

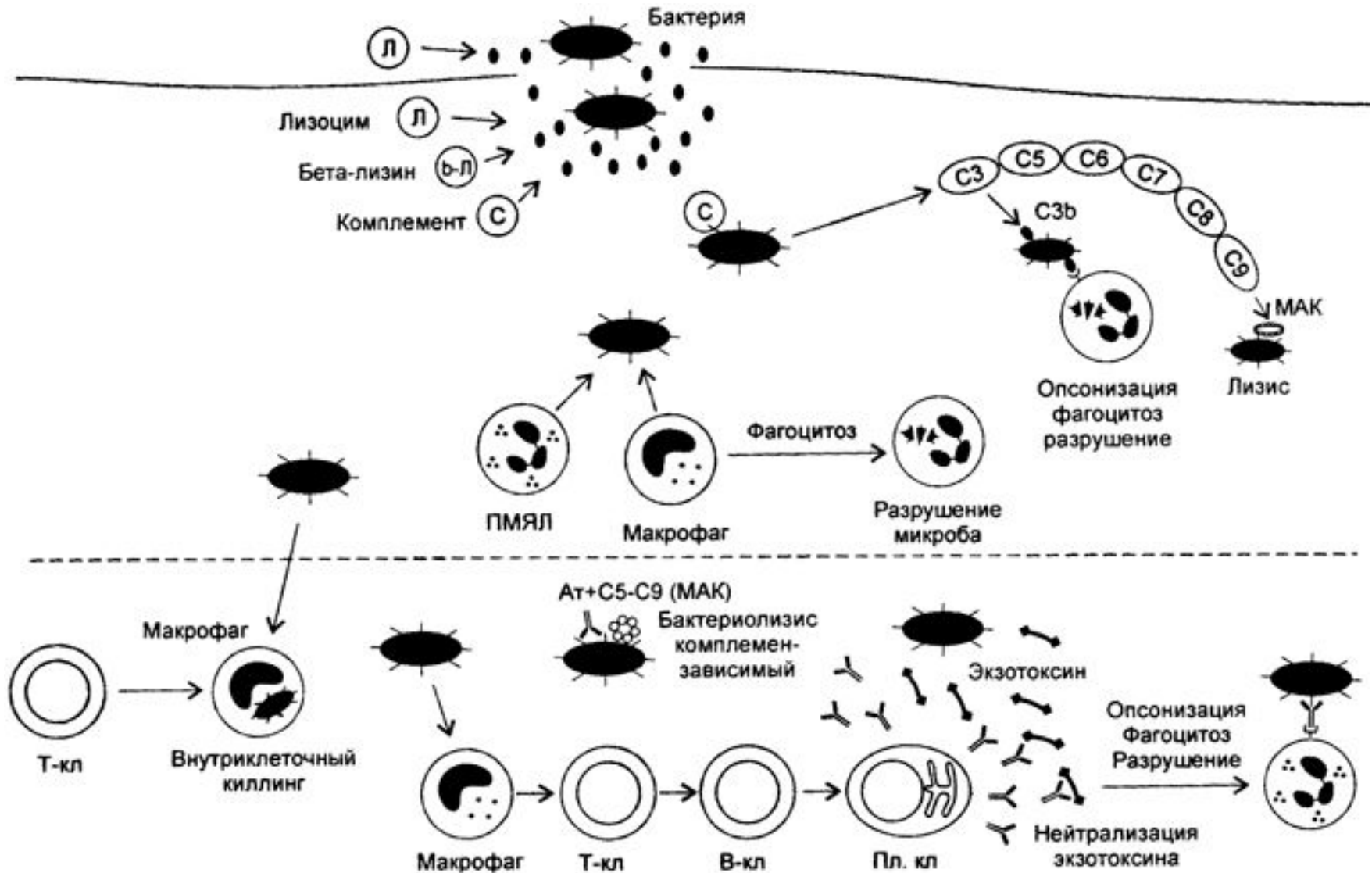
Основы иммунологии

История развития, предмет,
задачи, методы

к.х.н., доцент кафедры
микробиологии
Герловский Денис Олегович

Минск, 2014

С древних времен известно, что некоторые из ранее переболевших определенной болезнью людей не заболевали вторично



В Древнем Китае (около 590 года до нашей эры), а также в античные времена в Индии применялось заражение людей натуральной оспой с целью сделать их невосприимчивыми в период эпидемий.

В Европе практику такой защиты от оспы относят к времени правления короля Англии Георга I, когда жена британского посла в Константинополе леди Mary Wortley Montagu привезла с Востока метод введения заразного материала из оспин болеющих в вену реципиентов с помощью большой иглы.

В 1758 году врач из Эдинбурга Френсис Хоум (Francis Home) применил такой же принцип для защиты от кори.



В 1768–1770 годах Эдвард Дженнер провел направленное заражение нескольких своих пациентов материалом из оспенных пустул на вымени коров и убедился, что пациенты действительно приобрели иммунитет против натуральной оспы. Врач из Гарварда Бенджамин Вотерхауз широко распространил оспопрививание по методике Дженнера в Северной Америке.



Открытие Антони ван Левенгуком (Leeuwenhoek, 1632–1723) мира микроорганизмов



Создание Луи Пастером (Pasteur, 1822–1895) зародышевой теории инфекционных болезней.



Разработка Робертом Кохом (Koch, 1843–1910) метод выделения чистых культур бактерий

В 1881 году Пастером и его сотрудниками было установлено, что заражение животных длительно выращиваемыми на питательных средах бактериями, вызывающими куриную холеру, не приводит к развитию симптомов заболевания, но делает этих животных устойчивыми к куриной холере (явление аттенуации).



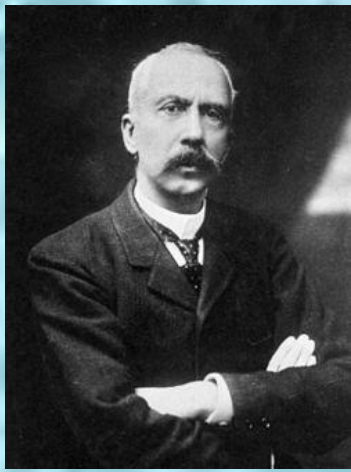
В 1890 году в институте Роберта Коха в Берлине Эмиль фон Беринг (Behring, 1854–1917) и Шибасабуро Китасато (Shibasaburo Kitasato, 1852–1931) продемонстрировали присутствие в крови иммунизируемых столбнячными или дифтерийными бактериями животных специфических белков, названных ими антитоксинами.



Пауль Эрлих (Ehrlich, 1854–1915) показал, что антитела (так стали называть открытые Берингом и Китасато антитоксины) относятся к глобулиновой фракции белков плазмы крови, способны передаваться через плаценту, их выработка происходит при введении в кровь других органических веществ. К концу XIX была сформулирована **гуморальная теория иммунитета.**



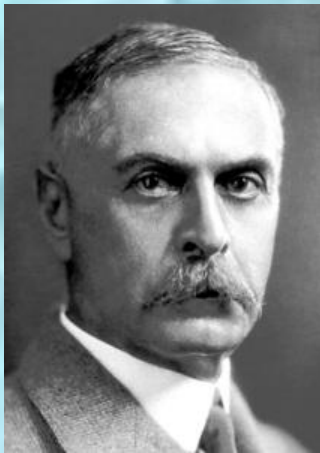
Возглавив по предложению Луи Пастера специально созданную для изучения фагоцитоза лабораторию в Пастеровском институте в Париже, Мечников к началу XX века стал основоположником фагоцитарной теории, или **теории клеточного иммунитета.**



Шарль Рише (Richet, 1850–1935), изучая влияние токсических веществ морских беспозвоночных на собак, установил, что организм последних способен отвечать на повторное введение небольших доз токсина чрезвычайно бурной, не наблюдавшейся при первоначальном введении препарата реакцией явление (анафилаксии). В 1912 году издана монография «Анафилаксия»

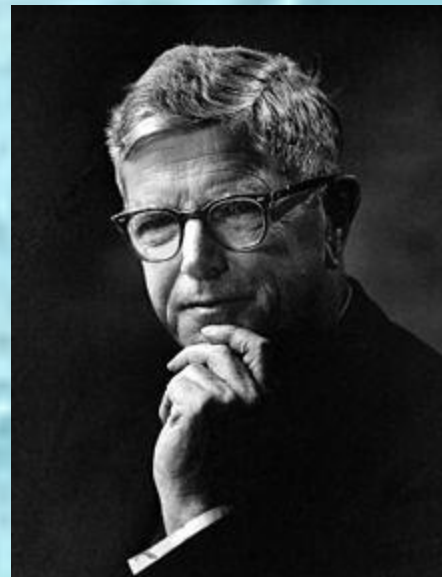
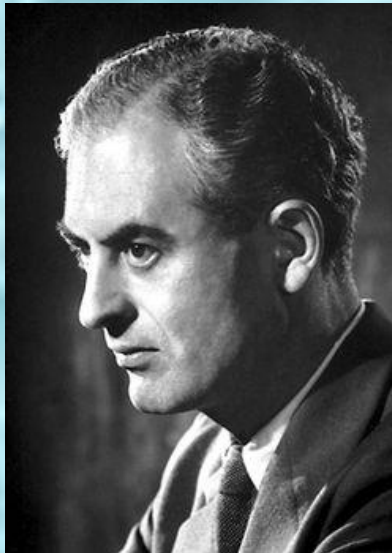


Жюль Борде (Bordet, 1870–1961) открыл (совместно с Пфейффером) систему комплемента, и обнаружил, что иммунная система способна реагировать на чужие клетки крови так же, как и на болезнетворные микроорганизмы.



Карл Ландштейнер (Landsteiner, 1868–1943) открыл группы крови человека

Проблема отторжения пересаживаемых тканей и органов становилась проблемой иммунологической и занимавшийся изначально пересадками кожи Питер Брайн Медавар (Medawar, 1915–1987) получил широкую известность именно как иммунолог. Работы Медавара и сотрудников стали экспериментальным подтверждением опубликованной в 1949 году общей теории иммунитета Фрэнка Макфарлейна Бёрнета (Burnet, 1899–1985), согласно которой иммунная система формируется в процессе эмбрионального развития и именно в этот период организм приобретает иммунную нечувствительность (толерантность) к собственным молекулам и клеткам.





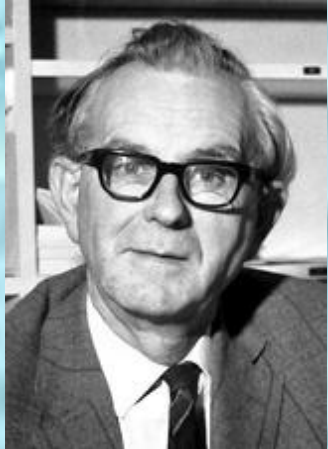
Джордж Девис Снелл (Snell, 1903–1996) установил, что у мышей имеется 14 систем генов, определяющих реакции отторжения при пересадках тканей.



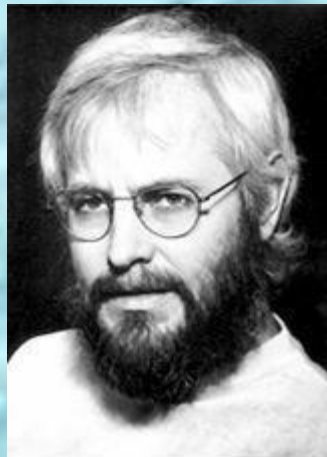
Жан Доссе (Jean Dausset, 1916), исследуя антигенные свойства лейкоцитов, обнаружил существование подобных систем генов у человека и назвал их HLA (от англ. Human Leucocytes Antigens – человеческие лейкоцитарные антигены). H2-системы мышей и HLA-системы человека аналогичны и получили общее название «главный комплекс гистосовместимости»



Барух Бенасерраф (Benacerraf, 1920) и его коллеги сумели установить причастность продуктов вышеописанных генов к развитию любых иммунных реакций, в том числе и приводящих к продукции антител. Так утвердилось новое направление – иммуногенетика.



Родни Портер (Porter, 1917–1985) и Джеральд Эдельман (Edelman, 1929) расшифровали молекулярную структуру антител и их антиген-связывающих центров.

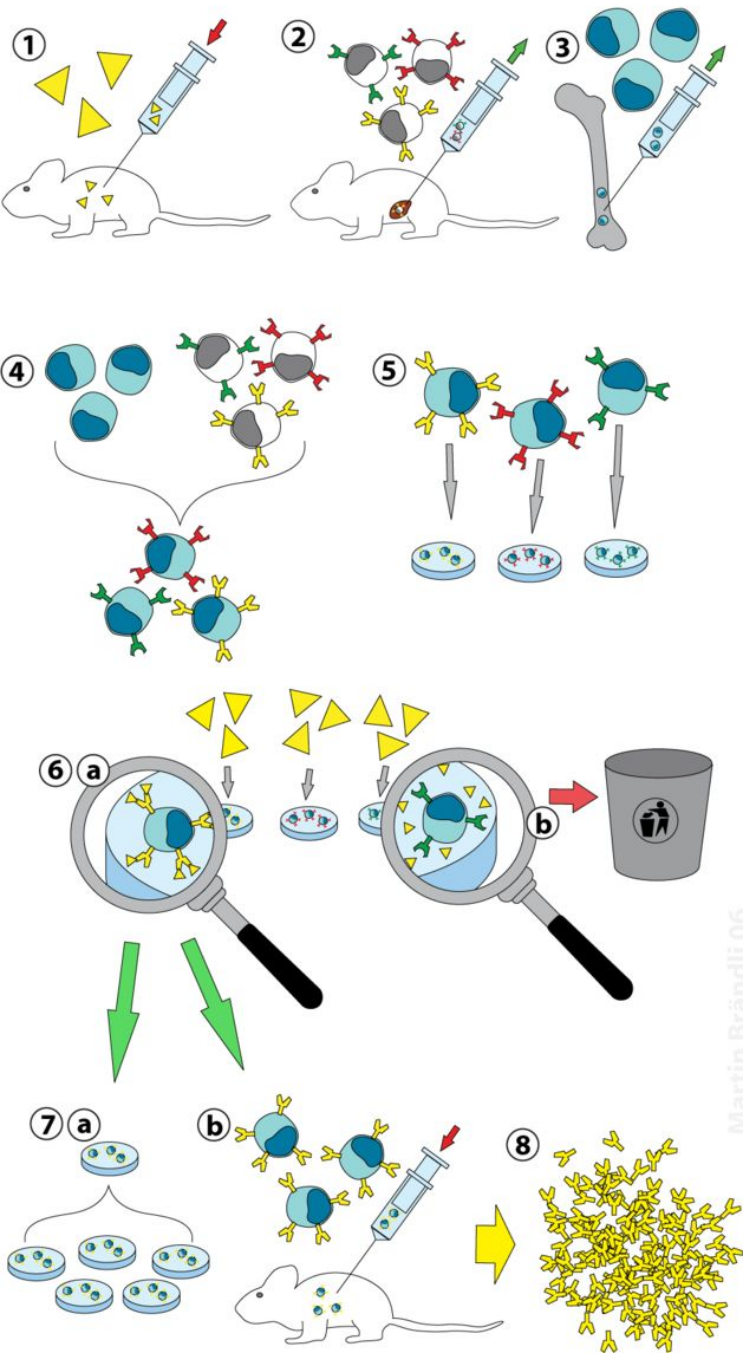


Нильс Ерне (Jerne, 1911–1994), Георг Кёллер (Köhler, 1946–1995) и Цезарь Мильштейн (Milstein, 1927–2002) создали метод, позволяющий получать суспензии абсолютно одинаковых по специфичности, моноклональных, антител.

Как это было сделано?

Успех пришел, как всегда, неожиданно, как побочный продукт исследования, имевшего иные цели. В начале 70-х годов молодой немецкий иммунолог **Георг Кёлер**, получивший стипендию для работы в знаменитом Базельском институте иммунологии, заинтересовался вопросом о генетической изменчивости антител. В то время можно было ожидать, что антитела мутируют (генетически изменяются) с большей частотой, чем другие белки. Для исследования надо было изолировать клон АОК, продуцирующий антитела определенной специфичности, получить из него стабильную клеточную линию, поддерживаемую в пробирке (в культуре), и проследить, с какой частотой появятся там генетически измененные варианты. Для реализации проекта. Кёлер поехал в Англию, в лабораторию **Цезаря Мильштейна**, изучавшего клоны **плазмоцитом**, и они вместе разработали оригинальный подход к этой проблеме: решили получить гибрид нормальной АОК и опухолевой клетки. В случае успеха такой гибрид унаследовал бы от нормальной клетки способность к синтезу антител, а от опухолевой — бессмертие и способность к неограниченному и неконтрольному росту. Это им удалось осуществить.

Гибридная технология



- (1) иммунизация животных;
- (2) выделение В-лимфоцитов из селезенки;
- (3) культура клеток миеломы;
- (4) слияние В-лимфоцитов и клеток миеломы;
- (5) сегрегация клеточных линий;
- (6) скрининг и селекция линий, производящих антитела;
- (7) размножение гибридомы in vitro (a) или in vivo (b);
- (8) получение антител.



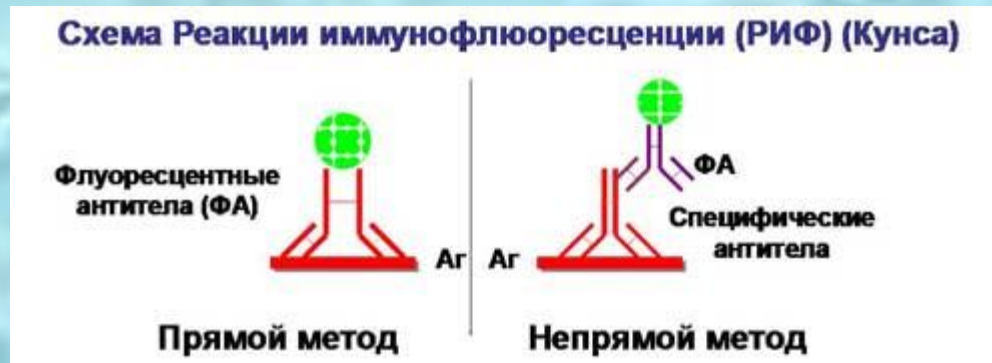
Разработка РИА явилась поворотным моментом в развитии иммунохимических методов анализа, положившим начало целой серии методов с использованием различных меченых соединений. За разработку метода его авторы Р. Йалоу и С. Берсон в 1977 г. были удостоены Нобелевской премии.

- Майлес и Халес (Miles and Hales) в 1968 году использовали йодированные антитела в комбинации с антигеном на твёрдой фазе.
- В 1978 году Лангон (Langone) предложил метить йодом белок А, который способен специфично связываться с Fc фрагментами антител. Таким образом, меченый белок А можно использовать как универсальный реагент.
- В 1979 Вейлером и Зенком (Weiler and Zenk) был предложен авторадиграфический РИА, в котором они использовали мультитканальные плашки.
- В 1981 Аксельсон с коллегами (Axelson) разработали липосомный иммуноанализ, где антиген включался в меченые йодом липидные везикулы, которые затем могли быть осаждены антителами.
- В 1971 году Энгвалл и Перлман (E. Engvall и P. Perlmann) для IgG фракции, Ван Вемен и Шурс (K Van Weemen и A. Schuurs) для эстрогенов (1971) применили твердофазный РИА.
- В 1972 г. Рубенштейн с сотр. (K. E. Rubenstein et al., 1972) разработали новый подход, заключающийся, в проведении всего анализа без использования твердой фазы.

В середине 60-х годов в качестве высокочувствительной метки было предложено использовать молекулы *ферментов*. Являясь по своей природе мощными химическими катализаторами, ферменты способны эффективно осуществлять наработку легко детектируемого продукта, что делает возможным определение ферментной метки в весьма малых концентрациях (до 10^{-12} М и ниже).



Смит и Хеммина (Smith, 1981 and Hemmina, 1984) провели ещё один вариант иммуноанализа – флуоресцентный иммуноанализ (ФИА) с использованием *флуоресцентных меток*.



- 1901 Эмиль Адольф фон Беринг За открытие антитоксинов (антител), их применение при лечении дифтерии.
- 1905 Роберт Кох За исследование туберкулеза.
- 1908 Илья Ильич Мечников и Пауль Эрлих За труды по иммунитету, открытие фагоцитоза (Мечников) и гуморальную теорию иммунитета (Эрлих).
- 1913 Шарль Рише В знак признания его работ по анафилаксии.
- 1919 Жюль Борде За экспериментальные работы по комплементзависимому бактериолизу, специфическому гемолизу, за разработку метода фиксации комплемента для диагностики инфекционных болезней.
- 1930 Карл Ландштейнер За открытие групп крови человека.
- 1951 Макс Тейлер За создание вакцины против желтой лихорадки.
- 1957 Даниеле Бове За открытие роли гистамина в патогенезе аллергических реакций и разработку антигистаминных фармакологических препаратов для лечения аллергических болезней.
- 1960 Макфарлейн Бёрнет и Питер Брайан Медавар За открытие искусственной иммунной толерантности (переносимости).
- 1972 Джералд Эдельман и Родни Портер За открытия, касающиеся химической структуры антител.

- 1977 Розалин Сасмен Ялоу За развитие радиоиммунологических методов определения пептидных гормонов.
- 1980 Барух Бенасерраф, Жан Доссе и Джордж Снелл За открытие генов и структур поверхности клеток главного комплекса гистосовместимости.
- 1984 Нильс Ерне, Георг Кёлер и Сезар Мильштейн За открытие и разработку принципов выработки моноклональных антител с помощью гибридов.
- 1987 Судзуми Тонегава За открытие генетического принципа для генерации разнообразности антител.
- 1996 Питер Доэрти и Рольф Цинкернагель За открытия в области иммунной системы человека, в частности её способности выявлять клетки, пораженные вирусом
- 1997 Стенли Прузинер За открытие прионов, нового биологического принципа инфекции
- 2011 Ральф Стейнман За открытие дендритных клеток и изучение их значения для приобретённого иммунитета
- 2011 Жюль Хоффман и Брюс Бётлер За работы по изучению активации врожденного иммунитета

Прикладные и исследовательские задачи иммунологии:

1. **Исследовательская задача** - идентификация биомолекул и биоструктур, их визуализация и мониторинг, количественная оценка, изучение их структуры, функций, биологических свойств и места в системе биопроцессов.
2. **Клинические исследования и диагностика** - серотипирование, иммуноферментный анализ, иммуногистохимия и др. методы, без которых трудно себе представить современные медицину, ветеринарию и область защиты растений.
3. **Иммунотерапия и иммунопрофилактика** – применение иммунологических подходов и методов для создания лекарств и вакцин с целью лечения и предупреждения заболеваний человека и животных.
4. **Биотехнология** - получение, изоляция и очистка биоактивных и пр. веществ из природных источников и генетически модифицированных организмов и контроль их качества и биобезопасности, которые в последнее время редко обходятся без иммунологических инструментов и методов.

Иммунодиагностика

Иммунодиагностика – это использование реакций иммунитета для диагностики инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Реакции иммунитета – это взаимодействие антигена с продуктами иммунного ответа.

1. Реакция агглютинации – это склеивание и осаждение корпускулярного антигена под действием антитела в присутствии электролита.

2. Реакция преципитации – это осаждение антигена из раствора под действием антитела преципитирующей сыворотки в присутствии электролита. В реакции участвует растворимый антиген.

3. Реакция связывания комплемента (РСК) – сложная, многокомпонентная непрямая реакция иммунитета.

4. Реакции с участием меченых антигенов или антител.

Иммунопрофилактика

Иммунопрофилактика — это использование иммунологических закономерностей для создания искусственного приобретенного иммунитета (активного или пассивного).

Для иммунопрофилактики используют:

- 1) антительные препараты (вакцины, анатоксины), при введении которых у человека формируется искусственный активный иммунитет;
- 2) антительные препараты (иммунные сыворотки), с помощью которых создается искусственный пассивный иммунитет.

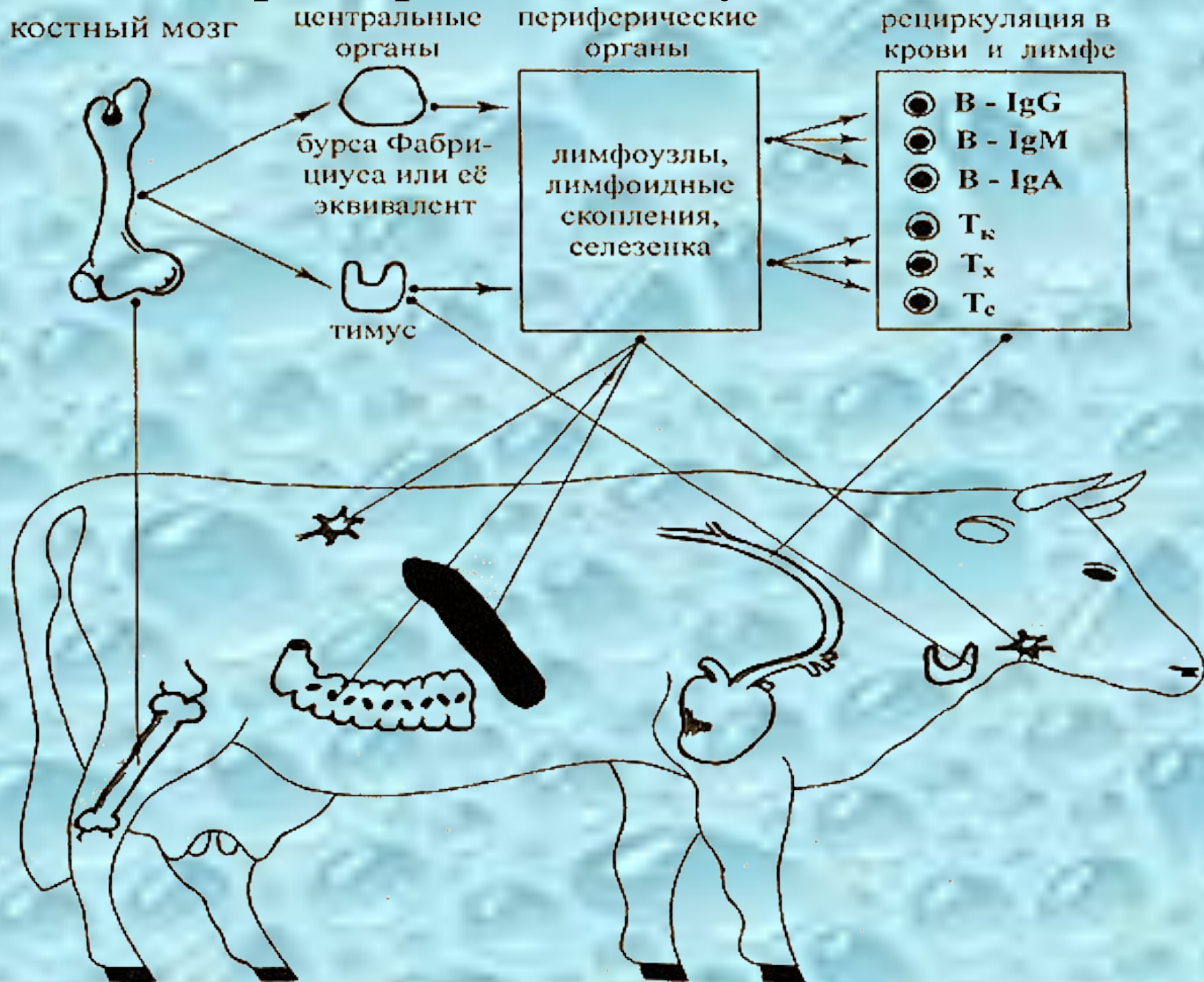
Вакцинами называют антигенные препараты, полученные из возбудителей или их структурных аналогов, которые используют для создания искусственного активного приобретенного иммунитета.

Иммунотерапия

Иммунотерапия — это использование иммунологических закономерностей для лечения больных. Цель иммунотерапии — повышение специальных механизмов защиты в отношении микробных агентов.

Иммунокоррекция — современное направление в терапии инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Общая характеристика иммунной системы



К конститутивным защитным барьерам традиционно относят непроницаемость покровов, лизоцим, гидролитические ферменты и соляную кислоту желудочно-кишечного тракта, интерферон, воспаление, фагоцитоз, систему комплемента и другие присутствующие в крови гуморальные факторы конститутивной защиты

Индукцибельные защитные механизмы: ответ на тимусзависимые антигены, приводящий к появлению специфических антител и соответствующих клеток иммунной памяти; действие Т-киллеров, ограниченных по молекулам главного комплекса гистосовместимости; гиперчувствительность замедленного типа; гиперчувствительность немедленного типа.

Спасибо за внимание