

Лимфоидная система как основа приобретенного антигенспецифического иммунитета

**к. м. н. Цидильковская
Э. С.**

Цитокины - это продуцируемые активированными клетками иммунной системы белково-пептидные факторы, осуществляющие короткодистантную регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий.

Цитокины определяют выживаемость клеток, стимуляцию или ингибирование их роста, дифференцировку и функциональную активацию клеток.

ЦИТОКИНЫ

Интерфероны

Интерлейкины

Хемокины

Фактор
некроза
опухоли

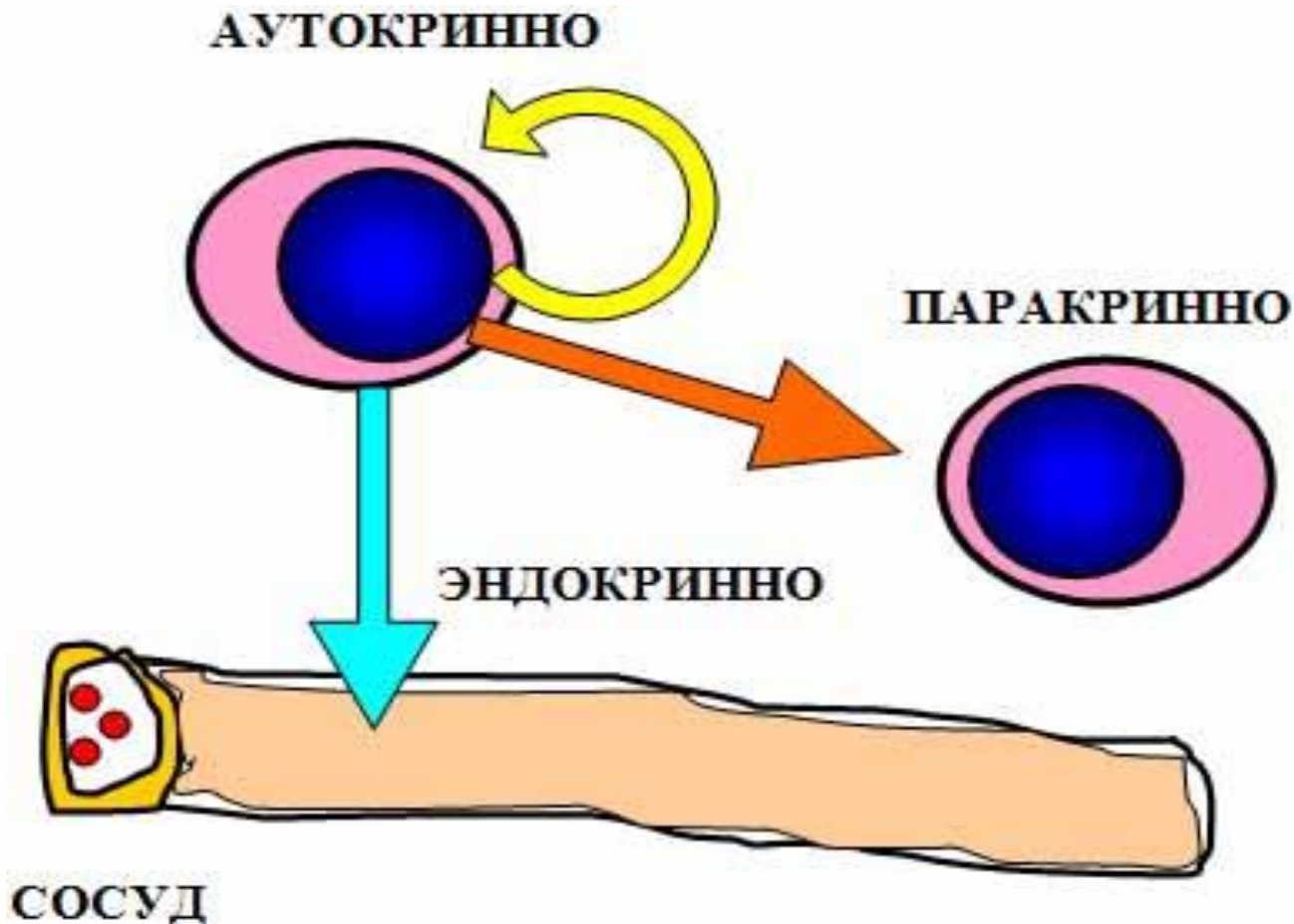
Колоние-
стимулирующи
е факторы

Факторы роста

Свойства цитокинов

1. синтезируются в процессе реализации механизмов естественного или специфического иммунитета;
2. служат медиаторами иммунной и воспалительной реакций , обладают аутокринной и паракринной активностью;
3. образуют регуляторную сеть, в которой отдельные элементы обладают синергическим или антагонистическим действием;
4. обладают плейотропной активностью.

Три варианта проявления биологического действия цитокинов

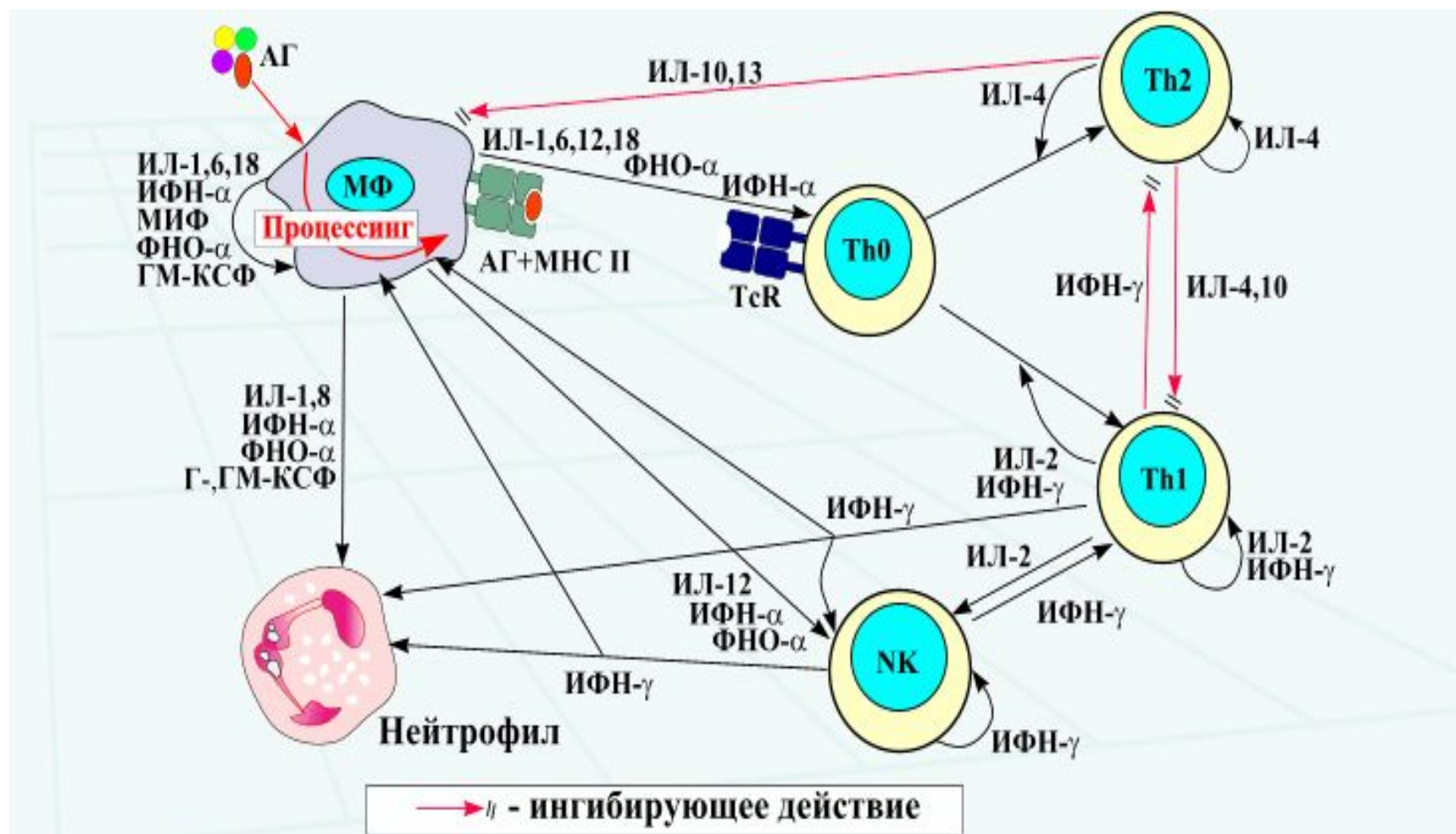


ИНТЕРЛЕЙКИ НЫ

1. Способны вызывать воспалительную реакцию,
2. Усиливают фагоцитарную активность макрофагов,
3. Оказывают цитотоксический и интерфероноподобный эффект,
4. Стимулируют пролиферацию лимфоидных клеток, синтез специфических антител.
5. Влияют на кооперативное взаимодействие макрофагов и лимфоцитов.

Семейства цитокинов	Подгруппы и лиганды	Основные биологические функции
Цитокины Т-хелперных клонов и регулирующие функции лимфоцитов	Т-хелперы 1 типа: ИЛ-2, ИФН γ	Активация клеточного иммунитета
	Т-хелперы 2 типа: ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13	Активация гуморального иммунитета, иммуномодулирующее действие
	ИЛ-2 ИЛ-4 ИЛ-13 ИЛ-7 ИЛ-9 ИЛ-15 ИЛ-21	Стимуляция дифференцировки, пролиферации и функциональных свойств различных типов лимфоцитов, дендритных клеток, НК-клеток, макрофагов

Аутокринно-паракринная регуляция иммунного ответа



Антигенпредставляющие клетки (АПК)

- Макрофаги
- Дендритные клетки

Для зрелых дендритных клеток характерны 3 фундаментальных свойства, объединяющие все их разновидности:

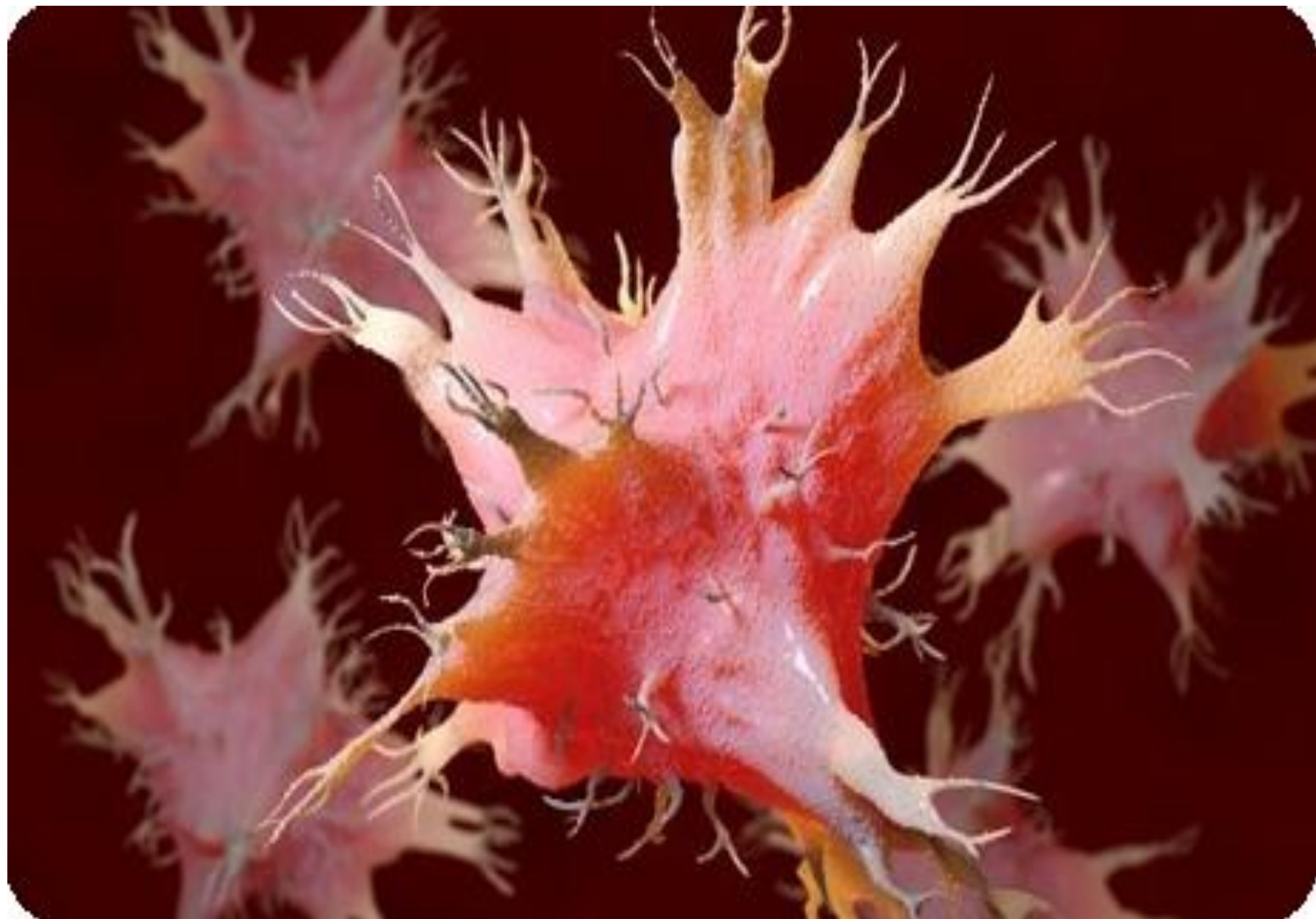
1. Отростчатая, древовидная морфология в тканях и наличие псевдоподий и ворсинок (вуалевые клетки) в циркуляции и культуре клеток;
2. Высокая экспрессия зрелыми клетками молекул МНС не только I, но и II класса в сочетании с костимулирующими молекулами (CD80, CD86);
3. Способность захватывать (путем пиноцитоза и, в меньшей степени, фагоцитоза) и обрабатывать антиген с последующим его представлением Т-лимфоцитам, что вызывает активацию последних.

CD

антигены

Кластерная дифференциация поверхностных молекул (антигенов) клеток, прежде всего лейкоцитов.

CD антигены - не абстрактные маркеры, а функционально значимые для клетки рецепторы и детерминанты.



Важнейшие дифференцировочные антигены Т-лимфоцитов

- CD3** — необходимы для функционирования любых Т-клеточных рецепторов (ТКР). Молекулы CD3 имеют все субклассы Т-лимфоцитов. Взаимодействие ТКР-CD3 с антиген-молекулой МНС класса 1 или 2 определяет характер и реализацию иммунного ответа.
- CD4** - эти рецепторы имеют Т-хелперы 1 и 2. Являются корецептором (местом связывания) детерминант белковых молекул МНС 2. Является специфическим рецептором для оболочечных белков вируса иммунодефицита человека (ВИЧ).
- CD8** - популяция CD8⁺ Т-лимфоцитов включает цитотоксические и супрессорные клетки. При контакте с клеткой-мишенью CD8 выступает в роли корецептора для белков МНС 1.

Основные фенотипы субпопуляций лимфоцитов периферической крови

Рецепторы антигены	Субпопуляции лимфоцитов	Нормальное содержание:
CD 3+	Общая популяция зрелых Т-лимфоцитов	55-80% 800-2200/мкл
CD 4+	Т-лимфоциты хелпер/ индукторы	31-49% 600-1600/мкл
CD 8+	Т-лимфоциты супрессоры / цитотоксические	19-37% 300-800 /мкл
CD16+	НК-клетки (естественные киллеры)	5-19% 100-500 /мкл
CD19+	Общая популяция В- лимфоцитов	5-19% 100-500 /мкл
CD 23+	Низкоаффинный рецептор для IgE на В-клетках	5-19% 100-500 /мкл
CD25+	Рецептор к ИЛ-2 на активированных Т- и В- лимфоцитах	5-19% 100-500 /мкл
HLA-DR+	Маркёр поздней активации Т- лимфоцитов	5-19% 100-500 /мкл
CD 95+ Fas, APO-1	Маркёр апоптоза на Т- и В- клетках	5-19% 100-500 /мкл

Проточная цитометрия

Метод оптического измерения параметров клетки, ее органелл и происходящих в ней процессов.

Методика заключается в выявлении рассеяния света лазерного луча при прохождении через него клетки в струе жидкости, причём, степень световой дисперсии позволяет получить представление о размерах и структуре клетки.

Клеточная суспензия, предварительно меченная флюоресцирующими моноклональными антителами или флуоресцентными красителями, попадает в поток жидкости, проходящий через проточную ячейку. Условия подобраны таким образом, что клетки выстраиваются друг за другом за счет т. н. гидродинамического фокусирования струи в струе.

В момент пересечения клеткой лазерного луча детекторы фиксируют:

- рассеяние света под малыми углами (от 1° до 10°) (используется для определения размеров клеток).
- рассеяние света под углом 90° (соотношении ядро/цитоплазма, неоднородности и гранулярности клеток).
- интенсивность флуоресценции по нескольким каналам флуоресцентности (от 2 до 18-20)- позволяет определить субпопуляционный состав клеточной суспензии и др.

Принцип проточной цитометрии

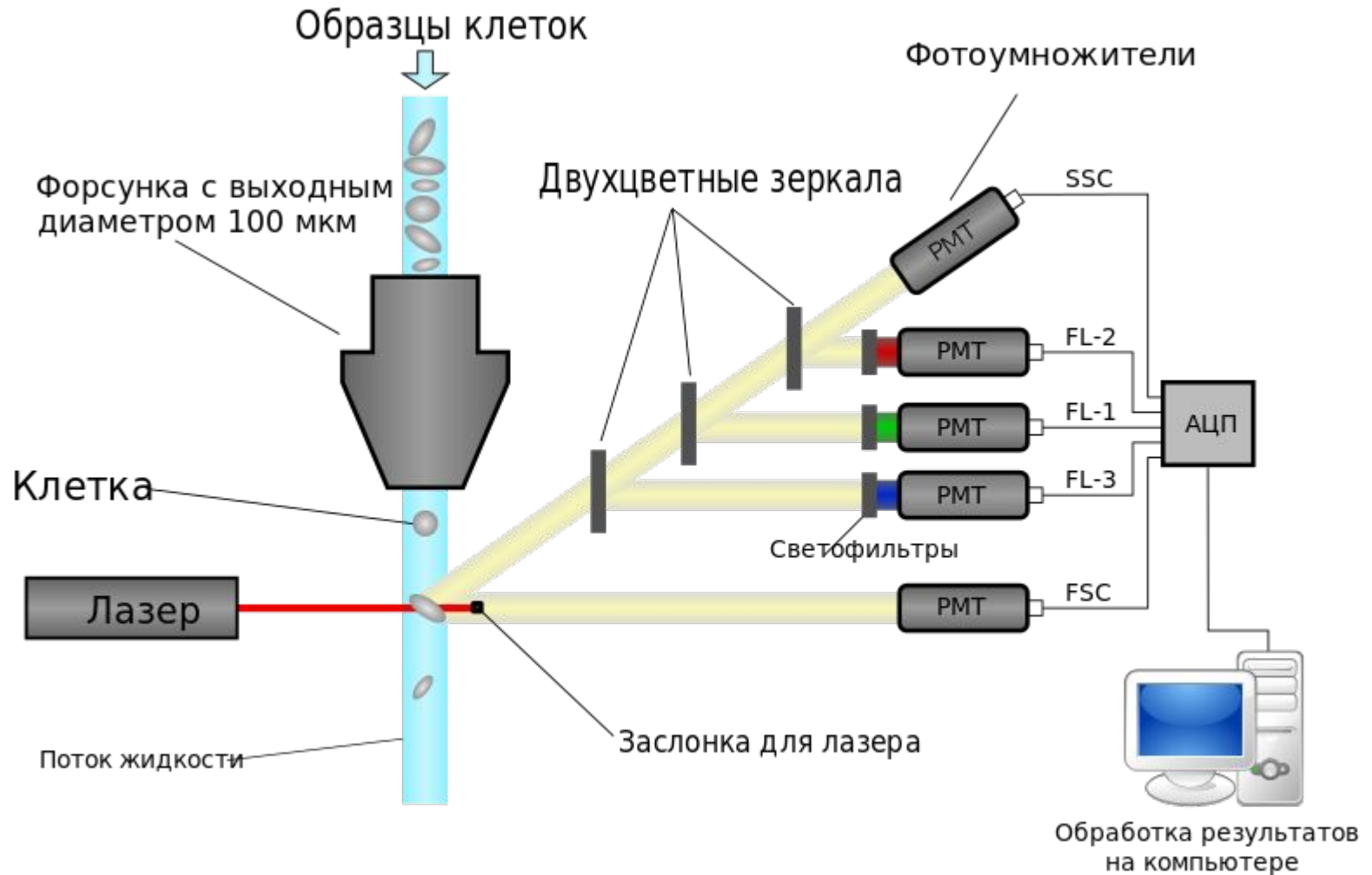
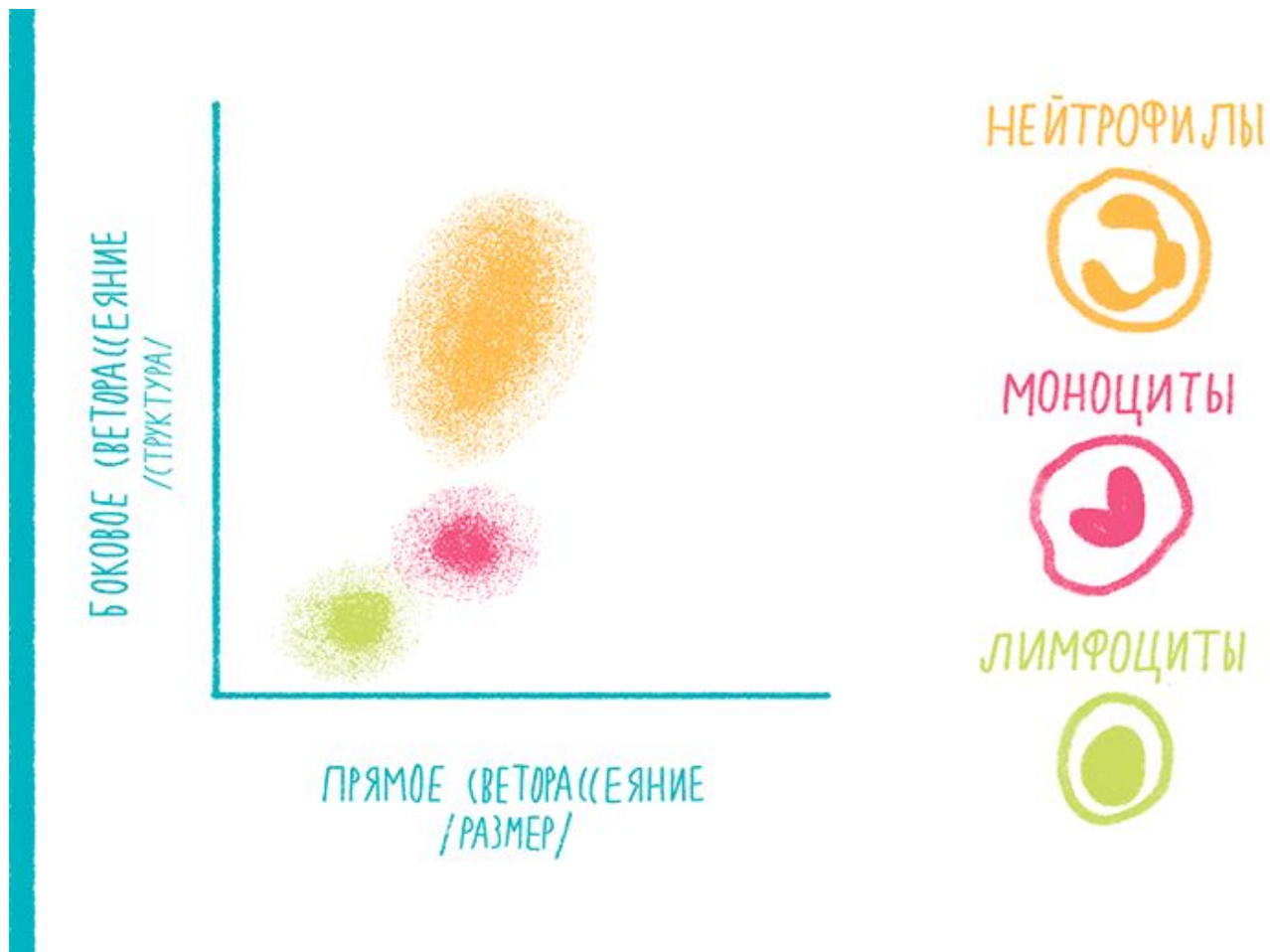
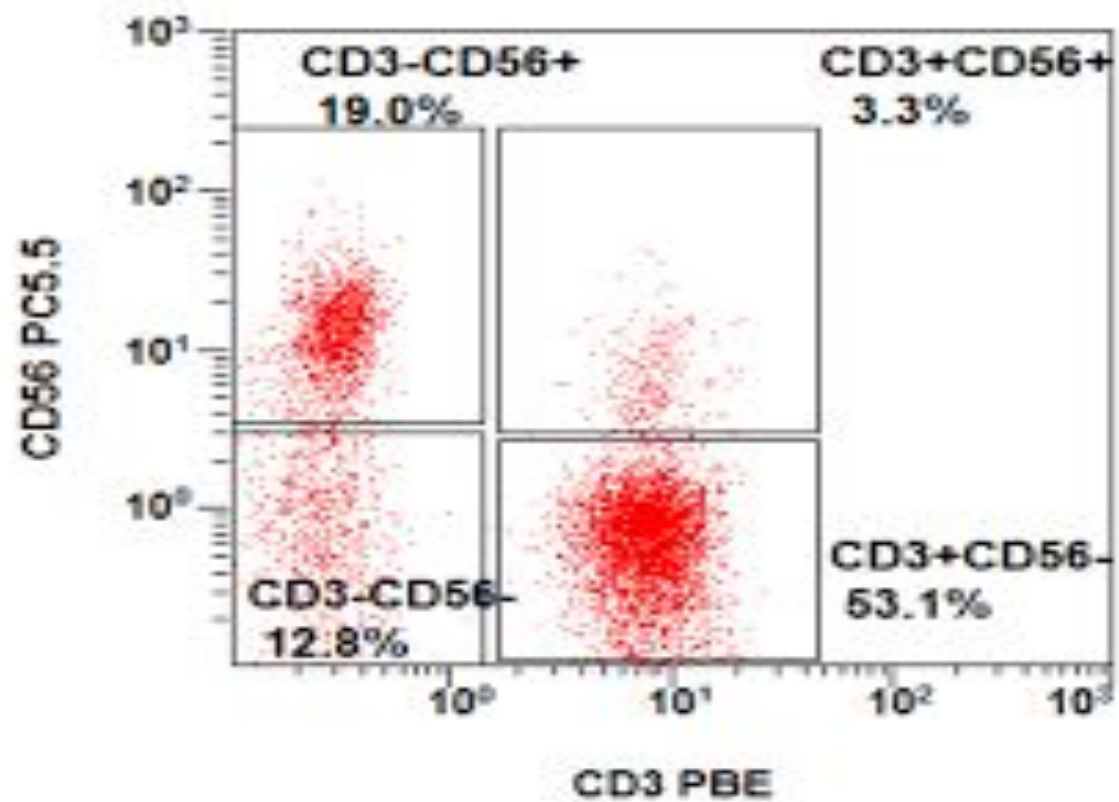


Диаграмма бокового—прямого (SS—FS) светорассеяния для суспензии лейкоцитов



[Singlets AND Lymphs] FL9 INT LOG/FL4 INT LOG





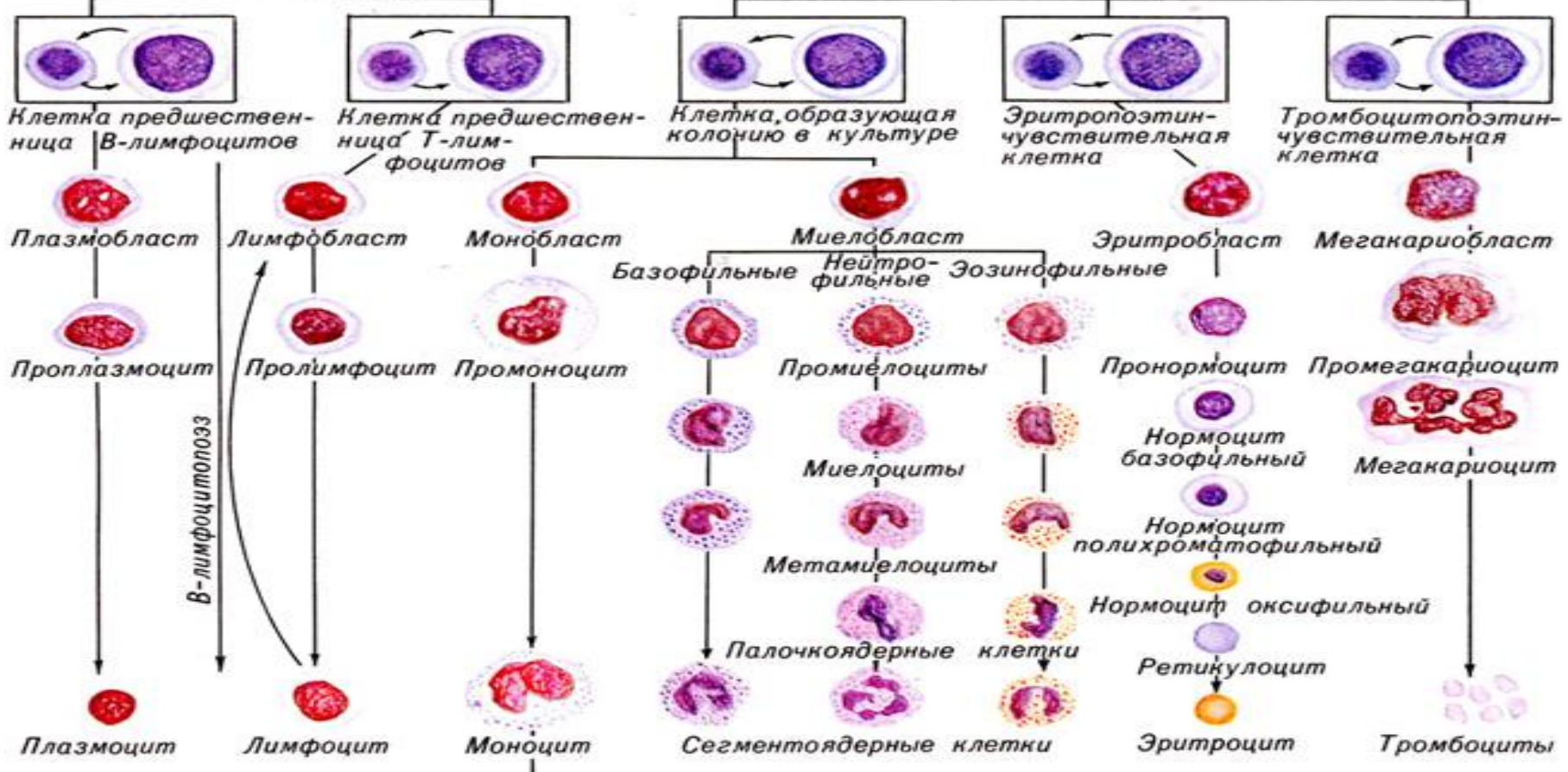
Сравнительная характеристика Т- и В-лимфоцитов

	<i>Т-лимфоциты</i>	<i>В-лимфоциты</i>
Происхождение	Костный мозг	Костный мозг
Созревание	Тимус	Костный мозг
Содержание в крови	65-80 %	10-15 %
Рецептор для антигена	Протеиновый гетеродимер, ассоциированный с CD3, CD4, CD8	Молекула иммуноглобулина
Митогены, стимулирующие клетки	Фитогемагглютинин, конканавалин А, анти-Т-антитела	Липополисахариды, антиглобулиновые антитела
Участие в гуморальном ответе: индукция антител продукция антител	-и +	+ +
Участие в клеточных реакциях	+	-
Клетки памяти	Т-лимфоциты памяти	В-лимфоциты памяти
CD-антигены	CD-2, 3, 4 или 8, 5, 7, 28	CD- 19, 21, 22, 23, 24, 37

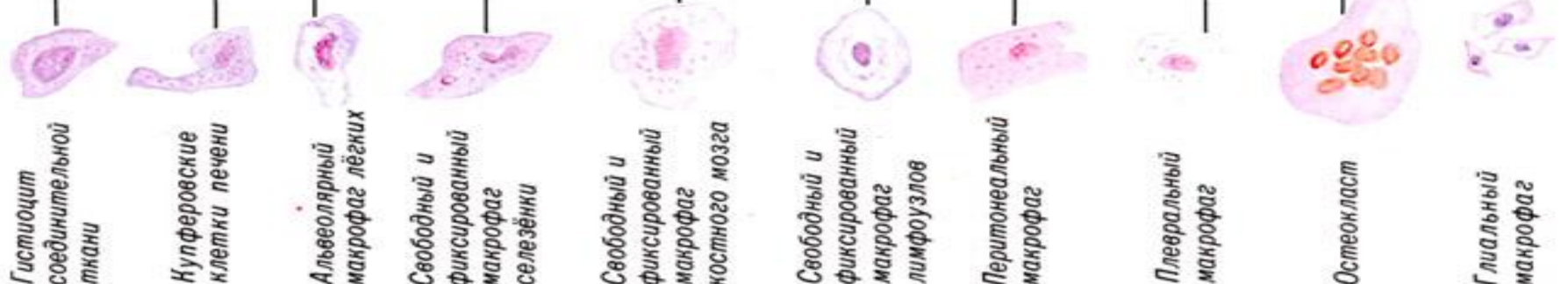
Свойства клеток	В-лимфоциты	Т-лимфоциты	НК-клетки
Органы, где происходит развитие клеток	Костный мозг	Костный мозг, тимус	Костный мозг, селезенка
Морфологические особенности	Малые лимфоциты	Малые лимфоциты	Большие гранулярные лимфоциты
Антигенраспознающий рецептор	Иммуноглобулин	Т-клеточный рецептор — димер	Отсутствует
Содержание в крови (% от общего количества лимфоцитов)	8—20 %	65—80 %	5—20 %
Функции	Предшественники антителопродуцентов (плазмочитов)	Предшественники эффекторных и регуляторных клеток	Естественные (натуральные) киллеры

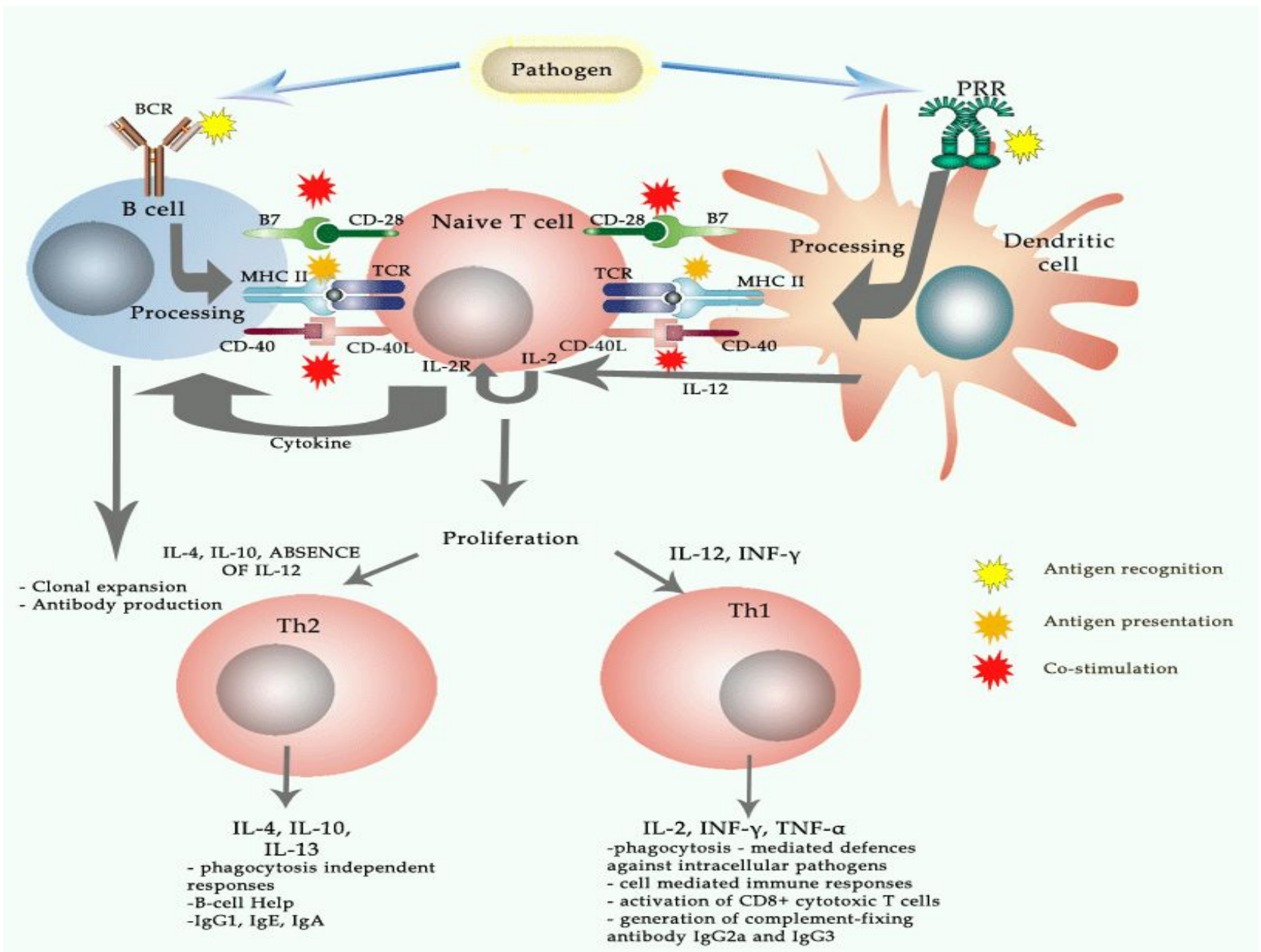
Клетка предшественница лимфоцитопоэза

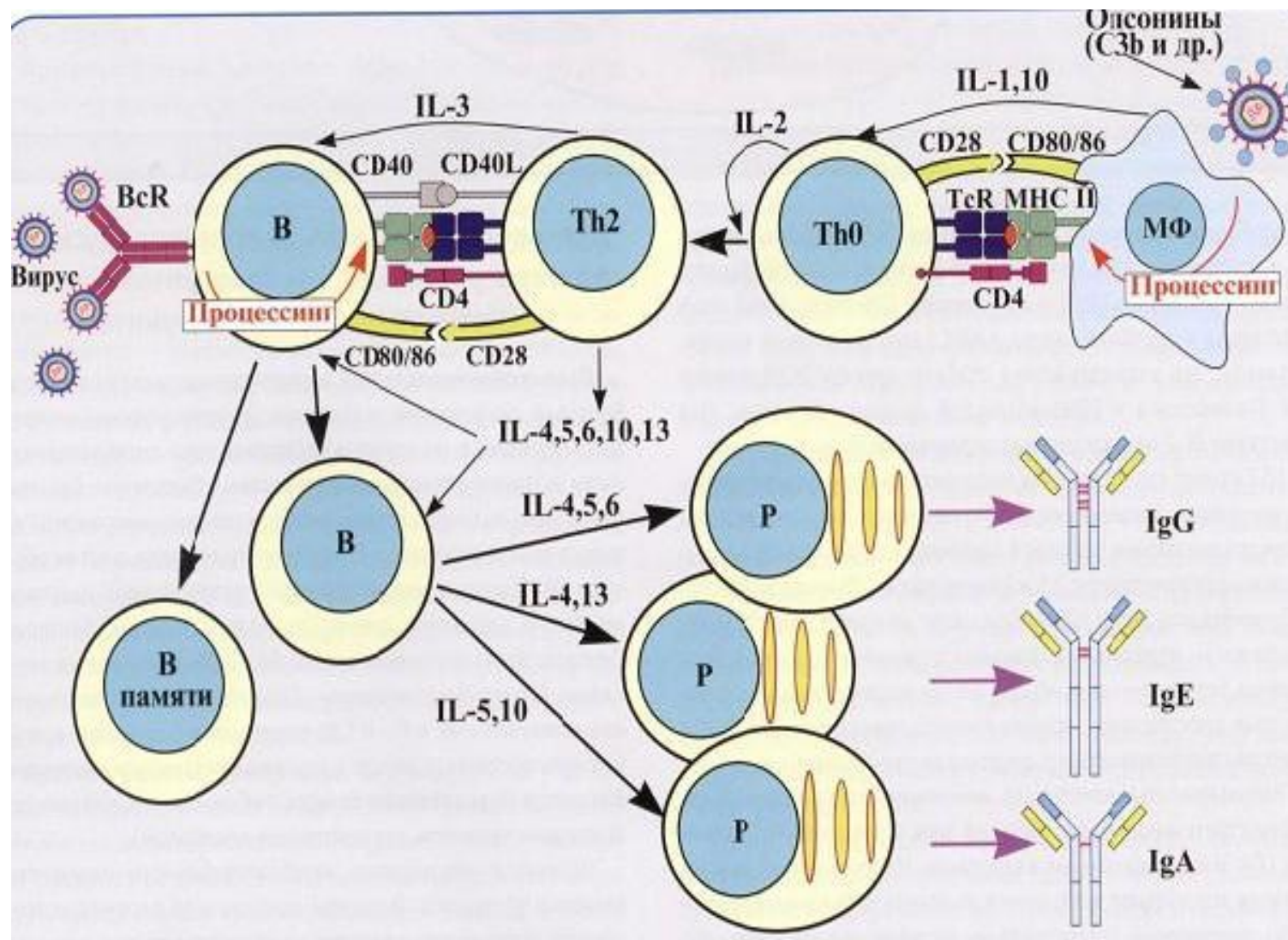
Клетка предшественница миелопоэза

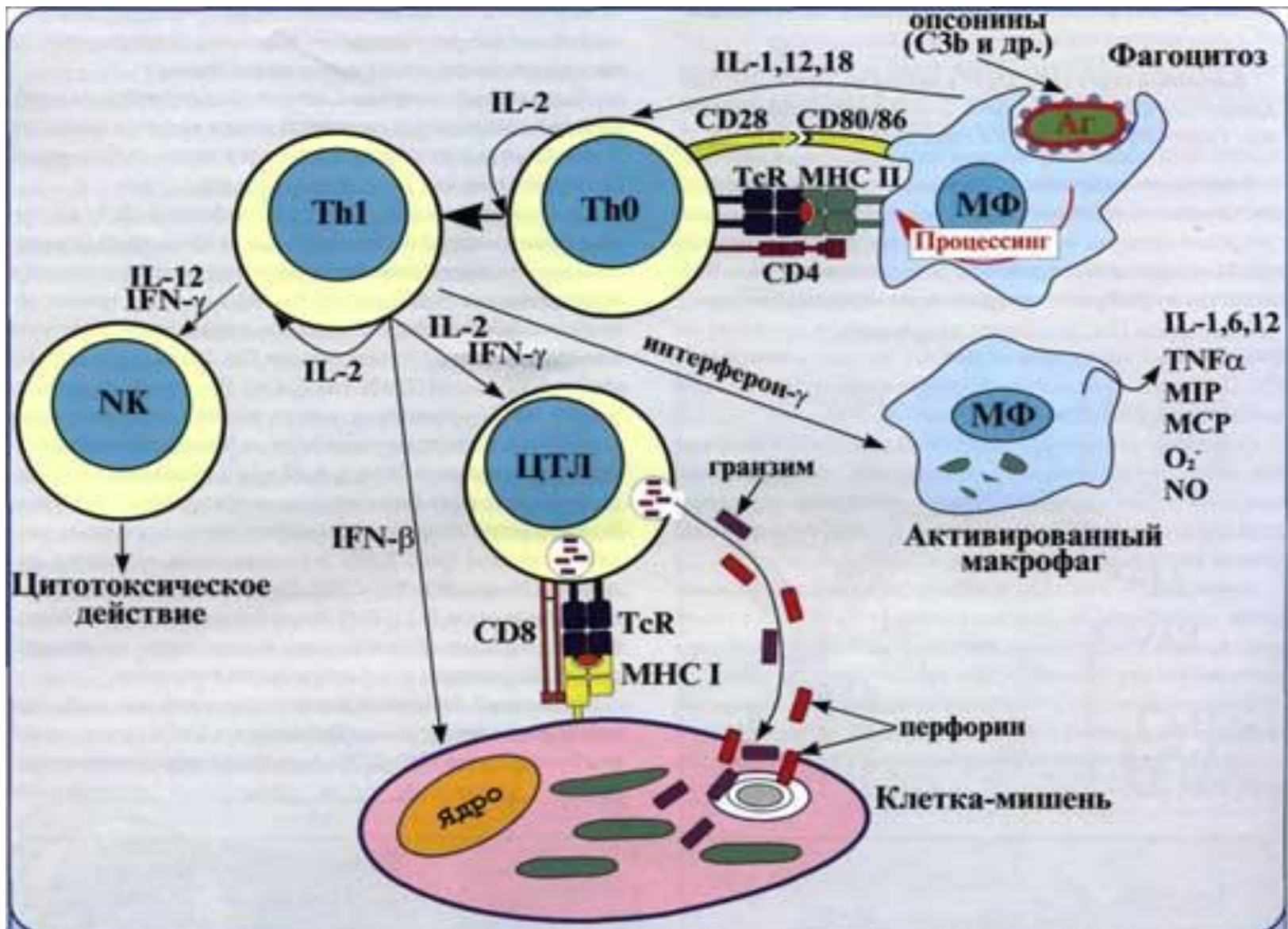


М а к р о ф а г и









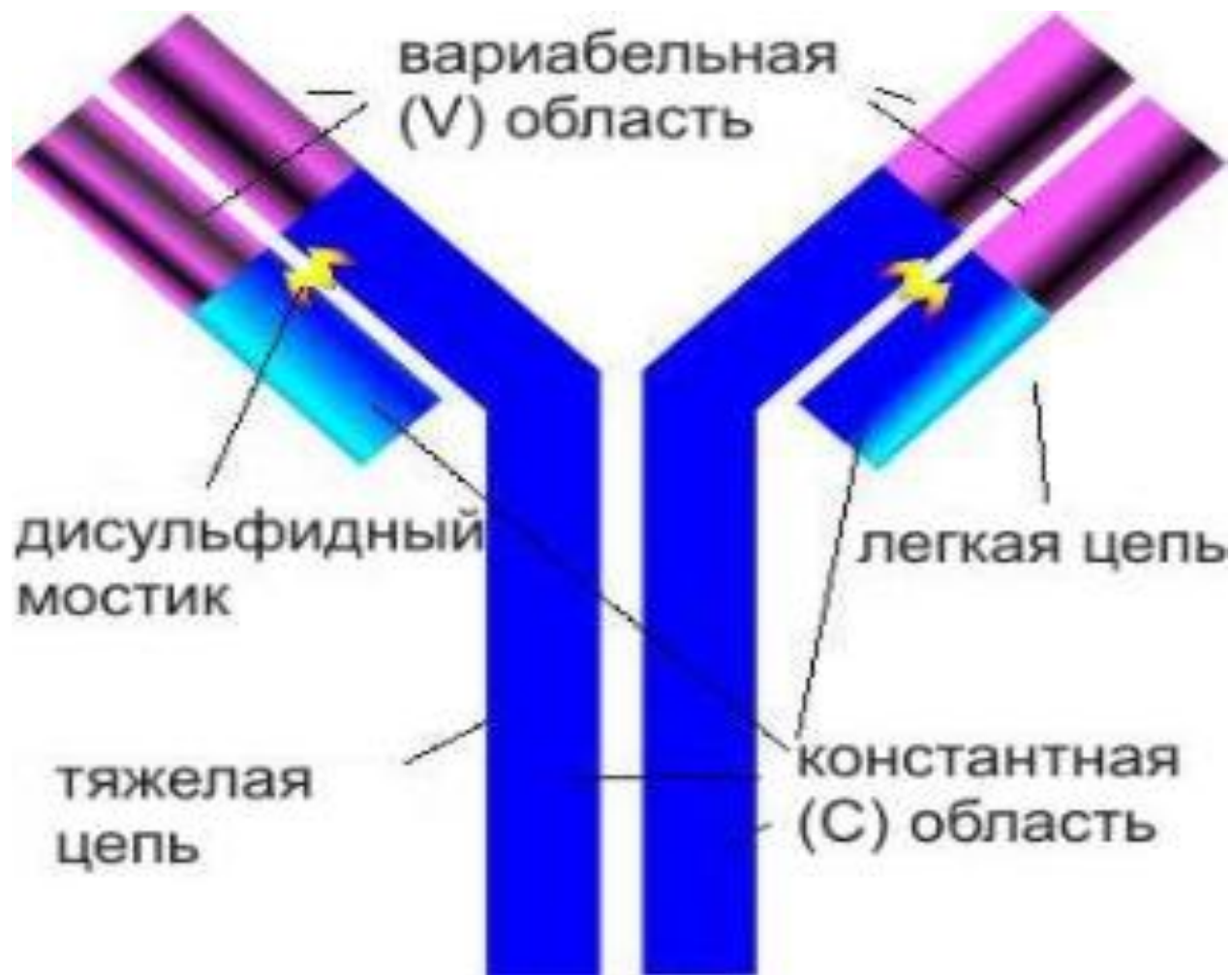
Сравнительная характеристика лимфоцитов T_h1 и T_h2

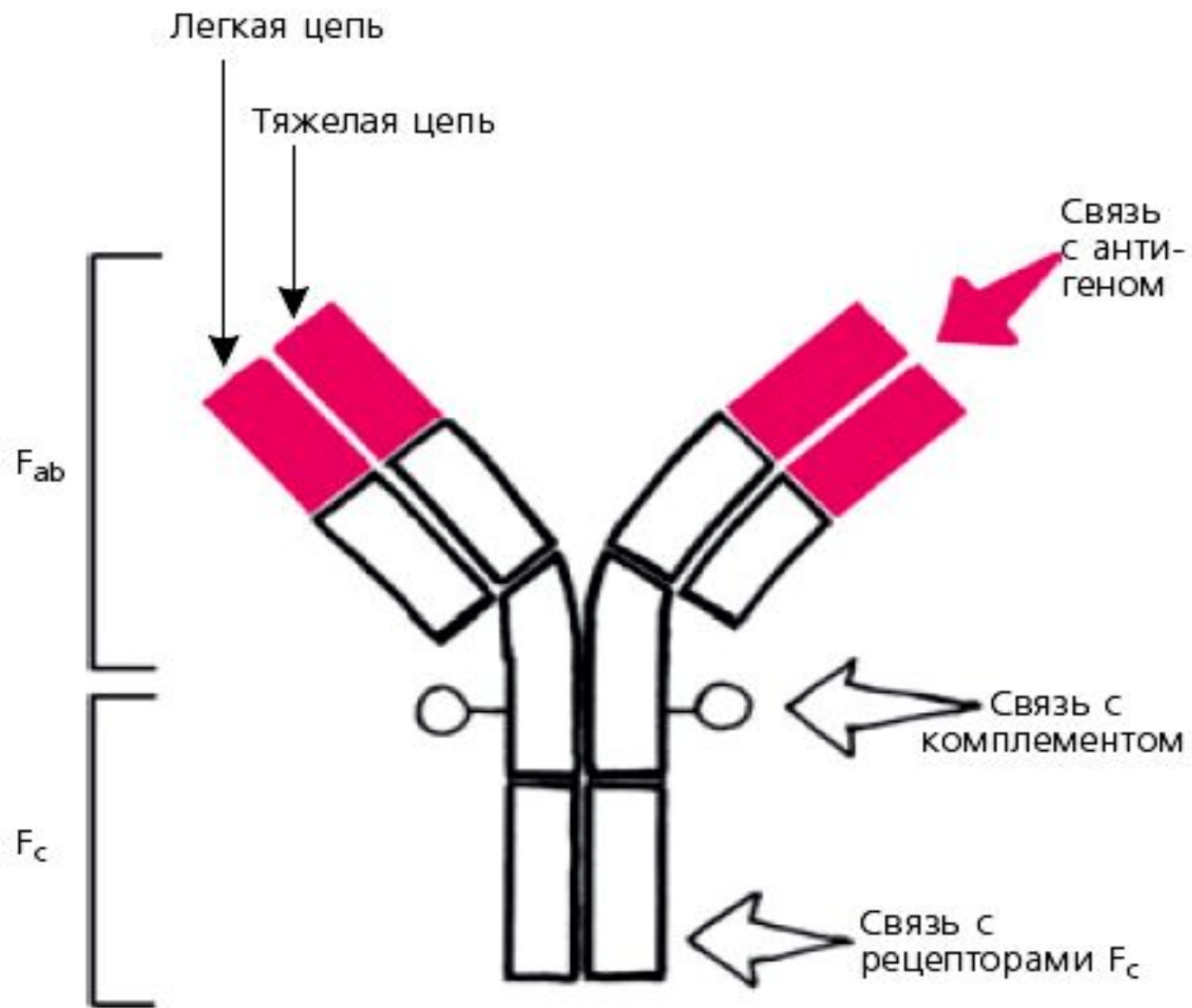
T-лимфоциты

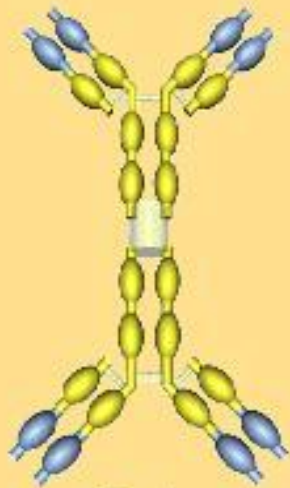
T_h1 и T_h2

T_h2

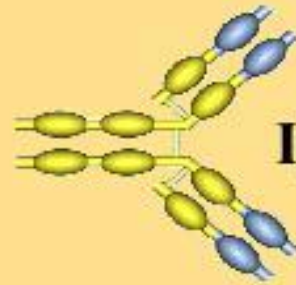
Индущирующие антигены	Антигены внутриклеточных микроорганизмов (микобактерии, листерии, вирусы)	Аллергены, антигены гельминтов, белковые антигены
Антигенпредставляющие клетки	Дендритные клетки, макрофаги	B-лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки
Способствующие факторы	ИЛ- 12, CD80	ИЛ-1, CD86
Образуемые цитокины	ИЛ-2, ИЛ- 12, γ-ИФН, α-ФНО	ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ- 13
Формируемые реакции	Клеточные реакции, противовирусный иммунитет, аутоиммунные реакции	Гуморальный иммунитет, аллергические реакции, иммунитет против паразитов
Подавляемые реакции	Гуморальные реакции	Клеточные реакции



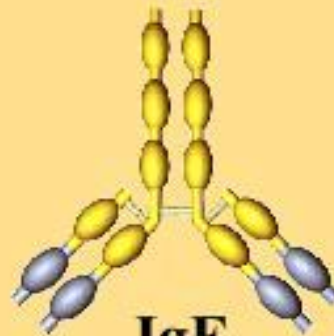




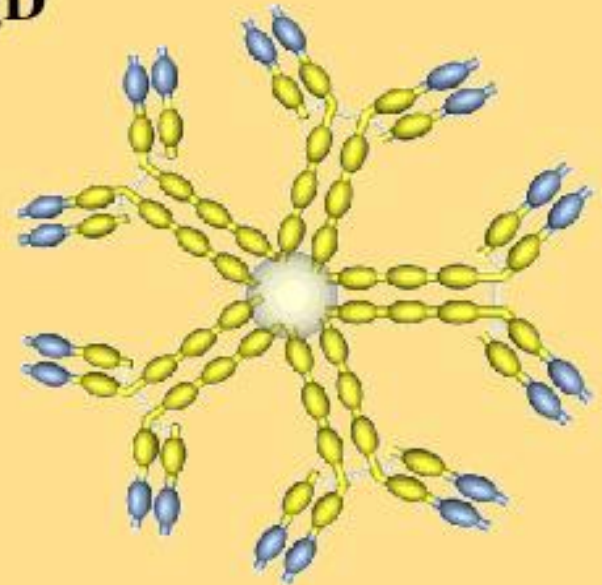
IgA



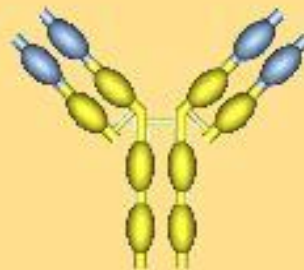
IgD



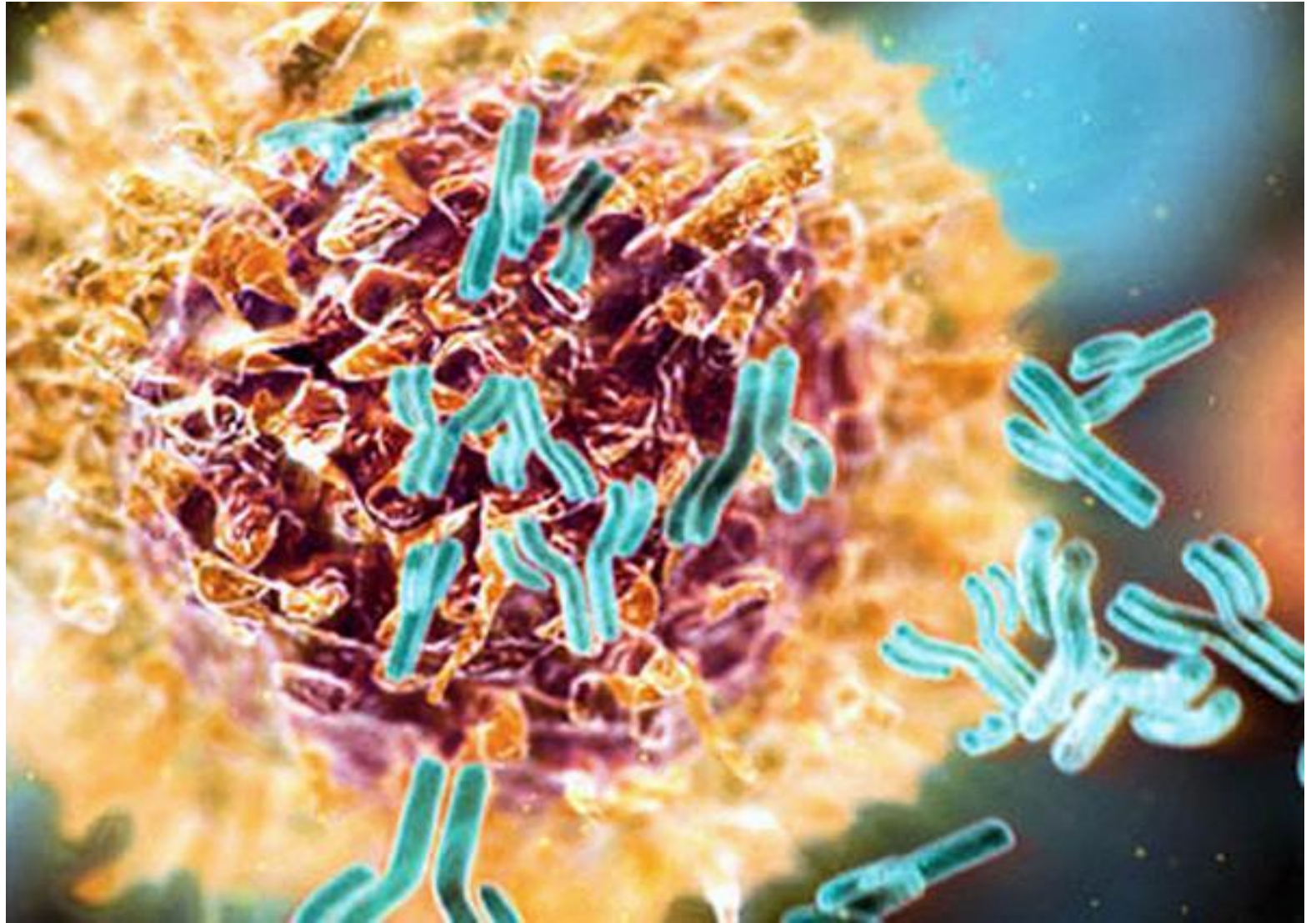
IgE



IgM



IgG



IgG

1. Вырабатываются как при первичном, так и при вторичном иммунном ответе.
2. Обладают максимальной способностью проникать в ткани, поэтому они наиболее эффективно связывают и удаляют антигены. Проходит через плаценту.
3. На основании структурных различий тяжелых цепей можно выделить 4 подкласса IgG, которые обозначаются IgG_1 , IgG_2 , IgG_3 и IgG_4 . Подклассы IgG различаются по способности связывать комплемент и активировать его по альтернативному пути, связываться с рецептором к Fc-фрагменту IgG на разных типах клеток и проникать через плаценту.

IgM

1. Вырабатываются при первичном иммунном ответе.
2. Пентамерная молекула IgM состоит из 5 мономерных молекул, подобных молекуле IgG, связанных дисульфидными мостиками и J-цепью.
3. Эти антитела не проникают через плаценту.
4. IgM эффективно связывают комплемент и активируют его по классическому пути, обеспечивая разрушение клеток, например бактерий.
5. К этому классу иммуноглобулинов относятся изогемагглютинины — естественные антитела к эритроцитарным антигенам А и В.

IgA

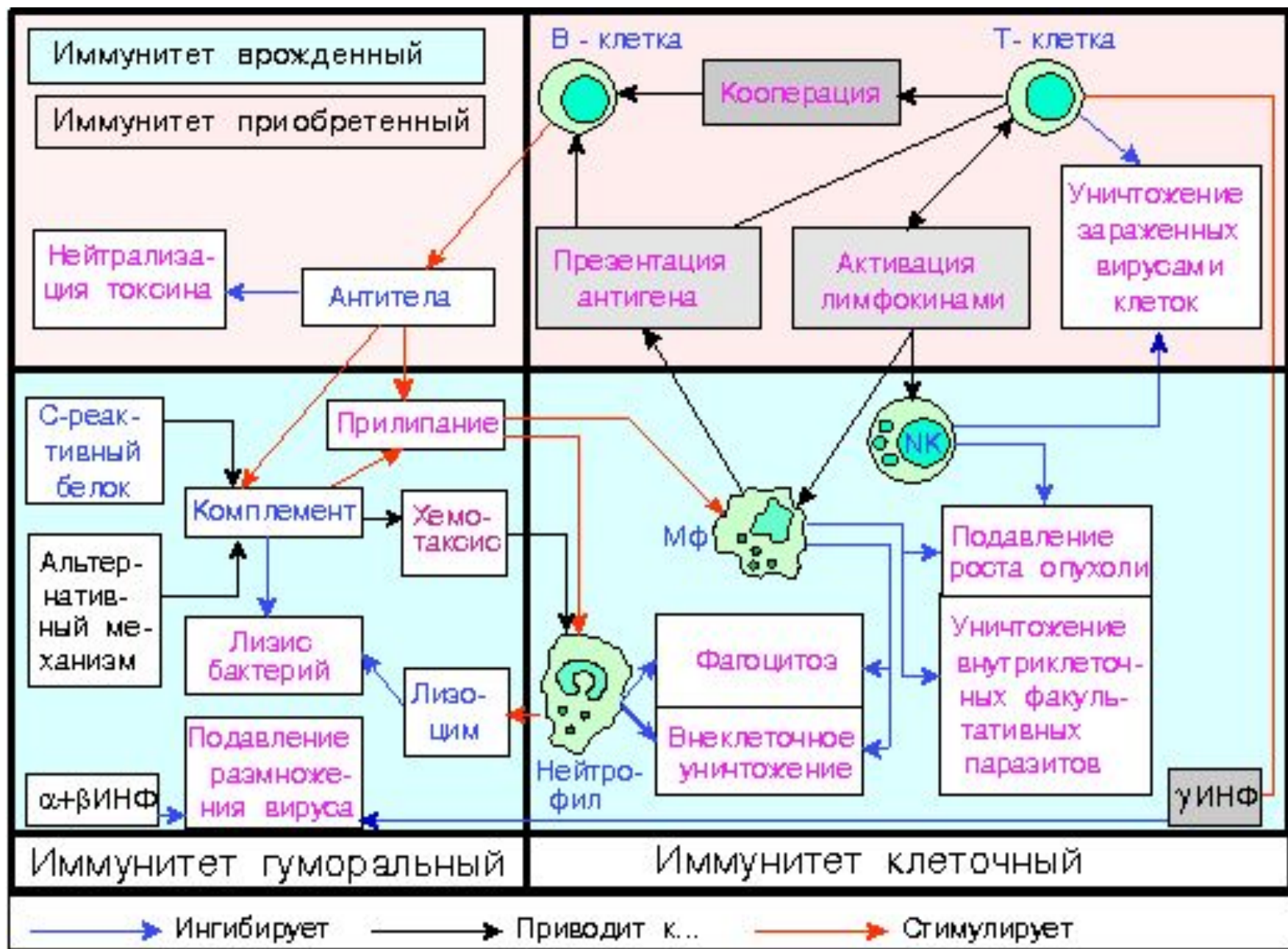
1. Основной иммуноглобулин слизистых, содержится также в крови.
2. В слизистых IgA присутствуют в виде димеров, в сыворотке — в виде мономеров, димеров и тримеров.
3. Димерный IgA содержит секреторный компонент, который обеспечивает проникновение молекулы через эпителий.
4. Изолированный дефицит IgA — самая частая форма первичного иммунодефицита

IgE

1. В норме концентрация IgE в сыворотке невелика, однако она возрастает при аллергических реакциях немедленного типа.
2. Высокоаффинные рецепторы к Fc-фрагменту IgE находятся на тучных клетках и базофилах. При связывании IgE, фиксированных на мембранах тучных клеток или базофилов, с антигеном происходит высвобождение медиаторов воспаления. Именно этот механизм лежит в основе патогенеза анафилактических реакций

Основные характеристики гуморального и клеточного иммунитета

Гуморальный иммунитет	Клеточный иммунитет
Опосредован антителами	Опосредован клетками
Клетки-эффекторы — В-лимфоциты	Клетки-эффекторы — Т-лимфоциты
Пассивный иммунитет формируется при введении сыворотки	Пассивный иммунитет формируется при введении лимфоцитов
Основа антибактериального иммунитета	Основа противовирусного, противоопухолевого, противогрибкового иммунитета



Иммунодиагностические методы 1-го уровня

- 1) относительное и абсолютное число лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови (анализ крови клинический);
- 2) относительное и абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов, NK-клеток с использованием моноклональных антител против CD3-, CD 19- CD16- CD56- маркеров соответственно;
- 3) субпопуляции Т-лимфоцитов: Т-хелперы (CD3, CD4), Т-цитотоксические (CD3, CD8) и их соотношения (CD4/CD8);
- 4) концентрация сывороточных иммуноглобулинов основных классов (IgM, IgG, IgA, IgE);
- 5) фагоцитарная активности лейкоцитов, выработка активных форм кислорода;
- 6) активность комплемента;

Иммунодиагностические методы 2-го уровня

- 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. (важны для диагностики лейкозов и других онкологических заболеваний);
- 3) экспрессия активационных маркеров на поверхности иммунокомпетентных клеток: CD25, CD69, CD71, HLA-DR;
- 4) оценка способности Т- и В-лимфоцитов к пролиферативному ответу на различные стимуляторы (антигены);
- 5) показатели апоптоза лимфоцитов;

6) оценка концентрации цитокинов, вырабатываемых Th 1 и 2 типа (ИФН- γ , 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;