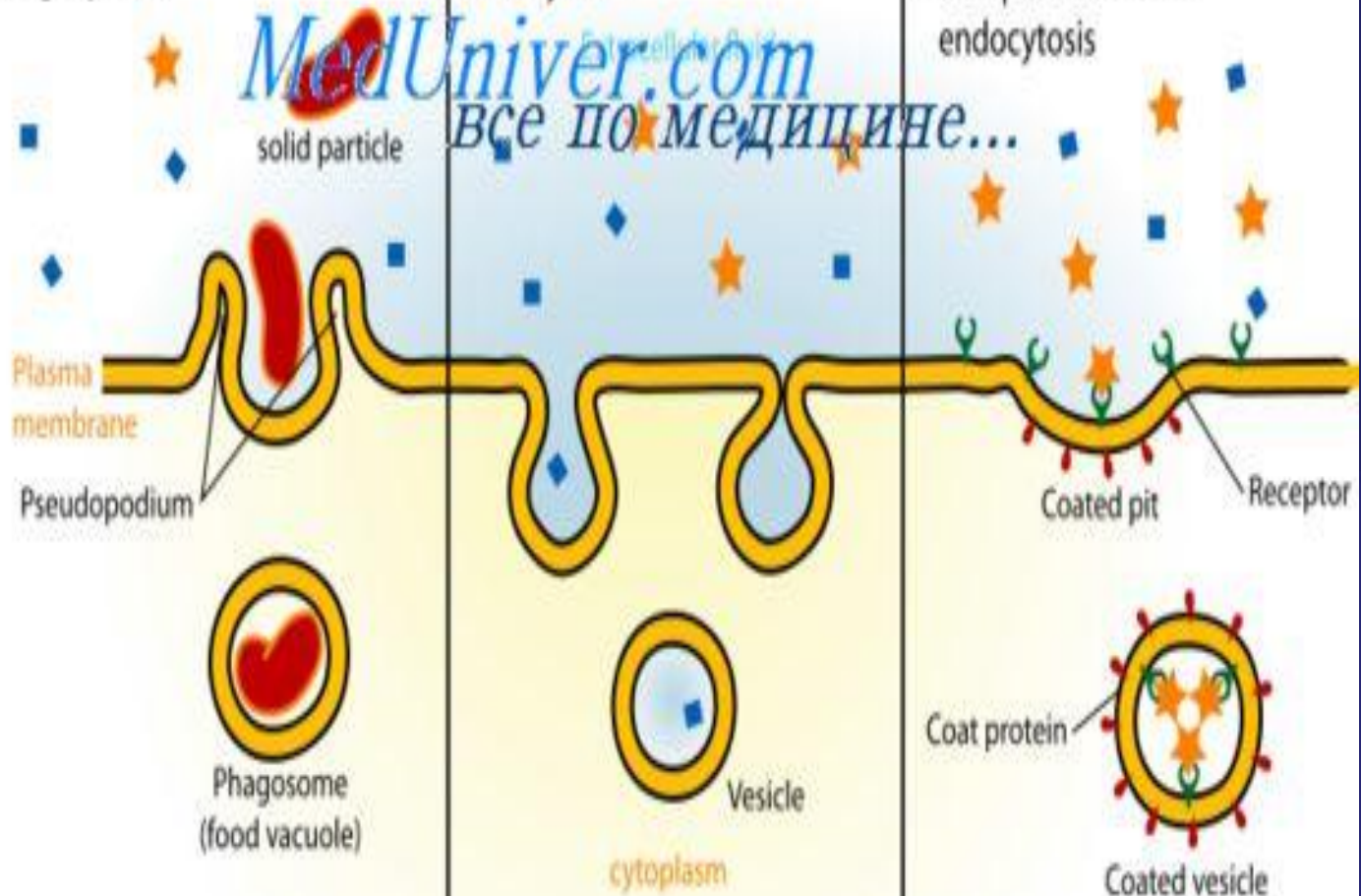
Пиноцитоз («пино» – «пить»)

Дендритные клетки захватывают небольшие (менее 0.2 мкм) пузырьки с внеклеточной жидкостью и микрочастицами.

Phagocytosis

Pinocytosis

Receptor-mediated
endocytosis



Фагоциты –клетки врожденного иммунитета

Фагоциты (моноциты, макрофаги, дендритные клетки) способны:

- Направленно двигаться к объекту фагоцитоза (хемотаксис).
- Связывать микроорганизмы на своей поверхности.
- Поглощать микроорганизмы.
- Переваривать микроорганизмы.
- Предоставлять фрагменты антигенов.

Моноциты, макрофаги и дендритные клетки – антигенпрезентирующие клетки

- Клетки моноцитарно – макрофагального ряда являются «стыковочными» элементами врожденного и адаптивного иммунитета, они осуществляют процессинг антигена и предоставление антигенных пептидов в ассоциации с МНС – молекулами лимфоцитам – эффекторам адаптивного иммунитета.

MHC - major histocompatibility complex

Большое семейств генов на коротком плече 6 хромосомы, играющее важную роль в развитии иммунного ответа.

MHC (синоним - у человека - *HLA - Human Leucocyte Antigen*) является регионом с одной из самых высоких плотностей локализации генов.

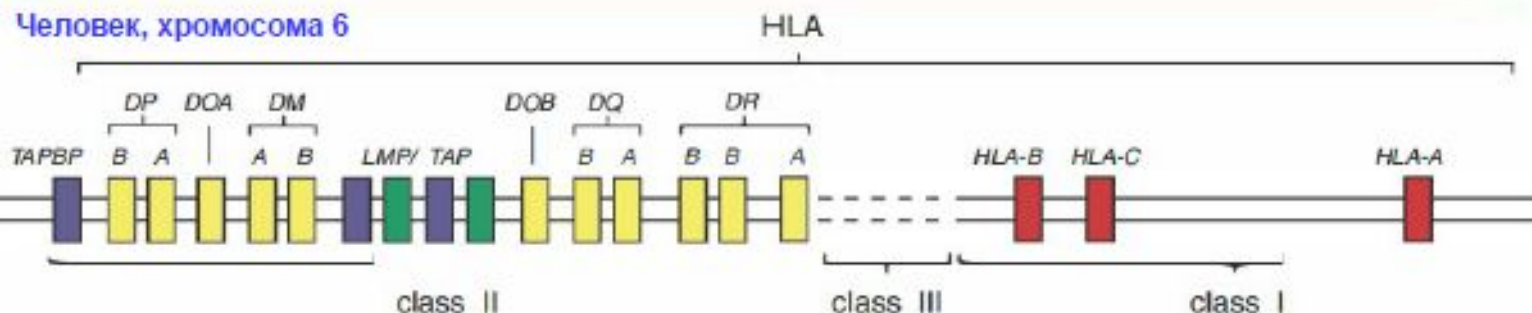
Гены *MHC* кодируют белки, локализующиеся на клеточной мембране.

Молекулы *MHC* I класса экспрессируются на всех ядродержащих клетках (за исключением трофобласта)

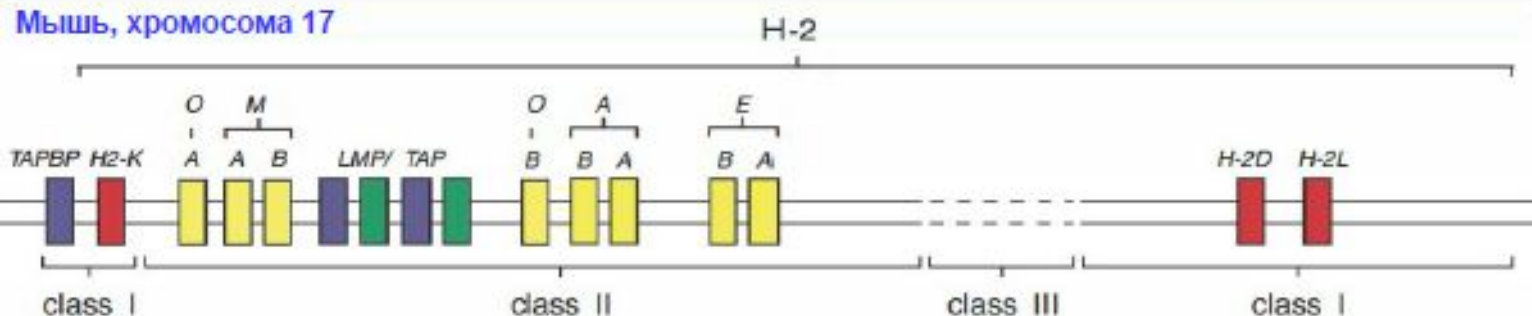
Молекулы *MHC* II класса - только на клетках, участвующих в иммунном ответе

Схематическое сравнение локусов МНС человека и мыши

Человек, хромосома 6



Мышь, хромосома 17



Локусы МНС человека и мыши устроены сходным образом. Красным цветом обозначены гены МНСI, желтым - МНСII.

TAP = Transporters associated with antigen processing; TAPBP = tapasin, TAP binding protein.

LMP = "low molecular mass polypeptide" - субъединицы протеасомы. В локусе МНС кодируются LMP2 и LMP7, которые индуцируются интерферонами и замещают каталитические субъединицы протеасомы $\beta 1$ и $\beta 2$ (также MECL-1 замещает $\beta 5$), приводя к формированию иммунопротеасомы. Иммунопротеасома предпочитительно расщепляет белки после гидрофобных остатков, приводя к формированию репертуара пептидов, предпочитительно связывающихся с TAP и с МНСI.

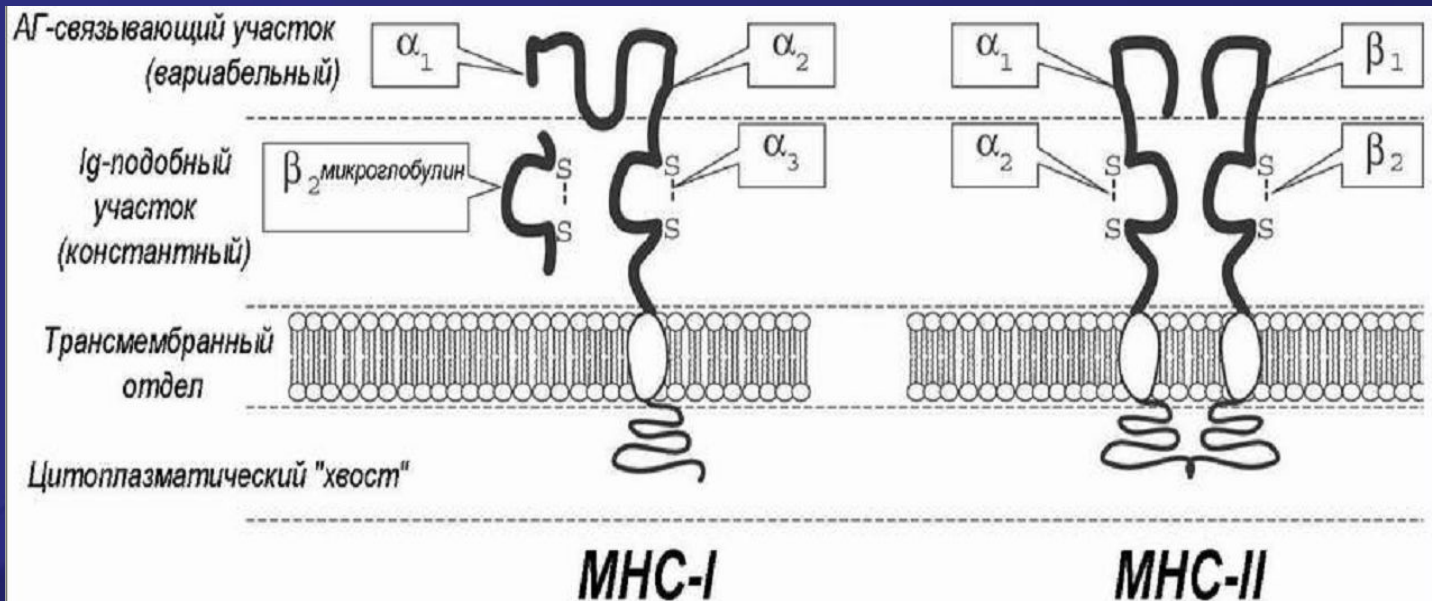
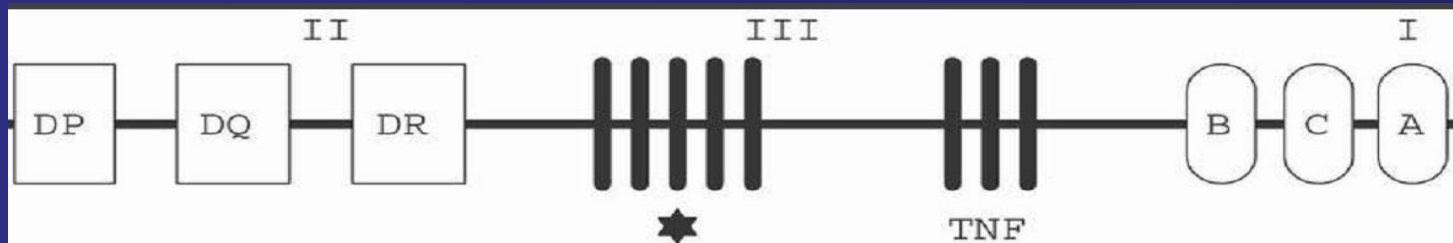
Антигены главного комплекса гистосовместимости 1 и 2 класса

МНС I и II или HLA I и II

- Молекулы МНС кодируются генами, расположенными на 6 хромосоме.
- МНС I класса экспрессируются всеми ядерными клетками.
- МНС II класса экспрессируются профессиональными антигенпрезентирующими клетками — макрофагами, дендритными клетками и В-лимфоцитами.

МНС I и II или HLA I и II

- МНС I состоит из двух полипептидных цепей: α –цепи, кодируемой генами комплекса МНС и нековалентно связанной цепи β_2 микроглобулина, кодируемой генами, расположенными на 15 хромосоме.
- МНС II –нековалентно связанный комплекс из двух цепей: α и β , имеющих трансмембранный домен.



Комплексы МНС + антигенный пептид

Молекулы МНС связывают антигенные пептиды образуя стабильные комплексы.

- Долгое время такие комплексы могут присутствовать на поверхности антигенпрезентирующей клетки.
- Полость связывания антигенного пептида в молекуле МНС II больше, чем в молекуле МНС I.

Процессинг и предоставление антигена в иммуногенной форме

- Процессинг антигена - расщепление антигена на фрагменты внутри антигенпрезентирующей клетки(АПК).
- Предоставление антигена лимфоцитам в иммуногенной форме - упаковка фрагментов антигена в «карманы» молекул МНС I или II внутри АПК и вынос комплекса (антиген внутри МНС или «чужое» в «своем») на поверхность АПК.

АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ (АПК)

Свойства	Дендритные клетки	Макрофаги	В-лимфоциты
Способ захвата антигена	Микропиноцитоз	Фагоцитоз	Эндоцитоз
Источник антигенов	Бактериальные вирусные, опухолевые антигены, аллергены	Корпускулярные антигены, внутриклеточные и внеклеточные паразиты	Растворимые антигены, токсины, вирусы
Локализация	Лимфоидная ткань, соединительная ткань, эпителий	Лимфоидная ткань, соединительная ткань, серозные полости	Лимфоидная ткань, периферическая кровь

Типы патогенов

- Проникшие в организм патогены, либо образующиеся в организме *de novo* носители генетически чужеродной информации должны быть элиминированы иммунной системой.
- Тип иммунного ответа зависит от вида патогена: внеклеточные патогены (большинство бактерий), либо внутриклеточные патогены (вирусы, внутриклеточные бактерии).

Тип патогена во многом определяет тип иммунного ответа

- На внеклеточные патогены (большинство бактерий) развивается гуморальный иммунный ответ.
- На внутриклеточные патогены (вирусы, внутриклеточно-паразитирующие бактерии) развивается клеточный иммунный ответ.

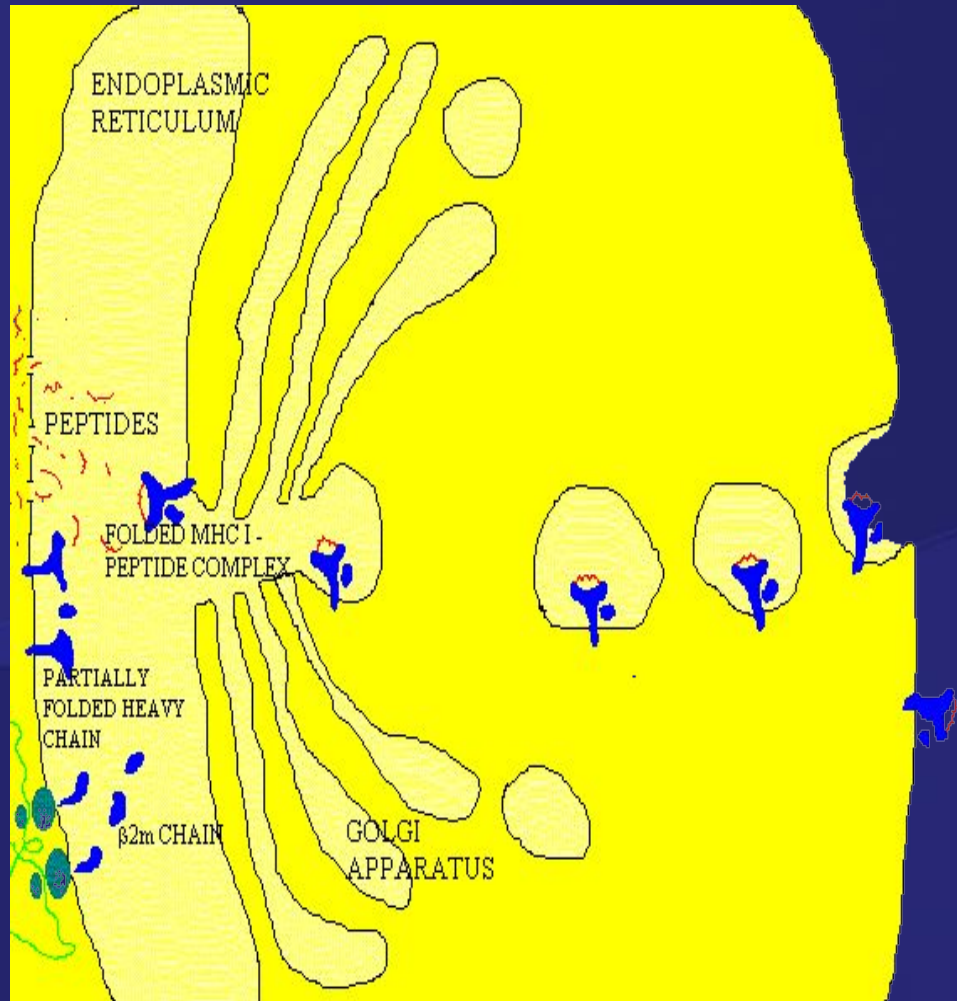
Презентация антигенов внутриклеточных патогенов (вирусов)

- Антигенные пептиды внутриклеточных патогенов (вирусов, внутриклеточных бактерий) образуются в цитозоле клетки.
- Основную протеолитическую активность цитозоля обеспечивают протеозомы, содержащие комплекс ферментов - эндопептидаз, расщепляющих белки до пептидов от 5 до 15 аминокислот.

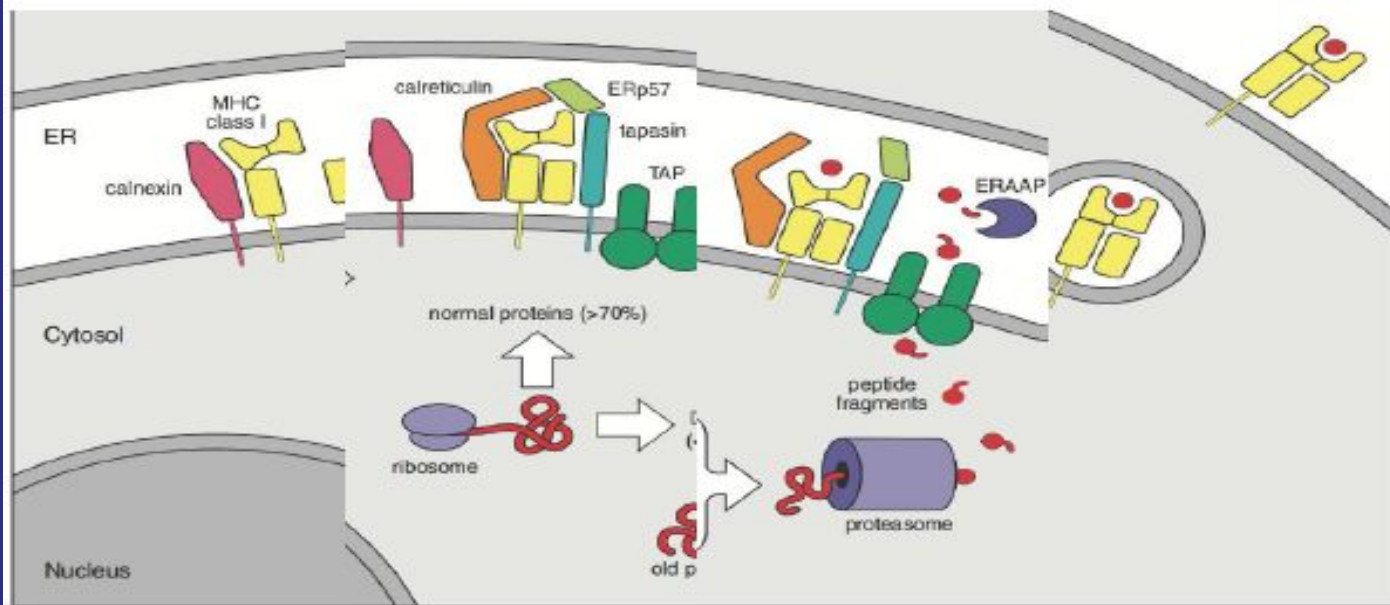
Представление эндогенных антигенов макрофагами и дендритными клетками

- На ранних стадиях вирусной инфекции инфицированная клетка «выносит» на свою поверхностную мембрану фрагменты вирусных (чужеродных, антигенных) пептидов, упакованные в молекулы HLA I класса.
- CD8+ Т-лимфоциты (цитотоксические) с комплементарными к вирусным антигенам Т клеточными рецепторами, распознают комплекс HLA I –антигенный пептид, связываются с поверхностью инфицированной клетки.
- После этого CD8+ клетки с помощью перфоринов и гранзимов убивают пораженную вирусами клетку - мишень еще до того, как из нее выйдут свободные вирусы в окружающие клетки.

В любой ядерной клетке антигены после фрагментирования на олигопептиды транспортируются в ЭПР, где они связываются с субъединицами МНС I молекул. Образовавшийся комплекс через аппарат Гольджи попадает на наружную мембрану, где презентруется Т киллерам



МНСI презентация



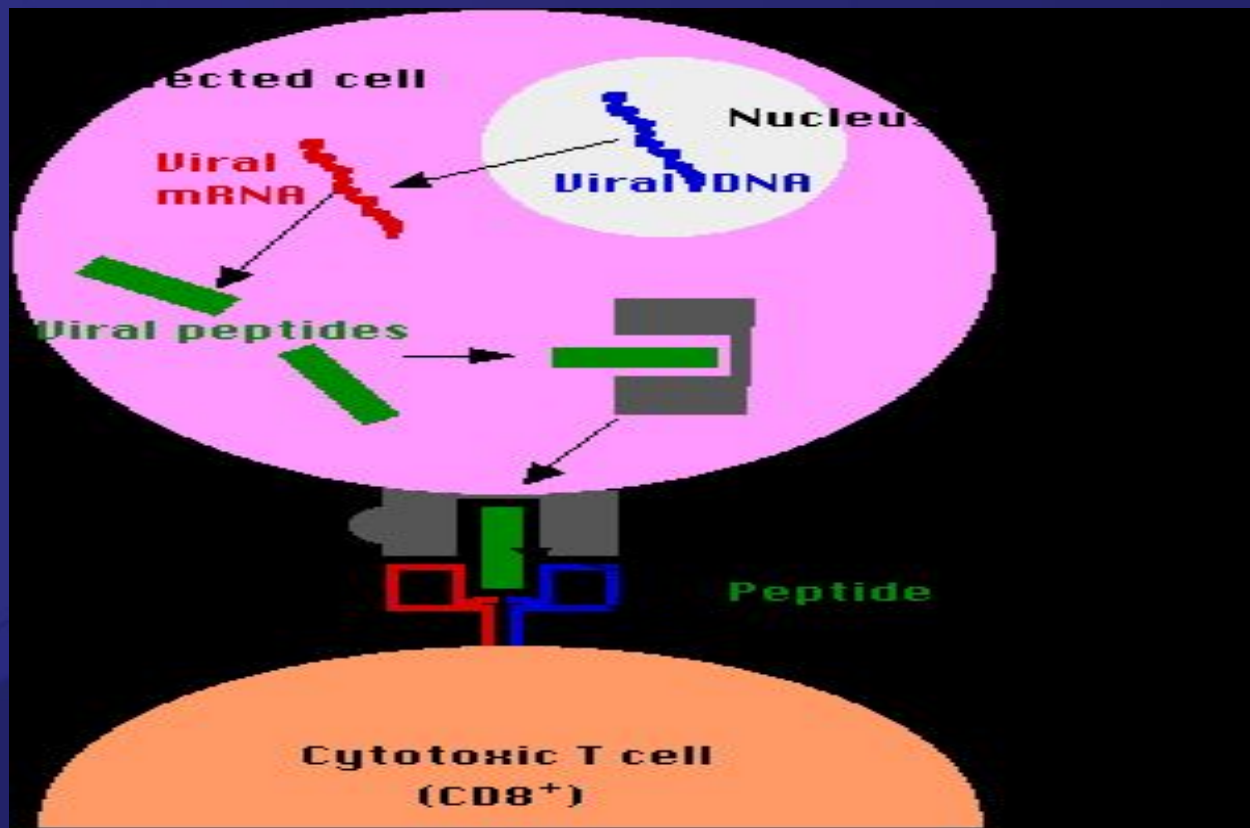
Сборка молекулы МНСI из α -цепи и β 2-микроглобулина осуществляется в эндоплазматической сети с участием специализированных шаперонов.

Предсобранный молекула МНСI связывается с белками ТАР (transporters associated with antigen processing). Цитоплазматические белки и продукты неудачной трансляции (defective ribosomal products, DRiPs) направляются для деградации в протеасому.

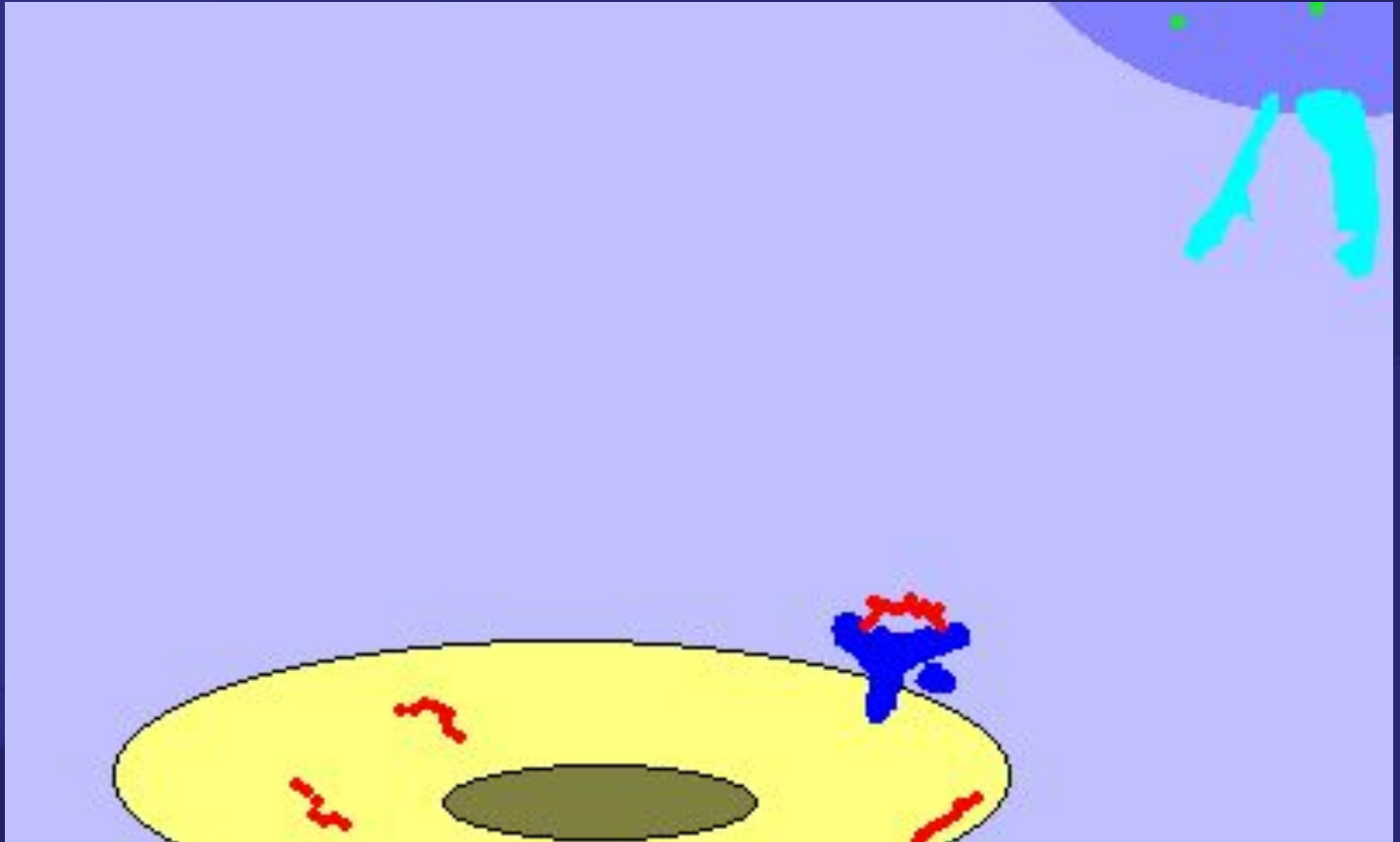
Пептиды транспортируются в ЭПС при помощи белков-транспортеров ТАР.

Пептиды связываются с МНСI и представляются на внешней мембране путем экзоцитоза.

Презентация эндогенных (вирусных) антигенов



Т-киллер убивает клетку, на поверхности которой презентируется ассоциированный с МНС-I антиген, к которому комплементарен Т-клеточный рецептор киллера



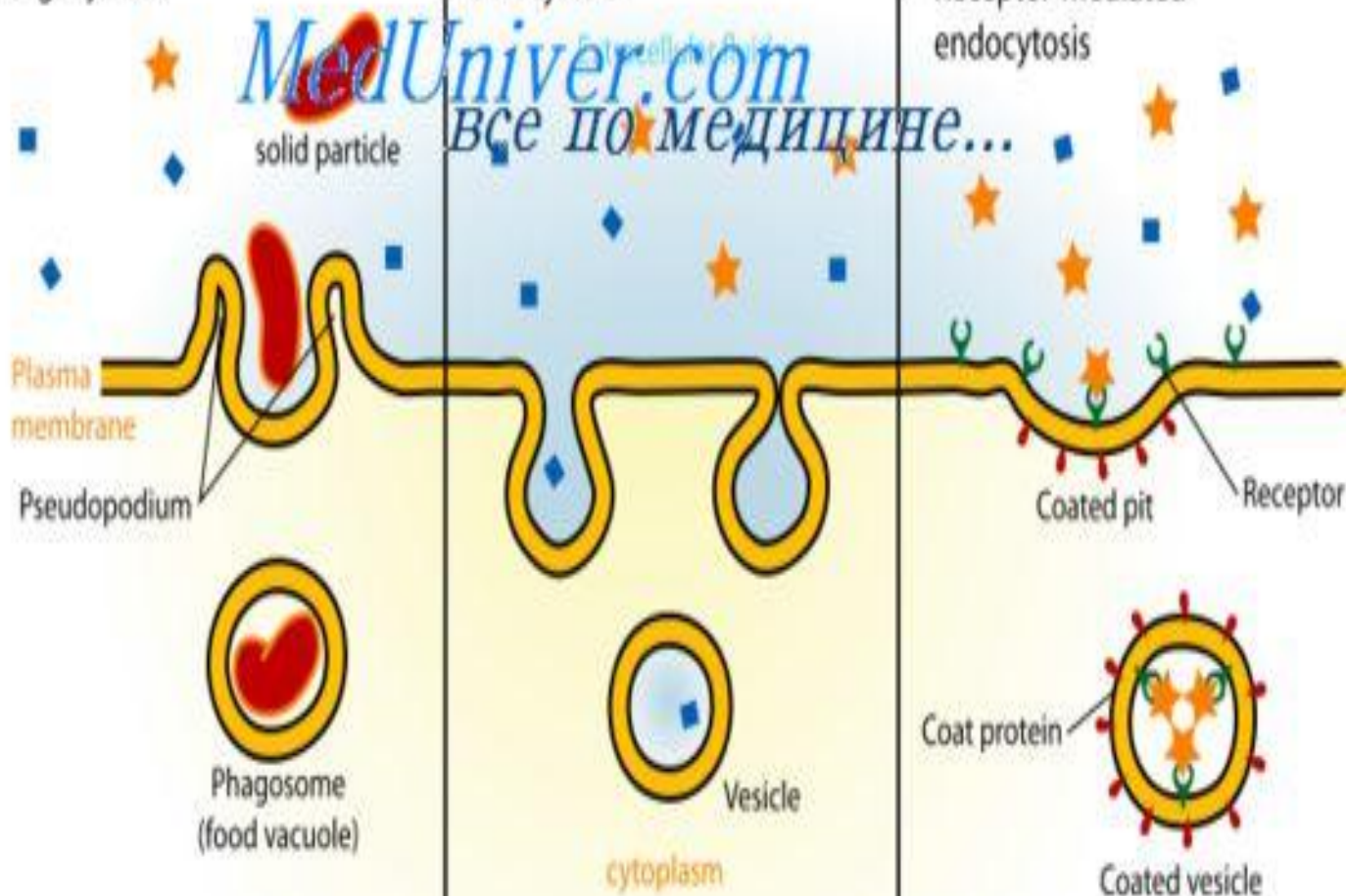
Представление экзогенных антигенов (внеклеточных патогенов)

- После эндоцитоза антигенов, эндосомы с содержащимися в них антигенами, сливаются с лизосомами.
- В лизосомах антигены разрушаются до фрагментов (коротких пептидов).
- Антигенные пептиды упаковываются в молекулы HLA II класса и выносятся на поверхностную мембрану АПК.
- Пептиды в ассоциации с молекулами HLA II класса распознаются CD4+ Т-лимфоцитами, запускается гуморальный иммунный ответ.

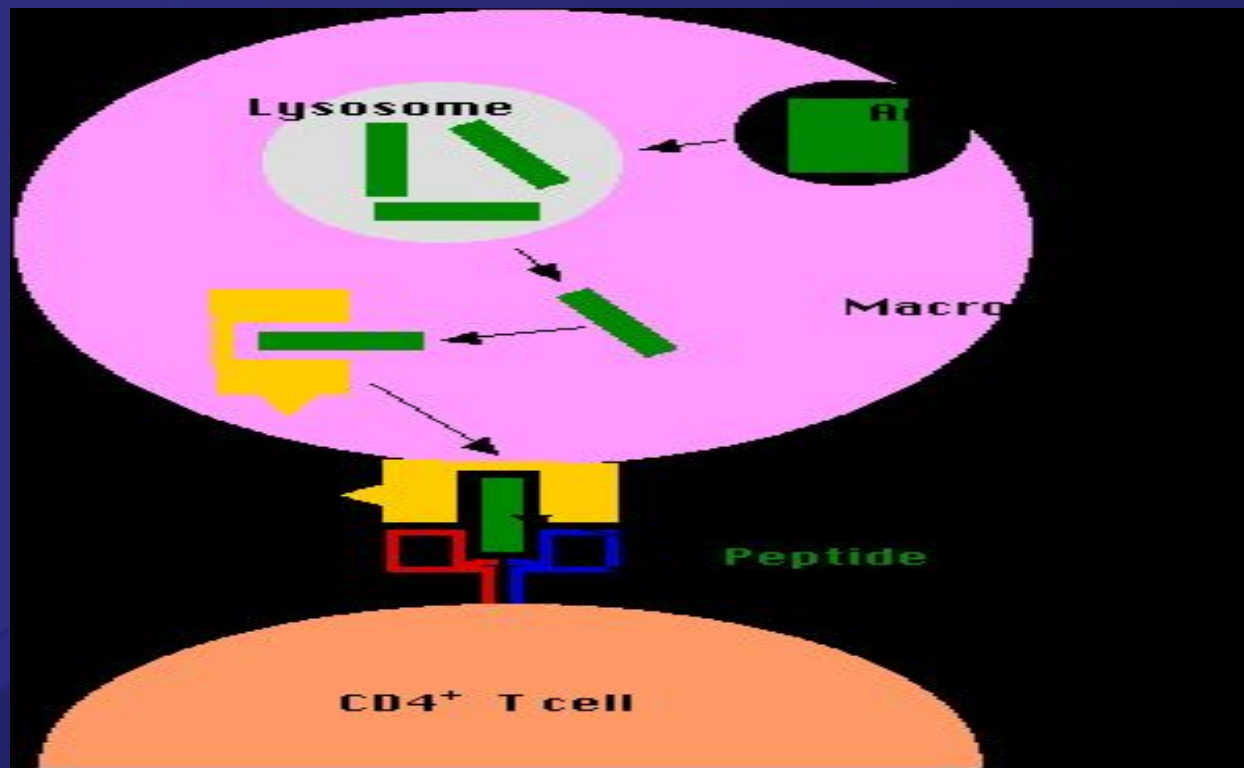
Phagocytosis

Pinocytosis

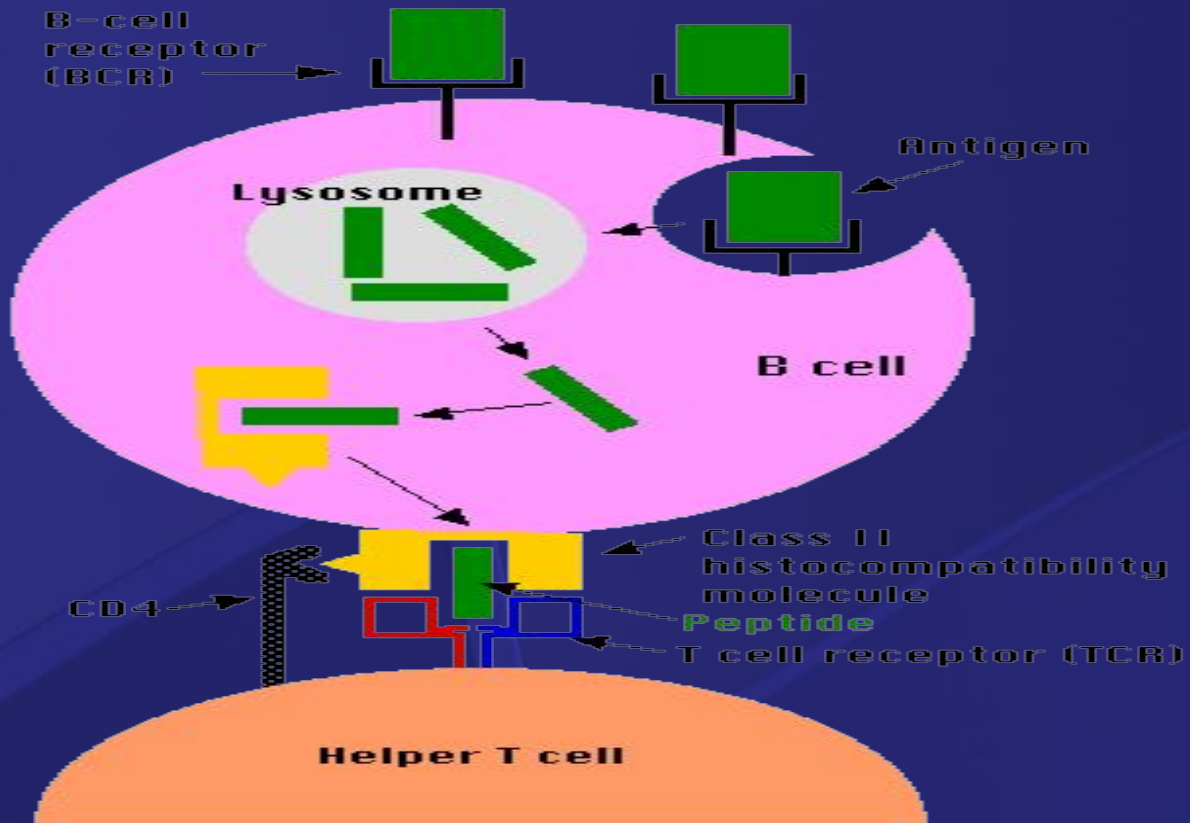
Receptor-mediated
endocytosis



Презентация экзогенных антигенов макрофагами



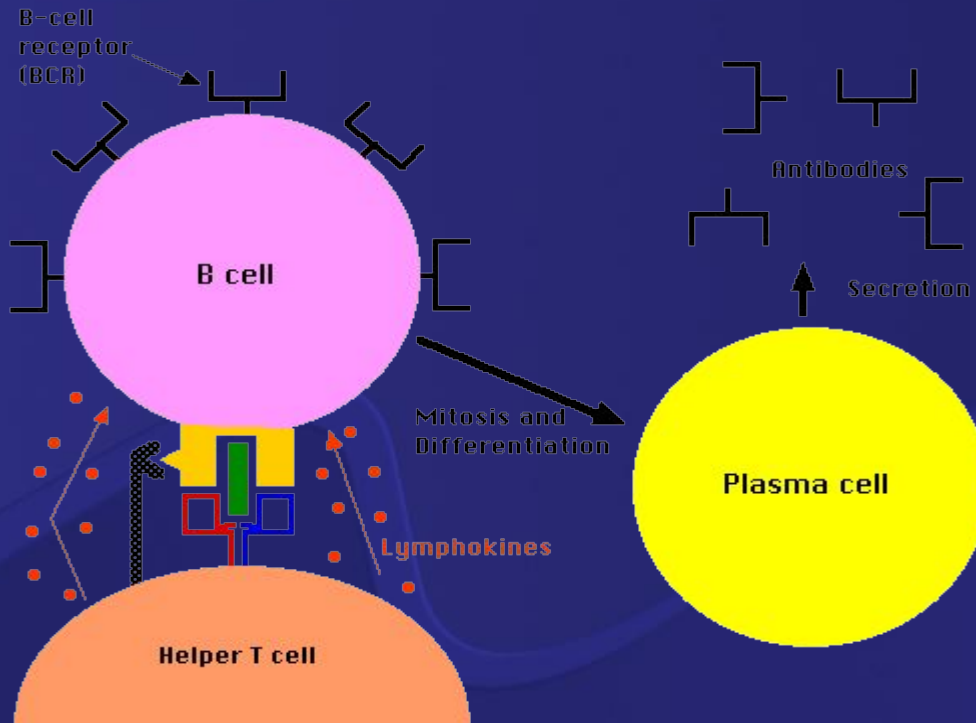
В - лимфоциты – профессиональные АПК



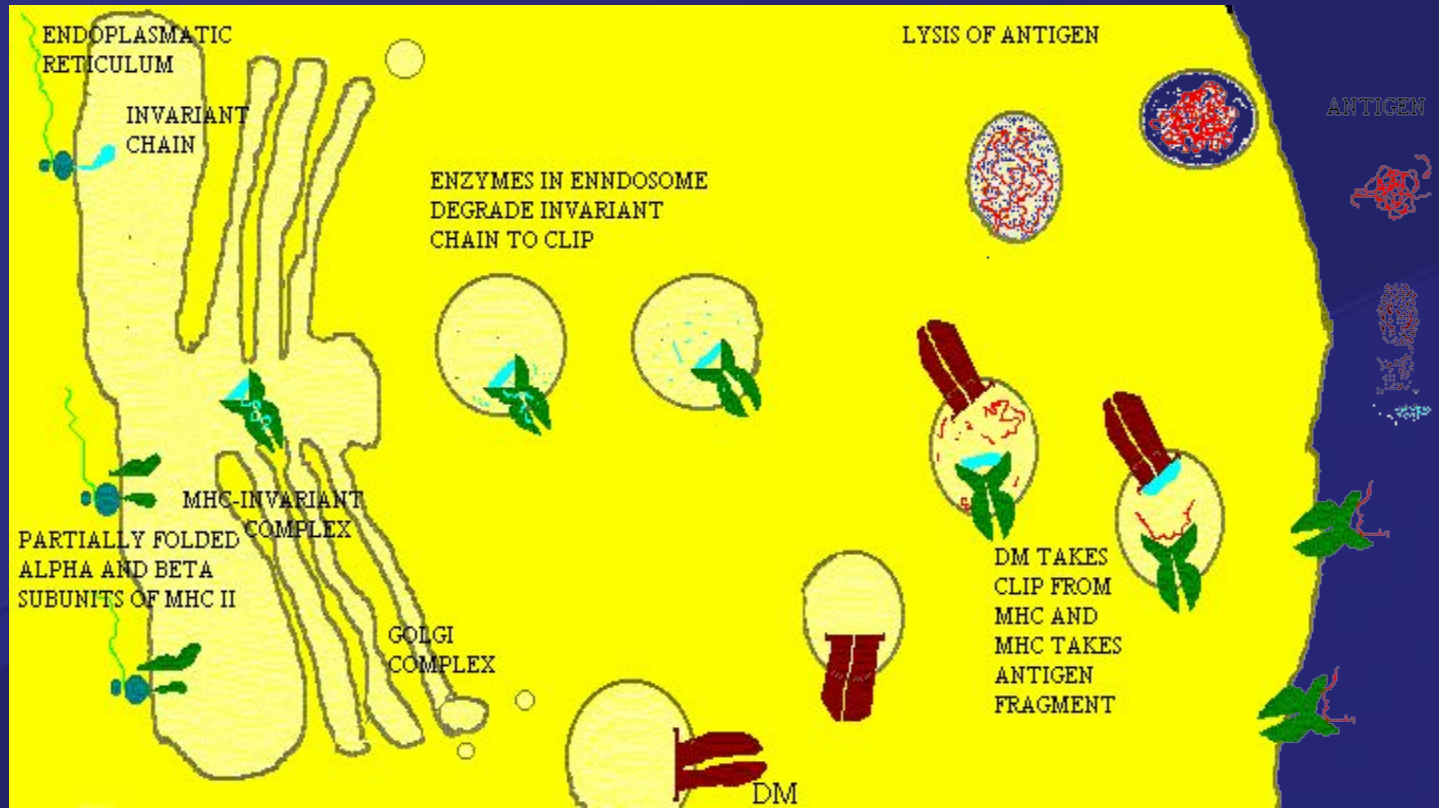
В - лимфоциты – профессиональные АПК

- В-лимфоциты поглощают растворимые антигены (например, дифтерийный токсин) путем В – клеточно-рецепторно - опосредованного эндоцитоза.
- В клеточный рецептор (BCR), комплементарный для антигена, по сути своей является молекулой антитела, встроенной в плазматическую мембрану В-лимфоцита.
- Аффинитет связи BCR – антиген столь высок, что В лимфоцит может связывать антигены, присутствующие в жидкостях тела, в концентрациях в 1000 раз более низких, по сравнению с необходимыми для макрофагов концентрациями антигена.

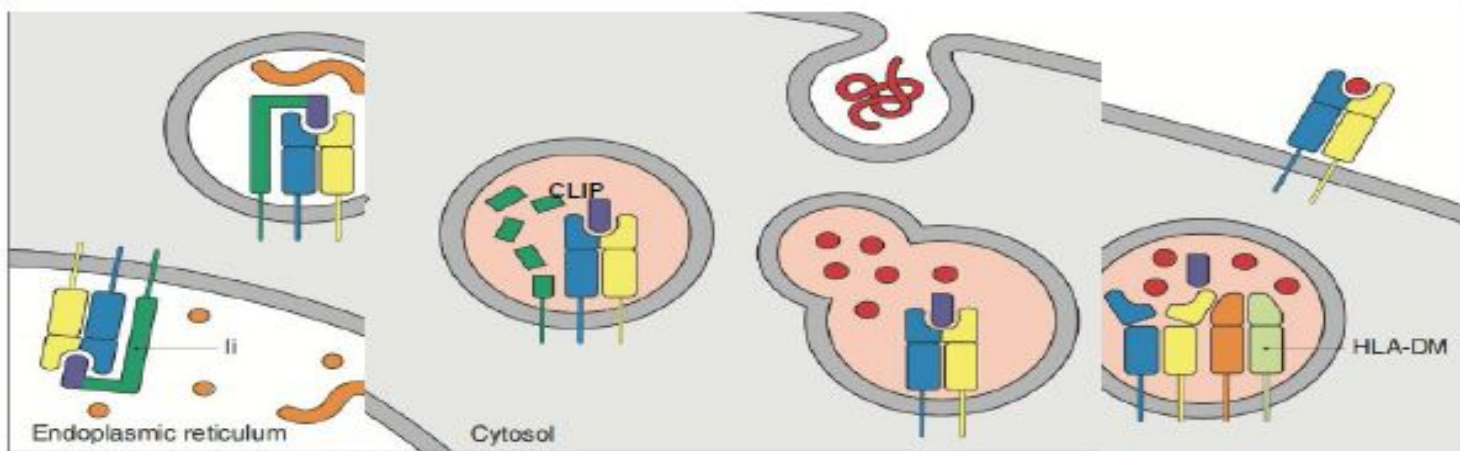
В - лимфоциты – профессиональные АПК и эффекторы гуморального иммунного ответа



Субъединицы МНС-II молекул сразу после образования соединяются в ЭПР с инвариантной цепью (IC), препятствующей ассоциации МНС-II с эндогенными антигенами. Проходя через Комплекс Гольджи, IC редуцируется до КЛИПА. Внутри эндосом DM обменивается с МНС КЛИПОМ, освобождая МНС-II для связывания с переваренными в фагосомах до олигопептидов экзогенными антигенами. Затем комплекс МНС-II-олигопептид транспортируется на наружную мембрану для презентации Т-хелперам



МНСII презентация



Инвариантная цепь (Ii) образует тример с α и β цепями МНСII, блокируя связывание эндогенных пептидов.

В кислой эндосоме инвариантная цепь расщепляется, оставляя в комплексе с МНСII короткий пептид CLIP (class 1-associated invariant chain peptide).

Антигены, попавшие в эндосому снаружи, деградируют до пептидов.

Молекула HLA-DM связывается с МНСII, изменяя ее конформацию и освобождая от CLIP.

Экзогенные пептиды связываются с МНСII и отправляются на поверхность путем экзоцитоза.

Наследственная предрасположенность к патологии и гаплотипы HLA

- Показатель относительного риска развития того или иного заболевания определяется по отношению частоты развития болезни при наличии данного аллеля или его отсутствия.

Связь между предрасположенностью к аутоиммунным заболеваниям и определенным гаплотипом HLA

Заболевание	Гаплотип HLA	Риск развития в %
Анкилозирующий спондилит	B 27	90.0
Болезнь Рейтера	B 27	37.0
Амилоидоз при ревматоидном артрите	B 27	8.2

Связь между предрасположенностью к аутоиммунным заболеваниям и определенным гаплотипом HLA

Заболевание	Гаплотип HLA	Риск развития в %
Инсулинзависимый сахарный диабет	DR 3/4	33.0
Рассеянный склероз	DR 2, DQ 6	12.0
Язвенный колит и болезнь Крона	DR 2	10-30
Целиакия	DR 3	21.0

Вопросы к занятию № 3

1. Дайте определение понятию «антиген».
2. Какие виды антигенов вам известны?
3. Перечислите основные свойства антигенов.
4. Опишите строение главного комплекса гистосовместимости
5. Дайте характеристику молекулам МНС I и II класса. На каких клетках экспрессируются данные молекулы. Каково их строение.
6. Назовите профессиональные антигенпрезентирующие клетки
7. Что такое «процессинг антигена и предоставление его в иммуногенной форме»?
8. Каковы особенности предоставления внутриклеточных антигенов?
9. Каковы особенности предоставления внеклеточных антигенов?
10. Приведите примеры наследственной предрасположенности к различным заболеваниям при определенных гаплотипах молекул МНС I и II класса.

Тестовые задания к занятию №3

1. Антигены – это:

- Компоненты патогенов
- Бактериальные токсины
- Вещества и объекты, имеющие признаки генетической чужеродности
- Болезнетворные факторы
- Вещества и объекты, поступающие в организм извне

2. Наибольшей чужеродностью обладают:

- Аллоантигены
- Изоантигены
- Ксеноантигены
- Толерогены
- Изоантигены

Тестовые задания к занятию №3

3. Определяет силу иммунного ответа свойство антигена:

- Чужеродность
- Специфичность
- Реактивность
- Антигенность
- Иммуногенность
-

4. Гаптен приобретает свойства антигена при связывании с:

- Антигеном
- Другим гаптенем
- Т-клеточным рецептором
- С высокомолекулярной молекулой носителя
- В-клеточным рецептором

Тестовые задания к занятию №3

5. Эпитоп-это:

- Наибольшая часть антигена, способная вызвать иммунный ответ
- Средняя часть антигена, способная вызвать иммунный ответ
- Наименьшая часть антигена, способная вызвать иммунный ответ
- Гаптен, не связанный с белком-носителем
- Часть рецептора Т и В лимфоцитов

6. Специфичность антигена определяет:

- Антигенная детерминанта (эпитоп)
- Степень гликозилирования
- Фиксация на поверхности клетки
- Молекулярная масса
- Видовая принадлежность
-

Тестовые задания к занятию № 3

7. Определяет способность формировать иммунную память свойство антигена:
 - Чужеродность
 - Специфичность
 - Реактивность
 - Антигенность
 - Иммуногенность
8. Где расположены гены МНС:
 - На 6 паре хромосом (длинное плечо)
 - На 6 паре хромосом (короткое плечо)
 - На 10 паре хромосом
 - На 5 паре хромосом
 - На 14 паре хромосом
 -

Тестовые задания к занятию № 3

9. Молекула МНС I класса состоит из:

- Одной полипептидной α – цепи
- Одной полипептидной β – цепи
- Одной тяжелой α -цепи , связанной с β 2-микроглобулином
- Трех полипептидных цепей
- Четырех полипептидных цепей

10. Молекула МНС II класса состоит из:

- Двух тяжелых и двух легких цепей
- Трех полипептидных цепей
- α ; β ; γ цепей
- α – и β цепей
- Одной полисахаридной цепи

Подготовка к занятию № 4

предлагается к самостоятельной
ознакомительной работе тема:

« Иммунопоз: созревание Т- и В -
клеточных рецепторов. Роль факторов
микроокружения. Механизмы
положительной и отрицательной
селекции. Строение Т- и В- клеточных
рецепторов. Основные субпопуляции.
Основные свойства лимфоцитов».