



**Методы исследования иммунного статуса и принципы его оценки (тесты 1 и 2 уровня).
Принципы интерпретации полученных данных.
Физиологические и возрастные особенности иммунитета.**

Лекция 6

Методики, используемые для оценки иммунного статуса



Основой клинической иммунологии является оценка иммунного статуса человека, т. е. определение количественных показателей и функциональной активности иммунной системы, как в норме, так и при патологии.



Тесты первого уровня

просты, немногочисленны, экономически доступны любому лечебному учреждению и включают следующие:

- определение формулы крови (микроскопия на мазке и подсчет клеток в камере Горяева) и общеклинический анализ крови;
- определение количества Т- и В-лимфоцитов в крови;
- определение содержания иммуноглобулинов классов М, G и А в сыворотке крови;
- в связи с появлением такого нового заболевания как СПИД, к тестам первого уровня следует добавить анализ на ВИЧ-инфекцию.

определение содержания иммуноглобулинов классов М, G и А в сыворотке крови;

определение формулы крови (микроскопия на мазке и подсчет клеток в камере Горяева) и общеклинический анализ крови

**Тесты
1 уровня**

В связи с появлением такого нового заболевания как СПИД, к тестам первого уровня следует добавить анализ на ВИЧ-инфекцию.

определение количества Т- и В-лимфоцитов в крови

Тесты второго уровня - это более детальное и углубленное исследование различных параметров:

- мембранных маркёров субпопуляций лимфоцитов и лейкоцитов;
- пролиферативных свойств лимфоцитов в культурах *in vitro* с митогенами;
- продукции цитокинов в культуре клеток из периферической крови, пунктата костного мозга или иного биологического материала;
- активность катаболических ферментов (МПО, NO-синтазы, каталазы и др.)
- функции расщепления в фагоцитах поглощенного материала;
- продукции биологически активных веществ эозинофилов (ЕСР-эозинофильного катионного протеина и др.), тучных клеток (триптаза, гистамин) в крови, мокроте или смывах со слизистых оболочек;
- белков острой фазы и белков системы комплемента;
- при аллергии - анализ общего и аллерген-специфических IgE;
- анализ на наличие аутоантител;
- кожные пробы с антигенами на гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ) при аллергодиагностике;
- кожные пробы замедленного типа (ГЗТ) на широко распространённые или вакцинные микробные антигены (стрептококковый, столбнячный, дифтерийный, туберкулин и т. п.).

Классификация методов оценки иммунного статуса (С.А.Кетлинский и Н.М.Калинина (1998))

Методы иммунодиагностики

скриннинговые

для фиксирования
нарушений в ИС

уточняющие

для установления механизмов,
задействованных в их реализации с
целью дальнейшей иммунокоррекции

**Иммунологическое обследование
проводится натошак.**

**Одновременно необходимо
сделать клинический анализ
крови**



- **Иммуноанализы:**
- **методы качественного и количественного определения растворимых веществ, в основе которых лежит взаимодействие антигена с антителом (т. е. иммунологическое распознавание), которое детектируется (визуализуется) с помощью специальной метки, заранее конъюгированной либо с антителом, либо с антигеном.**
- **В качестве меток используют вещества, которые при определенных условиях может видеть либо тот или иной прибор, либо глаз человека.**
- **Приборы могут не только увидеть, но и измерить количество метки.**

- Прогресс в области экспериментальной и клинической иммунологии позволил разработать множество методов лабораторной диагностики, основанных на применении антител.
- Эти методы применяются в диагностике иммунодефицитов, аутоиммунных и аллергических заболеваний, злокачественных новообразований.

Качественные и количественные методы определения IgA, IgG и IgM.

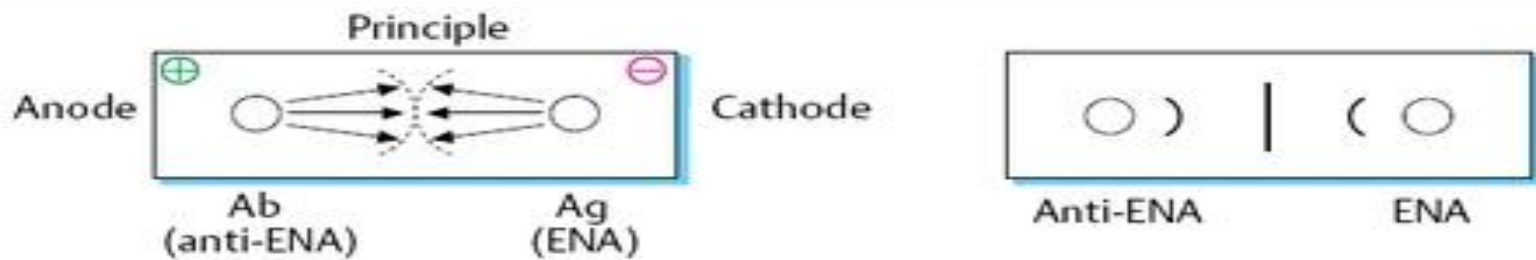
- Электрофорез
- Двойная радиальная иммунодиффузия
- Простая радиальная иммунодиффузия
- Нефелометрия
- РИА.
- Твердофазный ИФА.
- Иммуноблоттинг

Иммуноэлектрофорез.
позволяет оценить лишь
качественный состав
исследуемой смеси белков,
применяется для выявления и
характеристики моАТ

электрофорез

**Зональный
электрофорез** —
полуколичественный
метод, позволяющий
разделить смесь белков в
зависимости от их
молекулярной массы и
электрического заряда.

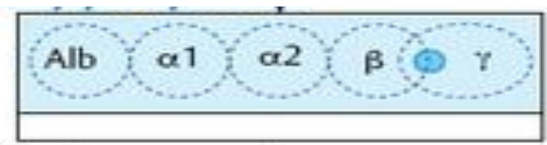
**Электрофорез с
иммунофиксацией**
Основан на электрофоретическом
разделении белков сыворотки в
геле с последующей инкубацией
геля в присутствии антител к
тяжелым и легким цепям
иммуноглобулинов. Применяется в
сочетании с иммуноэлектрофорезом
для определения моноклональных или
олигоклональных иммуноглобулинов



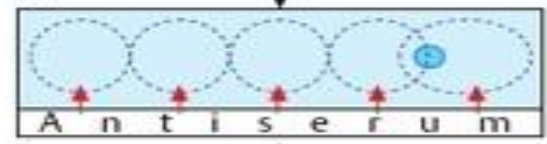
B. Transmigration electrophoresis (countercurrent electrophoresis)



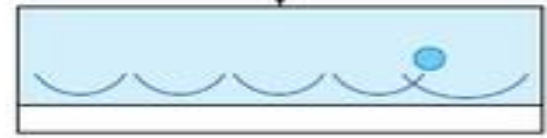
Electrophoresis



Antiserum/diffusion in gel



Precipitation



Immuno electrophoresis

C. Immuno electrophoresis (time course of procedure)



D. Electrophoresis in antibody-containing gel (rocket electrophoresis)

Двойная радиальная иммунодиффузия



Полуколичественный метод, позволяющий не только выявить антигены, но и оценить степень сходства между ними.

Метод применяется в диагностике аутоиммунных заболеваний для выявления аутоантител к экстрагируемым ядерным антигенам

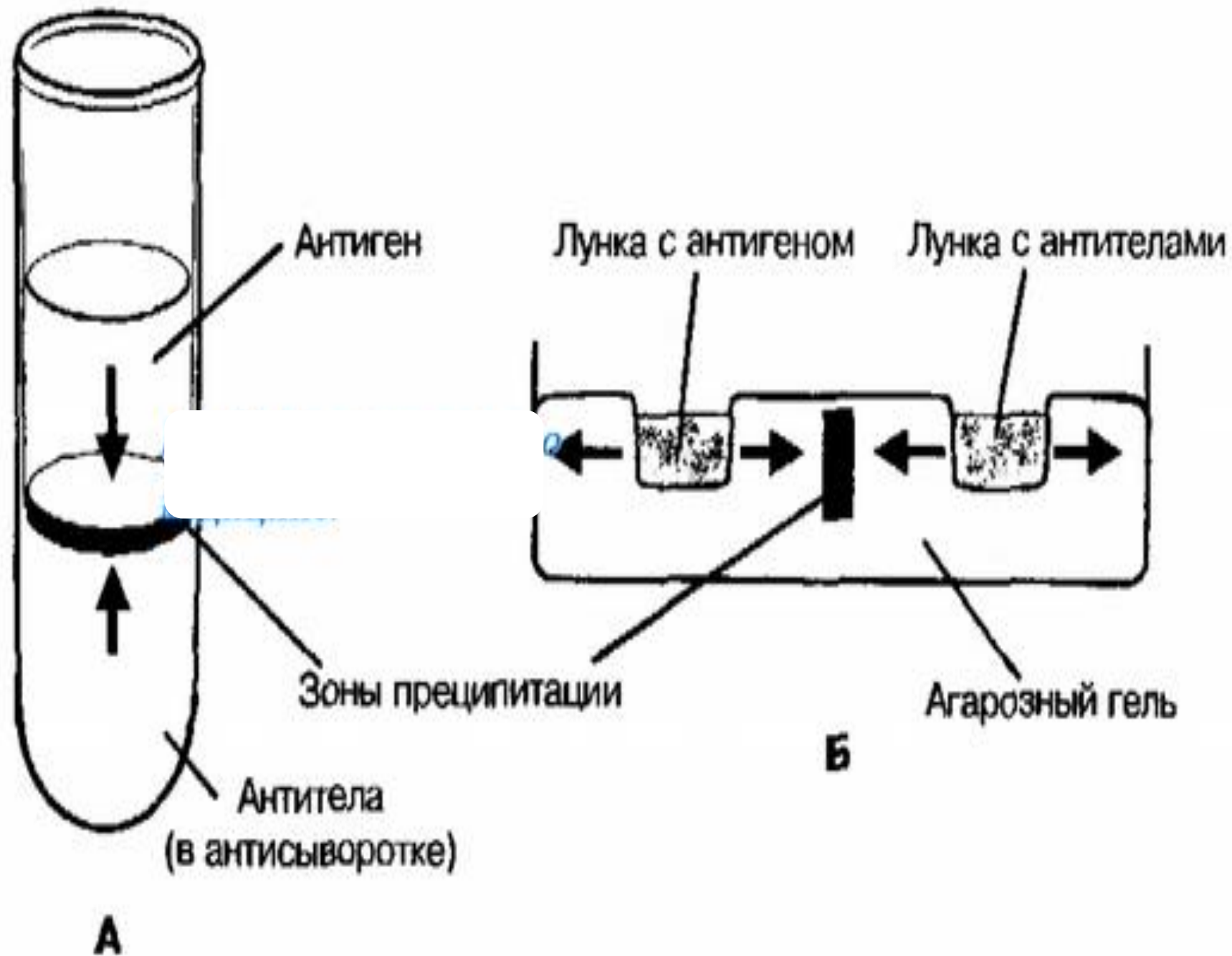
По чувствительности метод уступает многим количественным методам, однако он технически прост, не требует высокоочищенных антител, специфичен и может использоваться при проведении массовых исследований.

Простая радиальная иммунодиффузия



Позволяет количественно определить содержание антигена в исследуемой пробе. Это простой и надежный метод количественной оценки иммуноглобулинов (включая подклассы IgG), компонентов комплемента (например, C3, C4, фактора В) и других белков сыворотки.

Определяя содержание иммуноглобулинов, необходимо учитывать, что изменение их свойств (моноклональные гаммапитии) может исказить результаты исследования.



Нефелометрия



Определение концентрации взвешенных частиц и высокомолекулярных веществ в растворе, основанное на оценке интенсивности рассеяния света, проходящего через этот раствор.

Используется для определения концентрации антигенов и антител (IgG, IgA, IgM, подклассов IgG, C3, C4, фактора В, СРБ и др.) поскольку образующиеся иммунные комплексы рассеивают проходящий свет.

В настоящее время многие лаборатории используют нефелометрию в качестве стандартного метода количественного определения иммуноглобулинов.

Радиоиммунный анализ (РИА)

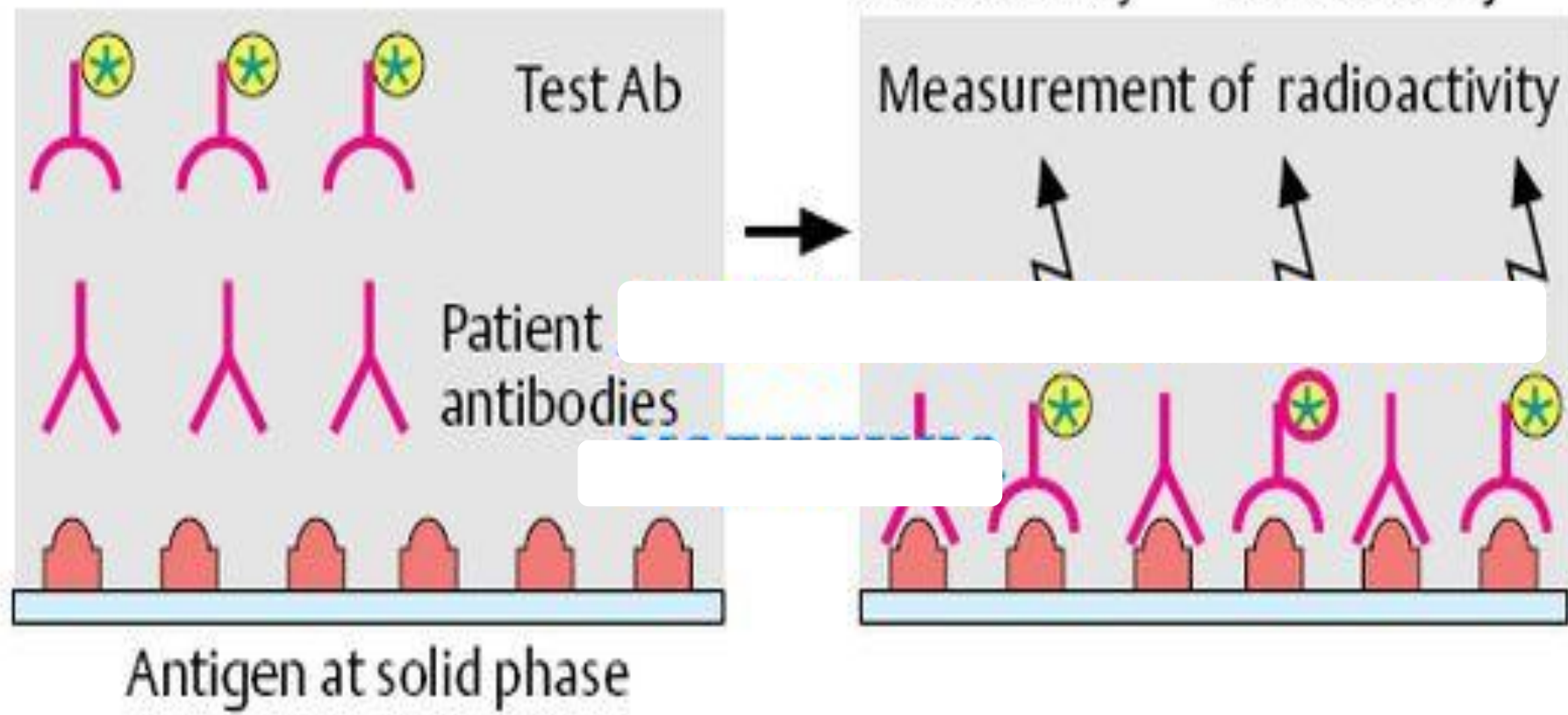


Высокочувствительный метод используется и для определения антигенов и антител.

Существует несколько модификаций метода. Основные недостатки метода — необходимость дорогостоящего оборудования и реактивов, а также условий для работы с радиоактивными изотопами.

Serum + tracer

High titer: low radioactivity
Low titer: high radioactivity



Principle: antibody in patient serum competes with radioactively labeled test antibody

Радиоиммуноанализ (РИА)

Твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА)



Твердофазный ИФА применяют для количественной оценки антител и антигенов. По чувствительности он сопоставим с РИА, но более прост, дешевле и не требует применения радиоактивных изотопов. Многие лаборатории используют твердофазный ИФА в качестве стандартного метода определения противовирусных антител, включая антитела к ВИЧ, цитокинов и иммуноглобулинов (IgE и подклассов IgG).

Прямой метод

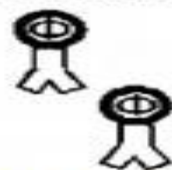
1. Сыворотку, содержащую смесь АТ, инкубируют с Аг, фиксированным на твёрдом субстрате



2. АТ, не связывающие Аг, удаляют многократным промыванием



3. Вносят меченную ферментом антисыворотку к АТ, связавшим Аг



4. Определяют количество фермента-маркера, связавшегося с АТ



Лунка пластиковой микропланшетки

Непрямой метод

АТ-положительная сыворотка



1. Специфичные АТ в исследуемой сыворотке связывают Аг, фиксированный на твёрдом субстрате



Лунка пластиковой микропланшетки

2. Специфичные АТ, меченные ферментом, не взаимодействуют со связанным Аг — содержание маркера в субстрате низкое

АТ-отрицательная сыворотка



1. Неспецифичные АТ в исследуемой сыворотке не связывают Аг, фиксированный на твёрдом субстрате



Лунка пластиковой микропланшетки

2. Специфичные АТ, меченные ферментом, взаимодействуют с фиксированным Аг — содержание маркера высокое

Иммуноблоттинг

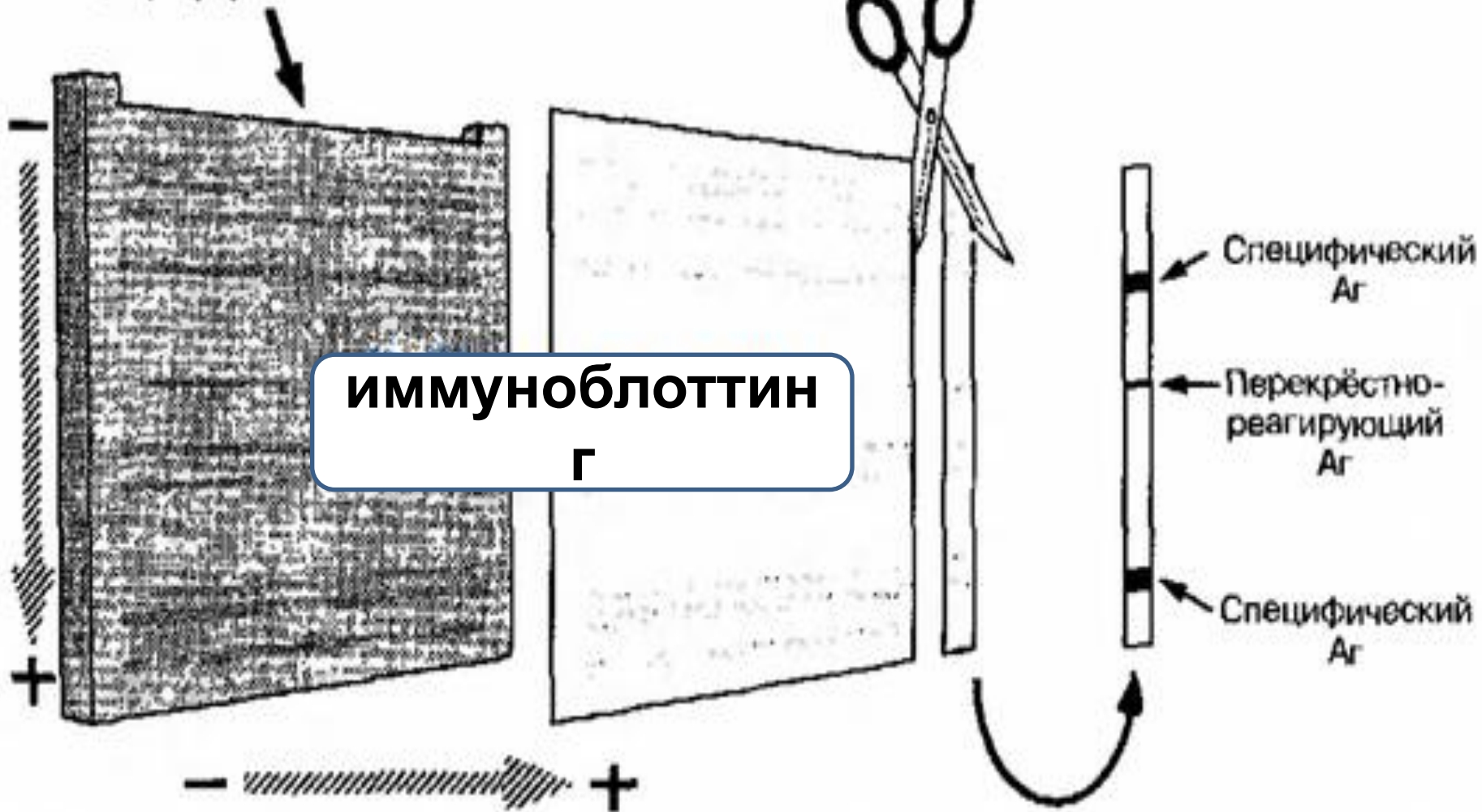


Качественный метод, позволяющий выявлять антигены и антитела в исследуемой пробе. Для определения антител смесь известных антигенов предварительно разделяют с помощью электрофореза в полиакриламидном геле и переносят на нитроцеллюлозную мембрану, которую инкубируют с исследуемой пробой, например сывороткой, а затем — с мечеными антителами к иммуноглобулинам. Для выявления антигенов электрофоретическому разделению подвергаются белки исследуемой пробы, которые затем переносятся на мембрану с последующим добавлением меченых антител к известным антигенам.

В настоящее время выпускаются готовые наборы для проведения иммуноблоттинга.

Этот метод широко применяется для подтверждения результатов твердофазного ИФА при диагностике ВИЧ-инфекции.

1. Растворимые белки возбуждителя экстрагируют и разделяют методом электрофореза в геле



ИММУНОБЛОТТИН

Г

2. Полоски с разделёнными электрофорезом белками переносят на бумажную подложку

3. Проводят прямой ИФА с сывороткой пациента; визуально отмечают взаимодействие сывороточных АТ со специфическими Аг

Другие методы иммунодиагностики


- **Непрямая иммунофлюоресценция**
- **Методы, основанные на реакции агглютинации.**
- **Определение поверхностных антигенов лимфоцитов — CD**

Непрямая иммунофлюоресценци я



Метод выявления антител к известным антигенам срезов тканей или культуры клеток. Проводится на стекле с использованием меченных флюорохромом антител к иммуноглобулинам, связанные с субстратом антитела выявляют с помощью флюоресцентного микроскопа. Этот метод обычно применяется для выявления антинуклеарных антител и антител к некоторым вирусам. Хотя метод не является количественным, он достаточно чувствителен и прост.

Методы, основанные на реакции агглютинации



Для реакции агглютинации обычно используют эритроциты (гемагглютинация) или частицы латекса (латекс-агглютинация), покрытые известным антигеном.

В присутствии антител к этому антигену происходит агглютинация эритроцитов или частиц латекса.

Геагглютинация применяется для выявления антител к тиреоглобулину и микросомальным антигенам, латекс-агглютинация — для выявления ревматоидного фактора и некоторых других антител.

Эти методы просты и позволяют количественно определить антиген, однако менее чувствительны, чем РИА и твердофазный ИФА.

Определение поверхностных антигенов лимфоцитов



Широко применяется при обследовании ВИЧ-инфицированных, в диагностике гемобластозов, иммунодефицитов и других заболеваний, обусловленных нарушением иммунитета, а также для контроля за приживлением трансплантата и эффективностью иммунотерапии.

В настоящее время для определения поверхностных антигенов лимфоцитов применяются моноклональные антитела, меченные флюорохромом, и проточный цитофлюориметр.

Идентификация лимфоидных и нелимфоидных клеток

- Клетки могут быть идентифицированы по морфологическим и функциональным критериям.
- Они могут быть опознаны и разделены по молекулам клеточной поверхности (маркерам), против которых можно получить моноклональные антитела (Г.Кёлер, Ц.Мильштейн, 1975, 1982).
- Термин "маркер" применяется для обозначения клеточных антигенов, которые способны реагировать со специфическими антителами.
- Сокращение CD рекомендовано ВОЗ и происходит от английского "Cluster designation"

Дифференцировочные антигены (CD-маркёры) лимфоцитов человека

CD-маркёр	Клеточная экспрессия	Функция
CD2	Т-лимфоциты периферической крови, тимоциты, НК-клетки.	Адгезивная молекула взаимодействия с CD58, активирует Т-клетки.
CD3	Тимоциты, зрелые Т-лимфоциты.	Молекула ассоциирована с Т-клеточным рецептором, необходима для экспрессии на клеточной поверхности.
CD4	Т-лимфоциты хелперы, моноциты, макрофаги.	Корецептор молекул МНС II. Рецептор для ВИЧ-1 и ВИЧ-2.
CD5	Тимоциты, Т-лф, субпопуляция В-лф.	Костимуляция Т-клеток. Взаимодействие с CD72. Активация продукции ИЛ-2
CD8	Т-цитотоксические клетки, тимоциты, НК-клетки.	Корецептор молекулы МНС I.
CD16	Моноциты, макрофаги, НК-клетки, Т-лимфоциты.	Рецептор IgG. Опосредует антителозависимую клеточную цитотоксичность.
CD56	НК-клетки	Адгезивная молекула. Медиатор цитотоксичности.
CD25	Т-, В-активированные лимфоциты, активированные моноциты/макрофаги.	Маркёр активации. α-цепь рецептора для ИЛ-2.
CD19	В-лимфоциты незрелые и зрелые.	Часть корецептора В-лимфоцита.
CD20	Зрелые В-лимфоциты.	Кальциевый канал. Регуляция активации В-клеток.
CD21	Зрелые В-лимфоциты, фолликулярные дендритные клетки.	Образует корецептор В-лимфоцита. Рецептор для компонента комплемента C3b, вируса Эпштейна-Барр, совместно с CD19 и CD81.

Исследование функций NK-лимфоцитов



Оценивают при использовании в качестве клеток-мишеней разных линии трансформированных клеток, чувствительных к действию NK-лимфоцитов. Разрушение клеток-мишеней осуществляется лишь при образовании тесного контакта с NK-лимфоцитами.

Антителозависимую клеточную цитотоксичность оценивают, используя клетки-мишени, покрытые антителами класса IgG. Снижение цитотоксической активности NK-лимфоцитов выявляется при многих заболеваниях, в том числе при злокачественных новообразованиях, а отсутствие наблюдается крайне редко.

Исследование функций фагоцитов



- антителозависимую клеточную цитотоксичность,
- противоопухолевую цитотоксичность,
- хемотаксис,
- фагоцитоз
- бактерицидную активность
- продукцию свободных радикалов кислорода
- адгезию.

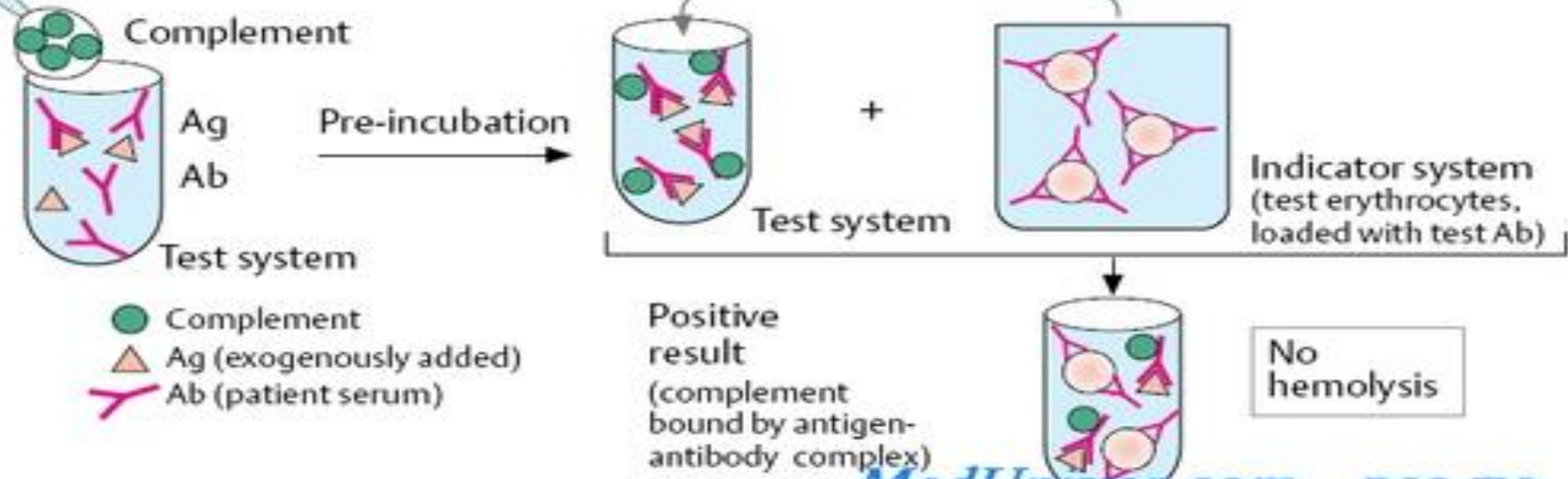
Исследование системы комплемента



Количественное определение КК - с помощью простой радиальной иммунодиффузии и нефелометрии. (если нет качественных дефектов КК)

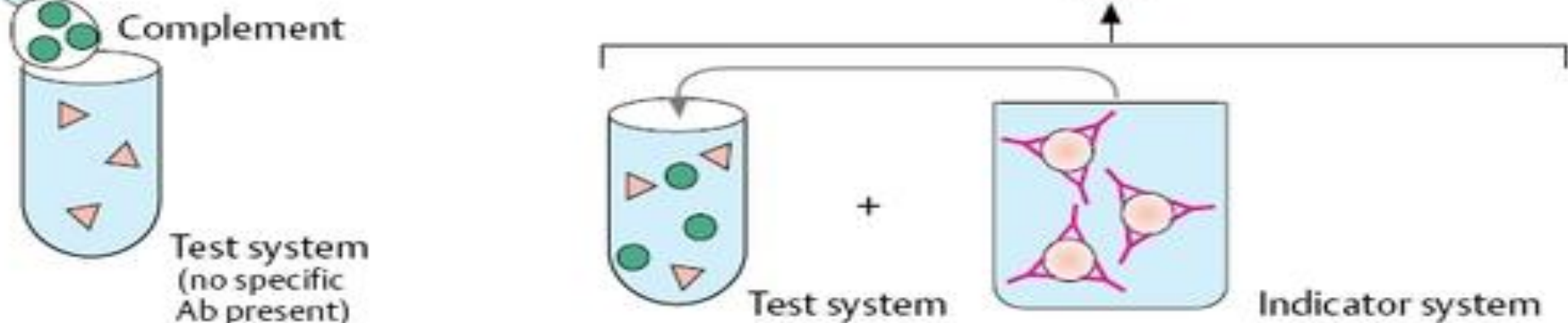
Функциональные исследования - оценка активности отдельных КК в сыворотке по определению гемолитической активности комплемента Иногда дополнительно оценивают активность регуляторных компонентов комплемента, например ингибитора С1-эстеразы Исследование активности компонентов комплемента проводится только в специализированных лабораториях.

Principle: competition between test system (Ag + Ab) and indicator system (erythrocytes loaded with test Ab) for complement



Negative result (complement available for lysis of test erythrocytes)

Hemolysis



B. Complement-binding reaction (CBR)

Нормативные значения иммунограммы у взрослых

Количество лимфоцитов и их субпопуляций в периферической крови взрослого человека (18-60 лет)

Показатель.	Относительное (%)	Абсолютное в мм ³
Общие лейкоциты	-	4,0-9,0*10 ³
Лимфоциты	19-37	1,2-2,5*10 ³
CD3	52-76	950-1800
CD4	31-46	570-1100
CD8	23-40	450-850
Соотношение CD4/CD8	1,0-1,7	
CD16	9-19	180-420
CD20	6-18	150-400
CD25	4-9	80-225
HLA II	6-22	120-550
CD95	5-20	100-500

**Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови
взрослого человека (18-60 лет)**

Иммуноглобулин	Содержание в сыворотке
IgM (мг/мл)	0,6-2,5
IgG (мг/мл)	8-18
IgA (мг/мл)	0,9-4,5
IgE (КЕ/л)	20-100
sIgA (мкг/мл)	1,5-3,0

Параметры цитокинового звена в периферической крови взрослого человека (18-60 лет)

Цитокины	Спонтанная	Индукцированная	В сыворотке крови
ИНФ- α (пг/мл)	30-50	100-500	0-50
ИЛ-1 β (пг/мл)	30-5	1000-5000	0-50
ИЛ-2	0-5,0	10-100	-
ИЛ-4	30-50	100-400	0-50
ИЛ-6	30-50	1000-3000	0-50
ИЛ-8	30-100	1000-5000	0-50
ФНО- α	30-50	500-3000	0-50
ИНФ- γ	30-50	1000-5000	0-500

Правила оценки иммунного статуса клиницистом (Лебедев К. А., Понякина И. Д., 2003).

Комплексный анализ иммунограммы более информативен, чем оценка каждого показателя в отдельности.

1

Клинический анализ иммунограммы можно проводить лишь в комплексе с оценкой клинической картины заболевания и данных анамнеза у больного.

2

Реальную информацию об изменении иммунограммы несут лишь сильные сдвиги показателей ($\pm 20-40\%$ от нормы и более), а слабые сдвиги лишь позволяют повысить уверенность в правильности сделанного заключения.

3

При оценке показателей иммунограммы следует исключить возможность их колебаний в связи с приемом пищи, физическими нагрузками, чувством страха, временем суток.

4

Правила оценки иммунного статуса клиницистом (Лебедев К. А., Понякина И. Д., 2003).

Анализ иммунограммы в динамике (особенно в сопоставлении с клинической динамикой) более информативен с точки зрения, как диагностики, так и прогноза течения заболевания по сравнению с однократно полученной иммунограммой.

5

Для диагностической и прогностической оценки иммунограммы значение имеют индивидуальные показатели нормы у данного больного (особенно с учетом возраста и наличия сопутствующей и хронической патологии).

6

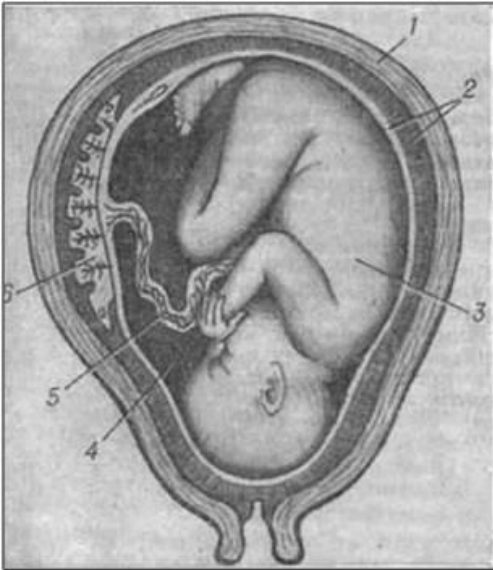
Первостепенную практическую значимость при оценке иммунограммы имеют соотношения показателей иммунограммы, а не их абсолютное значение (в наибольшей степени это относится к детям в возрасте до 6 лет, у которых показатели иммунограммы высоко вариабельны).

7

Физиологические и возрастные особенности иммунитета:

- иммунитет беременных
- иммунитет новорожденных и детей разного возраста
- иммунитет у пожилых





Аntenатальная аутоэкология – наука изучающая механизмы внутриутробного взаимодействия двух организмов одного вида в динамике развития беременности

Иммунная система и беременность

Эмбрион и плод человека получают от отца 50% генетической информации, которая чужеродна для организма матери.

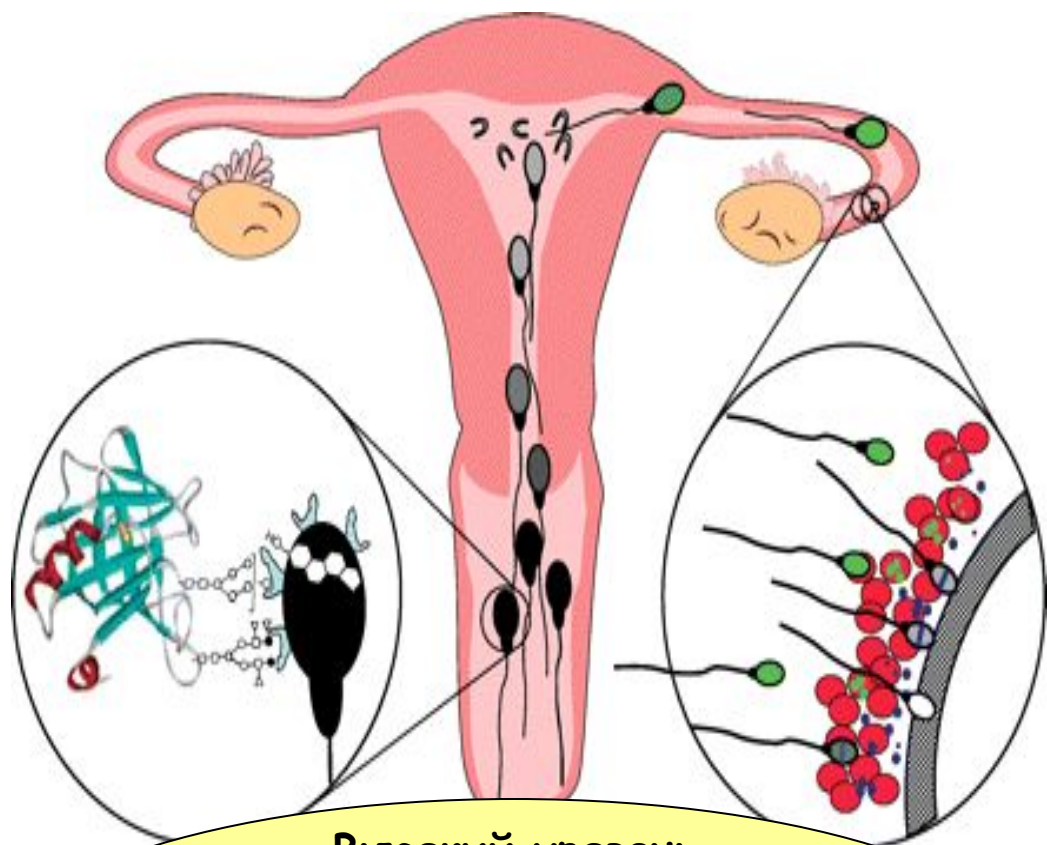
Другая половина генетической информации плода является общей для него и матери.

Т.о, плод всегда является генетически полусовместимым трансплантатом по отношению к организму матери.

Иммунологические взаимоотношения системы «мать-плод» являются физиологическим процессом, направленным на создание и обеспечение необходимых условий для нормального развития плода

Самый ранний **иммунный барьер** - блестящая оболочка (защитный слой) вокруг яйцеклетки, которая сохраняется от момента оплодотворения почти до стадии имплантации.

- АГ плода возникают на двенадцатой неделе внутриутробного развития - начинается и прогрессирует иммунная «атака» плода.
- Защита от АГ плода:
- **иммунологическая толерантность** к АГ отца (обусловлена гормонами и специфическими белками плаценты)
- **физиологическая иммуносупрессия** (ХГЧ, плацентарный лактоген, глюкокортикоиды, прогестерон и эстрогены, α -фетопротеин)

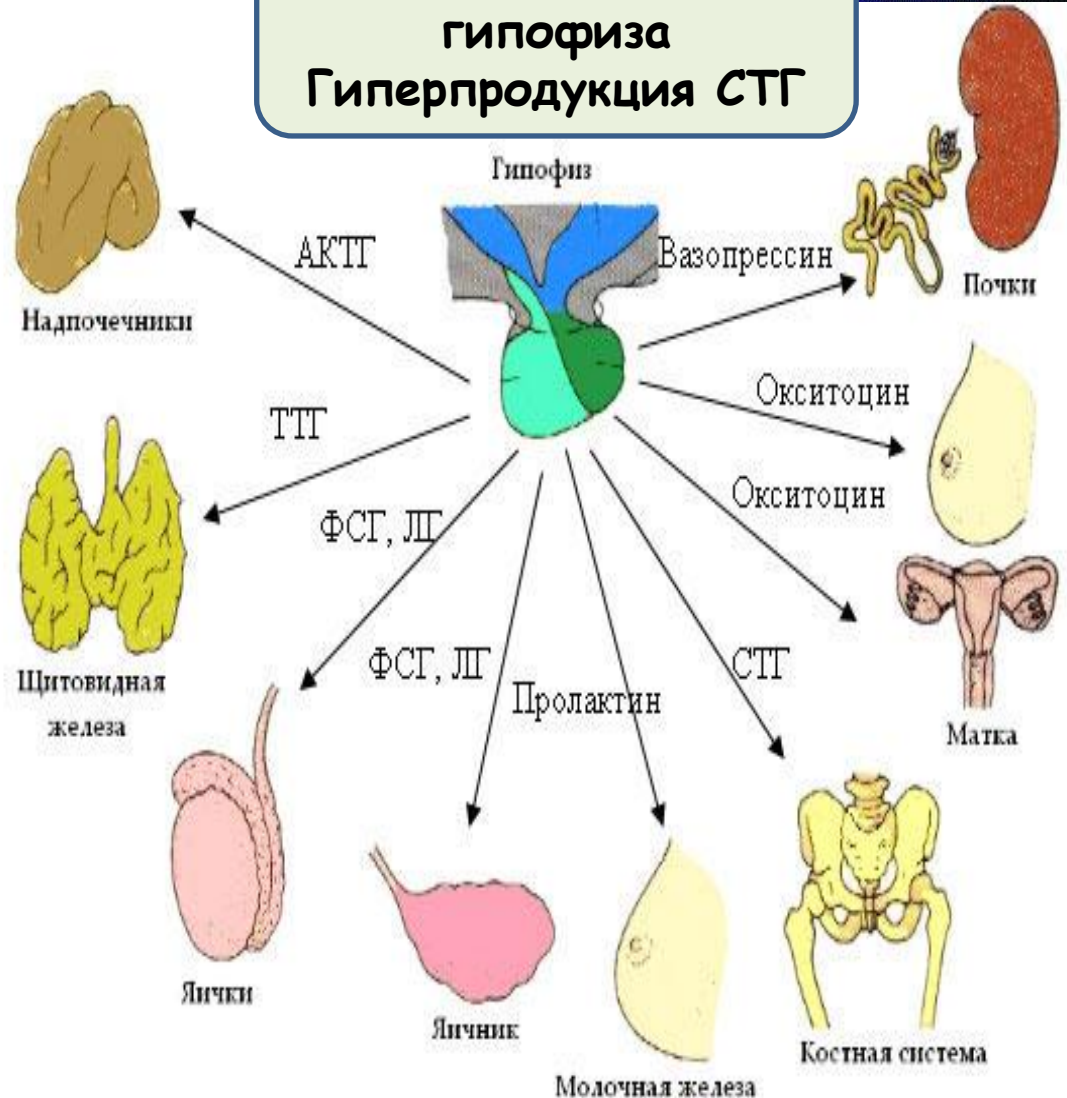


Высокий уровень ТРФ бета в сперме - иммунологическая толерантность при первичном ответе на отцовские антигены

Иммунитет при физиологической беременности



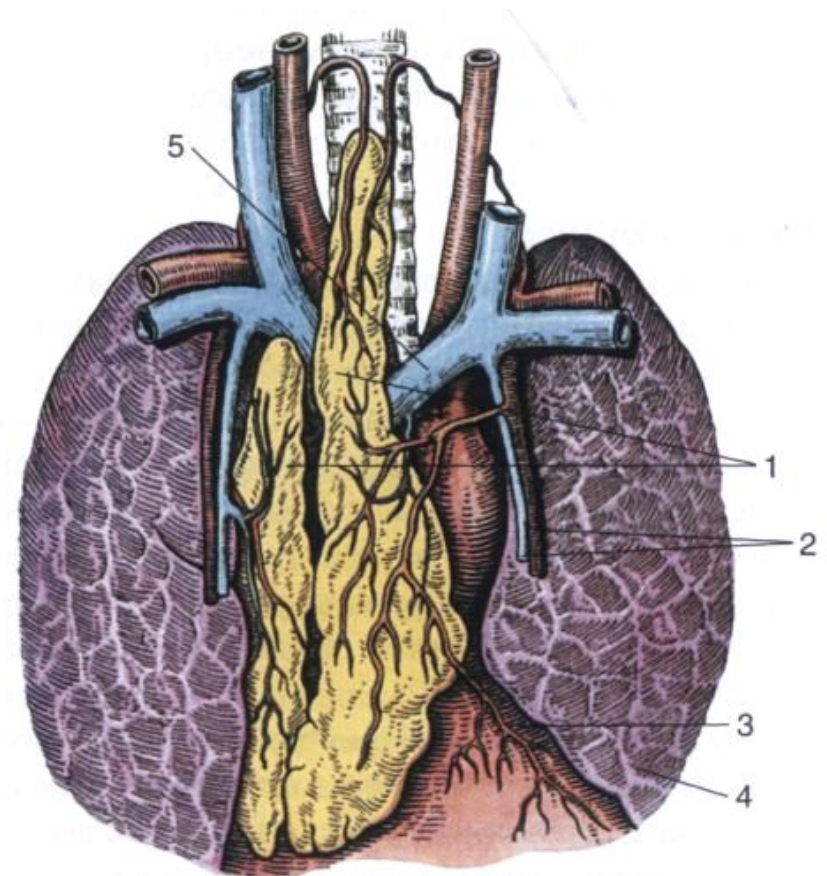
Увеличение в объеме
гипофиза
Гиперпродукция СТГ

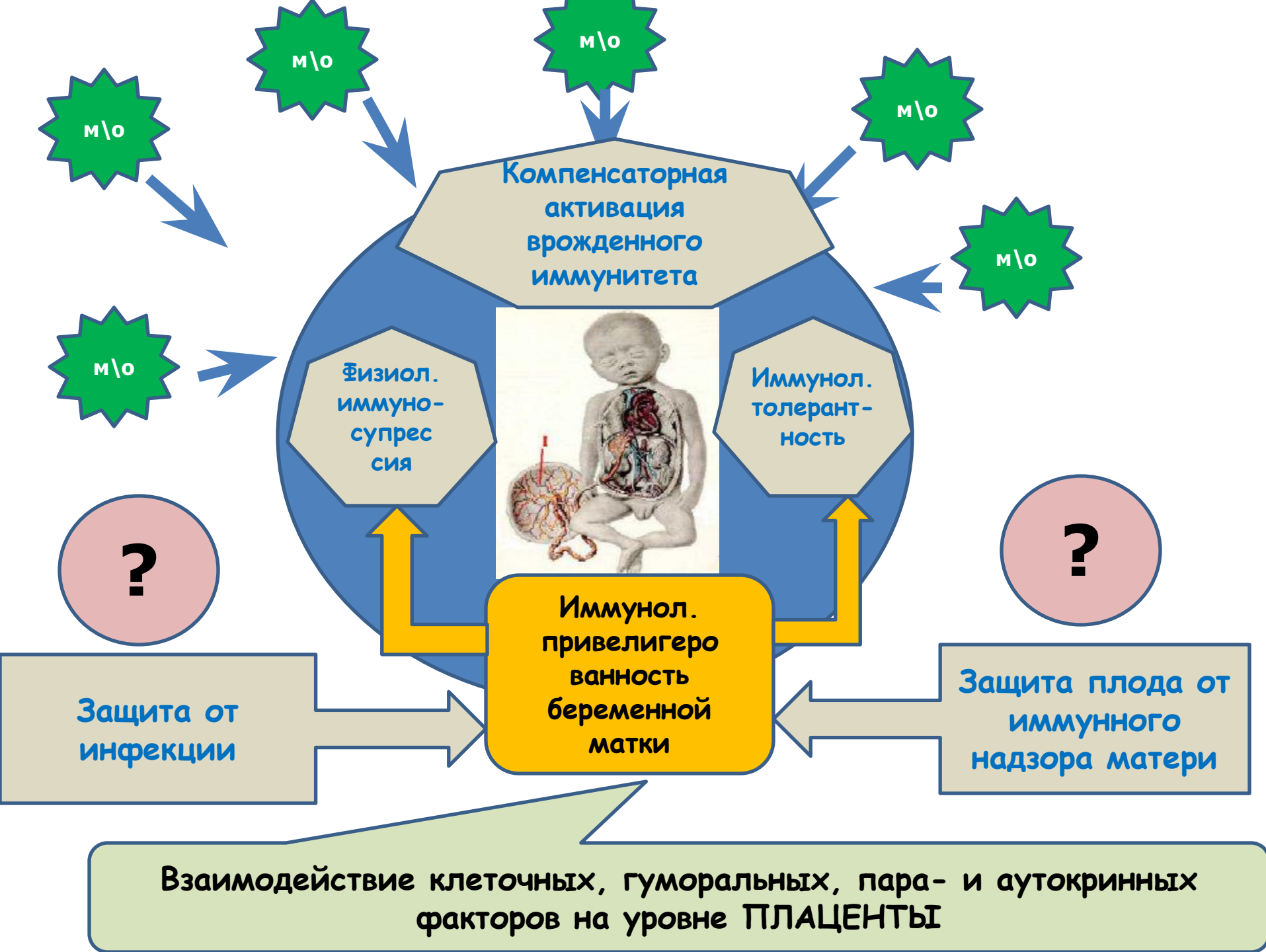


- С момента имплантации оплодотворенной яйцеклетки (зиготы) в ткани материнского организма, в организме женщины возникает **комплекс изменений**, который:
- охватывает функции всех органов и систем,
- регулируется ЦНС,
- наблюдается на протяжении всей беременности
- находится в пределах физиологических границ, свойственных только состоянию беременности.

Функции тимуса при беременности

- Тимус сохраняет физиологическую активность
- Уменьшение массы тимуса (сокращение размеров коры) на фоне гипертрофии селезенки и регионарных по отношению к матке лимфоузлов
- Блокада дифференцировки про-Т-лф в тимоциты





Изменения в иммунной системе матери, которые обеспечивают физиологическое течение беременности:

- **Состав ИКК: в 1 триместре беременности** - снижение $CD3^+$ -Т-лимфоцитов (за счет $CD4^+$ -Т-хелперов) и ЕКК на фоне повышения В-лимфоцитов. **В 3 триместре** - снижение В-клеток и повышение ЕКК. В течение беременности меняется соотношение $CD4/CD8$.
- **Функциональная активность ИКК** снижена за счет супрессирующего влияния плазмы крови беременных.
- **Гуморальный иммунитет:** стимуляция в ранние сроки (компенсация угнетения клеточного иммунитета и защита матери от инфекционных АГ). Увеличение $IgG1$ (защита АГ плода от материнских эффекторных клеток)
- Резкое увеличение количества, поглотительной и метаболической активности **фагоцитарных клеток**.
- **Цитокиновый профиль** Тх 2 типа (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10) работает на поддержание беременности, а Тх 1 типа (ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-2) - на отторжение зародыша. При ФБ наблюдается динамическое равновесие цитокиновых профилей (с временным преобладанием в зависимости от сроков беременности).

Роль цитокинов в развитии беременности



Физиологическая

Невынашивание

стимуляция ИС матери антигенами трофобласта предполагает наличие механизмов, ограничивающих иммунный ответ, обеспечивающих иммунопротекцию зародыша, среди которых - механизм цитокинового сдвига: после оплодотворения происходит устойчивое смещение равновесия Th1/Th2 в сторону противовоспалительного Th2.

Th2

Th1

Th1

Th2

IL4
IL5
TGFb
IL10

IL2
IL18
IL6
IL12
IFNγ

IL4
IL5
TGFb
IL10

IL2
IL18
IL6
IL12
IFNγ

(T.G. Wegmann 1993)

Компоненты комплемента (КК) при беременности

Имплантация плодного яйца и плацентация способствуют активации системы комплемента, которая начинается уже с 6-10 дня пренатального развития

ЦИТОКИНЫ

Продуценты КК:
кл-ки трофобласта,
Мф, эндотелиоциты
и стромальные
клетки

КК

Для ФБ характерна активация системы комплемента по классическому пути

При ФБ чрезмерной активации КК не происходит, т.к. функционируют различные антикомплементарные факторы

Система комплемента и беременность

участие в адгезии
сперматозоида к яйцеклетке
и их слиянии

C1q играет особую роль в
оплодотворении и
миграции клеток
трофобласта в
децидуальную полость

комплемент-
регулирующие белки
(CD46, CD51, CD55, CD59)
экспрессируются
сперматозоидами
человека, участвуют во
взаимодействии ооцита и
сперматозоида, защищают
последний от
повреждения его КК в
репродуктивном тракте

усиливает адгезию
сперматозоида к ооциту,
а активация системы
комплемента на
сперматозоиде
необходима для
нейтрофил-
опосредованного
освобождения от
погибших клеток



ИММУНИТЕТ НОВОРОЖДЕННЫХ и детей разного возраста

«...ребенок – не просто маленький, он еще и во многом не такой, как взрослый. Его организм устроен и работает иначе, причем на каждом этапе своего развития детский организм прекрасно приспособлен к тем конкретным условиям, с которыми ему приходится сталкиваться в реальной жизни»
(Н.П.Гундобин)



Общие отличительные особенности иммунитета детей

- В эмбриональном периоде могут синтезироваться собственные **IgM, D, E**
- С возраста 3-х месяцев начинается синтез собственного **IgG**. К году жизни могут синтезироваться все классы Ig, к 2-3 годам уровень Ig сопоставим с уровнем взрослого. Снижение подклассов IgG (1,2,3,4)
- Гематологический перекрест - изменение лимфоидного профиля крови на нейтрофильный в возрасте 5-6 лет (высокие абсолютные значения показателей)
- Переключение Th2→Th1-клетки, изменение цитокинового профиля, синтеза ИФН
- Количество Т-клеток памяти у детей ниже, чем у взрослых
- К 5-летнему возрасту основные показатели иммунограммы должны соответствовать показателям взрослого

ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Изменения лейкоцитов

- Диапазон колебания общего количества лейкоцитов:
- в первые дни жизни - $10-30 \times 10^9/\text{л}$
- со 2-й недели жизни — $10-12 \times 10^9/\text{л}$.
- Нейтрофилёз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево до миелоцитов при рождении начинает быстро снижаться, а количество лимфоцитов нарастает:
- на 5-6-й день число НГ и ЛФ сравнивается, составляя 40-45% (первый физиологический перекрест).
- С этого времени лимфоцитоз до 50-60% и более становится нормальным показателем у детей до 5 лет жизни.

Причины большего количества лейкоцитов у ребенка чем у взрослого:

- поступление через плаценту материнских гормонов,
- сгущение крови,
- рассасывание внутри тканевых кровоизлияний,
- всасывание продуктов расщепления питательных депо ребенка
- недостаточное питание в первые дни жизни.
- постоянный и активный процесс формирования иммунитета

Возраст	Миел.	М\миел.	Пал.	СЯЛ	Лимф.	Мон.	Эоз.	Баз.
Новорож.	0,5	4	26	34,5	24	9	2	0
1 день	0,5	4	25,5	34	24	9,4	2	0,25
2 день	0,5	6	24,5	31	24,4	10,5	3	0
3 день	0,5	2,5	9	43	30,5	11	3	0
4 день	0	2,5	7	39	36,5	11	3,5	0
5 день	0	4,5	6	34	40,5	11	3	0
6 день	0	2	4	31	48,5	11	3	0,5
7 день	0	1,5	4,5	29,5	49	11	3,5	0,5
1 месяц	0	0,5	2,5	22	61,5	10	2,5	0,5
3 месяц	0	1	3,5	23	59	10	2,5	0,5
8 месяц	0	0,5	3	23	60	11	2	0,5
1 год	0	0	3,5	28,5	54,5	11,5	1,5	0,5
2 года	0	0,5	3,5	32,5	51	10	1,5	0,5
4 года	0	0,5	4	41	44	9	1	0,5
5-6 лет	0	0,25	4	42,5	42	9,5	1	0,5
10 лет	0	0	3-4	48,5	36,5	9,5	2,5	0,5
12 лет	0	0,25	2-4	50,1	35	8,5	2,5	0,5
14 лет	0	0	2-4	52	32	9	2	0,5

ИММУНИТЕТ НОВОРОЖДЕННОГО

- Иммунологический статус новорожденного является результатом изменений, которым подвергался плод в процессе формирования и созревания иммунной системы на протяжении внутриутробного развития.
- Роды представляют собой радикальный сдвиг и в иммунологическом отношении: внезапно прекращается обеспечиваемая маткой изоляция, мгновенно наступает поток экзогенных антигенов (преимущественно микроорганизмов), оказывающих с этого момента резкое влияние на постнатальное развитие иммунной системы

**Хемотаксис НГ
Хемотаксины
сыворотки**

**Снижен относительно
взрослых**

- физиологическая незрелость лейкоцитов новорожденных
- тормозящее действие различных иммуносупрессивных факторов, переносимых из крови матери
- расстройство синтеза хемотаксинов связано со сниженным уровнем некоторых компонентов системы комплемента

Фагоцитоз НГ

**Снижен, особенно, в
отношении бактерий**

- сниженный уровень опсонинов (С3, IgM) по отношению к бактериям,
- дефицит неспецифических сывороточных опсонинов (альфа-2-глобулина)

**Относительно
взрослых**

- Бактерицидная активность лейкоцитов к различным микроорганизмам является нормальной или даже повышенной.
- повышен лизоцим сыворотки
- дефекты продукции ИФН

Т-лимфоциты новорожденных

Снижен % Т-лимфоцитов


Функциональная активность лимфоцитов является нормальной или даже повышенной в отношении:

- РБТЛ – способности трансформироваться в blasts (спонтанной и АГ-индуцированной)
- продукции и секреции лимфокинов

Однако:

Неспецифическая цитотоксичность лимфоцитов по отношению к клеткам-мишеням отсутствует, либо резко снижена —

- **это наиболее ярко выраженное отличие в функциональной активности клеточного иммунитета у новорожденных относительно взрослых.**



У новорожденных иммунный ответ преимущественно Th2-типа:

Т.е. снижена продукция γ -ИФН, ИЛ2 и IgG

В-лимфоциты новорожденных

У новорожденных нет количественного дефицита В-клеточной линии

- Общее относительное и абсолютное число В-лимфоцитов у новорожденных **выше**, чем у взрослых
- Высокий уровень В-лимфоцитов с рецептором -IgG и IgD, но наивысшая концентрация IgM-содержащих клеток.

В этот период не произошла еще достаточная дифференциация этих клеток в плазматические клетки, продуцирующие антитела



Увеличено содержание NK-лимфоцитов

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ АТ У НОВОРОЖДЕННЫХ

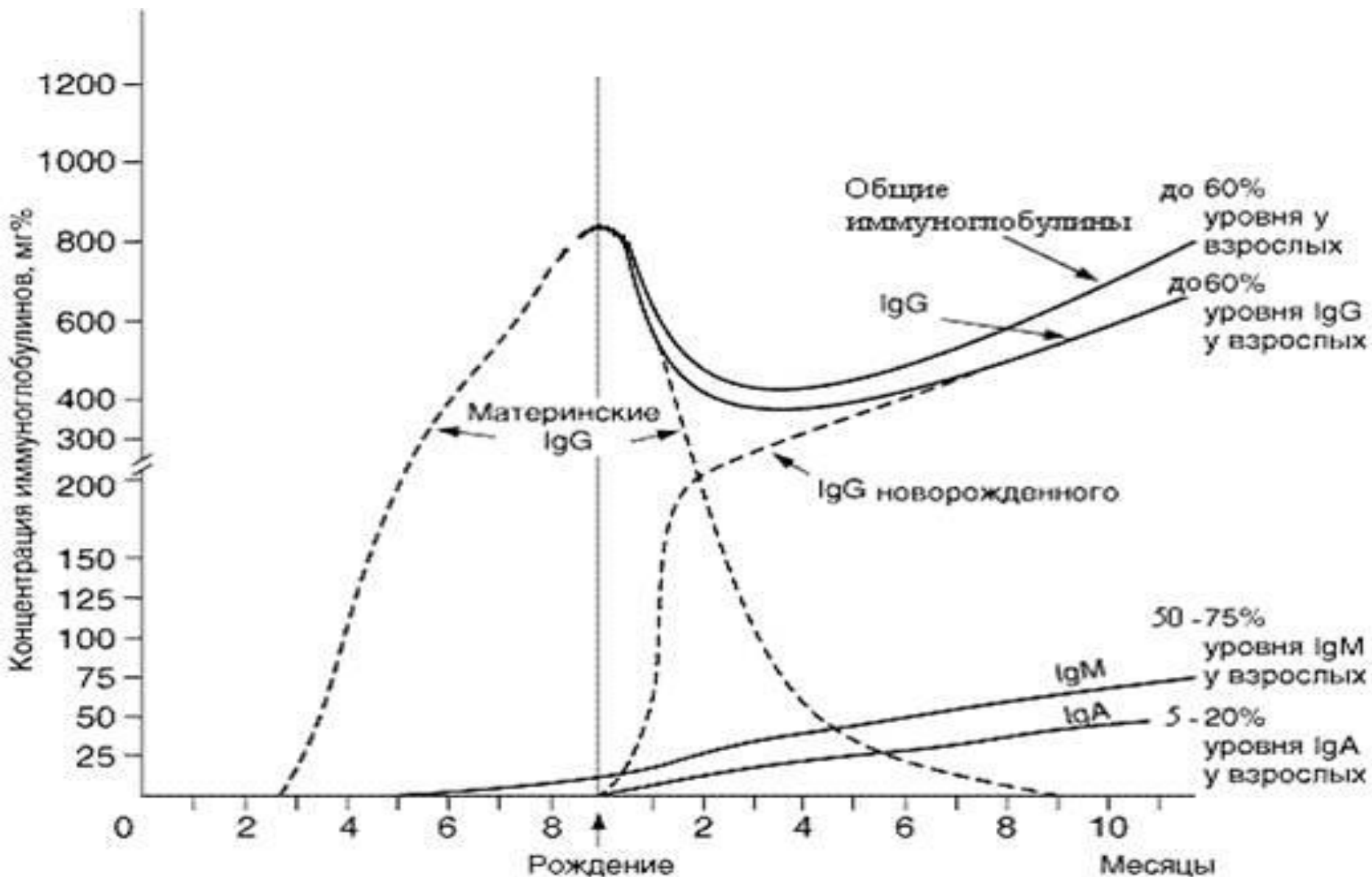
Снижение уровня полученного материнского IgG (катаболизм)

**Низкий уровень сывороточных
иммуноглобулинов
в первые месяцы постнатальной жизни**

Медленное нарастание синтеза собственных иммуноглобулинов

- Агглютинирующие антитела против капсулярных антигенов различных штаммов стафилококка определяются в пуповинной сыворотке нерегулярно и в титрах более низких, чем в сыворотке матери
- Средний уровень **IgM** в сыворотке новорожденных колеблется в пределах **0,05—0,015 г/л**
- Уровень **IgM**, превышающий **0,2 г/л**, считается патологическим (при ВУИ)
- Низкий уровень **IgM** у новорожденных - это важнейший фактор, определяющий снижение их антиинфекционной резистентности

ДИНАМИКА МАТЕРИНСКИХ И СОБСТВЕННЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПЛОДА И НОВОРОЖДЕННОГО




Т.О. ИММУННЫЙ СТАТУС НОВОРОЖДЕННЫХ В РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ 1-3 СУТ (ЗДОРОВЫЕ) ОТНОСИТЕЛЬНО ДЕТЕЙ СТАРШЕГО ВОЗРАСТА

- Снижение относительного содержания зрелых Т-клеток (СДЗ)
- Повышение абсолютного содержания CD2, CD3, CD4, CD8, CD95 (влияние послеродового лейкоцитоза)
- Низкий процент АТК (презентирующие) - CD14+HLA-DR+
- Моноцитоз
- Относительный лейкоцитоз
- Низкая рецепция Fc-рецепторов на НГ
- Снижение экспрессии молекул адгезии
- IgG в пределах 10-18 г/л (материнский)
- IgE - 10-20 МЕ\л
- IgM- низкий уровень

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА НОВОРОЖДЕННЫХ (ОТНОСИТЕЛЬНО ВЗРОСЛЫХ)

Предшествующая рождению активация клеток
моноцитарно-макрофагального ряда:



- фетальные моноциты и макрофаги обладают способностью к секреции провоспалительных цитокинов уже в конце первого триместра беременности
- преобладание провоспалительных цитокинов над противовоспалительными
- уровни индуцированной (ЛПС) продукции Φ НО α , ИЛ8, ИЛ6 сопоставимы с таковыми в периферической крови взрослых

**Врожденный
иммунитет**

сниженная
воспалительная
реакция и миграция
лейкоцитов

недостаток опсоинов
и хемотаксических
факторов

сниженный
уровень
комплемента

**СНИЖЕННАЯ
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ
НОВОРОЖДЕННЫХ К
НЕКОТОРЫМ
ИНФЕКЦИЯМ**

дефект эффекторных
функций Т-
лимфоцитов
(цитотоксичность)

резко сниженный
уровень IgM

недостаток
антител, которые
трансплацентарно не
переносятся

**Адаптивный
иммунитет**

Исходя из возрастных особенностей иммунитета выделяют несколько критических периодов у детей, свидетельствующих о повышении риска инфекционных заболеваний

**1 критический период -
период новорожденности (первые 4 недели)**

- 1. Лимфоцитоз с 5 суток**
- 2. Количество клеток не сопровождается адекватной функцией**
- 3. Гуморальная защита за счет материнских антител**
- 4. Низкая чувствительность к действию цитокинов - снижена экспрессия рецепторов к цитокинам**
- 5. Слабая противовирусная защита**
- 6. Снижена экспрессия костимуляторных молекул (CD40-CD40L , CD28-CD28L)**
- 7. Недостаточные реакции активации комплемента**
- 8. Неадекватный фагоцитоз - снижена бактерицидность фагоцитов и продукция свободных форм кислорода**

2-й критический период - 3-6 месяцев жизни

1. Начинается катаболизм материнских антител
2. Собственная продукция антител осуществляется за счет IgM. Плохо формируются клетки памяти
3. Доминирует Th2 ответ
4. sIgA появляется в назальных секретах и в слюне с 3 месяцев, но его концентрация ниже чем у взрослых в 4-5 раз

3-й критический период - 2 год жизни

1. Расширяются контакты с внешним миром
2. К концу 1 года жизни-IgG =0,5-0,6 ;IgA-0,3 от средних значений взрослых
к концу 2 года жизни- IgM, IgG=0,8;IgA-0,4 от средних значений взрослых. Доминирует IgM ответ.
3. Иногда поздний иммунологический старт- транзиторная гипогаммаглобулинемия
4. Противовирусная защита по-прежнему страдает- частые ОРВИ (резко снижена продукция интерферона альфа после любой вирусной инфекции)

4-й переходный период - 6-7 год жизни

1. Вновь «перекрест» и лимфоцитоз
2. Повышается частота патологии иммунитета
3. Часты паразитарные инфекции, повышается чувствительность к туберкулезу

5-й переходный период - подростковый возраст

1. Пубертатный скачок роста
2. Секреция половых гормонов ведет к подавлению клеточного ответа и доминированию гуморального, менее эффективного
3. Нарастает воздействие экзогенных факторов
4. Остается чувствительность к микобактериям туберкулеза
5. Новая волна нарастания транзиторных вторичных иммунодефицитных состояний

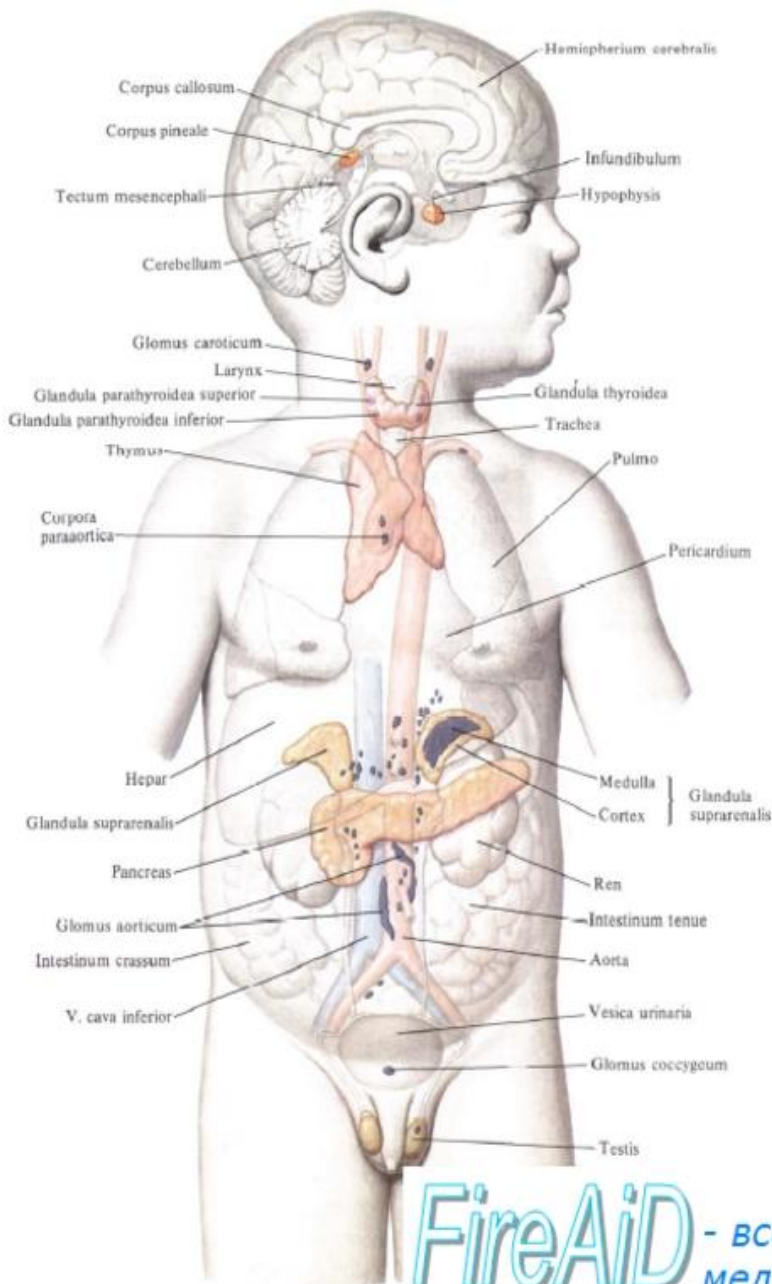
Иммунологические аспекты старения

- Нарушение работы ИС – одна из причин старения и болезней пожилого возраста
- Увеличение частоты опухолевых, аутоиммунных заболеваний, вирусных, грибковых инфекций, хронизация заболеваний



Возрастные изменения тимуса

- Тимус формируется раньше других лимфоидных образований и оказывается самым крупным лимфоидным органом ко времени рождения.
- Соединительнотканый остов тимуса наибольшего развития достигает в период **от 1 года до 3-х лет**, а паренхима – **с 4 до 12 лет**.
- Размеры долек увеличиваются от рождения до пубертатного возраста и уменьшаются к периоду половой зрелости.
- Обратное развитие тимуса, затрагивающее в основном его паренхиму, начинается у детей в возрасте **от 9 до 13-15 лет**.



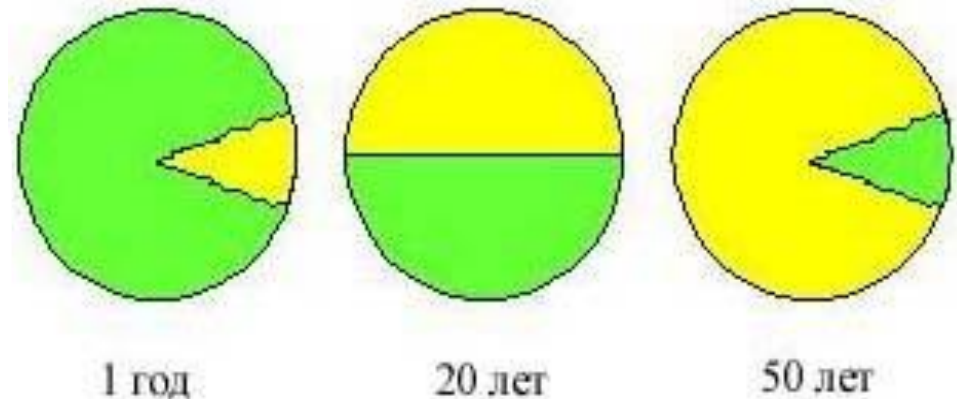
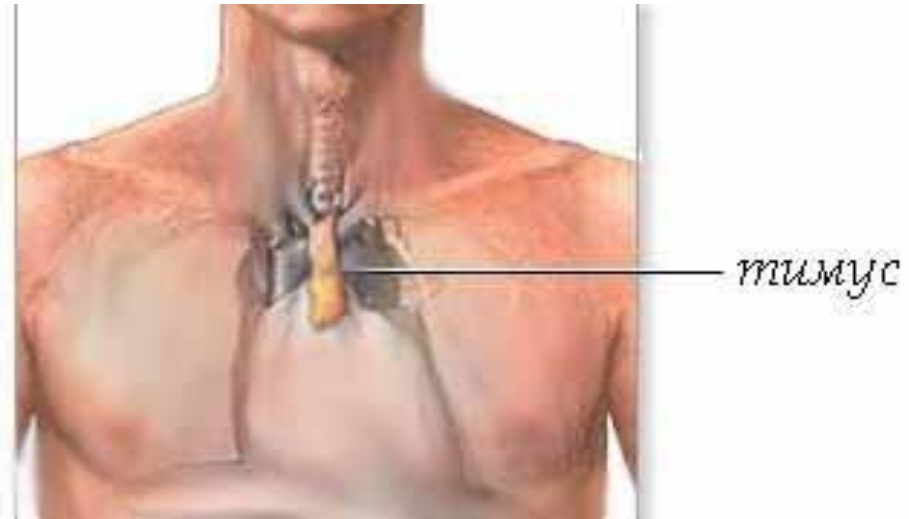
673. Эндокринные железы (общая схема).

В 13-16 лет элементы соединительной ткани начинают замещаться жировой тканью.

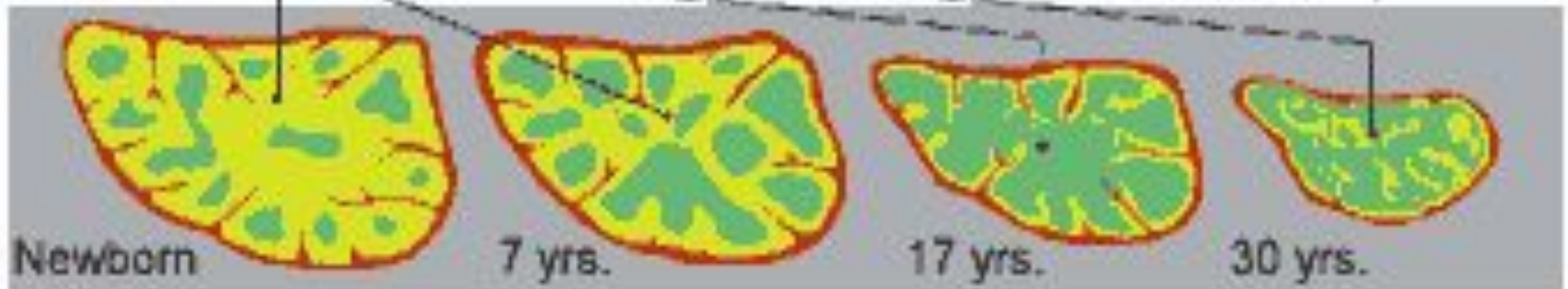
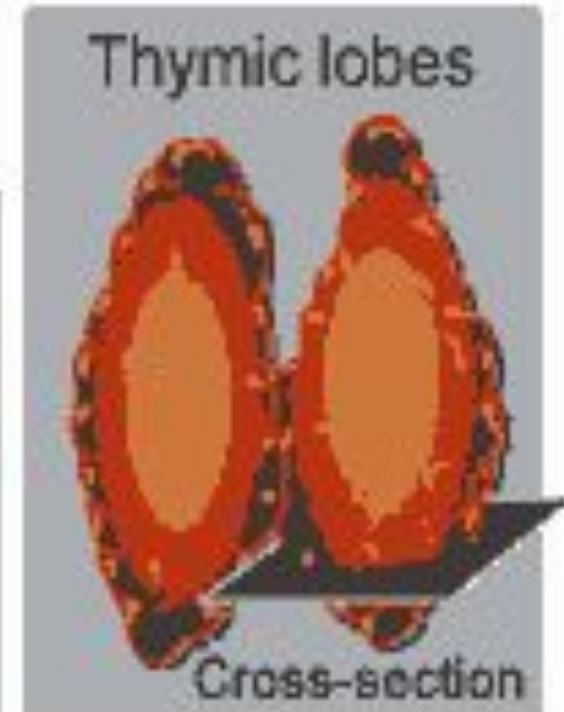
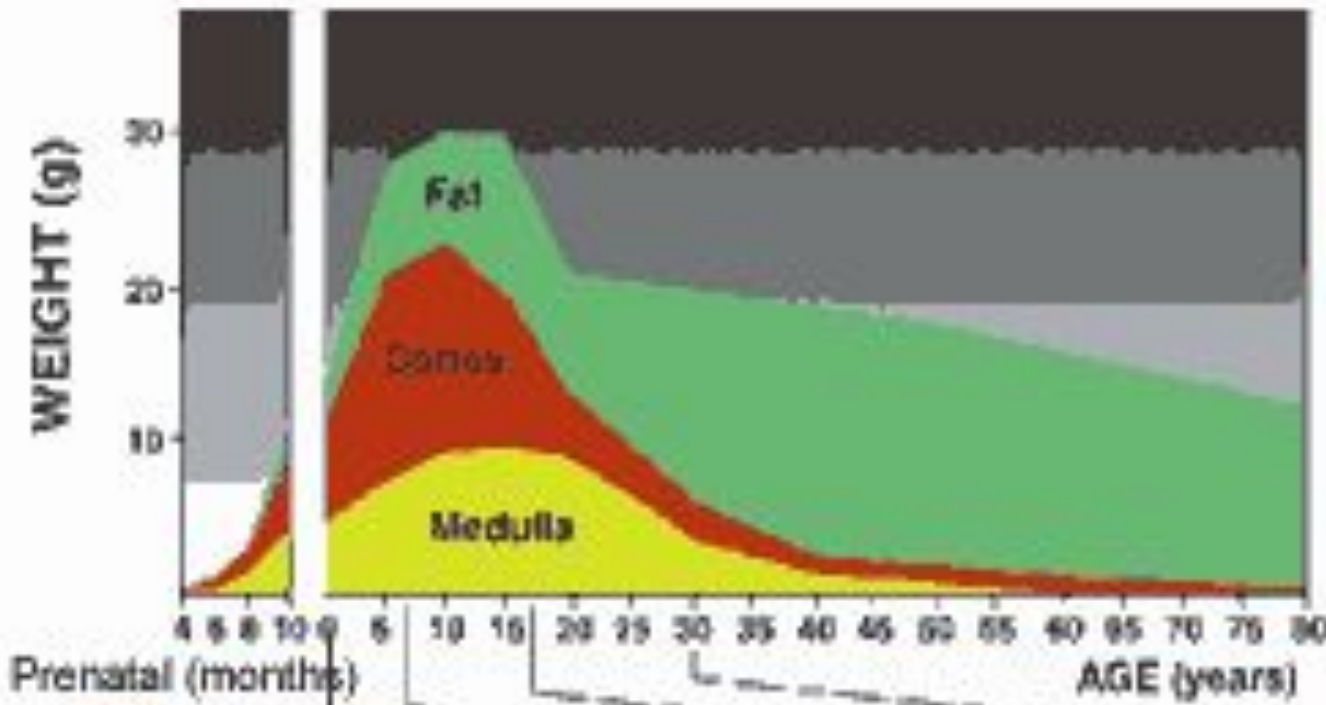
В 22-35 лет нарастает количество жировой ткани, ретикулярная ткань стромы замещается тонкими коллагеновыми волокнами.

К 50 - 60 годам ретикулярных волокон становится мало. Клеточный состав мозгового вещества тимуса взрослых отличается от такового у детей. Только в подкапсулярной зоне сохранившихся долек лимфоцитоз еще продолжается.

Инволюция структур тимуса сопровождается существенными функциональными изменениями, ослаблением миграционных процессов клеток лимфоидного ряда, снижением продукции биологически активных веществ.



Возрастная инволюция тимуса



Возрастные изменения селезенки

- Строение лимфоидных образований в селезенке **грудных детей** не отличается от такового у новорожденных.
- **Период раннего детства** характеризуется интенсивным развитием лимфоидной ткани в селезенке.
- В периодах **первого и второго детства** и у **подростков** происходит постепенное уменьшение объема белой пульпы.
- В **юношеском возрасте** относительное содержание лимфоидной ткани в селезенке несколько повышается по сравнению с таковым в подростковом периоде, что совпадает с резким увеличением (особенно у мальчиков) объема крови в организме.
- В **зрелом возрасте** происходит дальнейшее уменьшение относительного количества лимфоидных структур.
- В **пожилом и старческом возрасте** относительное содержание лимфоидных образований в селезенке ещё более уменьшается.

Максимальное количество лимфоидной ткани приходится на возраст 2 - 5 лет, а с возрастом снижается в 3 - 4 раза. Относительное количество красной пульпы в течение жизни человека почти не изменяется.

Возрастные изменения небных миндалин

- Небные миндалины начинают развиваться очень рано **в начале 3-го месяца внутриутробной жизни**, а в конце 3-го месяца уже имеется зачаток миндалины.
- Ускоренный рост небных миндалин - **у 4 - 5 месячных плодов** с последующим замедлением его на 6 - 7 месяце развития.
- Лимфоидные фолликулы в небных миндалинах впервые образуются **на 6 - 7 месяце развития плода** (т.е. - во внутриутробном периоде).
- **У новорожденных** в небных миндалинах уже имеются хорошо сформированные фолликулы без центров размножения.
- Образование центров размножения в них отмечено на **3 месяце после рождения**.
- В дальнейшем, по мере увеличения возраста, количество фолликулов резко возрастает и растет **до 8 - 12 лет**.
- Затем данный показатель уменьшается, оставаясь в **подростковом и юношеском возрасте** примерно на одном уровне, но на более низком, чем в период второго детства.
- **Начиная с юношеского возраста**, количество лимфоидных фолликулов в небной миндалине резко уменьшается.

Возрастные изменения лимфоузлов

- Закладка первых ЛУ - у 5-6 недельных эмбрионов внутриутробного развития.
- Анатомически сформированными ЛУ становятся у 9-недельных плодов.
- **Причины раннего развития ЛУ:**
 - Уже на первых неделях развития зародыша в тканевой жидкости появляются продукты обмена веществ (крупнодисперсные белки, частицы разрушившихся клеток в результате клеточного обновления, клетки-мутанты) и они являются чужеродными частицами
 - Лимфатические узлы являются биологическими фильтрами на путях движения жидкости к кровеносному руслу.
- Центры размножения в лимфоидных узелках появляются незадолго перед рождением или вскоре после него.
- Основные возрастные формообразовательные процессы в лимфатических узлах заканчиваются к 10 - 12 годам
- Перестройка ЛУ происходит на протяжении всей жизни в соответствии с изменяющимися условиями существования.
- Возрастную инволюцию лимфатических узлов наблюдают начиная с юношеского возраста.
- По мере увеличения возраста уменьшается их число, средние размеры остающихся узлов увеличиваются.