

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

КАФЕДРА КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ С АЛЛЕРГОЛОГИЕЙ

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

ПО ДИСЦИПЛИНЕ «ОБЩАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ»

КАЗАНЬ 2018

УДК 612.017.1(075.8)

ББК 52.7я73

Печатается по решению Центрального координационно-методического совета ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России

Авторы-составители:

д.м.н., профессор О.В. Скороходкина

д.м.н., профессор Р.Ф. Хакимова

к.м.н., доцент А.А. Васильева

к.м.н., ассистент Г.Ф. Зиганшина

к.м.н., ассистент А.Р. Ключарова

ассистент А.Р. Валеева

ассистент Н.Ш. Курмаева

Рецензенты:

Цибулькин Анатолий Павлович

Профессор кафедры клинической лабораторной диагностики

КГМА филиал ФГБОУ РМАНПО МЗ РФ

Мустафин Ильшат Ганиевич

Проректор по научной и инновационной работе,

заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики

ФГБОУ ВО КГМУ МЗ РФ

Д.м.н., профессор

Учебно-методическое пособие по дисциплине «ОБЩАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ» / Скороходкина О.В., Хакимова Р.Ф., Васильева А.А., Зиганшина Г.Ф., Ключарова А.Р., Валеева А.Р., Курмаева Н.Ш. – Казань: КГМУ, 2018. – 192 с.

Учебно-методическое пособие по дисциплине «Общая и клиническая иммунология» предназначено для обучающихся по специальности: 30.05.02 медицинская биофизика.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	6
Используемые сокращения.....	7
Обращение к обучающимся.....	8
1. Планируемые результаты обучения по дисциплине.....	9
2. Требования к посещаемости.....	10
3. Текущий контроль.....	11
4. Промежуточная аттестация.....	12
5. Структура и содержание дисциплины.....	12
6. Тезисы лекций, планы занятий и организация самостоятельной работы.....	16
Лекция № 1 «Введение в иммунологию».....	16
Вопросы для самоконтроля.....	20
Лекция № 2 «Клеточные факторы врожденного иммунитета».....	20
Вопросы для самоконтроля.....	24
Лекция № 3 «Гуморальные факторы врожденного иммунитета».....	24
Вопросы для самоконтроля.....	28
Лекция № 4 «Характеристика клеток адаптивного иммунитета».....	28
Вопросы для самоконтроля.....	33
Лекция № 5 «Антигены как индукторы иммунного ответа».....	33
Вопросы для самоконтроля.....	37
Лекция № 6 «Адаптивный иммунитет. Гуморальный иммунный ответ».....	37
Вопросы для самоконтроля.....	39
Лекция № 7 «Адаптивный иммунный ответ. Клеточно-опосредованный иммунный ответ».....	40
Вопросы для самоконтроля.....	42
Лекция № 8 «Противоинфекционный иммунитет».....	42
Вопросы для самоконтроля.....	47
Лекция № 9 «Противоопухолевый иммунитет. Радиационная иммунология».....	47
Вопросы для самоконтроля.....	51
Лекция № 10 «Имунологическая толерантность и аутоиммунитет».....	51
Вопросы для самоконтроля.....	55
Лекция № 11 «Трансплантация и отторжение тканей».....	55
Вопросы для самоконтроля.....	57
Лекция № 12 «Принципы оценки иммунного статуса».....	58
Вопросы для самоконтроля.....	61
Лекция № 13 «Иммунодефициты».....	61
Вопросы для самоконтроля.....	64
Лекция № 14 «Имунология ВИЧ/СПИД».....	64
Вопросы для самоконтроля.....	67
Лекция № 15 «Реакции гиперчувствительности».....	67
Вопросы для самоконтроля.....	70
Лекция № 16 «Аллергические заболевания органов дыхания системы и кожи».....	70

Вопросы для самоконтроля.....	74
Лекция № 17 «Неотложная помощь при острых аллергических состояниях».....	75
Вопросы для самоконтроля.....	79
Практическое занятие №1	
Тема: «Организация и принципы работы иммунологической лаборатории в ЛПУ»	79
Самостоятельная работа.....	83
Практическое занятие №2	
Тема: «Клеточные факторы врожденного иммунитета. Методы оценки фагоцитоза»	83
Самостоятельная работа.....	86
Практическое занятие №3	
Тема: «Гуморальные факторы врожденного иммунитета. Методы оценки»	86
Самостоятельная работа.....	89
Практическое занятие №4	
Тема: «Органы иммунной системы».....	90
Самостоятельная работа.....	93
Практическое занятие №5	
Тема: «Клетки адаптивного иммунитета».....	94
Самостоятельная работа.....	100
Практическое занятие №6	
Тема: «Фенотипирование лимфоцитов».....	101
Самостоятельная работа.....	104
Практическое занятие №7	
Тема: «Антигены».....	105
Самостоятельная работа.....	109
Практическое занятие №8	
Тема: «Антитела».....	109
Самостоятельная работа.....	112
Практическое занятие №9	
Тема: «Феномены взаимодействия антигенов и антител».....	112
Самостоятельная работа.....	116
Практическое занятие №10	
Тема: «Гуморальный иммунный ответ на Т-зависимые и Т-независимые антигены».....	116
Самостоятельная работа.....	119
Практическое занятие №11	
Тема: «Клеточно-опосредованный иммунный ответ»	120
Самостоятельная работа.....	122
Практическое занятие №12	
Тема: «Возрастные особенности иммунной системы»	122
Самостоятельная работа.....	125
Практическое занятие №13	
Тема: «Иммунопрофилактика инфекций».....	126
Самостоятельная работа.....	130
Практическое занятие №14	
Тема: «Оценка иммунного статуса» (1 часть).....	131
Самостоятельная работа.....	133
Практическое занятие №15	
Тема: «Оценка иммунного статуса» (2 часть).....	133
Самостоятельная работа.....	137
Практическое занятие №16	
Тема: «Первичные иммунодефициты»	137
Самостоятельная работа.....	140

Практическое занятие №17	
Тема: «Вторичные иммунодефициты. Методы иммунодиагностики ВИЧ-инфекции»....	140
Самостоятельная работа.....	144
Практическое занятие №18	
Тема: «Принципы иммунотерапии».....	145
Самостоятельная работа.....	148
Практическое занятие №19	
Тема: «Реакции гиперчувствительности»	149
Самостоятельная работа.....	155
Практическое занятие №20	
Тема: «Аллергены».....	155
Самостоятельная работа.....	160
Практическое занятие №21	
Тема: «Диагностические программы в аллергологии»	161
Самостоятельная работа.....	163
Практическое занятие №22	
Тема: «Аллергодиагностика in vitro».....	164
Самостоятельная работа.....	168
Практическое занятие №23	
Тема: «Аллергические заболевания органов дыхания»	169
Самостоятельная работа.....	173
Практическое занятие №24	
Тема: «Аллергические заболевания кожи»	173
Самостоятельная работа.....	176
Практическое занятие №25	
Тема: «Диагностика побочных лекарственных реакций»	177
Самостоятельная работа.....	181
Практическое занятие №26	
Тема: «Анафилактический шок».....	182
Самостоятельная работа.....	184
7. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины.....	186
Список использованных источников.....	187

Введение

Учебно-методическое пособие содержит материалы по общей и клинической иммунологии, которые необходимы студентам для освоения специальности медицинская биофизика. В пособии содержатся материалы по основам иммунологии, освещаются ключевые вопросы как фундаментальной, так и клинической иммунологии.

Приобретенные знания позволят студенту медико-биологического факультета сформировать целостное представление о структуре иммунной системы, ее функции, а также о формировании и клинических проявлениях основных иммунопатологических состояний. Также студенты получают информацию о современных подходах к лечению иммунопатологии, показаниях к назначению иммуностропной терапии. В процессе занятий студенты смогут познакомиться с работой иммунологической лаборатории, получить навыки выполнения определенных иммунологических исследований, ознакомиться с их интерпретацией.

В процессе прохождения курса будет предоставлена информация по современным подходам к диагностике и лечению аллергических заболеваний. Этому посвящен отдельный раздел, который, в частности, включает материал по ургентным состояниям в аллергологии. В результате студенты смогут сформировать алгоритм оказания неотложной помощи при таких состояниях, как анафилактический шок, острая крапивница, ангиоотек и т.д.

В пособие входят программа курса, краткий конспект лекций, содержание практических занятий, задания для самостоятельной работы в форме реферативных докладов и методические рекомендации по самостоятельной подготовке, а также вопросы для самоконтроля.

Учебно-методическое пособие предназначено в качестве вспомогательного учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по дисциплине «Общая и клиническая иммунология».

Используемые сокращения

BCR – В-клеточный рецептор
CD – (*cluster differentiation*) кластер дифференцировки
IL – интерлейкин
РАМР – патогенассоциированные мембранные паттерны
PPR – паттерн распознающие рецепторы
АР – аллергический ринит
АСИТ – аллергенспецифическая иммунотерапия
АШ – анафилактический шок
БА – бронхиальная астма
ВИН – вторичная иммунная недостаточность
ГИО – гуморальный иммунный ответ
ИД – иммунодефицит
ИО – иммунный ответ
КИО – клеточный иммунный ответ
КК – код компетенции
Л – лекция
МНС (*major histocompatibility complex*) – главный комплекс гистосовместимости
ОВИН – общая варибельная иммунная недостаточность
ОПК – общепрофессиональные компетенции
ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1 секунду
П – практическое занятие
ПВД – первичная иммунная недостаточность
ПК – профессиональные компетенции
ПОС – пиковая объемная скорость
СРС – самостоятельная работа студента
ТКИН – тяжелая комбинированная иммунная недостаточность
ТСР – Т-клеточный рецептор
ХГБ – хроническая гранулематозная болезнь
ЦИК – циркулирующий иммунный комплекс
ЦТЛ – цитотоксический лимфоцит

ОБРАЩЕНИЕ К ОБУЧАЮЩИМСЯ

Уважаемые студенты!

Вы приступаете к изучению дисциплины «Общая и клиническая иммунология» на кафедре клинической иммунологии с аллергологией.

Ваша будущая специальность – «медицинская биофизика» - предполагает глубокие знания иммунологии. При этом важно иметь хорошую подготовку по фундаментальной иммунологии, ориентироваться в основных методах иммунодиагностики, используемых на современном этапе, понимать значение этих исследований в диагностике различных иммунопатологических состояний.

В ходе освоения дисциплины вы изучите материал по основам общей иммунологии: строению и функции иммунной системы, врожденному и приобретенному иммунитету, формированию иммунного ответа в норме и при патологии.

Вы также получите информацию по прикладным аспектам иммунологии (иммунодефициты, трансплантация, иммунопрофилактика инфекций и т.д.). Вы не только приобретете знания по иммунодиагностике, но и сможете овладеть навыками выполнения отдельных этапов основных лабораторных иммунологических тестов. Вы получите информацию о современном подходе к диагностике и лечению аллергических заболеваний, об оказании неотложной помощи при острых аллергических состояниях, в том числе при анафилактическом шоке.

Мы надеемся на то, что успешное освоение дисциплины «Общая и клиническая иммунология» станет основой для изучения последующих дисциплин и поможет вам стать грамотными и конкурентоспособными специалистами.

Дисциплина «Общая и клиническая иммунология» является основополагающей для изучения следующих дисциплин: Клиническая фармакология, Внутренние болезни, Педиатрия, Клиническая лабораторная диагностика.

В программу входят курс лекций и практические занятия. Для плодотворного участия в практических занятиях на них следует приходиться подготовленными. В настоящем пособии мы указали источники информации для самостоятельной работы, а также вопросы, на которые нужно ответить. Вам также будут предложены темы для докладов, презентаций и рефератов по изучаемой теме.

Дисциплина «Общая и клиническая иммунология» разделена на 3 модуля: «Врожденный иммунитет», «Адаптивный иммунитет», «Основы клинической иммунологии». По окончании курса в случае отсутствия пропусков лекций и практических занятий, успешной сдачи модулей и наличия положительных оценок по текущему контролю вы допускаетесь к сдаче экзамена по дисциплине. На сайте кафедры вы сможете ознакомиться с вопросами для подготовки к экзамену.

Экзаменационная оценка учитывается при определении вашего индивидуального рейтинга в соответствии с балльно-рейтинговой системой оценки знаний.

1. ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

Цель освоения дисциплины:

сформировать способность и готовность анализировать закономерности функционирования иммунной системы с использованием знаний анатомо-физиологических основ, основных методик клинико-иммунологического обследования и оценки функционального состояния органов иммунной системы.

Задачи освоения дисциплины:

- формирование знаний о структуре, функциональном значении иммунной системы;
- формирование навыков выполнения иммунологических исследований и интерпретации результатов с целью выявления иммунных нарушений;
- формирование знаний о патогенезе, принципах диагностики заболеваний иммунной системы;
- формирование знаний о показаниях к проведению иммуотропной терапии;
- формирование навыков изучения современных достижений в области клинической иммунологии и аллергологии в профессиональной деятельности

Изучение дисциплины направлено на формирование следующих компетенций:

код компетенции	ОПК-7	ПК-5
1	2	3
Содержание компетенции	способность к оценке морфофункциональных, физиологических состояний и патологических процессов в организме человека для решения профессиональных задач	готовность к оценке результатов лабораторных, инструментальных, патологоанатомических и иных исследований в целях распознавания состояния или установления факта наличия или отсутствия заболевания.
знать	строение иммунной системы, особенности иммунной системы в норме и при патологии, болезни иммунной системы, методы исследования для оценки состояния иммунной системы	противоинфекционный иммунитет, трансплантационный иммунитет, противоопухолевый иммунитет, радиационную иммунологию, аллергопатологию.
уметь	определять показания к проведению иммунологических исследований	формулировать и планировать задачи исследований в иммунологии; воспроизводить современные иммунологические методы исследования для решения профессиональных задач.
владеть	оценкой роли иммунного компонента в патогенезе заболеваний человека	оценкой результатов иммунологических исследований в целях распознавания состояния иммунной системы или установления факта наличия или отсутствия иммунопатологии.

2. ТРЕБОВАНИЯ К ПОСЕЩАЕМОСТИ

Ожидается, что вы будете посещать все учебные мероприятия. Присутствие будет фиксироваться в журналах лекций и семинаров. В случае заболевания или других причин, по которым Вы не сможете присутствовать на занятиях, вы должны поставить в известность деканат и кафедру, предоставить медицинскую справку или разрешение деканата на пропуск занятий по уважительной причине. Отработка пропущенных лекций может быть проведена на образовательном портале. Преподаватели сообщат вам конкретные сроки открытия ресурсов. Отработка пропущенных семинарских занятий потребует выполнения всех видов практических заданий, выполненных согласно программе дисциплины на этих занятиях.

Студенты, которые пропустили более 50% занятий, должны будут пройти дисциплину повторно. Студенты, которые считают, что на оценку его работы повлияли чрезвычайные обстоятельства, могут написать мотивированное объяснение зав. кафедрой или в деканат.

3. ТЕКУЩИЙ КОНТРОЛЬ

Виды текущего контроля:

1. Опрос
2. Тестирование
3. Устное сообщение
4. Решение ситуационных задач

Критерии оценки текущего контроля:

Критерии оценки тестирования

90–100 баллов – выставляется, если студент правильно ответил на 90% вопросов теста.

80–89 баллов – выставляется, если студент правильно ответил от 80% до 90% вопросов теста.

70–79 баллов – выставляется, если студент правильно ответил от 70% до 80% вопросов теста.

Менее 70 баллов – выставляется, если студент правильно ответил менее 69% вопросов теста.

Критерии оценки устного сообщения

-оценка «отлично» (9-10 баллов) выставляется студенту, если сформулирован вопрос для изучения темы, сформулирована цель для изучения темы сообщения, содержание доклада соответствует вопросу и цели, докладчик владеет материалом, критически оценивает источники информации, использует источники информации за последние 10 лет, адекватно отвечает на вопросы

-оценка «хорошо» (8-9 баллов) выставляется студенту, если сформулирован вопрос для изучения темы, сформулирована цель для изучения темы сообщения, содержание сообщения соответствует вопросу и цели, докладчик владеет материалом, адекватно отвечает на вопросы

-оценка «удовлетворительно» (7-8 баллов) выставляется студенту, если сформулирована цель для изучения темы сообщения, докладчик владеет материалом, адекватно отвечает на вопросы

-оценка «неудовлетворительно» (менее 7 баллов) выставляется студенту, если сообщение не подготовлено, содержание сообщения не соответствует вопросу и цели темы

-оценка «зачтено» выставляется студенту, если сформулирована цель для изучения темы сообщения, докладчик владеет материалом, адекватно отвечает на вопросы

-оценка «не зачтено» выставляется студенту, если сообщение не подготовлено, содержание сообщения не соответствует вопросу и цели темы

Критерии оценки решения ситуационной задачи

-оценка «отлично» (9-10 баллов) выставляется студенту, если в задаче выделены основные синдромы заболевания, поставлен правильный диагноз, определена верная тактика лечения патологии.

-оценка «хорошо» (8-9 баллов) выставляется студенту, если в задаче выделены основные синдромы заболевания, поставлен правильный диагноз.

-оценка «удовлетворительно» (7-8 баллов) выставляется студенту, если в задаче поставлен правильный диагноз.

-оценка «неудовлетворительно» (менее 7 баллов) выставляется студенту, если работа не выполнена

-оценка «зачтено» выставляется студенту, если в задаче определен правильный диагноз заболевания.

-оценка «не зачтено» выставляется студенту, если задача не решена или решена неверно

4. ПРОМЕЖУТОЧНАЯ АТТЕСТАЦИЯ

Цикл дисциплины «Общая и клиническая иммунология» завершается промежуточной аттестацией в форме экзамена.

5. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Место дисциплины в структуре ООП ВО

2.1. Дисциплина «Общая и клиническая иммунология» включена в обязательный перечень ФГОС ВО, в цикл математических и естественно-научных дисциплин базовой части.

2.2. Предшествующими курсами, на которых непосредственно базируется дисциплина «Общая и клиническая иммунология», являются: Биология, эволюционная биология, Морфология: анатомия человека, гистология, цитология, Физиология, Микробиология, вирусология, Биохимия.

Общая патология: патологическая анатомия, патофизиология (изучается параллельно с общей и клинической иммунологией).

2.3. Дисциплина «Общая и клиническая иммунология» является основополагающей для изучения следующих дисциплин: Клиническая фармакология, Внутренние болезни, Педиатрия, Клиническая лабораторная диагностика.

Область профессиональной деятельности специалистов, осваивающих дисциплину «Общая и клиническая иммунология», включает: совокупность технологий, средств, способов и методов биофизики, медицинских биотехнологий, клинической лабораторной диагностики, методов функциональной диагностики в человеческой деятельности, направленной на развитие лечебно-диагностической системы и улучшение здоровья населения.

Объектами профессиональной деятельности специалиста являются: различные биологические объекты всех уровней организации живой материи, а также области науки и техники в здравоохранении, которые включают совокупность технологий, средств, способов оказания лечебно-диагностической, лечебно-восстановительной и первой врачебной помощи при неотложных состояниях.

Специалист готовится к следующим видам профессиональной деятельности: лечебно-диагностическая, медико-просветительская, организационно-управленческая, научно-исследовательская, научно-методическая, педагогическая.

Освоение компетенций в процессе изучения дисциплины способствует формированию знаний, умений и навыков, позволяющих осуществлять эффективную работу по областям, объектам и видам профессиональной деятельности.

Содержание дисциплины, структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и видов учебных занятий

Разделы/темы	Общая трудоемкость (в часах)	Виды учебных занятий			СРС	КК
		Аудиторные учебные занятия				
	Всего	Л	П			
Модуль 1						
Раздел 1	31	6	12	13		
Врожденный иммунитет						
Тема 1.1.1. Введение в иммунологию	2	2				ОПК-7
Тема 1.1.2. Клеточные факторы врожденного иммунитета.	2	2				ОПК-7 ПК-5
Тема 1.1.3. Гуморальные факторы врожденного иммунитета.	2	2				ОПК-7 ПК-5
Тема 1.1.4. Организация и принципы работы иммунологической лаборатории в ЛПУ.	8		4	4		ОПК-7 ПК-5
Тема 1.1.5. Клеточные факторы врожденного иммунитета. Методы оценки фагоцитоза.	8		4	4		ОПК-7 ПК-5
Тема 1.1.6. Гуморальные факторы врожденного иммунитета. Методы оценки.	9		4	5		ОПК-7 ПК-5
Раздел 2	25	2	12	11		
Структура и функция иммунной системы						
Тема 1.2.1. Характеристика клеток адаптивного иммунитета.	2	2				ОПК-7
Тема 1.2.2. Органы иммунной системы	8		4	4		ОПК-7
Тема 1.2.3. Клетки адаптивного иммунитета.	8		4	4		ОПК-7 ПК-5
Тема 1.2.4. Фенотипирование лимфоцитов	7		4	3		ОПК-7 ПК-5
Модуль 2						
Раздел 1	26	2	12	12		
Антигены. Антитела						
Тема 2.1.1. Антигены как индукторы иммунного ответа	2	2				ОПК-7
Тема 2.1.2. Антигены	8		4	4		ОПК-7
Тема 2.1.3. Антитела	8		4	4		ОПК-7 ПК-5
Тема 2.1.4. Феномены взаимодействия антигенов и антител	8		4	4		ОПК-7 ПК-5

Раздел 2 Механизмы адаптивного иммунитета	42	10	16	16	
Тема 2.2.1. Адаптивный иммунитет. Гуморальный иммунный ответ.	2	2			ОПК-7
Тема 2.2.2. Адаптивный иммунитет. Клеточно-опосредованный иммунный ответ	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 2.2.3. Противоиноксационный иммунитет.	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 2.2.4. Противоопухолевоый иммунитет. Радиационная иммунология	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 2.2.5. Иммунологическая толерантность и аутоиммунитет.	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 2.2.6. Гуморальный иммунный ответ на Т-зависимые и Т-независимые антигены.	8		4	4	ОПК-7
Тема 2.2.7. Клеточно-опосредованный иммунный ответ.	8		4	4	ОПК-7
Тема 2.2.8. Возрастные особенности иммунной системы.	8		4	4	ОПК-7
Тема 2.2.9. Иммунопрофилактика инфекций.	8		4	4	ОПК-7
Модуль 3					
Раздел 1 Основы клинической иммунологии	43	8	20	15	
Тема 3.1.1. Трансплантация и отторжение тканей.	2	2			ОПК-7
Тема 3.1.2. Принципы оценки иммунного статуса	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 3.1.3. Иммунодефициты	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 3.1.4. Иммунология ВИЧ/СПИД	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 3.1.5. Оценка иммунного статуса	7		4	3	ОПК-7
Тема 3.1.6. Оценка иммунного статуса	7		4	3	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.1.7. Первичные иммунодефициты	7		4	3	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.1.8. Вторичные иммунодефициты. Методы иммунодиагностики ВИЧ-инфекции.	7		4	3	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.1.9. Принципы иммунотерапии	7		4	3	ОПК-7 ПК-5
Раздел 2 Основы аллергологии	49	6	30	13	

Тема 3.2.1. Реакции гиперчувствительности	2	2			ПК-5
Тема 3.2.2. Аллергические заболевания респираторной системы и кожи	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.3. Неотложная помощь при острых аллергических состояниях	2	2			ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.4. Реакции гиперчувствительности.	6		4	2	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.5. Аллергены	5		4	1	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.6. Диагностические программы в аллергологии.	6		4	2	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.7. Аллергодиагностика in vitro	6		4	2	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.8. Аллергические заболевания органов дыхания	5		4	1	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.9. Аллергические заболевания кожи	3		2	1	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.10. Диагностика побочных лекарственных реакций	6		4	2	ОПК-7 ПК-5
Тема 3.2.11. Анафилактический шок. Неотложная помощь.	6		4	2	ОПК-7 ПК-5
Всего	216	34	102	80	

6. ТЕЗИСЫ ЛЕКЦИЙ, ПЛАНЫ ЗАНЯТИЙ И ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

Лекция №1

«Введение в иммунологию»

Иммунология – наука об иммунитете.

Иммунитет – это способность многоклеточных организмов поддерживать постоянство своего макромолекулярного состава путем распознавания, а затем удаления чужеродных молекул, что обеспечивает устойчивость к инфекционным агентам и резистентность к опухолям. При этом под «чужеродными макромолекулами» понимают, прежде всего, продукты чужеродной генетической информации, отличные от продуктов собственных генов.

Таким образом, **иммунология** изучает защиту организма от генетически чужеродных агентов, реализуемую при помощи иммунной системы.

В свою очередь **иммунная система** – специализированная система органов и тканей, обеспечивающая иммунитет.

Основные вехи развития иммунологии

Иммунология является прикладной медицинской наукой. Ее предыстория насчитывает более 2 тыс. лет. Впервые понятие иммунитет (immunitas) было введено в древнем Риме. Люди, обладающие иммунитетом, освобождались от податей и повинностей, которые временно или навсегда даровались отдельным лицам, чаще всего сенаторам, а также общинам в случае больших несчастий, например, стихийных бедствий. Римляне также считали, что болезнь (дестабилизация нормального состояния организма) является налагаемой на человека данью природы. Те, кто в течение жизни не заболел какой-либо болезнью или, переболев ею, не заболел вторично, считались от такой дани освобожденными, т.е. обладали иммунитетом от гнева природы. Исходно иммунология как наука возникла из практической необходимости борьбы с инфекционными заболеваниями. Вплоть до конца XVIII века учеными проводились различного рода исследования по борьбе с тяжелыми инфекционными заболеваниями, в том числе с оспой. В 1796г. Э.Дженнер решился апробировать метод вакцинации коровьей оспой человека. Эксперимент прошел успешно, а вакцинация нашла широкое применение в медицине. Несмотря на то, что во всем мире основоположником вакцинации считается английский врач Э.Дженнер, его работы нельзя расценивать как начало иммунологии, т.к. они касались конкретной профилактической процедуры, а не общих принципов и правил, которые можно было бы расценивать как фундамент новой науки.

Рождение инфекционной иммунологии связывают с именем выдающегося французского ученого Луи Пастера (Louis Paster). Им был сделан первый шаг к целенаправленному поиску вакцинных препаратов, создающих устойчивый иммунитет к инфекции после заражения ученым кур ослабленной (аттенуированной) культурой возбудителя холеры, что сделало птиц невосприимчивыми к патогенному микробу (1880г). В 1881г. Пастер продемонстрировал эффективный подход к иммунизации коров против сибирской язвы. В 1885г. ему удалось показать возможность защиты людей от бешенства. Ученый сформулировал общие принципы иммунологической профилактики инфекционных болезней, что рассматривают в настоящее время как отправную точку иммунологии как самостоятельной науки. Термин «иммунитет» также впервые ввел Л. Пастер, подразумевая под этим термином снижение вероятности развития инфекционного заболевания после повторного заражения, т.е. после ранее перенесенной инфекции.

Первыми, кто пролил свет на один из механизмов невосприимчивости к инфекции, были Беринг и Китазато. Они опытным путем доказали, что сыворотка от мышей, предварительно иммунизированных столбнячным токсином, введенная интактным животным, защищает последних от смертельной дозы токсина. Сывороточный фактор - антитоксин - представлял собой первое обнаруженное специфическое антитело. Работы этих ученых положили начало изучению механизмов гуморального иммунитета.

Таким образом, на заре становления иммунологии – в начале XX века – феномен иммунитета рассматривали в основном в связи с инфекционными процессами и подразумевали под этим понятием невосприимчивость организма к инфекционным заболеваниям. Однако дальнейшие исследования ученых позволили по-новому взглянуть на иммунную систему. В ближайшие десятилетия после открытий Л. Пастера в результате интенсивной деятельности в основном французско-русской и немецкой школ были достигнуты успехи в развитии прикладной иммунологии и заложены основы иммунологической теории. Так, в 1883 году Илья Мечников сделал первое сообщение по фагоцитарной (клеточной) теории иммунитета. Ученый утверждал, что способность подвижных клеток беспозвоночных животных поглощать пищевые частицы, т.е. участвовать в пищеварении, есть фактически их способность поглощать вообще все «чужое»: различных микробов, инертных частиц, отмирающих частей тела. У человека также есть амебоидные подвижные клетки – макрофаги и нейтрофилы. Но «едят» они пищу особого рода - патогенных микробов. Параллельно с Мечниковым разрабатывал свою теорию иммунной защиты от инфекции немецкий фармаколог Пауль Эрлих. Он сформировал определение «антитела», к которым относил белковые вещества, способные убивать патогенные микроорганизмы. Ученый выделил основное свойство антител - специфичность. Пытаясь понять явление специфичности, Эрлих выдвинул теорию «боковых цепей», в которой антитела в виде рецепторов предсуществуют на поверхности клеток. Антиген, вступив в контакт со специфическим рецептором, обеспечивает усиленную продукцию и выход в циркуляцию только этого конкретного рецептора (антитела).

Таким образом, к началу XX века существовало 2 основных теоретических направления в иммунологии – клеточное, созданное И.И. Мечниковым, и гуморальное, родоначальником которого был П. Эрлих. Ученые один за другим продолжали описывать новые иммунологические феномены и факторы. И.И. Мечников первым стал говорить о существовании специализированной системы (иммунной системы), функция которой – формирование и осуществление реакций иммунитета. Л. Дейтч (L. Deutsch) ввел термин «антиген» (1903) для обозначения веществ, на которые реагирует иммунная система, обеспечивая их удаление из организма. Разработав способ окрашивания клеток, П. Эрлих описал основные разновидности лейкоцитов, которые уже тогда считали эффекторными (исполнительными) клетками иммунитета. Он также изучал тучные клетки – главные эффекторы аллергических реакций немедленного типа. А в 1902 г. Ш. Рише и П. Портье впервые описали феномен анафилаксии. Появляются первые работы о неинфекционном иммунитете, т.е. о возможной направленности иммунологических механизмов не только против инфекционных агентов, а против тканей — чужеродных и даже собственных. Основы иммунологических процессов, направленных против чужеродных тканей внутри вида животных, были изучены К. Ландштейнером, показавшим наличие генетически детерминированного полиморфизма на примере эритроцитов. На основании результатов своих работ им были открыты группы крови системы АВ0. Возможность аутоиммунных процессов, т.е. иммунных процессов, направленных против собственных антигенов, была обоснована П. Эрлихом и Ю. Моргенротом в первые годы XX века.

Открытия, разработки и теории рубежа XIX–XX вв. послужили основой классической иммунологии. Однако на протяжении 20–30 гг. XX века иммунология все больше превращалась в раздел медицинской микробиологии, а темпы ее развития постепенно снизились. Одним из значимых достижений этого времени являются работы М. Heidelberger, который доказал, что антитела являются белками, а А.В. Tiselius с помощью электрофореза сывороточных белков, показал, что антитела принадлежат преимущественно к фракции γ -глобулинов. В 50-80-е годы XX века развитие иммунологии связано с изучением роли лимфоцитов в иммунитете. П. Медавар в своих исследованиях доказал иммунологическую природу отторжения аллотрансплантатов и вместе с другими исследователями показал, что главный фактор трансплантационного иммунитета – не антитела, а лимфоциты, которые способны перенести эту форму иммунитета интактным реципиентам. Одновременно с этим открытием Джордж Снелл, Барух Венацераф и Жан Доссе описали главный комплекс гистосовместимости у животных и человека, а также обнаружили гены, которые кодируют молекулы, определяющие тканевую несовместимость. В контексте этих исследований сформировалось очень важное противопоставление «свое–чужое». Ф.М. Бернет в 50-е годы прошлого столетия выдвинул концепцию об иммунологическом надзоре, согласно которой главная функция иммунной системы стала рассматриваться с позиции «своего» и «чужого». Эта точка зрения существенно расширила границы иммунологии и доминирует и в настоящее время. Бернет также описал лимфоцит, как основного участника специфического иммунного реагирования, дав ему название "иммуноцит". Кроме того, Бернет является создателем клонально-селекционной теории иммунитета, согласно которой в организме спонтанно возникают клоны лимфоцитов, несущих на своей поверхности рецепторы, специфичные ко всем возможным антигенам. При этом 1 клон распознает 1 эпитоп. Характер реакции лимфоцитов на распознаваемый их рецепторами антиген зависит от степени зрелости: недостаточно зрелые лимфоциты погибают, а зрелые пролиферируют и дифференцируются в антителообразующие и другие эффекторные клетки. В 50-80х годах значимыми оказались работы, описывающие иммунологическую толерантность. Так, П. Медавар и его сотрудники открыли явление иммунологической толерантности, т.е. «терпимости» к чужеродным субстанциям, если они вводились до завершения созревания иммунной системы. Тем самым было показано, что дискриминация «своего» и «чужого» не задана генетически, а формируется в онтогенезе. В изучении феномена «иммунологической толерантности» также принимали участие ученые Ф.М. Бернет и Милан Гашек. В 60-е годы XX века был достигнут значительный прогресс в анализе гетерогенности лимфоцитов. Работы Дж. Миллера позволили разделить лимфоциты на две популяции – тимус-зависимые (Т) и зависимые от бурсы – органа, в котором развиваются эти клетки у птиц (В). Было доказано, что В-клетки служат предшественниками антителопродуцентов, а Т-клетки – их «помощниками» (Т-хелперы). В то же время Т-клетки могут выступать в качестве самостоятельных исполнителей иммунологических функций (например, при отторжении трансплантата или защите от вирусов) в качестве цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеров). В начале 70-х годов была открыта еще одна разновидность лимфоцитов – естественные киллеры (NK-клетки) – аналоги цитотоксических Т-лимфоцитов в системе врожденного иммунитета. На поверхности В-клеток обнаружили мембранные иммуноглобулины–антитела, определявшие специфичность клонов В-клеток. В 1975 году на основании теорий Бернета, Дж. Кохлеру, К. Мильштейну удалось разработать методику синтеза моноклональных антител. В конце 1970-х годов С. Тонегава расшифровал процесс реаранжировки вариабельных генов В-лимфоцитов, а Р. Цинкернагель и П. Догерти описали механизм распознавания Т-лимфоцитами антигена. Природа Т-клеточного

рецептора (TCR) была установлена в начале 80-х годов. В это же время сформировалось учение о цитокинах, расшифрованы основные процессы, происходящие в тимусе, связанные с дифференцировкой и селекцией Т-лимфоцитов, описано новое заболевание, иммунодефицит вирусной природы – синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД).

В этот период начинается распространение базовых методов современной иммунологии – иммуноферментного анализа, а затем – проточной цитометрии.

Молекулярно-биологические методы и технологии стали неотъемлемой частью иммунологии на рубеже 80-х и 90-х годов. Для этого периода характерно активное обращение (на новом методическом и идеологическом уровнях) к инфекционной иммунологии, включая создание вакцин нового типа. Понятие «вакцина» претерпело изменения: теперь этим термином стали обозначать не только профилактические антиинфекционные препараты, но и препараты для лечения онкологических, аллергических и аутоиммунных заболеваний. Исследования, проводимые в области иммунологии в последние десятилетия, носят более прикладной характер. За последние десятилетия были расшифрованы сигнальные пути, обеспечивающие активацию лимфоцитов и клеток врожденного иммунитета, изучены дендритные клетки, расшифрованы факторы и механизмы, определяющие распределение клеток в организме и пути их рециркуляции, доказана гетерогенность хелперных Т-лимфоцитов и их связь с патологией и др. С позиции современной науки, иммунная система участвует в реализации противоопухолевого, трансплантационного иммунитета, иммунных взаимоотношений мать-плод, ликвидации пострадиационных последствий и т.д.

Задачи иммунологии:

- Совершенствование существующих и создание новых методов иммунодиагностики;
- Решение проблем вакцинации, изыскание новых принципов вакцинации и создание вакцин;
- Диагностика врожденной иммунной недостаточности (первичные иммунодефициты);
- Своевременное выявление приобретенных иммунологических дефектов (вторичные иммунодефициты);
- Изучение иммунопатологических проявлений соматической патологии;
- Диагностика и лечение аллергических заболеваний;
- Изучение, диагностика и лечение аутоиммунной патологии;
- Изучение проблем трансплантологии;
- Диагностика дефектов иммунной системы при опухолях и их лечение;
- Изучение влияния экологических и экстремальных факторов на человека;
- Изучение иммунопатологии репродуктивной системы.

Иммунология решает многие важные проблемы не только в медицине. Она делится на общую и клиническую. Общая иммунология изучает иммунитет на молекулярном, клеточном уровне, а также механизмы управления иммунными процессами. Клиническая иммунология в соответствии с объектом изучения включает:

- аллергологию
- иммунопатологию
- вакцинологию (вакцинопрофилактику)
- онкоиммунологию
- иммуногематологию
- трансплантационную иммунологию
- иммунологию репродукции

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте определение иммунитета.
2. Что такое иммунная система?
3. Что является предметом изучения иммунологией, как наукой?
4. Назовите основные открытия в иммунологии до конца XIX века.
5. Какие важные открытия в иммунологии были сделаны учеными в начале XX века?
6. Кто являлся основоположником клеточной и гуморальной теорий иммунитета?
7. Основные открытия в иммунологии в середине XX века.
8. Расскажите о клонально-селекционной теории Бернета.
9. Выделите основные задачи современной иммунологии?
10. Какие разделы клинической иммунологии вы знаете?

Лекция №2**«Клеточные факторы врожденного иммунитета»**

Основная функция иммунной системы - поддержание генетического гомеостаза – реализуется посредством взаимодействия двух систем иммунитета: системы врожденного иммунитета и системы адаптивного (приобретенного) иммунитета.

Врожденный иммунитет эволюционно более древняя система: примеры врожденной защиты встречаются еще у беспозвоночных. Так, фагоцитоз – один из ключевых механизмов врожденного иммунитета – открыт И.И. Мечниковым при наблюдении за личинкой морской звезды.

Врожденный иммунитет – наследственно закрепленная система защиты многоклеточных организмов от любых патогенных/непатогенных микробов, а также эндогенных продуктов тканевой деструкции.

Все факторы врожденного иммунитета (клеточные и гуморальные) передаются по наследству, кодируются генами зародышевой линии и не меняются в течение жизни. Клетки врожденного иммунитета не образуют клонов, клеток-памяти и не подвергаются селекции. Факторы врожденного иммунитета реализуют защиту в течение первых минут/ часов после внедрения чужеродного объекта, в то время когда механизмы адаптивного иммунитета еще не эффективны.

Все факторы врожденного иммунитета условно можно разделить на 3 группы:

- Механические барьеры
- Гуморальные факторы врожденного иммунитета
- Клеточные механизмы врожденного иммунитета

Механические барьеры: любые структуры, которые механическим путем препятствуют попаданию во внутреннюю среду организма чужеродных объектов. К ним можно отнести кожные покровы, слизистые, ток слезы, ток мочи и т.д.

Гуморальные факторы: система комплемента, катионные противомикробные пептиды, провоспалительные цитокины, интерфероны типа I, белки острой фазы, лектины и др.

Система комплемента: система сывороточных и мембраносвязывающих белков с каскадным ферментативным действием.

Биологическая роль белков системы комплемента:

- Лизис атакуемой клетки при помощи мембранатакующего комплекса (МАК)
- Опсонизация, обусловленная фиксацией C3b компонента комплемента
- Вовлечение в воспалительную реакцию

Существует три пути активации системы комплемента: классический, альтернативный и лектиновый. К системе врожденного иммунитета можно отнести только последние два.

Клеточные механизмы:

К клеткам врожденного иммунитета относятся: гранулоциты, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, НК-клетки, тучные клетки, НКТ-клетки, Т γ д и В1 лимфоциты. Клетки врожденного иммунитета не образуют клонов, не подвергаются негативной и позитивной селекции, не образуют клеток памяти. Особую группу клеток составляют фагоциты - моноциты/макрофаги и нейтрофилы, представляющие из себя наиболее важные компоненты системы врожденного иммунитета. С помощью разнообразных рецепторов фагоциты взаимодействуют с патогенами, а также с поврежденными соматическими клетками, фагоцитируют и уничтожают их. Можно выделить следующие функции фагоцитов:

- фагоцитоз – *основная функция*: захват и внутриклеточное переваривание микроорганизмов;
- Секреторно-регуляторная: синтез и секреция некоторых белков системы комплемента, отдельных цитокинов, лизоцима, белков системы свертывания крови и т.д.
- Цитотоксическое действие фагоцитов: хемотаксис, синтез оксида азота и перекисных радикалов кислорода, бактерицидное действие;
- Антигенпрезентирующая: этой функцией обладают макрофаги, которые относят к профессиональным АПК.

Рецепторы врожденного иммунитета.

До конца 80-х годов прошлого столетия предполагали, что узнавание чужого состоит в распознавании индивидуальных молекул (антигенов) рецепторами лимфоцитов. Считалось, что миелоидные клетки не отличают «свое» и «чужое» и уничтожают любые клетки, не обладающие защитой от фагоцитоза. Новые представления о распознавании в системе врожденного иммунитета были сформулированы в рамках концепции Ч. Дженеуэя о взаимодействии врожденного и адаптивного иммунитета, основой этих представлений, разработанных Ч. Дженеуэем совместно с Р. Меджитовым, стало понятие «*распознавания паттернов*». Оно означает распознавание не индивидуальных молекул или химических групп, а общих структурных особенностей, свойственных группам молекул. Эти особенности обозначают английским словом *pattern (паттерн)*, в качестве русского эквивалента которого Р. Меджитов предложил слово «*образ*». При этом имеется в виду, что многоклеточные организмы распознают «образы» во-первых – чужеродных, во-вторых – опасных микроорганизмов-патогенов. Такие структуры можно назвать ***образами патогенности или патогенассоциированными молекулярными паттернами (Pathogen-associated molecular pattern – PAMP), а рецепторы их распознающие – паттерн-распознающими рецепторами***. Иногда молекулы, воспринимаемые организмом как сигналы опасности, называют (по аналогии с PAMP) образами опасности, или DAMP – Danger-associated. К ним относятся эндогенные сигналы опасности: вещества клеток, образующиеся при их повреждении и клеточном стрессе: белки теплового шока, мочевая кислота и др.

Главные особенности PAMP: чужеродность, связь с патогенностью микроорганизма и консервативность.

Таким образом, рецепторы врожденного иммунитета разделяют на 3 группы:

- Мембранные;
- Внутриклеточные (цитозольные);
- Секретируемые.

К **мембранным паттерн-распознающим рецепторам** относят Толл-подобные рецепторы (TLR 1-11), Scavenger-рецепторы («мусорщики»), С-лектины, интегрины.

Внутриклеточные паттерн-распознающие рецепторы включают NOD-подобные рецепторы (NLR), RIG-подобные рецепторы (RLR), DAI.

Растворимые (секретируемые) паттерн-распознающие рецепторы подразумевают: пентраксины, коллектины, компоненты системы комплемента, фиколины.

Среди паттерн-распознающих рецепторов врожденного иммунитета центральное место занимают Toll-подобные рецепторы – эволюционно консервативные и очень древние молекулярные структуры. Эти рецепторы в большей степени экспрессируют миелоидные клетки, прежде всего, моноциты и макрофаги. Суммарная специфичность этих рецепторов охватывает «образы» всех основных групп одноклеточных патогенов и вирусов. Toll-подобные рецепторы являются трансмембранными гликопротеинами I типа, их молекулярная масса составляет 90-115 кДа. Число TLR у человека – 10, у мышей – 11, каждый из которых различается по специфичности к различным паттернам (лигандам).

Среди TLR по локализации выделяют:

- Поверхностные рецепторы, связанные с плазмолеммой клетки;
- Эндосомальные рецепторы, связанные с мембраной эндосомы.

Поверхностные TLR (локализованы на внешней клеточной мембране) распознают паттерны на поверхности бактерий, грибов, простейших, а также продукты жизнедеятельности микроорганизмов: TLR-1, TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-6, TLR-11. Наиболее широким спектром паттернов характеризуется TLR-2, распознающий пептидогликан, липотейхоевые кислоты, зимозан, бактериальные липопептиды, белки теплового шока и др.

Эндосомальные TLR (TLR-3, TLR-7, TLR-8, TLR-9) расположены внутри клетки (в эндосомах/лизосомах), распознают нуклеиновые кислоты, характерные для патогенов, при этом их паттернраспознающая часть направлена внутрь гранулы. Важно отметить, что TLR-4 может присутствовать не только на наружной мембране, но и в эндолизосомах.

Рецепторы-мусорщики (scavenger-рецепторы) трансмембранные молекулы также относят к мембранным паттерн-распознающим рецепторам. Эти рецепторы экспрессированы на макрофагах и некоторых дендритных клетках. Лигандами для них служат компоненты некоторых микроорганизмов: стафилококков, нейссерий, листерий. Кроме того, они способны распознавать продукты клеточной деградации (продукты сиаловых кислот) и участвуют в фагоцитозе погибших клеток. Основная функция scavenger-рецепторов состоит в улавливании и эндоцитозе из внутренней среды организма модифицированных молекул и апоптозных телец.

Интегрины (классические молекулы адгезии) включают в группу мембранных паттернраспознающих рецепторов врожденного иммунитета, поскольку некоторые из них проявляют активность рецепторов комплемента.

Лектиновые рецепторы последняя группа мембранных паттерн-распознающих рецепторов представлены на поверхности миелоидных клеток, особенно с хорошо выраженной способностью к пино- и фагоцитозу. Этим рецепторы имеют два функционально важных свойства:

- Обладают сродством к сахаридным остаткам (распознавание паттерна);
- Участвуют в интернализации (поглощении и расщеплении) распознанной молекулы (реакция клетки на распознавание паттерна).

Внутриклеточные (цитозольные) паттерн-распознающие рецепторы.

Включают *NOD-подобные рецепторы (NLR)*. Характерной структурой этих рецепторов является NOD-домен (от англ. nucleotide-binding oligomerization domain). NOD1 распознают мурамилтрипептид, а NOD2 – мурамилдипептид. Оба NOD-рецептора находятся в цитоплазме. Подобная локализация и специфичность этих рецепторов свидетельствуют о существовании у клеток системы оповещения о попадании любого бактериального патогена внутрь клетки. Связывание NLR с лигандами приводит к активации клетки, в результате чего происходит выработка провоспалительных цитокинов и хемокинов.

RIG-подобные рецепторы (RLR) локализируются в цитоплазме и распознают двухцепочечную РНК-вирусов и другие молекулы. Активация этих рецепторов приводит к продукции в основном интерферонов α/β или провоспалительных цитокинов (IL6 и ФНО- α).

Описан также цитозольный рецептор, распознающий чужеродную ДНК – DAI (*DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors* – ДНК-зависимый активатор регуляторных факторов интерферона).

Секретируемые (растворимые) внеклеточные паттерн-распознающие рецепторы: пентраксины, коллектины, компоненты системы комплемента, фиколины нами подробно будут рассмотрены в следующей лекции при обсуждении гуморальных факторов врожденного иммунитета.

Таким образом, распознавание PAMP подготавливает клетки врожденного иммунитета к выполнению их основной функции – удалению чужеродных агентов из внутренней среды организма, в том числе посредством фагоцитоза.

Фагоцитоз - это комплекс клеточных событий, в основе которых лежит распознавание, поглощение и элиминация из организма корпускулярных частиц диаметром более 0,5 мкм.

Традиционно выделяют 8 стадий фагоцитоза:

- Миграция лейкоцитов в очаг воспаления (хемотаксис)
- Прикрепление микроорганизмов к лейкоцитам (адгезия)
- Поглощение микроорганизма и образование фагосомы
- Дегрануляция и образование фаголизосомы
- Образование активных форм кислорода (АФК) и азота (кислородный взрыв)
- Гибель микроорганизмов в фаголизосоме
- Дегградация микроорганизмов гидролазами фаголизосомы. Выброс продуктов дегградации
- Восстановление цитоплазматической мембраны фагоцита (экзоцитоз).

Естественные киллеры (NK-клетки) – особая субпопуляция лимфоцитов, дифференцируются из общей лимфоидной клетки предшественницы, способны осуществлять цитотоксический цитолиз некоторых опухолевых, а также инфицированных вирусами клеток.

По эффекторным функциям NK-клетки близки к Т-лимфоцитам: они проявляют цитотоксическую активность в отношении клеток-мишеней (по тому же перфорин-гранзимовому механизму, что и Т-цитотоксические лимфоциты) и продуцируют цитокины (ИФН γ , ФНО, GM-CSF, ИЛ5, ИЛ8). Однако у NK-клеток отсутствует Т-клеточный рецептор. NK-клетки не формируют клеток иммунологической памяти.

Таким образом, проникновение патогенов во внутреннюю среду организма приводит к мобилизации иммунной системы. Наиболее важную роль в запуске иммунных процессов играют макрофаги благодаря наличию на поверхности и в цитоплазматических гранулах рецепторов, распознающих PAMP (патогенассоциированные образы), вследствие чего они активируются и

выделяют провоспалительные цитокины, способствующие дальнейшей активации клеток врожденного иммунитета. Первоначально в очаг воспаления поступают нейтрофилы, реализующие *фагоцитоз*, затем мигрируют моноциты, дифференцирующиеся в макрофаги, которые помимо фагоцитоза осуществляют регуляторные функции. Одновременно вовлекаются вспомогательные гуморальные факторы: происходит активация системы комплемента, синтезируются белки острой фазы, выделяются бактерицидные вещества. При вирусной инфекции патоген распознают в основном плазмацитоидные дендритные клетки и естественные киллеры, которые, активируясь, элиминируют антиген.

Таким образом, факторы врожденного иммунитета осуществляют *первую линию защиты* на пути внедрения чужеродного агента.

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте определение иммунитета.
2. Что такое иммунная система?
3. Что является предметом изучения иммунологией как наукой?
4. Каково современное определение системы врожденного иммунитета?
5. Какие механизмы врожденного иммунитета Вам известны?
6. Какие клетки относятся к системе врожденного иммунитета?
7. Какие структуры распознают фагоциты на мембране патогена при реализации фагоцитоза?
8. Какие структуры на мембране клетки-мишени распознают НК-клетки? Каков механизм цитолиза?
9. Какие пути активации системы комплемента относятся к факторам врожденного иммунитета? Почему?
10. В чем заключается взаимосвязь системы врожденного и адаптивного иммунитета?

Лекция №3

«Гуморальные факторы врожденного иммунитета»

Гуморальные факторы врожденного иммунитета – это белки, присутствующие в сыворотке крови, секретах слизистых оболочек и некоторых других жидкостях организма. Гуморальные факторы врожденного иммунитета оказывают:

- Опсонизирующее;
- Прямое цитолитическое действие на микроорганизмы;
- Выступают в роли хемоаттрактантов, др.

К гуморальным факторам врожденного иммунитета относятся: *система комплемента, белки острой фазы, катионные противомикробные пептиды, провоспалительные цитокины, интерфероны типа I, лектины и др.*

Система комплемента: система сывороточных и мембраносвязывающих белков с каскадным ферментативным действием.

Биологическая роль белков системы комплемента:

- Лизис атакуемой клетки при помощи мембранатакующего комплекса (МАК)
- Опсонизация, обусловленная фиксацией С3b-компонента комплемента
- Вовлечение в воспалительную реакцию.

Существует три пути активации системы комплемента: классический, альтернативный и лектиновый. *Классический путь* активации системы комплемента предусматривает обязательное участие антител - IgG1, IgG3 (в меньшей степени IgG2) или IgM. Таким образом, при классическом пути активации антиген предварительно связывается со специфическим ему антителом, т.е. формируется иммунный комплекс, который и связывается с C1-компонентом комплемента, запуская дальнейший каскад реакции.

В свою очередь *альтернативный путь* запускается при спонтанном расщеплении C3 или под влиянием C3-конвертаз, а также сывороточных либо микробных протеаз. *Лектиновый путь* активирует систему комплемента через лектин, связывающий маннозу.

Следует подчеркнуть, что к системе врожденного иммунитета можно отнести только альтернативный и лектиновый пути активации системы комплемента, так как в этом случае не требуется участия антител (рис.1-3).

Белки острой фазы продуцируются гепатоцитами, моноцитами, макрофагами и фибробластами. Синтез белков острой фазы существенно повышается при инфекционном процессе. Например, уровень маннозосвязывающего лектина возрастает при инфекции в 2-3 раза, а концентрация С-реактивного белка (СРБ) может увеличиться в 100 раз.

К белкам острой фазы относят СРБ, маннозосвязывающий лектин, фибриноген, сывороточный амилоид А, др.

СРБ действует как опсонин и активирует систему комплемента. Маннозосвязывающий лектин активирует комплемент по лектиновому пути, кроме того, действует также как опсонин. Фибриноген прикрепляется к поверхности бактериальных клеток и тем самым обладает также опсонизирующими свойствами, а сывороточный амилоид А выступает в роли хемоаттрактанта.

Белки острой фазы, связываясь с поверхностью бактерий или вирусов, могут подавлять их проникновение в ткани. Также они способствуют фагоцитозу, активируют систему комплемента.

Противомикробные пептиды.

Бактерицидные пептиды – это обширная группа катионных белков, способных поражать многие вирусы, бактерии, грибы и простейшие. Они осуществляют «мгновенный иммунитет». Противомикробные пептиды называют также *естественными эндогенными антибиотиками*. Бактерицидные пептиды синтезируются нейтрофилами и эпителиальными клетками слизистых оболочек и выделяются в межклеточное пространство при взаимодействии антигена с TLR этих клеток.

Различают два семейства противомикробных пептидов: дефенсины и кателицидины.

Противомикробные пептиды разрушают наружные мембраны микроорганизмов за счет прямого цитолитического действия, которое связано с тем, что мембраны бактериальных клеток заряжены отрицательно, а пептиды – положительно. Разность зарядов обеспечивает их взаимодействие. Таким образом, катионные белки встраиваются в мембрану клетки и проходят сквозь нее, в результате нарушается целостность мембраны бактерий и образуются поры. Через образовавшиеся поры бактериальная клетка теряет необходимые вещества (ионы калия, аминокислоты и т.д), а внутрь клетки поступает вода, в результате клетка погибает.

Цитокины – класс полипептидных медиаторов межклеточного взаимодействия (от лат. *Cytos* – клетка), участвующих в развитии иммунных реакций при внедрении патогенов, а также в регуляции важных физиологических функций (воспаление, гемопоэз, ангиогенез, регенерация тканей и др.).

На основе биологических эффектов выделяют несколько групп цитокинов:

- *Интерлейкины* (IL1 - IL35) – регуляторные молекулы иммунной системы, обеспечивающие внутриклеточные медиаторные взаимодействия и связь иммунной системы с другими системами организма;
- *Интерфероны* – противовирусные агенты с выраженным иммунорегуляторным действием;
- *Факторы некроза опухоли* – цитокины с цитотоксическим и регуляторным действием;
- *Факторы роста гемопоэтических клеток*- фактор роста стволовых клеток (IL-3,7, эритропоэтин, GM-KCФ, G-KCФ, M-KCФ);
- *Хемокины* (IL-8, CX3C) – регуляторы хемотаксиса различных типов клеток;
- *Факторы роста* – регуляторы роста, дифференцировки и функциональной активности клеток различной тканевой принадлежности (напр., фактор роста фибробластов) и трансформирующий фактор роста (ТФР).

Основные свойства цитокинов.

Цитокины – это гликозилированные молекулы полипептидов или белков с молекулярной массой от 5 до 50 кДа. Они не обладают антигенной специфичностью, но могут стимулировать иммунный ответ на конкретные антигены. Биологические эффекты цитокинов опосредуются через высокоспецифичные высокоаффинные мембранные рецепторы, которые представляют трансмембранные гликопротеины. Эффекты цитокинов дублируются, что обеспечивает надежность системы.

Цитокины формируют *цитокиновую сеть*. В сети цитокины могут действовать согласованно (синергизм действия). Стимуляция воспалительных реакций IL1, IL6, ФНО- α – пример синергизма цитокинов.

Цитокины действуют на клетки разными способами: аутокринно, паракринно, эндокринно. Провоспалительные цитокины могут обладать всеми тремя механизмами действия.

Цитокины в зависимости от действия на воспалительный процесс подразделяются на 2 группы:

- Провоспалительные цитокины (IL1, IL6, ФНО- α , IL17, IL18);
- Противовоспалительные цитокины (IL4, IL10, ТФР- β).

Основная роль провоспалительных цитокинов – это развитие воспаления. Одним из ранних эффектов провоспалительных цитокинов является экспрессия адгезивных молекул на эндотелиальных клетках и лейкоцитах, что приводит к миграции этих клеток в очаг воспаления. В лейкоцитах под действием цитокинов активируется выработка кислородных радикалов, противомикробных пептидов, др. медиаторов воспаления, усиливается фагоцитоз. В то же время провоспалительные цитокины активируют метаболизм соединительной ткани, стимулируют пролиферацию фибробластов и клеток эпителия, что чрезвычайно важно для заживления повреждений. После удаления патогена процесс останавливается.

Интерфероны типа I (α , β , δ , κ , ω , τ) обеспечивают противовирусную защиту за счет:

- Прямого противовирусного действия, блокируя репликацию вируса;
- Подавления пролиферации клеток, препятствуя тем самым распространению вируса;
- Активации НК-клеток, лизирующих вирусинфицированные клетки;
- Увеличения презентации вирусных антигенов цитотоксическими Т-лимфоцитами путем усиления экспрессии молекул МНСI класса на антигенпрезентирующих клетках.

Таким образом, интерфероны, оказывая плеотропное действие, активируют различные механизмы, направленные на удаление вируса из организма.

Рис.1 Классический путь активации системы комплемента.

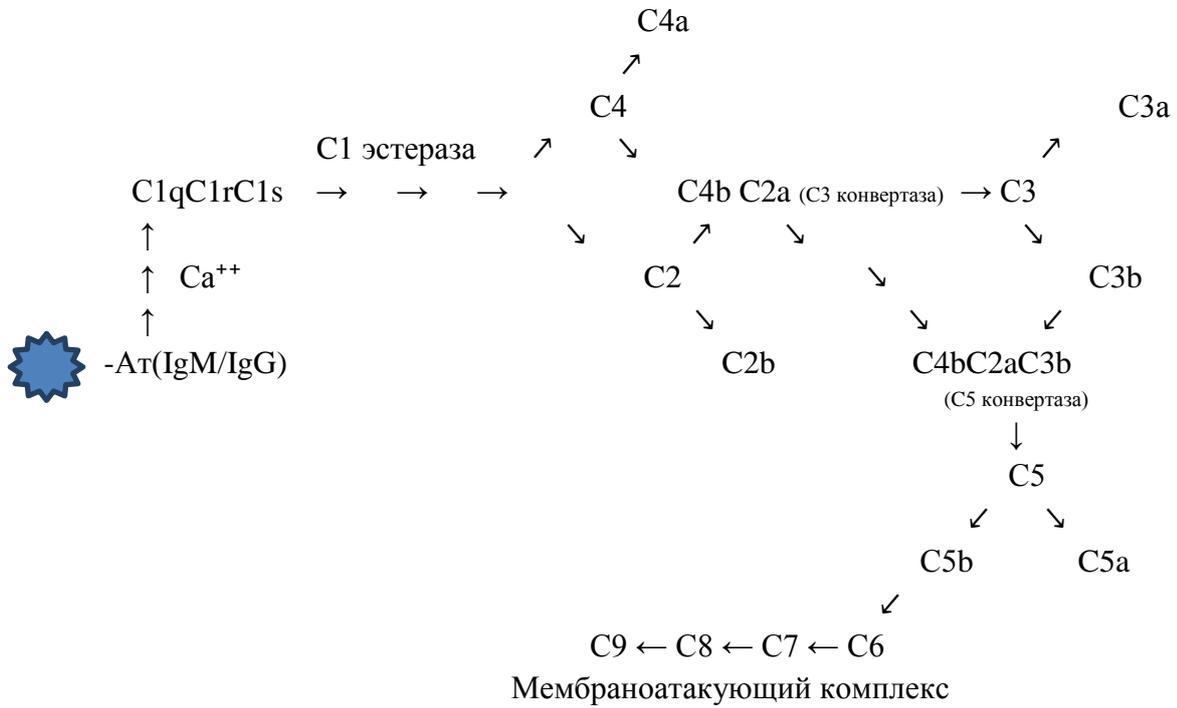


Рис. 2. Альтернативный путь активации системы комплемента

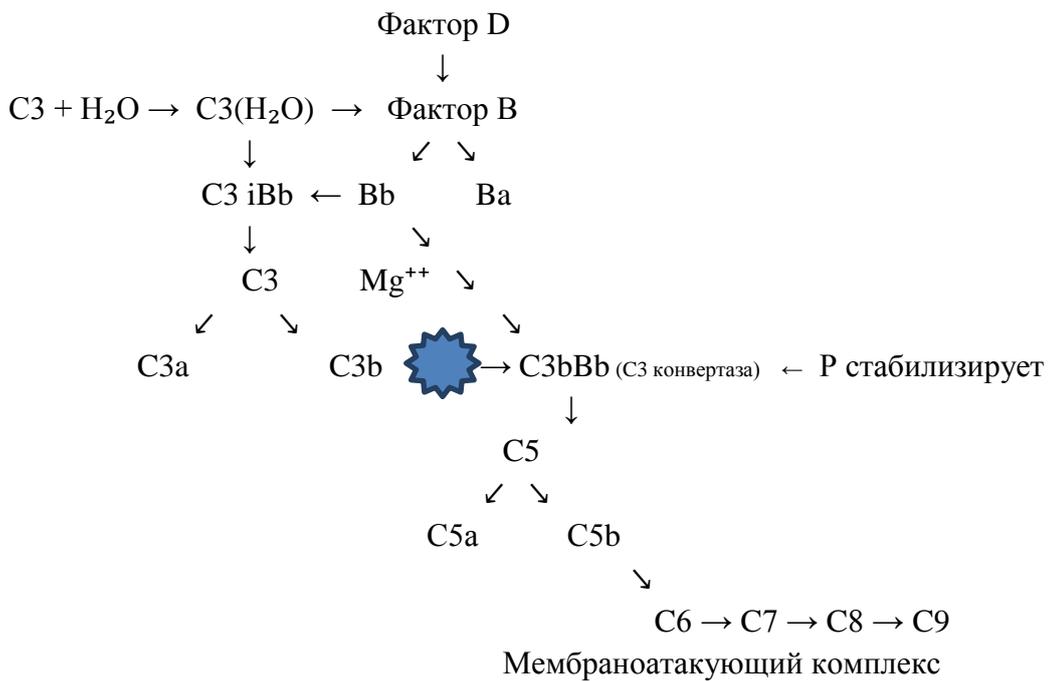
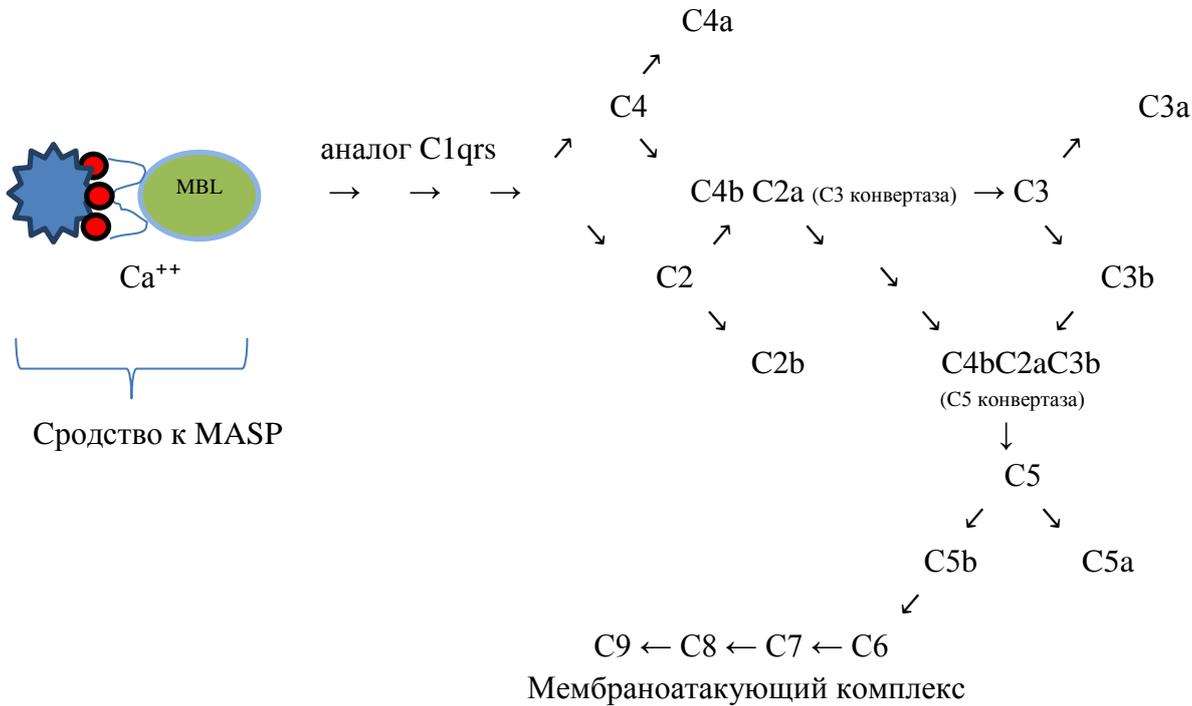


Рис.3 Лектиновый путь активации системы комплемента.

**Вопросы для самоконтроля:**

1. Какие пути активации системы комплемента относятся к факторам врожденного иммунитета? Почему?
2. Опишите схему активации комплемента по классическому пути.
3. Опишите схему активации комплемента по альтернативному пути.
4. Опишите схему активации комплемента по лектиновому пути.
5. Что подразумевают под термином «белки острой фазы». Как изменяется их концентрация при остром воспалении?
6. Какой механизм лизиса реализуют противомикробные пептиды. Почему их называют естественными эндогенными антибиотиками?
7. Дайте определение цитокинов.
8. Какова классификация цитокинов?
9. На какие группы подразделяются цитокины в зависимости от влияния на воспалительный процесс?
10. Интерфероны какого типа относятся к системе врожденного иммунитета? Почему?
11. В чем заключается взаимосвязь системы врожденного и адаптивного иммунитета?

Лекция №4**«Характеристика клеток адаптивного иммунитета»**

Первая линия защиты должна обеспечивать элиминацию патогена. Однако это происходит не всегда. В таком случае запускается вторая линия защиты, связанная с развитием

адаптивного иммунного ответа гуморального или клеточного типа. Адаптивный иммунитет – это эволюционно более позднее приобретение (возникает у примитивных хордовых).

Основными особенностями *адаптивного иммунитета*, отличающего его от врожденного иммунитета являются:

- Адаптивный иммунитет узкоспецифичен, поскольку он направлен против индивидуальных чужеродных молекул – антигенов;
- При реализации механизмов адаптивного иммунитета эффекторные клетки не предобразованы, а формируются в процессе иммунного ответа на антиген;
- В результате адаптивного иммунного ответа формируется иммунологическая память, ускоряющая и усиливающая ответ на повторное поступление антигена.

Клетками, реализующими адаптивный иммунитет, являются Т- и В-лимфоциты, главной отличительной чертой которых является наличие на их мембране антигенраспознающего рецептора (TCR и BCR), позволяющего им специфически распознавать конкретный антиген. Эти уникальные структуры образуются в результате рекомбинации генов зародышевой линии. Теоретически TCR и BCR готовы к распознаванию любого антигена благодаря генетической рекомбинации, проходящей в формирующихся Т- и В-лимфоцитах. Популяции Т- и В-клеток имеют клональную структуру: в процессе дифференцировки каждая клетка приобретает рецептор уникальной специфичности. При встрече с антигеном и активации пролиферируют только те лимфоциты, которые несут антигенраспознающий рецептор к данному конкретному антигену, в результате образуется *клон*, каждая клетка которого несет рецептор точно такой же специфичности, что и «материнская» клетка.

Таким образом, клетки одного клона распознают один-единственный антиген, а совокупность всех клонов - любой антиген.

Т- и В-лимфоциты дифференцируются в центральных органах иммунной системы, к коим относится тимус и красный костный мозг. Соответственно в тимусе до зрелых дифференцируются Т-лимфоциты, а В-лимфоциты проходят дифференцировку в красном костном мозгу. Ранние предшественники Т- и В-лимфоцитов находятся в красном костном мозгу.

Таким образом, в центральных органах иммунной системы происходит антигеннезависимая дифференцировка Т- и В-лимфоцитов. Соответственно в периферических органах иммунной системы происходит антигензависимая дифференцировка и пролиферация иммунокомпетентных клеток.

К периферическим органам иммунной системы относятся инкапсулированные лимфоидные органы: селезенка, лимфатические узлы и пейеровы бляшки, а также неинкапсулированные лимфоидные структуры, связанные со слизистыми оболочками. Лимфоидные органы взаимосвязаны путями рециркуляции лимфоцитов (лимфатическая и кровеносная системы). Таким образом, лимфоциты, особенно Т-клетки постоянно *рециркулируют* – выходят из лимфоидных органов в лимфу, мигрируют с ней в кровотоки и возвращаются через посткапиллярные вены обратно в орган. При этом благодаря экспрессии молекул адгезии и рецепторов для хемокинов (хемотаксических факторов, определяющих направление миграции клеток) рециркулирующие клетки при каждом «витке» рециркуляции с высокой избирательностью попадают в участки лимфоидных органов, специализированные для этого типа клеток.

Популяции Т- и В-лимфоцитов являются гетерогенными. В рамках каждой популяции выделяют субпопуляции естественные и адаптивные. К *естественным субпопуляциям* относят

клетки, формирующиеся в процессе нормальной дифференцировки, не связанной с действием чужеродного антигена. *Адаптивные субпопуляции* формируются в ходе реализации иммунного ответа на антиген.

В-лимфоциты. В-лимфоциты отвечают за развитие гуморального иммунного ответа, направленного преимущественно на элиминацию внеклеточных инфекционных агентов. Основное свойство В-лимфоцитов – экспрессия иммуноглобулинового рецептора (BCR). На поверхности зрелой В-клетки содержится около 150 000 комплексов BCR. На мембране наивной В-клетки (ранее не контактировавшей с антигеном) содержатся иммуноглобулины классов IgM и IgD. С мембранными иммуноглобулинами нековалентно связаны 2 пары молекул – гетеродимеры, содержащие полипептидные цепи $I\alpha$ (CD79a) и $I\beta$ (CD79b). С BCR ассоциировано еще несколько мембранных молекул – CD19, CD21, CD81. Молекулы, связанные с BCR, рассматривают как маркеры В-лимфоцитов и их экспрессию определяют для подсчета численности В-клеток (с помощью моноклональных антител). Однако строгоспецифичной для В-лимфоцитов является только молекула CD19. Маркером фолликулярных В2-клеток является мембранная молекула CD23.

Выделяют 3 естественных субпопуляций В-клеток: В1, В2 и В-клетки маргинальной зоны селезенки (МЗВ-клетки).

В2-клетки (обычные В-лимфоциты), локализуясь преимущественно в селезенке, костном мозгу, лимфоузлах, пейеровых бляшках и отдельных фолликулах лимфоидной ткани кишечника. Гистологическая единица, являющаяся местом сосредоточения В-клеток – лимфоидный фолликул. Для зрелых В2-клеток характерна низкая экспрессия мембранного IgM и высокая IgD.

Играют основную роль реализации гуморального иммунного ответа (ГИО).

В1-клетки локализуются преимущественно в серозных полостях – брюшной и плевральной. Небольшое количество выявляют в селезенке (1-5% от числа В-клеток). Выделяют 2 разновидности В1 лимфоцитов: основной дифференциальный признак – экспрессия молекулы CD5

В1a одновременно несут на мембране молекулы CD5 и IgM

В1b не имеют CD5.

В1-клетки относятся к клеткам врожденного иммунитета.

В-клетки маргинальной зоны селезенки (МЗВ-клетки) локализуются на границе белой и красной пульпы. Фенотипически более сходны с В2. Основной мембранный иммуноглобулин IgM экспрессируется сильнее чем на В2. IgD присутствует на мембране в очень малом количестве. Эти клетки по фенотипу сходны с активированными В-лимфоцитами: на них присутствуют молекулы CD69, CD25, CD38 в малом количестве CD23.

МЗВ-клетки участвуют в ГИО на возбудители, поступающие в кровотоки. Они осуществляют тимуснезависимый иммунный ответ на инкапсулированные патогены. При ответе на антиген они дифференцируются в короткоживущие антителообразующие клетки. В этих клетках не происходит переключения классов иммуноглобулинов и даже клетки памяти несут на своей поверхности IgM, а не IgG. Клетки памяти преобладают в маргинальной зоне селезенки человека.

Т-лимфоциты. Т-лимфоциты занимают особое место в иммунной системе и служат главной популяцией в развитии клеточного иммунного ответа. Число естественных субпопуляций Т-лимфоцитов значительно больше, чем у В-лимфоцитов. Прежде всего, это – $\gamma\delta$ T и $\alpha\beta$ T-клетки, отличающиеся структурой TCR, а следовательно специфичностью распознавания и спектром функций. Общим маркером для всех разновидностей Т-лимфоцитов (отсутствует у

других клеток) является молекулярный комплекс TCR-CD3. Выявление CD3 маркера применяют для идентификации Т-лимфоцитов (моноклональные анти-CD3-антитела распознают ϵ -цепь этого комплекса).

Среди $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов (подавляющее большинство) выделяют 4 естественные субпопуляции: CD4+, CD8+ Т-лимфоциты, естественные регуляторные Т-клетки и NKT.

Субпопуляция **CD4+ Т-лимфоцитов хелперов** распознают антигенный пептид в составе МНС II, а **CD8+ Т-клетки цитотоксические** - в составе МНС I.

Естественные регуляторные Т-клетки имеют фенотип CD4+/CD25hi/CTLA-4 (CD152)/внутриклеточный фактор FOXP3, т.е. регуляторные Т-клетки сильно экспрессируют α -цепь рецептора для IL2 (CD25), что отличает их от активированных Т-хелперов, несущих меньшее количество молекул CD25. Их функция состоит в контроле активности аутоспецифических клонов Т-лимфоцитов, не удаленных в процессе отрицательной селекции, мигрировавших в периферический отдел иммунной системы и создающих опасность аутоагрессии. Супрессорная активность CD4+ регуляторных Т-клеток связана с транскрипционным фактором FOXP3 (скурфин). Важную роль в индукции регуляторных Т-клеток играют дендритные клетки тимуса, активированные цитокином (стромальный лимфопоэтин тимуса), секретлируемым эпителиальными клетками телец Гассала. Treg эмигрируют из тимуса в составе популяции зрелых Т-клеток. CD4+ CD25hi Т-лимфоциты составляют 5% от числа тимоцитов, 3-5% от числа периферических лимфоцитов (5-7% от числа CD4+ Т-клеток).

NKT-клетки – особая субпопуляция Т-лимфоцитов (а не NK-клеток!). Формируются в процессе Т-лимфопоэза, но на поздних этапах развития приобретающие признаки NK-клеток: на их поверхности представлены комплекс TCR-CD3 и типичные молекулы NK-клеток CD56 и CD16. NKT-клетки относят к клеткам врожденного иммунитета. Помимо цитотоксической функции они выполняют роль практически единственного источника цитокинов (в первую очередь IFN γ) на первом этапе реакции на внедрение патогенов. Кроме того, NKT-клетки способны осуществлять регуляторную функцию, ограничивая интенсивность иммунного ответа, а также аутоагрессию.

Если CD8+ в процессе иммунного ответа функционируют как единая субпопуляция, то среди CD4+ клеток выделяют несколько адаптивных субпопуляций. Выделяют 4 адаптивных субпопуляции Th: Th1, Th2, Th17, Treg адаптивные.

Th1/Th2 дихотомию впервые описали в 1986г. Т. Мосманн и соавт. Они обнаружили, что в процессе активации эти клетки секретруют разный спектр цитокинов. Различие спектра гуморальных продуктов, прежде всего, ключевых цитокинов Th1- и Th2-клеток (соответственно IFN γ и IL4) определяют основную направленность иммунного ответа в направлении клеточной или гуморальной защиты.

Открытие адаптивных субпопуляций Т-хелперов создало основу для формирования представлений о различии клеточных механизмов иммунной защиты, в зависимости от локализации патогенна (внутри- или внеклеточно).

Определение мембранных маркеров редко используют для дифференцировки Th1 и Th2-лимфоцитов. К таким маркерам относят, прежде всего, хемокиновые рецепторы. Так, например, для Th1 рецепторы, реагирующие, прежде всего, на IFN γ -зависимые хемокины. Однако главным подходом при разграничении Th1- и Th2-клеток служит оценка спектра секретлируемых ими цитокинов.

При дифференцировке Т-хелперов происходит супрессия одних и усиление экспрессии других цитокиновых генов, прежде слабо экспрессированных в Th0-клетках.

Th1-лимфоциты продуцируют *INF γ , IL2, TNF α , TNF β , IL3, GM-CSF*.

Th2-лимфоциты продуцируют *IL4, IL13, IL5, IL6, IL9, IL11, IL21, IL25, IL10, IL3 GM-CSF*.

В этих спектрах есть цитокины, общие для двух линий (например, GM-CSF). Другие цитокины более специфичны для субпопуляций. Среди них есть *ключевые*: для *Th1* – *INF γ* ; для *Th2* – *IL4*. Через цитокины Th1- и Th2-лимфоциты способны ингибировать развитие и функционирование друг друга.

Дифференцировка Th1 и Th2 зависит от двух сигналов:

- Один из них поступает через TCR и «сообщает» о распознавании молекулы в комплексе с МНС;
- Второй сигнал осуществляют цитокины.

К настоящему времени установлено, что основным индуктором Th1-клеток служит IL12. Развитию и поддержанию Th1-ответа способствуют INF γ , IL18, IL23 и IL27.

Цитокином, определяющим развитие Th2-клеток, служит только IL4. Роль второстепенных факторов при их развитии играют IL10, IL6, IL2, IL9.

Основной источник цитокинов, обеспечивающих дифференцировку Th1 – дендритные клетки. Они выделяют IL12 уже при первом контакте с CD4⁺ лимфоцитами. При взаимодействии с активированными Th0-клетками они выделяют весь спектр цитокинов, необходимых для развития Th1. Вопрос о цитокиновом обеспечении Th2 более сложен. Источник IL4 до появления Th2 в ходе иммунного ответа не известен. Конститутивная выработка этого цитокина в той или иной степени свойственна тучным клеткам, базофилам, эозинофилам, NK- и NKT-клеткам, но четко не показано, в какой степени она реализуется при иммунном ответе *in vivo* и какова доступность выделяемого IL4 для Th0-клеток.

Помимо свойств цитокинов, вырабатываемых Th1 и Th2, их функция зависит от прямых контактных взаимодействий с клетками-мишенями, выступающих в качестве эффекторных клеток при иммунном ответе. Для Th1 – это макрофаги, а для Th2 – В-лимфоциты.

Развитию Th1-клеток способствуют крайние (очень высокие и очень низкие) дозы антигена и его высокое сродство к рецептору, а развитию Th2-клеток – промежуточные дозы антигена и более низкое сродство к рецептору. Кроме того, известно значение корцептора CD4 в выборе пути дифференцировки. При нокауте гена CD4 происходит усиление дифференцировки в направлении Th1.

Th17 - (ключевой цитокин IL17, кроме того секретируют IL21 и IL22) дифференцируются из активированных CD4⁺ клеток независимо от Th1- и Th2-лимфоцитов. Эти клетки могут участвовать как в иммунной защите от патогенов: мобилизуя нейтрофилы, Th17-лимфоциты участвуют в защите от грамотрицательных бактерий и в то же время могут способствовать повреждению тканей при хроническом воспалении.

По-видимому, три описанных выше типа адаптивных субпопуляций не исчерпывают всего разнообразия Т-хелперов. В качестве самостоятельной субпопуляции некоторые исследователи рассматривают фолликулярные Т-хелперы гуморального иммунного ответа (CD4⁺ Tfh-клетки) и др.

Адаптивные Treg-клетки (охарактеризованы недостаточно). Если основная функция естественных Т-регуляторных клеток состоит в предотвращении аутоиммунных процессов, то адаптивные регуляторные Т-клетки, главным образом, ограничивают иммунный ответ на

заключительных этапах его развития. Помимо *Th3-* и *Tr1-клеток* к ним относят адаптивный вариант CD4+CD25hi регуляторных Т-лимфоцитов.

Th3-клетки представляют разновидность Т-хелперов, индуцируемую при иммунном ответе. Эти клетки секретируют исключительно или преимущественно TGFβ (трансформирующий фактор роста β), который и играет роль их основного эффекторного фактора.

Tr1-клетки описаны в барьерных тканях, как клетки, секретирующие IL10 и вовлеченные в формирование неответа на антигены пищи и симбиотических микроорганизмов. Допускается возможность выработки этими клетками TGFβ, а также их родство или идентичность с Th3-клетками.

Таким образом, Т- и В-лимфоциты являются истинными иммунокомпетентными клетками. Только Т- и В-лимфоциты способны:

- Высокоизбирательно (специфически) распознавать антиген с помощью клонально экспрессированных TCR и BCR;
- Развивать антигенспецифические иммунные реакции, направленные на элиминацию антигена;
- Создавать клоны себе подобных клеток после стимуляции антигеном;
- Формировать иммунную память;
- Развивать иммунную толерантность.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие особенности системы адаптивного иммунитета Вам известны? Какие клетки относятся к системе адаптивного иммунитета?
2. Каков фенотип В-лимфоцита?
3. Какова структура антигенраспознающего рецептора В-лимфоцита?
4. Каков фенотип Т-лимфоцита?
5. Какова структура антигенраспознающего рецептора Т-лимфоцита?
6. Что подразумевается под термином «естественные» и «адаптивные» субпопуляции лимфоцитов?
7. Какие субпопуляции В-лимфоцитов Вам известны? Каков их фенотип и функциональное предназначение?
8. Какие субпопуляции Т-лимфоцитов Вам известны? Каков их фенотип и функциональное предназначение?

Лекция №5

«Антигены как индукторы иммунного ответа»

Антиген - биополимер органической природы, несущий признаки генетически чужеродной информации, который при попадании в организм индуцирует иммунный ответ, направленный на его элиминацию. Пути попадания антигена в организм разнообразны: через барьерные ткани (кожа, слизистые оболочки) или непосредственно во внутреннюю среду организма. Кроме того, антигены могут формироваться в рамках самого организма вследствие структурных изменений молекул в ходе биодеградации, нарушения их нормального биосинтеза или генетической мутации клеток.

Различают полные и неполные антигены.

Полный антиген состоит из носителя (основная часть) и антигенных детерминант (эпитопов) - специфических участков, которые связываются с антителами. Носитель (стабилизирующая часть) составляет около 97 – 99% молекулы антигена и представлен макромолекулами, инертными корпускулярными частицами. Эпитопы - олигосахариды или олигопептиды, располагаются на поверхности молекулы антигена. При этом по структуре эпитопы могут быть как однотипными, так и различными по специфичности. Полный антиген характеризуется следующими свойствами: чужеродностью, иммуногенностью и специфичностью.

Чужеродность – это такая физико-химическая структура молекулы, которая не встречается в организме реципиента. Чужеродность возрастает по мере увеличения «эволюционного расстояния» между донором и реципиентом.

Иммуногенность - способность антигена индуцировать иммунный ответ. Иммуногенность зависит от молекулярных особенностей антигена: наиболее иммуногенными являются белки и полисахариды, меньшей иммуногенностью обладают – нуклеиновые кислоты и липиды. Однако липополисахариды, гликопротеины, липопротеины способны активировать иммунную систему. Кроме того, имеют значение химический состав, размер молекулярная масса молекулы антигена. Важным условием иммуногенности является растворимость антигена: нерастворимые антигены не способны вызывать иммунный ответ. Иммуногенность зависит от места и пути введения антигена в организм, а также от реактивности организма.

Специфичность - способность избирательно реагировать со специфическими антителами или соответствующими антигенраспознающими рецепторами лимфоцитов. К факторам, определяющим специфичность антигена, относятся особенности эпитопа: его природа, строение и пространственная конфигурация.

Неполные антигены (гаптены) не способны индуцировать иммунный ответ (*не обладает иммуногенностью*), что связано с низкой молекулярной массой (менее 10 кДа), однако обладают *чужеродностью* и антигенностью – способностью специфически взаимодействовать с готовыми молекулами, например, антителами, или с соответствующими антигенраспознающими рецепторами на клетках лимфоцитах. Гаптен может вызвать иммунный ответ только после соединения с белковой молекулой.

Классификация антигенов

Антигены классифицируются по происхождению, природе, молекулярной структуре, степени иммуногенности, степени чужеродности, направленности активации и обеспеченности иммунного реагирования.

По *происхождению* различают антигены:

Экзогенные

- Инфекционные (антигены бактерий, вирусов, грибов, простейших)
- Неинфекционные (большинство аллергенов).

Эндогенные (продукты собственных клеток организма).

По *природе*: биополимеры белковой (протеиды) и небелковой (полисахариды, липиды, липополисахариды, нуклеиновые кислоты и др.) природы.

По *молекулярной структуре*: глобулярные (молекула имеет шаровидную форму) и фибриллярные (форма нити).

По *степени иммуногенности*: полные и неполные.

По *степени чужеродности*: ксено-, алло-, изо-, аутоантигены (*органо- и тканеспецифические*).

По *направленности вызываемого антигеном иммунного ответа*: *T-зависимые* и *T-независимые антигены*. *T-зависимые антигены* вызывают формирование высокоспецифичного иммунного ответа как гуморального, так и клеточного типа с участием T-лимфоцитов и

образованием клеток иммунологической памяти. *T-независимые антигены* являются митогенами и поликлональными активаторами (ЛПС, флагеллин др.), по структуре - поливалентны, характеризуются наличием в структуре повторяющихся однотипных эпитопов. Вызывают формирование гуморального иммунного ответа с участием В-лимфоцитов и образованием антител класса IgM без участия Т хелперов, а также без образования клеток иммунологической памяти.

В зависимости от характера реакций и реактивности организма на внедрение антигена выделяют:

- *Иммуногены* - антигены, индуцирующие нормальный иммунный ответ.
- *Толерогены* – антигены, вызывающие формирование иммунологической толерантности. Это мономер с низкой молекулярной массой, высокой плотностью эпитопов и высокой дисперсностью.
- *Аллергены* - антигены, индуцирующие развитие реакций гиперчувствительности.

Широкий спектр микроорганизмов обуславливает многообразие антигенов, которые отличаются по структуре, физико-химическим свойствам, значимости в индукции иммунного ответа. Антигены микроорганизмов, которые подразделяют на:

- *группоспецифические* (встречаются у разных видов одного рода или семейства);
- *видоспецифические* (встречаются у различных представителей одного вида);
- *типоспецифические* (определяют серологические варианты – серовары, антигеновары – внутри одного вида).

Антигены бактерий

В структуре бактериальной клетки различают жгутиковые, соматические, капсульные антигены. Некоторые бактерии образуют секретлируемые растворимые антигены белковой природы (экзотоксины). Кроме того, выделяют протективный (защитный) и перекрестно-реагирующие антигены (антигенная мимикрия). Протективные антигены – антигены, развитие иммунного ответа против которых полностью инактивирует вирулентные свойства микроорганизма и обеспечивает развитие иммунитета.

Жгутиковые, или H-антигены, локализуются в жгутиках бактерий и представляют собой эпитопы сократительного белка флагеллина. H-антиген термолабильный: при нагревании теряет специфичность.

Соматический, или O-антиген, основу которого составляют липополисахариды, связан с клеточной стенкой бактерий. O-антиген термостабилен: не разрушается при нагревании.

Капсульные, или K-антигены, встречаются у бактерий, образующих капсулу, состоят из кислых полисахаридов (уроновые кислоты). По степени уменьшения термостабильности при нагревании выделяют три типа K-антигена: A, B и L.

Белковые токсины и ферменты, синтезируемые бактериями, также являются антигенами.

Антигены вирусов

В структуре вирусной частицы различают ядерные, капсидные (или оболочечные) и суперкапсидные антигены. На поверхности некоторых вирусных частиц встречаются особые V-антигены - гемагглютинин и фермент нейраминидаза. Антигены вирусов различаются по происхождению. Вирусоспецифические антигены кодируются в нуклеиновой кислоте вируса. В состав других входят компоненты клеток хозяина (углеводы, липиды), которые включаются в его внешнюю оболочку (суперкапсид). Антигены простых вирионов связаны с их нуклеокапсидами. По своему химическому составу они являются рибонуклеопротеидами или дезоксирибонуклеопротеидами (S-антигены). У сложноорганизованных вирионов антигенные компоненты могут быть связаны с нуклеокапсидами или с гликопротеидами внешней оболочки. Антигены многих вирусов отличаются высокой степенью изменчивости, что связано с постоянными мутациями в генетическом материале вирусов.

Антигены организма человека

Все ткани и клетки организма обладают антигенными свойствами, при этом некоторые из них специфичны для всех млекопитающих, другие – видоспецифичны для человека.

Наиболее важное значение имеют *антигены системы ABO и Rh* (резус-фактор).

Антигены системы ABO представляют собой высокогликозилированные пептиды, синтезируются многими клетками организма, включая предшественники эритроцитов. В структуре антигенов системы ABO выделяют углеводную и пептидную части. Иммуногенность молекулы определяется углеводной частью. Система антигенов ABO включает три варианта антигенов, различающихся по строению углеводной части: H, A и B. Базовой молекулой является антиген H, специфичность которого определяют три углеводных остатка. Антиген A имеет в структуре дополнительный четвертый углеводный остаток - N-ацетил-D-галактозу, а антиген B - D-галактозу. Антигены системы ABO имеют независимое аллельное наследование, что определяет наличие в популяции 4 групп крови: 0(I), A(II), B(III) и AB(IV). Кроме того, антигены A и B имеют несколько аллотипов (например, A₁, A₂... или B₁, B₂...).

Другой важнейшей системой эритроцитарных антигенов является *система резус-антигенов (Rh) или резус-факторов*. Выделяют 6 разновидностей этого антигена. Генетическая информация о его строении закодирована в многочисленных аллелях трех сцепленных между собой локусов (D/d, C/c, E/e). Резус-антиген представляет собой липопротеид. Иммуногенность резус-антигена обуславливает развитие иммунного ответа гуморального типа с образованием специфических антирезусных антител класса IgG, что лежит в основе развития резус-конфликта при беременности резус-отрицательной матери резус-положительным плодом.

Антигены гистосовместимости

На цитоплазматических мембранах практически всех клеток обнаруживаются антигены гистосовместимости. Большая часть из них относится к системе главного комплекса гистосовместимости, или МНС (от англ. Main Hystocompatibility Complex). Гены МНС локализованы в нескольких локусах короткого плеча 6 хромосомы и содержат гены 3 классов: I, II, III класса. Антигены гистосовместимости представляют собой гликопротеины, прочно связанные с цитоплазматической мембраной клеток, отличаются между собой структурно и функционально. Молекулы МНС I экспрессируются на всех клетках организма, за исключением эритроцитов и клеток ворсинчатого трофобласта, презентируют эндогенные антигены, образованные внутри клетки (антигены вирусов, опухолей внутриклеточных бактерий) CD8+ Т – лимфоцитам. Молекулы МНС II – экспрессируются на профессиональных антиген презентирующих клетках (макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты), представляют антигены экзогенной природы CD4+ Т – лимфоцитам. К МНС III класса относятся компоненты системы комплемента (C2, C4), белки теплового шока, факторы некроза опухоли.

Опухольассоциированные антигены

В настоящее время обнаружено и охарактеризовано множество антигенов, ассоциированных с различными опухолями. Однако не все опухоли имеют специфические маркерные антигены. Опухольассоциированные антигены классифицируют по локализации (сывороточные, мембранные) и генезу (вирусные, эмбриональные, нормальные гиперэкспрессируемые и мутантные). В большинстве случаев опухольассоциированные антигены являются слабыми иммуногенами. Синтезируемые специфические антитела не угнетают рост опухолей.

Таким образом, антиген как индуктор иммунного ответа – это макромолекула, характеризующаяся определенными свойствами, которая при попадании в организм вызывает развитие иммунного ответа, направленного на его элиминацию.

Вопросы для самоконтроля:

1. Определение антигена. Свойства полного антигена.
2. Что такое гаптен? Каковы его свойства?
3. Классификация антигенов.
4. Характеристика Т-зависимых и Т-независимых антигенов.
5. Охарактеризуйте антигены бактерий.
6. Охарактеризуйте антигены вирусов.
7. Охарактеризуйте антигены системы АВО.
8. Охарактеризуйте антигены системы резус.
9. Характеристика антигенов главного комплекса гистосовместимости.
10. Опухольассоциированные антигены.

Лекция №6**«Адаптивный иммунитет. Гуморальный иммунный ответ»**

Адаптивный иммунный ответ – это специфическая реакция лимфоцитов на антиген, направленная на его элиминацию.

Фазы иммунного ответа:

1. Индуктивная: реализуется в течение 5-7 суток после внедрения антигена, заключается в формировании эффекторных лимфоцитарных клеток и клеток памяти. В индуктивную фазу входят следующие процессы:
 - Переработка и презентация антигена АПК;
 - Распознавание антигена при взаимодействии АПК и Т-лимфоцитами;
 - Активация и пролиферация специфического клона лимфоцитов;
 - Дифференцировка лимфоцитов, направленная на формирование эффекторных клеток и клеток памяти.
2. Эффекторная: длится в среднем около 2-х недель, заключается в реализации механизмов, направленных на непосредственное удаление чужеродного агента и формирование иммунологической памяти.

Известны два типа иммунного ответа (ИО): клеточный и гуморальный. В свою очередь клеточный тип иммунного ответа (КИО) подразделяется на вариант с участием эффекторных клеток Т-цитотоксических и Th1-опосредованный воспалительный вариант.

Реализация того или иного типа ИО зависит от следующих факторов:

- Природы антигена;
- Локализации антигена по отношению к клетке;
- Способа поступления антигена в организм, его концентрации;
- Направления дифференцировки Th1-лимфоцитов.

На вирусные, опухолевые, трансплантационные антигены, внутриклеточные патогены преимущественно формируется КИО, на антигены бактерий и гельминтов – гуморальный иммунный ответ (ГИО).

Таким образом, гуморальный иммунный ответ направлен на защиту от внеклеточных патогенов и их токсинов. Ключевым событием данного типа иммунного ответа является образование антител, специфически взаимодействующих с антигеном. В результате эти антитела

обеспечивают защиту от внеклеточных патогенов либо путем их прямой блокады, либо привлечением дополнительных факторов цитотоксичности.

В ГИО можно выделить следующие этапы:

- Распознавание антигена В-лимфоцитами и презентация его предварительно сформировавшимися Th2-клеткам;
- Активация и пролиферация В-клеток (экспансия клона);
- Переключение изотипа рецептора В-лимфоцита и «созревание» его аффинитета;
- Дифференцировка В-клеток в плазматические клетки и В-клетки памяти;
- Осуществление антителами эффекторных реакций, направленных на удаление антигена.

Первые два этапа укладываются в индуктивную фазу ГИО, третий частично относится к продуктивной фазе, а четвертый составляет его основное содержание.

Контакт В-лимфоцитов с патогеном и их продуктами возможен в очагах поступления патогенов в организм (в частности, в барьерных тканях). Однако вовлечение этих клеток в первичный иммунный ответ возможно только во вторичных лимфоидных органах, где создаются оптимальные условия для взаимодействия трех компонентов пусковой реакции – антигена, наивной В-клетки и Th2-клеток. Это взаимодействие происходит в межфолликулярном пространстве, где Т- и В-лимфоциты соседствуют друг с другом. Антиген доставляется в эти зоны с афферентной лимфой не только в составе молекул МНС на поверхности дендритных клеток, но и в свободной форме и может распознаваться ВСR В-лимфоцита. Однако следует помнить, что В-лимфоцит одновременно является антигенпрезентирующей клеткой (АПК). Антиген интернализуется и процессируется, после чего он может быть презентируван мигрировавшим в перифолликулярное пространство Th2-клеткам.

В Т-зависимых зонах региональных лимфоузлов и других вторичных лимфоидных органах происходит взаимодействие дендритных клеток (ДК) с Th0. ДК презентуют антиген наивному Т-лимфоциту в комплексе с молекулами МНСII, формируя иммунный синапс. Посредством рецепторных и костимулирующих взаимодействий (экспрессия CD80/86 на ДК и CD28 - на Th0) происходит активация Т-лимфоцита, его пролиферация и дифференцировка в Th2-клетку. На Th2-лимфоците экспрессируются специфические хемокиновые рецепторы, опосредующие миграцию клеток по направлению в фолликул.

В перифолликулярном пространстве В-клетка взаимодействует с Th2-лимфоцитами: TCR-CD3 и корецептор CD4 взаимодействуют с антигеном и МНСII, вследствие чего в Th2 передается активационный сигнал. Второй активационный сигнал передается через костимулирующее взаимодействие CD28-CD80/86. Эти сигналы приводят к экспрессии на мембране Т-клетки молекулы CD40L и выработке цитокинов. В результате взаимодействия CD40-CD40L передается активационный сигнал В-лимфоциту, который приводит к экспрессии рецепторов для цитокинов. Данное взаимодействие также важно для переключения синтеза Ig в В-лимфоцитах с IgM на другие изотипы. Нарушение экспрессии на Т-лимфоцитах молекулы CD40L приводит к развитию гипер-IgM-синдрома.

Далее цитокиновый сигнал (Th2: IL4, IL5 и др.) воспринимается рецепторами В-лимфоцитов и запускает процесс созревания, дифференцировки и пролиферации В-клеток.

В процессе дифференцировки на большинстве В-лимфоцитов экспрессируется хемокиновый рецептор CXCR5, который синтезируется в лимфоидных фолликулах и привлекает активированные В-лимфоциты в зародышевые центры, формирующиеся в фолликулах в ходе ГИО. В-клетки, не способные мигрировать в первичные фолликулы, дифференцируются в IgM-

образующие клетки при минимальном участии Т-лимфоцитов. Их срок жизни не превышает 3-5 суток.

CXCR5+ В-клетки, при активации антигеном мигрируют в первичные фолликулы, где проходят Т-зависимый путь дифференцировки с участием фолликулярных дендритных клеток и CD4+ фолликулярных Т-хелперов –Tfh. В этих В-клетках происходит переключение изотипов (под влиянием цитокинов: IL4-γ4ε; IFNγ-γ1; TNFβ-α1,α2; IL5 стимулирует выработку IgA; IL13-IgE; IL6-IgM и IgG1 и т.д.) и «созревание» аффинитета. Они дифференцируются в долго живущие антителообразующие клетки.

Плазматические клетки (ПК) не экспрессируют маркеров В-лимфоцитов. Основной маркер этих клеток – синдиан (CD138), осуществляющий взаимодействие ПК и клеток стромы. Одна ПК синтезирует и секретирует антитела одного изотипа и одной специфичности. При первичном иммунном ответе секретируются IgM-антитела, максимальная концентрация которых достигает к 4-5 суткам, затем секретируются IgG-антитела – достигают максимума к 10-12 сут. Высокий уровень сывороточных IgG сохраняется в течение 20 дней, затем их содержание в сыворотке снижается в течение 2-3 месяцев. ПК определяются в лимфатических узлах и селезенке в течение 2-х месяцев, в костном мозгу они сохраняются до 10 лет и более.

Эффекторные функции антител.

- Нейтрализация микроорганизмов и их токсинов приводит к утрате способности антигенов связываться с клетками мишенями (IgM и IgG). Блокирующий эффект составляет основу действия IgA;
- Опсонизация, стимулирующая фагоцитоз;
- Опсонизация, стимулирующая антителозависимую клеточную цитотоксичность НК клетками (АЗКЦ);
- Активация комплемента по классическому пути, с последующим комплементзависимым цитолизом.

Именно эффекторные молекулы адаптивного иммунитета – антитела обеспечивают реализацию механизмов врожденного иммунитета, направленного на элиминацию патогена. И это есть яркий пример тесного взаимодействия системы врожденного и адаптивного иммунитета в достижении главной цели: распознавания и уничтожения генетически чужеродного объекта.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что подразумевается под термином «адаптивный иммунитет»? Какие фазы иммунного ответа Вам известны?
2. В отношении каких патогенов эффективен гуморальный иммунный ответ?
3. Какие клетки являются ключевыми в реализации ГИО?
4. Каковы этапы ГИО? Какие из них укладываются в индуктивную фазу ГИО? В чем они заключаются?
5. Какие из этапов ГИО укладываются в эффекторную фазу ГИО? В чем они заключаются?
6. Какие клетки синтезируют антитела? Какой промежуток времени они в последующем циркулируют в крови?
7. Каковы эффекторные функции антител?

Лекция №7

«Адаптивный иммунный ответ. Клеточно-опосредованный иммунный ответ»

Клеточный иммунный ответ (КИО) осуществляется Т-лимфоцитами и направлен на защиту от внутриклеточных патогенов. В зависимости от локализации патогенов в цитозоле или в гранулах различают два вида КИО:

1. Цитотоксический КИО;
2. Воспалительный КИО.

Цитотоксический КИО:

Цитотоксический иммунный ответ осуществляют Т-лимфоциты, экспрессирующие корецептор CD8, и распознающие антигенный пептид в составе молекул МНСI.

Цитотоксический иммунный ответ проходит в 4 этапа:

1. Презентация дендритными клетками антигена CD8+ Т-клеткам, приводящая к их активации;
2. IL2-зависимая пролиферация CD8+ Т-лимфоцитов, аутокринная или индуцируемая CD4+ лимфоцитами;
3. Дифференцировка CD8+ Т-клеток в цитотоксические Т-лимфоциты (CTL), сопутствующая пролиферация;
4. Реализация цитолиза клеток-мишеней.

Первые 3 этапа соответствуют *индуктивной фазе* иммунного ответа, последняя – *эффекторной*.

Индуктивная фаза цитотоксического иммунного ответа:

Дендритные клетки (ДК) после взаимодействия с антигеном под влиянием хемокинов мигрируют в лимфу, одновременно происходит процессинг антигена и экспрессия комплекса антигенный пептид-МНСI на мембране ДК. Затем ДК попадают в Т-зависимые зоны региональных лимфатических узлов. В свою очередь антигенспецифические Т-лимфоциты, непрерывно рециркулируя, с током крови также приходят в Т-зависимые зоны лимфоузлов.

В лимфатических узлах происходит взаимодействие ДК как с наивными Т-киллерами, так и с наивными Th0-лимфоцитами.

Между ДК и Т-лимфоцитами формируется иммунологический синапс, представляющий зону высокоупорядоченных рецепторных и корецепторных взаимодействий, приводящей к проведению сигналов и активации клеток.

Взаимодействие ДК с наивным Т-киллером:

С комплексом антиген МНСI (представленном на мембране ДК) взаимодействуют TCR и корецепторная молекула CD8 на Т-лимфоците. В результате происходит передача сигнала внутрь лимфоцита и его активация. Параллельно с этим экспрессируется рецептор к IL2 и начинается секреция этого цитокина самим Т-лимфоцитом, что по механизму обратной связи продолжает активировать Т-клетку, которая затем вступает в стадию пролиферации.

Взаимодействие ДК с Th0:

TCR взаимодействует с антигеном, встроенным в молекулу МНСII на поверхности ДК. ДК начинает синтезировать IL12, который вместе с IFN γ способствует дифференцировке Th0 в Th1-лимфоцит. Th1-клетки включают продукцию IL2, который действует на Т-киллеры и способствует их дифференцировке в зрелые цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ).

Заключительной стадией индуктивной фазы КИО является дифференцировка Т-киллеров с формированием клона специфических ЦТЛ, которые способны непосредственно взаимодействовать с инфицированными клетками организма и подвергать их цитолизу.

Эффекторная фаза цитотоксического иммунного ответа:

Цитолиз инфицированных клеток может происходить посредством следующих механизмов:

1. Перфорин-гранзимовый механизм цитотоксичности;
2. Fas-опосредованный апоптоз;
3. Цитокиновый механизм цитотоксичности.

Перфорин-гранзимовый механизм цитотоксичности:

Цитотоксическое действие ЦТЛ включает следующие этапы:

- Распознавание клетки-мишени;
- Формирование контакта ЦТЛ и клетки-мишени с их поляризацией;
- Экзоцитоз гранул (программирование лизиса);
- Индукция гибели клетки-мишени.

Т-цитотоксический лимфоцит распознает молекулы МНСI класса в комплексе с антигеном на мишенях с формированием цитотоксического иммунного синапса. Эти взаимодействия приводят к активации ЦТЛ и экзоцитозу содержимого гранул (перфорин и гранзимы) в зону контакта между клетками. Перфорин представляет собой гидрофобный белок, который встраивается в мембрану клетки-мишени (в присутствии ионов Ca^{2+}) и образует канал. Через эти каналы в клетку проникают гранзимы В-протеазы, индуцирующие каскад реакций с участием сериновых протеаз, ведущих к запуску апоптоза клетки-мишени.

Fas-опосредованный апоптоз:

При действии ЦТЛ апоптоз может происходить с участием Fas-лиганда, экспрессируемого Т-клеткой, и Fas-рецептора клетки-мишени. Экспрессии Fas-рецептора на клетки-мишени способствует инфицирование её вирусом. При взаимодействии лиганд-рецептор активируются внутриклеточные каспазы, приводящие клетку к апоптозу.

Цитокиновый механизм цитотоксичности:

В этом случае цитолиз обеспечивается посредством взаимодействия ФНО- α , синтезируемого ЦТЛ, с соответствующими рецепторами на клетках-мишенях. Сигнал передается через домены смерти и приводит к развитию апоптоза по механизму, схожему с таковым при Fas-цитоллизе.

Спустя 7-10 дней после распознавания антигена ЦТЛ подвергается апоптозу. Через 2 недели после этого формируется популяция Т-клеток памяти.

Воспалительный КИО:

Th1-опосредованный воспалительный клеточный иммунный ответ осуществляет защиту от внутриклеточных патогенов, локализованных в гранулах фагоцитов (микобактерии, простейшие, грибы). Ключевыми клетками являются Th1-лимфоциты и макрофаги, которые выступают в роли эффекторных клеток.

Этапы воспалительного КИО:

1. Презентация ДК антигена CD4+ Т-лимфоцитам, приводящую к их активации;
2. Развитие Th1 в региональных лимфатических узлах;
3. Взаимодействие Th1 с макрофагами, которые презентуют антиген Th1-лимфоцитам с их взаимной активацией и синтезом цитокинов;
4. Активация цитолиза в фагосомах макрофага.

В очаге инфицирования ДК поглощают антиген и транспортируют его в региональный лимфоузел в Т-зависимые зоны, где ДК взаимодействует с Th0-лимфоцитами. В результате Th0 под действием активационных сигналов от TCR и IL12, IFN γ дифференцируются в Th1.

Далее Th1 взаимодействуют с макрофагами, которые несут на своей поверхности молекулы МНСII в комплексе с антигенными пептидами. Th1-клетки активируются и синтезируют цитокины: IFN γ и TNF α , которые активируют макрофаг. В результате активации макрофага экспрессируются многочисленные гены, отвечающие за активацию ферментов окислительного метаболизма. Активированные макрофаги выделяют факторы бактерицидности – оксид азота (NO), активные формы кислорода, цитокины: TNF α , IL6, IL1, IFN α . Эти вещества способствуют уничтожению внутриклеточных патогенов, но они же вызывают и деструкцию окружающих тканей.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие виды КИО Вам известны?
2. Какие этапы цитотоксического КИО относятся индуктивной фазе иммунного ответа? В чем они заключаются?
3. Какие этапы цитотоксического КИО относятся эффекторной фазе иммунного ответа? В чем они заключаются?
4. Какие клетки при реализации цитотоксического КИО выступают в роли эффекторных клеток? Какие механизмы цитолиза Т-цитотоксическими лимфоцитами Вам известны?
5. Какие этапы воспалительного КИО Вам известны?
6. Какие клетки при реализации воспалительного КИО выступают в роли эффекторных клеток?

Лекция №8

«Противоинфекционный иммунитет»

Защита от инфекций – основное предназначение иммунитета. Первоначально иммунитет определяли как устойчивость к инфекционным заболеваниям. С разработки методов вакцинации началось развитие иммунологии и до настоящего времени усилия исследователей в области прикладной иммунологии направлены в первую очередь на разработку и совершенствование методов иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных заболеваний.

Иммунный ответ на инфекционные агенты складывается из двух основных этапов:

1. Начальный период, когда после внедрения инфекционного агента реализуется первая линия иммунной защиты (механизмы врожденного иммунитета) и создаются условия для инициации механизмов системы адаптивного иммунитета (индуктивная фаза иммунного ответа);
2. Эффекторная фаза адаптивного иммунного ответа.

В результате достигается состояние, которое обозначается термином «*иммунитет*» в узком значении которого подразумевается устойчивость организма к данному инфекционному агенту. Это состояние также складывается из двух периодов в зависимости от механизмов обеспечения резистентности:

1. Период устойчивости, обусловленный присутствием эффекторных факторов защиты, сформировавшихся в ходе иммунного ответа и сохранившие свою активность (антитела, ЦТЛ, др.);
2. Период иммунологической памяти, гарантирующей более эффективную защиту при повторном проникновении инфекционного агента по сравнению с первичной инфекцией.

Таким образом, включение механизмов врожденного и приобретенного иммунитета начинается после внедрения инфекционного агента. В подавляющем большинстве случаев инфекционные агенты попадают в организм через слизистые оболочки в трех основных трактах: дыхательном, пищеварительном и урогенитальном. Далее лимфогенным путем он проникает в региональные лимфатические узлы, где к факторам врожденного иммунитета подключаются клетки и гуморальные факторы системы адаптивного иммунитета. Преодоление данного барьера приводит к генерализации инфекции, а вслед за этим – к распространению иммунных процессов на системный уровень, что не всегда приводит к адекватному результату и граничит с состоянием патологии, обусловленной повреждающим действием не только инфекционных агентов, но и самих факторов иммунитета.

Реализация первой линии иммунной защиты и индукция иммунного ответа:

Сразу после проникновения патогена в организм включаются механизмы врожденного иммунитета, а также промежуточное звено иммунной системы – «неклассические субпопуляции лимфоцитов. Распознавание PAMP TLR – первое событие в запуске иммунного ответа, что приводит к активации клеток врожденного иммунитета. Результатом активации является экспрессия генов цитокинов и секреция провоспалительных цитокинов, которые обеспечивают привлечение в очаг инфицирования лейкоцитов – *нейтрофилов, а затем моноцитов* и др. клеток крови. Эти клетки обеспечивают в очаге воспаления *фагоцитоз*. Поглощение патогенов фагоцитами облегчается опсонизацией. В первые дни роль опсонинных выполняют белки острой фазы (их образование гепатоцитами стимулируют цитокины), а также компоненты комплемента, который в этот период времени активируется преимущественно по альтернативному пути. Другой стимул к активации комплемента – естественные IgM-антитела, спонтанно синтезируемые В1-клетками.

Уже в этот период вырабатываются некоторые цитокины, стимулирующие фагоцитарную активность: NKT секретируют IFN γ в самый ранний период реакции на патоген. Кроме того, активируются неспецифические бактерицидные факторы (дефензины), вырабатываемые не только миелоидными, но и эпителиальными клетками, что позволяет как эпителиальные, так и эндотелиальные клетки отнести к дополнительным клеткам врожденного иммунитета.

Все вышесказанное в большей степени отражает реакцию на внедрение бактерий, грибов, простейших. Инфицирование вирусами приводит к запуску выработки интерферонов I типа плазмочитоидными ДК и частично макрофагами и др. клетками врожденного иммунитета (IFN α и IFN β), обладающих противовирусной активностью. Главными эффекторами противовирусного иммунитета на этом этапе служат NK-клетки, активируемые при распознавании стрессорных молекул на инфицированных клетках и дополнительно стимулируемые цитокинами, которые секретируют NKT-клетки.

Защитная роль этих процессов крайне велика, ибо в этот период невозможна реализация механизмов адаптивного иммунитета. В этот период идет подготовка следующего этапа иммунной защиты – реализации индуктивной фазы адаптивного иммунного ответа.

Индуктивная фаза адаптивного иммунного ответа:

Инициация иммунного ответа связана с миелоидными ДК, которые захватив антиген транспортируют его в региональные лимфоузлы, где презентуют Т-лимфоцитам – CD4+ и CD8+. В отличие от клеток врожденного иммунитета, вовлекаемых в иммунный ответ тотально, клетки адаптивного иммунитета вступают в него в составе единичных клонов, активация которых осуществляется на основе специфичности их антигенраспознающих рецепторов. Клетки этих клонов активируются, выделяют аутокринный ростовой фактор ИЛ2. Их численность многократно возрастает, и они дифференцируются в различные разновидности Т-хелперов, которые в зависимости от характера антигена индуцируют гуморальный или один из вариантов КИО.

Эффекторная фаза адаптивного иммунного ответа:

К концу первой – началу второй недели после инфицирования наступает эффекторная фаза иммунного ответа. Собственные эффекторные механизмы адаптивного иммунитета немногочисленны и их вклад в защиту невелик. Он сводится к нейтрализации антителами бактериальных экзотоксинов и прямой блокаде патогенов – ограничение их подвижности и способности преодолевать тканевые барьеры.

Фагоцитоз с участием опсонинных или участием Th1-лимфоцитов при реализации воспалительного КИО остается основным механизмом разрушения патогенов бактериальной, грибковой и паразитарной природы. В качестве главных эффекторов при элиминации внутриклеточных патогенов выступают цитотоксические Т-лимфоциты, обладающие, в отличие от естественных киллеров, специфичностью в отношении антигенов вирусов и других внутриклеточных патогенов.

Таким образом, в результате реализации факторов адаптивного иммунитета, основанных на усилении механизмов врожденного иммунитета, как правило, происходит разрушение и элиминация патогенов. При этом вовлечение в иммунный ответ новых клонов лимфоцитов прекращается. Этому способствует подключение активных механизмов иммунорегуляции: Fc-зависимого подавления ГИО и проявлению активности регуляторных Т-клеток (как естественных, так и адаптивных), ограничивающих все виды активности лимфоцитов.

Роль сдерживающих факторов весьма велика, поскольку чрезмерное проявление морфогенетических процессов и выделение деструктивных факторов может повредить нормальные ткани.

Защита против внеклеточных бактерий

Независимо от пути поступления в организм бактерии распознаются TLR макрофагов, тучных, эпителиальных и других клеток. Это приводит к включению механизмов первой линии защиты, связанной с реализацией факторов врожденного иммунитета с участием различных вариантов лейкоцитов, в первую очередь нейтрофилов, НКТ клеток и $\gamma\delta$ Т-клеток (участвующих в бактериолизе с помощью не вполне выясненных механизмов).

Важнейшим фактором ранней защиты против внеклеточных патогенов являются естественные антитела (IgM), пресинтезированные В1-клетками. Значительная часть этих антител специфична к распространенным антигенам бактерий – фосфорилхолину, липополисахариду, пептидогликанам и др. Связывание этих антител с бактериями обуславливает активацию системы комплемента по классическому пути, что способствует фагоцитозу (эффект опсонизации) и непосредственно индукции лизиса бактерий. Внеклеточные микроорганизмы становятся объектом действия и других гуморальных факторов врожденного иммунитета: пентраксины (являются опсонинами и активируют комплемент), активация комплемента по альтернативному и лектиновому путям и др.

Можно предполагать, что резервов врожденного иммунитета достаточно для отражения большинства атак внеклеточных патогенов. Однако, независимо от эффективности защитной функции врожденного иммунитета, при инфицировании бактериями происходит запуск механизмов адаптивного иммунитета. ДК захватывают бактерии и их продукты (экзотоксины) и доставляют их в региональный лимфоузел, где происходит презентация антигенного пептида CD4+ Т-лимфоцитам. Известно, что при ответе на внеклеточные патогены активируются преимущественно Th2-клетки, хотя Th1- и Th17-клетки тоже образуются. Th17-клетки обеспечивают мобилизацию нейтрофилов. Th1-лимфоциты обеспечивают IFN γ -зависимую составляющую ГИО.

В очагах поражения и лимфатических узлах В-лимфоциты с помощью BCR распознают антиген и презентуют его преобразованным специфическим Th2-лимфоцитам, затем получают сигнал через костимулирующую молекулу CD40, а IL4, секретируемый Th2, обеспечивает пролиферацию В-лимфоцитов. В последующем в лимфоидных фолликулах происходит формирование зародышевых центров, в которых происходит пролиферация, переключение изотипов BCR и повышение его сродства к антигену. Затем В-клетки мигрируют в апикальную зону зародышевых центров, где происходит дифференцировка плазматических клеток, которые, мигрируя в красную пульпу селезенки, мозговые шнуры лимфоузлов и (преимущественно) костный мозг, секретируют антитела. Антитела преимущественно класса IgA секретируются также в мукозальном отделе иммунной системы. В последующем антитела реализуют свои первичные и вторичные эффекторные функции (о которых изложено выше), направленные на элиминацию антигена.

Защита против внутриклеточных патогенов:

Этот вариант антибактериальной защиты возможно рассмотреть на примере иммунной защиты против *Micobacterium tuberculosis*.

Микобактерии туберкулеза проникают через слизистые оболочки, обычно воздушно-капельным путем. Данные об участии факторов первой линии защиты ограничены, имеются сведения об участии в ранних эффекторных реакциях на микобактерии $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов. Макрофаги (альвеолярные) TLR-2 распознают в составе клеточной стенки микобактерии гликопротеиды и липотейхоевую кислоту, а TLR-4 распознает ЛПС. Макрофаги фагоцитируют микобактерии, но фагоцитоз оказывается незавершенным. Благодаря индукции антиапоптотического фактора Bcl-2 удлиняется срок жизни инфицированных макрофагов, которые превращаются из бактерицидных клеток в резервуары инфекционного агента. При невозможности развития эффективного Th1-ответа формируется гранулема, назначение которой состоит в ограничении распространения инфекции.

В то же время эндоцитоз бактерий и их фрагментов дендритными клетками с их последующим транспортом в лимфатические узлы позволяет индуцировать адаптивный иммунный ответ. Способность микобактерий активировать дендритные клетки, в том числе через TLR-2 и TLR-4, обуславливает формирование DC1-типа и секрецию ими IL12, что предопределяет дифференцировку специфических Th1-лимфоцитов. Th1-клетки, реактивированные через TCR и костимулирующую молекулу CD28, начинают секретировать комплекс цитокинов, в том числе IFN γ , TNF α , которые усиливают образование оксида азота, в результате микобактерии, персистирующие в фагосомах макрофага, погибают. Это является ключевым событием в осуществлении иммунной защиты организма от микобактерий.

Иммунная защита против вирусов:

Иммунная защита против вирусов складывается из нескольких этапов.

1. Инфицированные клетки гибнут, их фрагменты поглощают макрофаги и ДК. Вирусные компоненты распознаются TLR внутри фаголизосом и сигнализируют о появлении PAMP. В результате происходит активация генов провоспалительных цитокинов и индукция синтеза интерферонов типа (α и β).

Таким образом, интерфероны типа I служат факторами противовирусной защиты, вызывая деградацию вирусной РНК и препятствуя репликации вирусов.

2. На поверхности инфицированной клетки экспрессируются стрессорные молекулы, сигнализирующие о нарушении физиологического состояния клетки. Их распознают НКТ и секретируют γ -интерферон, а также НК-клетки, которые при условии утраты инфицированными клетками МНСI – активируются. Дополнительным стимулом для НК служит γ -интерферон, выделяемый НКТ-лимфоцитами.

Таким образом, активированные НК-клетки осуществляют цитолиз клеток-мишеней, выступая в качестве фактора противовирусной защиты, функционирующего в рамках врожденного иммунитета.

3. ДК презентуют вирусные молекулы клеткам специфических клонов CD4+Т-лимфоцитов, распознающих через TCR вирусный пептид в составе МНСII, а также клонам CD8+ Т-клеток, распознающим вирусный антиген в составе МНСI. В результате реализуется цитотоксический КИО с формированием Т-цитотоксических лимфоцитов, которые осуществляют лизис инфицированных клеток.

Таким образом, защитный эффект киллеров воспроизводится в антигенспецифическом варианте и при сохранении экспрессии клетками молекул МНСI.

4. Свободные вирусные антигены распознаются BCR В-лимфоцитов, реализуется ГИО с секрецией антивирусных антител, которые распознают вирусные частицы, находящиеся вне клеток, что предотвращает инфицирование клеток и, возможно, способствует их элиминации макрофагами.

В ходе иммунного ответа формируются Т- и В-клетки памяти, специфичные к вирусным антигенам.

Таким образом, иммунная защита против вирусов формируется при участии механизмов врожденного и адаптивного иммунитета и реализуется с помощью 4 основных факторов – интерферона типа I, естественных и иммунных киллеров, нейтрализующих антител.

Иммунная защита против гельминтов:

Эта форма иммунной защиты изучена менее всего.

Клетки врожденного иммунитета распознают PAMP гельминтов (лизофосфатидилсерин распознается TLR-2, липопротеиды, обогащенные фосфорилхолином, распознаются TLR4 и др). Активация дендритных клеток приводит к развитию незрелых DC2-типа, способствующих дифференцировке Th2, которые секретируют цитокины, в частности, IL4 (обеспечивает переключение изотипов антител на IgE), IL13 (привлекает эозинофилы и базофилы) и IL5 (привлекает эозинофилы). Следует отметить, что важная роль при гельминтозах принадлежит IgE, которые, взаимодействуя с тучной клеткой, стимулируют выброс медиаторов, включая цитокины. Цитокины, в свою очередь, привлекают эозинофилы и базофилы. Эти клетки формируют вал вокруг гельминтов, выделяют ЕСР (эозинофильный катионный белок), МВР (главный щелочной белок), которые вызывают гибель гельминтов. Гибель гельминтов в

кишечнике сопровождается их эвакуацией из пищеварительного тракта. Гельминты, погибшие в органах, элиминируются клетками фагоцитирующей системы.

Вопросы для самоконтроля:

1. Из каких этапов складывается иммунный ответ на инфекционные агенты?
2. Каков вклад механизмов врожденного иммунитета в реализации противoinфекционной защиты в ответ на внедрение инфекционного агента?
3. Каков вклад механизмов системы адаптивного иммунитета в реализации противoinфекционной защиты в ответ на внедрение инфекционного агента?
4. Какие этапы защиты от внеклеточных бактерий Вам известны?
5. Какие этапы защиты от внутриклеточных патогенов Вам известны?
6. Какие этапы защиты от вирусов Вам известны?
7. Какие этапы защиты против гельминтов Вам известны?
8. Какие этапы защиты от внеклеточных бактерий Вам известны?

Лекция №9

«Противоопухолевый иммунитет. Радиационная иммунология»

Функция иммунной системы реализуется преимущественно в 2-х направлениях - формирование резистентности к инфекциям и предотвращение развития опухолей.

В основе учения о противоопухолевом иммунитете лежит концепция иммунного надзора, выдвинутая Ф.М. Бернетом в 1970 году, согласно которой в организме осуществляется постоянный надзор иммунокомпетентными клетками за антигенным составом собственных клеток. Клетки, подвергшиеся трансформации, признаком которой является изменение антигенных свойств, элиминируются. Частота соматических мутаций велика и достигает до миллиона клеток в сутки. Однако за счет распознавания и последующей элиминации с помощью различных механизмов иммунной защиты клеток, обладающих чужеродными, вновь приобретенными свойствами, малигнизации не происходит.

Основой противоопухолевой иммунной защиты служат:

- Контактный цитоллиз (механизм системы врожденного иммунитета);
- Клеточный иммунный ответ.

Ключевая роль на стадии реализации механизмов врожденного иммунитета принадлежит НК-клеткам.

Естественные киллеры (НК-клетки) – особая субпопуляция лимфоцитов, которые дифференцируются из общей лимфоидной клетки предшественницы. НК-клетки способны осуществлять цитоллиз опухолевых клеток по перфорин-гранзимовому механизму, распознавая стрессорные молекулы, экспрессируемые опухолевыми клетками (механизм контактного цитоллиза). Кроме того, опухолевые клетки элиминируются и в процессе реализации КИО с участием Т-цитотоксических лимфоцитов.

Иммунологические взаимоотношения опухоли и организма

3 стадии:

- 1) элиминация – успешная элиминация предотвращает развитие опухоли
- 2) равновесие – опухолевая клетка избегает гибели под влиянием эффекторных механизмов ИС
- 3) ускользание – прогрессирование опухоли и выход из-под контроля иммунных механизмов (маскировка или утрата опухолеассоциированных антигенов, ослабление экспрессии молекул МНС-1, отсутствие ко-стимулирующих молекул, индукция клеток, обладающих супрессорной функцией, секреция ингибирующих факторов различной природы, индукция иммунологической толерантности к антигенам опухоли).

Механизмы, позволяющие избежать действия факторов иммунного надзора:

- Отсутствие РАРР на мембранах опухолевых клеток снижает их иммуногенность;
- Синтез дендритными клетками (не стимулированными РАРР) IL10, который способствует анергии Т-лимфоцитов;
- Синтез опухолевой клеткой неклассических молекул МНС с утратой способности синтезировать МНС I → не распознается ЦТЛ и НК-клетками;
- Интернализация опухолевого антигена;
- Синтез растворимых антигенов;
- Синтез опухолевыми клетками TGFβ, IL-10, ростовых факторов;
- Активация Treg.

Опухолевые антигены.

Существуют диагностические тесты на выявление опухолеассоциированных антигенов. Тест основан на определении в сыворотке крови антигенных онкомаркеров и обладает высокой информативностью. А-фетопротеин – первичный рак печени, раковоэмбриональный антиген – рак толстой кишки, сывороточный специфический антиген простаты – рак простаты, хорионический гонадотропин – хориокарцинома и др. эмбриональные опухоли.

В подавляющем большинстве все эти антигены синтезируются вследствие экспрессии в клетках взрослого организма генов, активных в эмбриональном периоде.

Существуют так называемые «иммунозависимые опухоли» – они распознаются и чувствительны к факторам иммунной защиты. К указанному варианту опухолей относятся вирусные опухоли, меланома, рак почек, рак молочной железы. В то же время имеются иммунонезависимые или слабозависимые от иммунных механизмов опухоли – рак желудка, мелкоклеточный рак легких.

Иммунодиагностика опухолей

Для выявления опухолевых антигенов используют методы молекулярной биологии, а также иммунологические методы.

Классификация опухолевых антигенов (табл.1)

группа антигенов	индивидуальные антигены	характеристика
Вирусные	EBNA (EBV), E6, E7 (HPV), HHV-8	антигены вирусов, возбудителей опухолей (Эпштейн-Барр – саркома Капоши, ВПЧ – рак шейки матки)
Мутантные	p53, Cdk4, Cas8 β-катенин	продукты мутантных генов, контролирующие апоптоз и клеточный цикл
Ракосеменниковые	Серии MAGE (1-12), BAGE, GAGE, NY-ESO-1, SSX2	антигены, экспрессируемые эмбриональными тканями
Дифференцировочные	Melan A/VART-1, тирозиназа, gp100, PSA, ANKRD30A/NY-BR-1, GF-AP, TG	нормальные дифференцировочные антигены

Амплификационные	HER-2/neu, BIRC, циклины B1 и D1, Bcr/Abl	усиленная экспрессия антигенов
Продукты нормального процессига	MUC-1-MUC-7	нормальные антигены с чрезмерным гликозилированием

Все опухолевые антигены (кроме вирусных) являются «своими» антигенами, но с измененной экспрессией, количественно превосходящие норму, или экспрессия их в нехарактерном месте. Основной контроль возложен на проонкогены, онкогены и антионкогены, существующие в геноме человека, и отвечающие за регуляцию пролиферацию клеток. Однако в определенных обстоятельствах дисбаланс в регулировке приводит к неограниченной пролиферации и опухолевому росту.

В иммунодиагностике удобнее выявлять не ассоциированный с опухолью антиген, а антитела к нему. Повышает вероятность выявления опухолеассоциированных антител использование панели из нескольких антигенов. Выявление антител в сыворотке относится к В-антигенам, а наиболее значимым в противоопухолевой защите является выявление Т-антигенов. Практически всегда молекулы, несущие В-эпитопы, имеют также и Т-эпитопы, оба типа эпитопов перекрываются.

Методами диагностики являются ИФА и РИА, где используются опухолевые антигены и моноклональные антитела.

Опухолевые клетки не имеют PAMP, что исключает мобилизацию факторов врожденного иммунитета.

Помимо классических антигенов опухоли экспрессируют стрессорные молекулы, которые распознаются NK-клетками.

Радиационная иммунология – наука о влиянии ионизирующего излучения на защитные функции организма. Радиационная иммунология является одним из направлений радиобиологии. Действие ионизирующих излучений на иммунологическую реактивность проявляется в резком угнетении основных механизмов иммунитета. Радиочувствительность клетки прямо пропорциональна ее митотической активности.

В результате радиационного облучения наблюдаются:

- Гибель клеток как зрелых, так и на разных стадиях дифференцировки, что приводит к лимфопении;
- извращение функции иммунокомпетентных клеток – Т-лимфоциты теряют TCR;
- меняется экспрессия молекул адгезии – страдают миграционные свойства лимфоцитов, искажается пространственная организация иммунной системы;
- снижается способность синтеза Ig;
- нарушается баланс Th1/Th2, сначала смещается в сторону Th1, что ведет к синдрому инфекционных осложнений, затем в сторону Th2 нарушая противоопухолевый иммунитет;
- пострadiационная гибель супрессорных клеток приводит к аутоагрессии;
- страдает отрицательная селекция в тимусе, наблюдаются изменения антигенных свойств тканей и, как следствие, развитие аутоиммунных заболеваний;
- происходит ранее иммунологическое старение тимуса (облучение эпителия тимуса);
- снижается численность дендритных клеток;
- происходят дегенеративные изменения в гранулоцитах (токсическая зернистость) и снижение их числа до агранулоцитоза.

В итоге развивается:

- ✓ Иммунодепрессия;
- ✓ Иммунодефицит;
- ✓ Снижение резистентности к инфекциям;
- ✓ Аутоиммунные заболевания;
- ✓ Онкологические и лимфопролиферативные заболевания;
- ✓ Изменения кишечной микробиоты.

Следует отметить, что устранение причины является недостаточной мерой для купирования симптомов, т.к. дефект становится стабильным.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие клетки участвуют в реализации противоопухолевого иммунитета?
2. Каким образом происходит распознавание опухолевых клеток?
3. Опишите механизмы апоптоза.
4. Какие Вам известны стадии взаимоотношений опухоли и организма?
5. Охарактеризуйте опухолевые антигены.
6. Какова иммунодиагностика опухолей?
7. Обозначьте пути «ухода» опухолевых клеток из-под иммунного надзора.
8. Влияние ионизирующего излучения на иммунную систему.

Лекция №10

«Иммунологическая толерантность и аутоиммунитет»

Иммунологическая толерантность представляет собой специфическое подавление способности к иммунному ответу на уровне отдельных клонов лимфоцитов. При этом неотвечаемость распространяется только на антигены, индуцировавшие толерантность, тогда как способность к иммунному ответу на другие антигены сохраняется.

Естественная толерантность. Ауто толерантность и ее механизмы.

Механизмы, препятствующие развитию аутоиммунных заболеваний (АЗ), неразрывно связаны с механизмами формирования ауто толерантности, т.е. невосприимчивости иммунной системы к антигенам тканей собственного организма.

Толерантность может быть центральной и периферической. Также в настоящее время различают активные и пассивные механизмы формирования ауто толерантности.

Имеется 4 основных активных механизма формирования ауто толерантности

- 1) элиминация ауто специфических клонов (центральный механизм ауто толерантности);
- 2) редактирование генов ауто специфических рецепторов;
- 3) индукция анергии ауто специфических клонов (периферический механизм ауто толерантности);
- 4) подавление ауто специфического ответа регуляторными клетками (доминантный механизм ауто толерантности).

Пассивный механизм ауто толерантности представляет собой игнорирование ауто антигенов иммунной системой, обусловленное их низкой концентрацией или изоляцией от иммунной системы.

Центральная толерантность – это процесс формирования иммунологической толерантности, основанный на элиминации из организма аутореактивных иммунокомпетентных клеток, происходящий в центральных органах иммунной системы, преимущественно в тимусе.

В кортико-медуллярной зоне и мозговом слое тимуса тимоциты на стадии CD4⁺ CD8⁺ проходят этап *отрицательной селекции*. Ключевое событие этой селекции — распознавание TCR молекулы МНС, несущей пептидный фрагмент собственных белков-антигенов. В случае

высокого сродства TCR к антигенному эпитопу тимоцит получает сигнал, приводящий к развитию апоптоза. Таким образом, в результате отрицательной селекции из популяции Т-лимфоцитов элиминируются клоны клеток, распознающих антигены, презентруемые в момент селекции в тимусе, т.е. аутоантигены.

Отрицательной селекции подвергаются и В-лимфоциты. Ее проходят незрелые В-клетки фенотипа IgM+IgD- в костном мозгу и частично – в периферическом отделе иммунной системы. Гибель аутоспецифических В-клеток происходит вследствие апоптоза.

Периферическая толерантность – это подавление функциональной активности и элиминация аутореактивных клонов, выживших после отрицательной селекции в тимусе и покинувших вилочковую железу.

На периферии работают следующие механизмы:

- Игнорирование аутоантигенов (обусловленное их низкой концентрацией или изоляцией от иммунной системы)
- Раздельное местонахождение аутореактивных Т-клеток и аутоантигенов
- Редактирование и анергия
- Супрессорные и регуляторные механизмы

Игнорирование аутоантигенов.

Это результат слабой экспрессии антигенного пептида или его недоступности для распознавания аутореактивными клонами Т-лимфоцитов. Суть игнорирования состоит, в частности, в том, что антиген не может вызвать реакцию иммунной системы, если его концентрация в организме ниже пороговой.

Причины недоступности аутоантигенов для аутореактивных клонов:

- Ограниченное представительство в тканях нелимфоидного происхождения профессиональных АПК, что снижает вероятность распознавания органоспецифических антигенов аутореактивными клетками.
- Экспрессия антигена в плохо кровоснабжаемых тканях.
- Отсутствие реакции иммунной системы на антигены, изолированные от нее тканевыми барьерами в случае иммунологически привилегированных органов. В этом случае нарушение барьера может привести к развитию аутоиммунного процесса.

«Классические» иммунологически привилегированные органы – внутренние камеры глаза, головной мозг, семенники, яичники, волосяные фолликулы, а также беременная матка. Первоначально природу иммунологической привилегии однозначно связывали с наличием гематотканевого барьера, отсутствием лимфатического дренажа, т.е. с изоляцией органа от иммунной системы. Позднее выяснилось, что изоляция не является абсолютной, и в обеспечении иммунологической привилегированности участвуют другие механизмы, в том числе активные.

Раздельное местонахождение аутореактивных Т-клеток и аутоантигенов.

Оно достигается благодаря особенностям путей рециркуляции лимфоцитов: миграция «наивных» лимфоцитов ограничивается периферическими лимфоидными тканями и системным кровотоком. Это раздельное существование может нарушаться в результате развития патологических процессов, сопровождающихся повреждением органов и тканей, что приводит к массивному высвобождению тканевых антигенов в системный кровоток и создает предпосылки для развития аутоиммунного процесса. В большинстве случаев аутоиммунный процесс не запускается вследствие элиминации тканевых фрагментов макрофагами.

Редактирование и анергия.

Распознавание аутоантигена в периферическом отделе иммунной системы является сигналом для редактирования гена α -цепи TCR. В результате происходят изменения, приводящие к изменению специфичности TCR и утрате клеткой аутоспецифичности.

При сохранении аутоспецифичности Т-клетки условием формирования анергии (неотвечаемости) является отсутствие костимуляции при распознавании Т-клеткой аутоантигенов. Это происходит в ситуации, когда антиген представляется Т-лимфоциту непрофессиональной АПК, лишенной костимулирующих молекул CD80 и CD86, способных

осуществить дополнительную сигнализацию через молекулу CD28. В случае распознавания Т-лимфоцитом антигена на АПК в отсутствие костимуляции не формируется полноценный активирующий сигнал, и клетка подвергается анергии. Это явление специфично – анергии подвергаются конкретные клоны Т-лимфоцитов.

Супрессорные и регуляторные механизмы.

Регуляторные клетки имеют мембранный фенотип CD4⁺ CD25^{hi} CTLA-4⁺ и экспрессируют внутриклеточный дифференцировочный фактор FOXP3. Эти клетки препятствуют активации аутоспецифических эффекторных Т-лимфоцитов, если таковые избежали элиминации и анергии на других этапах индукции толерантности. Клетки типов Th3 и Tr1 подавляют ответ с помощью гуморальных факторов – TGF β и IL-10.

Аутоиммунитет и аутоиммунная патология.

Аутоиммунные реакции – это реакции иммунной системы на структурные компоненты органов и тканей собственного организма, т.е. аутоантигены.

Аутоиммунитет – это часть иммунитета, заключающаяся в распознавании аутоантигенов. При этом само по себе присутствие в организме аутоантител и аутореактивных клонов Т-лимфоцитов еще не означает наличие патологического процесса. У всех людей в сыворотке присутствуют небольшие количества «естественных» аутоантител, которые в силу слабого сродства к антигенам и ограниченности эффекторных функций не способны вызвать повреждение тканей. Концентрация таких антител невелика. Однако с возрастом она нарастает.

В основе же аутоиммунной патологии лежат только те формы иммунного ответа на собственные антигены, которые сопровождаются повреждением клеток, несущих аутоантиген, и вызывают иные нарушения тканевого гомеостаза.

Аутоиммунные процессы развиваются при нарушении механизмов развития и поддержания ауто толерантности.

Аутоиммунными заболеваниями называют патологические процессы, основой которых служит самоподдерживающийся иммунный ответ на собственные антигены организма, что приводит к повреждению клеток, экспрессирующих эти аутоантигены.

Общие черты аутоиммунных процессов:

- Основа аутоиммунных заболеваний – иммунные процессы. Все закономерности развития иммунного ответа находят отражение в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Факторы, подавляющие иммунный ответ, ослабляют, а иммуностимуляторы, наоборот, усиливают аутоиммунный процесс;
- Проявления аутоиммунных процессов во многом определяются локализацией аутоантигена в организм. Если он содержится только в определенном органе, поражение имеет локализованный характер, затрагивая соответствующий орган. В этом случае речь идет об органоспецифических аутоиммунных заболеваниях (инсулинозависимый сахарный диабет, тиреоидит Хашимото, вульгарная пузырчатка, первичный билиарный цирроз, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура и т.д.). При широкой распространенности аутоантигенов в организме развивается системный процесс, и тогда говорят об органонеспецифических (системных) аутоиммунных заболеваниях, например об СКВ (системная красная волчанка).
- Проявления аутоиммунной патологии зависят также от характера иммунных механизмов, преобладающих при ответе на аутоантиген. Может иметь место преимущественно клеточный иммунный ответ на аутоантиген (его цитотоксический или воспалительный тип) или гуморальный иммунный ответ с выработкой аутоантител, способных привлекать клеточные (фагоциты) и гуморальные (комплемент) эффекторные факторы;
- Аутоиммунные процессы всегда имеют затяжной характер с признаками самоподдержания в связи с невозможностью удаления аутоантигена из организма (т.е. его персистенцией).

Причины нарушения ауто толерантности.

К развитию аутоиммунной патологии может привести нарушение любого из процессов, обеспечивающих неотвечаемость на собственные антигены: элиминации клонов аутоспецифических лимфоцитов в процессе их развития, периферической анергии выживших аутоспецифических клонов, снижение активности регуляторных Т-клеток, а также возрастание уровня антигенов, концентрация которых исходно была ниже уровня, необходимого для распознавания иммунной системой.

Нарушения периферической толерантности обуславливаются:

1. Появлением молекул МНСII на поверхности клеток, не участвующих в презентации АГ в физиологических условиях. Например:

- органоспецифическая трансфекция генов МНС-II совместно с генами костимулирующих молекул (например, CD80) в клетки эндокринных органов (в типичном варианте – в β -клетки поджелудочной железы);

- появление молекул МНСII на клетках органов и тканей на фоне воспаления в результате выработки провоспалительных цитокинов, особенно $IFN\gamma$.

2. Недостаточностью регуляторных Т-клеток.

3. Преодолением игнорирования антигенов и нарушением их изоляции.

4. Перекрестными реакциями.

Сюда относятся варианты индукции иммунного ответа на чужеродные антигены, перекрестно реагирующие с аутоантигенами. Так, на перекрестной реактивности основано развитие аутоиммунных процессов при инфицировании патогенами, имеющими общие или перекрестно реагирующие эпитопы с собственными тканями организма.

Иммунологические механизмы повреждения при аутоиммунных процессах.

Повреждение тканей является неотъемлемой частью патогенеза аутоиммунных заболеваний.

Как отмечалось, основой патогенеза аутоиммунных заболеваний являются реакции гуморального и клеточного звеньев иммунитета.

Что касается реакций клеточного иммунитета, то одним из основных эффекторных механизмов, реализуемых при органоспецифических аутоиммунных процессах, является *цитотоксический механизм*, который обусловлен активностью цитотоксических $CD8^+$ Т-клеток. Он, например, лежит в основе поражения β -клеток поджелудочной железы при инсулинзависимом сахарном диабете. Цитотоксический механизм обуславливает локализованный тип поражения.

Воспалительный тип клеточного иммунного ответа, связанный с активностью Th17- и особенно Th1-клеток (или их продукта $IFN\gamma$), сопряжен с активацией макрофагов, например, при рассеянном склерозе и сахарном диабете I типа. Так, при инсулинзависимом сахарном диабете типа I высвобождаемые из β -клеток аутоантигены захватываются дендритными клетками и презентуются $CD4^+$ Т-лимфоцитам, которые дифференцируются в Th1-клетки и синтезируют $IFN\gamma$, в свою очередь активирующий макрофаги. Как уже отмечалось, одновременно дендритные клетки презентуют аутоантиген $CD8^+$ Т-клеткам. $CD8^+$ Т-клетки также участвуют в патогенезе рассеянного склероза.

При преобладании *гуморального аутоиммунного ответа* с образованием аутоантител классов IgG1 и IgG3 (при системных аутоиммунных заболеваниях) развитие процесса идет под преобладающим контролем Th2-клеток, и картину иммунного поражения определяют реакции, вызываемые антителами. Могут быть рассмотрены следующие механизмы реализации эффектов аутоантител:

1. цитотоксическое действие (цитотоксический тип гиперчувствительности – II тип по Джеллу и Кумбсу),
2. развитие локального воспаления с формированием иммунокомплексной патологии (тип III по Джеллу и Кумбсу),
3. эффекты, возникающие при взаимодействии антитела с клеткой-мишенью когда аутоантитела, реагирующие с молекулами поверхности клеток, оказывают как

блокирующее, так и стимулирующее действие (в зависимости от особенностей молекулы-мишени и связанных с ней сигнальных путей) (Y-тип гиперчувствительности).

Например, при микседеме аутоантитела к рецептору тиреотропного гормона, взаимодействуя с ним, блокируют его эффект, что выражается в гипотиреозе.

Для некоторых аутоиммунных заболеваний механизмы тканевого повреждения носят комплексный характер и протекают с участием как гуморального, так и клеточного звеньев иммунной системы.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие основные активные механизмы формирования ауто толерантности Вы знаете?
2. Как происходит формирование центральной толерантности в тимусе?
3. Назовите механизмы сдерживания ответа на аутоантигены на периферии.
4. Какова роль регуляторных Т-лимфоцитов в развитии периферической толерантности?
5. Что такое «иммунологически привилегированные органы»?
6. Что включает в себя понятие «аутоиммунитет»?
7. Какие вы знаете общие черты аутоиммунных процессов?
8. В чем заключаются механизмы нарушения периферической толерантности?
9. Какие иммунологические механизмы повреждения задействованы при аутоиммунных процессах?

Лекция №11

«Трансплантация и отторжение тканей»

Трансплантация (лат. trans planto -пересаживать) - это замена (замещение) поврежденных или отсутствующих органов, тканей и клеток здоровыми донорскими. Трансплантация стала возможной после изучения иммунологических механизмов отторжения пересаженного органа. В настоящее время проводится трансплантация различных органов (почек, печени, сердца, легких, поджелудочной железы), тканей (кожи) и гемопоэтических стволовых клеток. При этом при решении вопроса о возможности пересадки органа и тканей учитываются показания и противопоказания. Например, при пересадке почки противопоказаниями являются злокачественные новообразования, острые инфекции, тяжелые сопутствующие заболевания, системный атеросклероз, которые могут повлиять на приживление трансплантата.

Успех трансплантации зависит от степени родства между антигенами донора и реципиента. Следовательно, подбор максимально совместимых пар донор-реципиент является важной задачей при проведении трансплантации.

Известно, что по степени чужеродности антигены подразделяются на аутогенные, аллогенные, сингенные, ксеногенные. Лучший результат достигается при сингенной трансплантации, т.е. при генетической идентичности донора и реципиента (например, у однояйцевых близнецов). Аллотрансплантация тканей используется при пересадке роговицы, костей (обычно лиофилизированных), костного мозга, переливании крови и её компонентов. При трансплантации иммунная система реципиента распознает антигены трансплантата, что является причиной развития иммунного ответа, приводящего к отторжению трансплантата. В основе такого распознавания лежат генетические различия антигенных молекул. По иммуногенности антигены условно делят на «сильные» и «слабые». К «сильным» (майорным) антигенам относятся молекулы главного комплекса гистосовместимости, антигены системы ABO и Rh,

которые вызывают развитие острого отторжения трансплантата. «Слабые» (минорные) антигены (органо- и тканеспецифические антигены, антигены гистосовместимости, сцепленные с половыми хромосомами – H-Y, H-X) участвуют в формировании хронического отторжения. В связи с этим для предотвращения отторжения необходимо проведение типирования тканей. С этой целью используются лимфоцитотоксический тест, реакция смешанной культуры лимфоцитов, ДНК-типирование.

Лимфоцитотоксический тест для определения МНСI. Для типирования суспензию лимфоцитов смешивают и инкубируют с набором анти-HLA-антисывороток известной специфичности в присутствии комплемента. В случае наличия в сыворотке антител к одному из HLA-антигенов происходит их связывание. В дальнейшем активация комплемента приводит к цитолизу клетки-мишени. Затем добавляют краситель (эозин или трипановый синий), который поглощается только погибшими клетками, которые окрашиваются (живые клетки не поглощают краситель). По антисыворотке, вызвавшей лизис, определяют HLA-антиген.

Антигены МНС II выявляют в реакции смешанной культуры лимфоцитов. В данном тесте используются гомозиготные стимулирующие клетки. Если лимфоциты обследуемого индивидуума не реагируют на клетки данного типа, это значит, что они несут эту специфичность. Пролиферативный ответ оценивается по включению 3H-тимидина.

Для выявления у реципиента анти-HLA-антител против HLA-антигенов донорских клеток проводится перекрестная проба на гистосовместимость. Для проведения теста лимфоциты, полученные из крови донора, меченные ^{51}Cr , смешивают с сывороткой и комплементом реципиента и подвергают инкубации. Если в сыворотке крови реципиента будут содержаться антитела, специфичные HLA-антигенам лимфоцитов донора, их взаимодействие приведет к активации комплемента, и, как следствие, к лизису лимфоцитов донора. Доказательством будет являться высвобождение ^{51}Cr . В этом случае перекрестная проба считается положительной, что означает несовместимость донора и реципиента.

ДНК-типирование является наиболее современным молекулярно-генетическим методом определения генов HLA. Он основан на различных вариантах полимеразной цепной реакции (ПЦР) и молекулярной гибридизации. Принцип этих методов заключается в накоплении необходимого для анализа значительного количества ДНК путем её полимеризации и в использовании зондов, комплементарных анализируемому участку ДНК. При этом для ДНК-типирования может быть использована ДНК любых клеток.

Типирование по системам ABO, Rh-антигенам по тем же методикам, которые используются при переливании крови.

Таким образом, приживаемость трансплантата напрямую связана со степенью идентичности в первую очередь молекул гистосовместимости донора и реципиента.

Наряду с иммунологическими аспектами подбора донора, важным является исключение инфекционных заболеваний у потенциального донора, таких как ВИЧ-инфекция, гепатит В и С, ЦМВ-инфекция, ВЭБ-инфекция. Это связано с тем, что инфекционный процесс может явиться причиной серьезных осложнений в протрансплантационном периоде.

Отторжение трансплантата может произойти на разных сроках после пересадки. Различают следующие виды отторжения:

1. Сверхострое
2. Острое
3. Острое клеточное отторжение
4. Хроническое отторжение

Центральной клеткой иммунной системы, участвующей в развитии отторжения, является CD4+ лимфоцит. С иммунологической точки зрения различают 2 стадии отторжения: афферентную (узнавание чужеродного) и эфферентную (отторжение). В первую стадию CD4+

лимфоциты реципиента распознают чужеродные антигены МНС на клетках пересаженного органа. Стимуляция CD4+ лимфоцитов приводит к активации и последующей активации других клеток. Распознавание антигенов происходит по двум путям: в тканях пересаженного органа и в лимфоидной ткани реципиента.

К иммунным механизмам отторжения трансплантата относятся:

1. цитотоксическое и цитостатическое действие активированных макрофагов и нейтрофилов;
2. комплемент-опосредованная цитотоксичность;
3. адгезия тромбоцитов к антителам, фиксированным к эндотелию сосудов трансплантата, что приводит к образованию микротромбов;
4. фагоцитоз клетки-мишени, опсонизированной антителами С3-компонентом комплемента;
5. антителозависимая клеточная цитотоксичность;
6. повреждение NK- клетками;
7. прямое повреждение CD8+лимфоцитами

Сверхострое отторжение возникает в течение первых трех суток после трансплантации. Причиной может быть наличие предсуществующих анти-МНСI-антител или несовместимость по групповым антигенам системы АВО. Основной иммунный механизм – комплементопосредованная цитотоксичность.

Ускоренное сосудистое отторжение развивается в течение нескольких дней-недель, что связано с увеличением уровня антидонорских антител. Иммунный механизм аналогичен таковому при сверхостром отторжении.

Острое клеточное отторжение развивается через недели – месяцы после трансплантации. Иммунный механизм: реакция гиперчувствительности замедленного типа с появлением CD8+ лимфоцитов и активированных макрофагов.

Хроническое отторжение развивается через несколько месяцев – годы после трансплантации. В основе хронического отторжения лежат клеточные и гуморальные иммунные механизмы.

С целью профилактики отторжения аллотрансплантата в предоперационном, интраоперационном и посттрансплантационном периодах проводится *иммуносупрессивная терапия*. Современные иммуносупрессивные протоколы включают глюкокортикостероиды (например, метилпреднизолон), ингибиторы кальциневрина (например, такролимус), цитостатики (например, циклоспорин), азатиоприн. Для купирования кризов отторжения используют антилимфоцитарную сыворотку или антилимфоцитарный глобулин, антиtimoцитарную сыворотку в комплексе с азатиоприном, преднизолоном и другими препаратами.

После проведенной трансплантации реципиенты пожизненно получают иммуносупрессивную терапию на фоне проводимого мониторинга иммуносупрессии (контроль уровня препаратов в крови), а также динамического контроля иммунного статуса пациента.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что такое трансплантация?
2. Классификация антигенов по степени чужеродности.
3. Понятие главных и минорных антигенов в трансплантологии.
4. Антигены главного комплекса гистосовместимости, значение в трансплантологии.
5. Понятие о типировании тканей.
6. Суть лимфоцитотоксического теста для определения МНС I.
7. ДНК-типирование: характеристика и значение в трансплантации.
8. Классификация отторжения тканей.
9. Иммунные механизмы отторжения тканей.
10. Иммуносупрессивная терапия: цели, значение в профилактике криза отторжения.

Лекция №12

«Принципы оценки иммунного статуса»

Иммунный статус – состояние иммунной системы человека, оцениваемое системой качественных и количественных клинико-лабораторных показателей.

Иммунодиагностика - проведение клинического и лабораторного исследований, которые помогают выявить конкретные нарушения в иммунной системе.

Выделяют 4 группы заболеваний иммунной системы:

- Иммунодефициты
- Аутоиммунные заболевания
- Аллергические заболевания
- Лимфопролиферативные заболевания

Наибольшую диагностическую значимость исследование иммунного статуса имеет при установлении диагноза иммунодефицитов.

Задачи иммунодиагностики:

- Идентификация нарушенного звена иммунной системы
- Прогнозирование тяжести патологического процесса
- Оценка стадии и активности воспалительного процесса
- Разработка алгоритма индивидуальной иммунокоррекции
- Оценка эффективности проводимого лечения

Практика клинической иммунологии при постановке иммунологического диагноза ориентируется на сбор анамнеза, клиническое обследование больного и лабораторное исследование материалов. Врачи общего профиля и специалисты в различных областях медицины при сборе анамнеза и проведении клинического обследования больного обязательно должны уметь оценивать ключевые иммунологические проявления. Такой подход позволяет своевременно выявить признаки иммунопатологии, особенно в детской практике.

Анализ иммунологического анамнеза позволяет предварительно оценить характер, длительность и тяжесть иммунопатологического процесса. Обследование начинается со сбора иммунологического анамнеза по специально разработанным анкетам и опросникам, которые содержат следующие вопросы:

- Жалобы больного, с чем связывает возникновение симптомов?
- Подобные симптомы возникли в первый раз или повторно?
- Часто ли болеет в последнее время простудными заболеваниями?
- Не имеют ли они склонности к затяжному течению?
- Эффективность проведенной антибактериальной терапии
- Как развивался в детстве? Часто ли болел?
- Были ли медицинские отводы от профилактических прививок или «прививочные» инфекции?
- Сопутствующие заболевания
- Наследственность
- Характер профессиональной деятельности
- Подвергался ли воздействию ионизирующего излучения?
- Не проводилась ли в последнее время массивная медикаментозная терапия (антибиотики, гормоны, цитостатики)?
- Обследовался ли ранее у иммунологов? Были ли выявлены нарушения?
- Проводилась ли иммунокорректирующая терапия? Эффект?

Клиническое обследование больного включает объективный осмотр с более целенаправленной оценкой:

- состояния кожных покровов, видимых слизистых, с уточнением характера изменений;
- периферических органов иммунной системы (лимфатических узлов, лимфо-глоточного кольца, селезенки)

Важное значение в клинической иммунологии придают лабораторным методам исследования. Лабораторная иммунодиагностика необходима для подтверждения клинического диагноза, уточнения характера нарушений в иммунной системе и определения уровня поражений.

Впервые методологию иммунодиагностики заболеваний иммунной системы разработали Р.В. Петров и соавт. в начале 1980-х годов, сформулировавшие двухэтапный принцип оценки иммунной системы человека. В соответствии с этим принципом все методы иммунодиагностики разделены на тесты I и II уровней. До сих пор подобный подход к оценке иммунной системы широко применяют в клинической иммунологии.

Общие характеристики тестов оценки иммунного статуса (табл.1)

Уровень I	Уровень II
Ориентировочные	Аналитические
Доступны	Трудоемкие
Результат (несколько суток)	Результат (сутки, недели)
Не требуют дефицитных реактивов	Часто требуют дорогих реактивов
Информативны	Высоко информативны

Тесты I уровня позволяют выявить более общие («грубые») дефекты различных звеньев иммунной системы. В настоящее время минимальный набор таких тестов включает:

- 1) подсчет количества лейкоцитов, относительного и абсолютного числа лимфоцитов в периферической крови;
- 2) определение содержания относительного и абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, НК-клеток, основных естественных субпопуляций Т-лимфоцитов с использованием моноклональных антител (методом проточной цитофлуориметрии);
- 3) определение содержания сывороточных иммуноглобулинов основных классов (методом ИФА, иммунопреципитации в геле);
- 4) определение функциональной активности фагоцитов (тест фагоцитоза, НСТ-тест, Burst-тест);
- 5) определение активности комплемента;
- 6) возможен анализ других показателей (например, цитокинов).

Если выявлены отклонения показателей в тестах I уровня или при специальных показаниях, рекомендуется более тщательно анализировать иммунный статус.

Тесты II уровня позволяют выявить более тонкие и конкретные дефекты в иммунной системе, они направлены на углубленное изучение ее функционального состояния. На втором этапе в зависимости от конкретных задач определяют (комплекс тестов II уровня может существенно варьировать в зависимости от поставленных врачом задач):

- 1) количество субпопуляций Т-лимфоцитов: Th1-, Th2-, Th17-лимфоциты, естественные (Treg) и индуцированные (Tr1, Th3) регуляторные Т-клетки, НКТ-лимфоциты, $\gamma\delta$ Т-клетки и др.;
- 2) фенотипические характеристики клеток иммунной системы на разных этапах иммуногенеза и иммунопоэза (очень важно, например, в онкоиммунологии для определения природы и стадии развития малигнизированных лимфоцитов);

- 3) экспрессию активационных маркеров: CD25, CD69, CD71, HLA-DR и др.;
- 4) пролиферативный ответ Т- и В-лимфоцитов на митогены, антигены, аллогенные клетки;
- 5) активационный апоптоз в культуре лимфоцитов *in vitro*;
- 6) количество и функцию Th1-, Th2-лимфоцитов и регуляторных Т-клеток по внутриклеточному содержанию и выработке типичных цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-4, ТФР- β соответственно);
- 7) активность киллерных лимфоцитов (ЦТЛ, НК-клеток и др.) с определением гранзимов/перфорина и осуществлением апоптоза через Fas/FasL;
- 8) классы и подклассы сывороточных, секреторных и других иммуноглобулинов (IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgE); антитела разной специфичности, в том числе аутоантитела, иммунные комплексы, патологические иммуноглобулины;
- 9) синтез иммуноглобулинов в культуре В-лимфоцитов *in vitro*;
- 10) наиболее типичные цитокины в сыворотке крови и различных биологических жидкостях;
- 11) различные этапы фагоцитоза и рецепторного аппарата фагоцитов;
- 12) подавление миграции моноцитов *in vitro* в присутствии митогена или специфичного для Т-лимфоцитов антигена;
- 13) функцию рецепторов врожденного иммунитета (TLR и др.);
- 14) содержание различных компонентов комплемента;
- 15) результаты (при отсутствии противопоказаний) кожных тестов ГЗТ на туберкулин, антигены грибов, аллергены;

Для исследования иммунной системы используют различные **биологические материалы**:

- цельную периферическую кровь (как правило, венозная);
- сыворотку крови;
- плазму крови;
- клеточные элементы крови;
- спинномозговую жидкость;
- бронхоальвелярную жидкость;
- выделения слизистых секретов половых органов;
- выделения из носа;
- мочу;
- слезную жидкость, зубодесневую жидкость;
- супернатант с культивированием *in vitro* клеток;
- гомогенаты тканей (биопсия или *post mortem*);

Опыт применения иммунологических методов в клинической практике позволил сформулировать некоторые правила оценки показателей иммунного статуса клиницистом:

1. Комплексный анализ показателей иммунного статуса более информативен, чем оценка каждого показателя в отдельности.
2. Полноценный анализ показателей иммунного статуса можно проводить лишь в комплексе с оценкой клинической картины у данного больного.
3. Реальную информацию в иммунном статусе несут сильные сдвиги показателей, слабые сдвиги лишь позволяют повысить уверенность в правильности сделанного заключения.
4. Анализ показателей иммунного статуса в динамике всегда более информативен как в диагностическом, так и в прогностическом отношении, чем однократное его исследование.

5. Для диагностической и прогностической оценки показателей иммунного статуса важнейшее значение имеют индивидуальные значения нормальных величин данного пациента.
6. В подавляющем большинстве случаев анализ показателей иммунного статуса дает возможность делать ориентировочные, а не безусловные выводы диагностического и прогностического характера.
7. Первостепенную практическую значимость в лабораторном исследовании показателей иммунного статуса имеют соотношения различных популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток, а не их абсолютные значения.
8. Несоответствие сдвигов показателей иммунного статуса клинической картине течения заболевания свидетельствует о тяжелом, неблагоприятном развитии процесса.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что подразумевается под терминами «иммунодиагностика» и «иммунный статус»?
2. Сформулируйте основные задачи иммунодиагностики.
3. Перечислите основные этапы иммунодиагностики.
4. Каковы особенности иммунологического анамнеза?
5. Дайте общую характеристику и перечислите тесты I уровня.
6. Дайте общую характеристику и перечислите тесты II уровня.
7. Какие биологические материалы используются для оценки состояния иммунной системы человека?
8. Назовите основные правила оценки иммунного статуса.

Лекция №13

«Иммунодефициты»

Иммунодефициты (ИД) – это снижение количественных показателей и (или) функциональной активности основных компонентов иммунной системы, ведущее к нарушению защиты организма от микробов и проявляющееся повышенной инфекционной заболеваемостью.

Традиционно ИД подразделяют на первичные иммунодефициты и вторичные.

Первичные иммунодефициты (ПИД) – врожденные нарушения иммунной системы, связанные с генетическими дефектами одного или нескольких компонентов иммунной системы.

Синдром вторичной иммунной недостаточности (ВИН) – это нарушения иммунной системы, развивающиеся в позднем постнатальном периоде или у взрослых и характеризующиеся хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями, торпидными к традиционной стандартной терапии.

Первичные иммунодефициты:

Изучение ПИД началось в 50-х годах XX в., когда применение антибиотиков и иммуноглобулинов обеспечило выживание детей с пороками развития иммунной системы. Первый ИД был описан в 1952г. американским педиатром О. Брутоном. В настоящее время известно около 250 клинических форм генетически обусловленной иммунной недостаточности, примерно в 170 из них открыты генные дефекты.

Современная классификация ПИД представлена следующими группами:

- Группа 1 – комбинированные Т и В клеточные ИД (ТКИД);
- Группа 2 – преимущественный дефицит антител (ОВИН, агаммаглобулинемия, сцепленная с X-хромосомой, гипер IgM-синдром, селективный дефицит IgA);
- Группа 3 – ИД с синдромальной патологией (например, атаксия – телеангиэктазия);

- Группа 4 – генетические нарушения иммунной регуляции (например, X-сцепленная IPЕХ синдром – иммунорегуляция, полиэндокринопатия, энтеропатия; X-сцепленный лимфопролиферативный синдром и др.);
- Группа 5 – врожденные дефекты фагоцитов (числа и/или функций, например, гипер IgE-синдром, синдром Чегиака-Хигаси, ХГБ);
- Группа 6 – дефекты врожденного иммунитета и сигнальных компонентов;
- Группа 7 – аутовоспалительные синдромы (характеризуются рецидивирующим генерализованным воспалением в отсутствие явных инфекционных или аутоиммунных причин, например, семейная средиземноморская лихорадка);
- Группа 8 – дефициты комплемента;
- Группа 9 – фенокопии ПИД, это наследуемые ИД, не связанные с мутациями в генах «зародышевой линии». Ассоциированы с соматическими мутациями в генах, которые могут приводить к появлению, например, аутоантител к цитокинам, истощению цитокинов и в дальнейшем к развитию ИД.

В клинической картине первичного иммунодефицита выделяют:

1. Инфекционный синдром;
2. Лимфопролиферативный синдром;
3. Аутоиммунный синдром;
4. Атопический синдром;
5. Опухолевый синдром.

Ведущее место в клинике ПИД занимает инфекционный синдром, который в той или иной степени наблюдается у всех больных с ПИД и характеризуется проявлениями, отражающими имеющийся дефект в иммунной системе.

Общая клиническая характеристика ПИД с преимущественным поражением Т-лимфоцитов:

- Появление симптомов в грудном возрасте (4-5 месяцев);
- Повторные инфекционные заболевания, вызываемые вирусами, грибами, микобактериями;
- Инфекционные заболевания, вызываемые оппортунистическими микроорганизмами;
- Фатальные инфекционные заболевания, развившиеся в результате вакцинации живыми вирусными вакцинами или VCG;
- Увеличение риска малигнизации.

Общая клиническая характеристика ПИД с преимущественным поражением В-лимфоцитов:

- Появление симптомов в возрасте 7-9 месяцев после исчезновения материнских антител;
- Повторные инфекционные заболевания, вызванные инкапсулированными бактериями;
- Хронические очаги инфекции (синуситы, отиты, пневмонии, бронхоэктазы), гнойные лимфадениты, абсцессы;
- Менингиты, септицемия, остеомиелиты, возникшие в результате гематогенного распространения патогена;
- Редкая заболеваемость грибковыми и вирусными инфекциями;
- Выживаемость до зрелого возраста при проведении заместительной терапии;
- Повышенная частота аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Таким образом, признаками, которые должны настораживать врача первичного звена в отношении ПИД согласно международным рекомендациям являются:

- Частые отиты (6-8 раз в год и чаще);
- Синуситы (4-6 раз в год);
- Пневмонии (2 раза в год и чаще);
- Абсцессы кожи и внутренних органов, особенно повторные «холодные» абсцессы без классических признаков воспалительной реакции;
- Не менее 2-х перенесенных тяжелых инфекций, таких как менингит, остеомиелит, сепсис;
- Необходимость в длительной антибиотикотерапии для купирования инфекции в течение 2 месяцев и более;
- Отставание ребенка в росте и массе в сравнении с возрастной нормой;
- Персистирующая молочница или грибковые поражения кожи в возрасте старше 1 года;
- Указание на наличие в семье больных ПИД, ранние смерти детей от тяжелых инфекций.

Общие принципы лечения больных с ПИД:

- Лечение и профилактика бактериальных, вирусных, грибковых, микобактериальных инфекций;
- Заместительная терапия (препараты иммуноглобулинов, цитокинов);
- Трансплантация костного мозга и стволовых клеток;
- Генотерапия.

Синдром вторичной иммунной недостаточности (ВИН):

Синдром ВИН – это не нозологическая форма, а клинико-патогенетическая характеристика транзиторных нарушений иммунной системы как у детей, так и у взрослых, не связанных с генетическими дефектами иммунной системы. ВИН развиваются в разном возрасте на фоне ранее нормально функционировавшей иммунной системы, вследствие разнообразных причин (травмы, тяжелые онкологические заболевания, ионизирующая радиация, лекарственные препараты, нарушения питания, стресс и др.).

В настоящее время нет единой классификации ВИН. В России наиболее признанной является классификация Р.М. Хаитова, Б.В. Пинегина (1999г.), выделяющая следующие формы ВИН:

1. Индуцированная форма (вследствие конкретной причины или вторично по отношению к основному заболеванию – сахарный диабет, заболевание печени, почек и т.д.);
2. Спонтанная форма (характеризуется отсутствием явной причины, клинически проявляется в виде хронических часто рецидивирующих инфекционно-воспалительных заболеваний органов и систем, вызванных условно-патогенными микроорганизмами);
3. СПИД (ВИЧ-инфекция).

Подобно тому, как выше были обозначены клинические признаки ПИД, позволяющие врачу своевременно заподозрить первичный иммунодефицит у больного, в настоящее время сформулированы и клинические признаки ВИН, главными из которых являются различные проявления *инфекционного синдрома* у пациента с ВИН:

- Часто рецидивирующие хронические бронхиты в сочетании с заболеваниями ЛОР-органов (гнойные синуситы, отиты и др.);
- Часто рецидивирующие бактериальные инфекции кожи и подкожной клетчатки;
- Рецидивирующие герпесвирусные инфекции различной локализации;
- Грибковые поражения кожи и слизистых оболочек;

- Более 2-х случаев пневмоний в год;
- Лимфаденопатия, повторные лимфадениты;
- Длительный субфебрилитет – лихорадка неясной этиологии;
- Частые ОРВИ (более 5 эпизодов в год);
- Генерализованные инфекции (сепсис, менингит);
- Отсутствие адекватного клинического эффекта после назначения стандартной терапии.

Таким образом, основными признаками ВИН являются:

- Отсутствие генетического дефекта развития иммунной системы;
- Возникновение ВИН на фоне ранее нормально функционировавшей иммунной системы;
- Наличие нескольких клинических проявлений в виде очагов хронической инфекции;
- В иммунном статусе изменения показателей системы врожденного и адаптивного иммунитета носят непостоянный характер;
- Возможность достижения клинико-иммунологического эффекта при проведении адекватной терапии или спонтанное выздоровление.

Следовательно, для успешной и своевременной диагностики иммунодефицитов необходим тщательный анализ данных иммунологического анамнеза, направленного на выявление признаков и характера инфекционного синдрома, возможных причин развития ИД, анализа данных семейного анамнеза и т.д., а также проведения лабораторной диагностики (исследование иммунного статуса) для идентификации нарушенного звена иммунной системы.

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте определение иммунодефицитов.
2. Дайте определение первичных иммунодефицитов.
3. Дайте определение синдрома вторичной иммунной недостаточности.
4. Каковы клинические признаки ПИД?
5. Каковы клинические признаки синдрома вторичной иммунной недостаточности?
6. Какова общая клиническая характеристика ПИД с преимущественным поражением Т-лимфоцитов?
7. Какова общая клиническая характеристика ПИД с преимущественным поражением В-клеточного звена иммунной системы?
8. Каковы общие принципы лечения больных с ПИД?

Лекция №14

«Иммунология ВИЧ/СПИД»

Характеристика вируса иммунодефицита человека. Вирус иммунодефицита человека принадлежит к семейству РНК-содержащих ретровирусов, подсемейству лентивирусов. Все лентивирусы обуславливают очень медленно протекающие инфекции с чрезвычайно длинным инкубационным клиническим периодом.

Выделяют два варианта вируса иммунодефицита человека: ВИЧ-1, ВИЧ-2. Они различаются на основе геномной последовательности. Наиболее распространен во всем мире ВИЧ-1. Основной белок нуклеокапсида ВИЧ - р24. В нуклеокапсиде содержатся две одноцепочечные молекулы РНК, комплекс ферментов (обратная транскриптаза-р64, интегразы-

p32, РНК-полимераза, протеиназа). На оболочке вируса имеются гликопротеины gp160, состоящие из надмембранной части gp 120 (отвечает за распознавание и взаимодействие с молекулой CD4) и внутримембранной- gp 41(помогает вирусу внедриться в клетки-мишени и снять оболочку после проникновения в мишень). В двух молекулах односпиральной РНК локализуется 9 генов, кодирующих 15 белков ВИЧ. Выделяют три группы структурных генов: Env-гены, кодирующие антигены оболочки вируса, Gag – гены, кодирующие антигены сердцевины вируса, Pol – гены ферментов. Белки, кодируемые регуляторными генами (vif, vpr, vpu, tat, rev, nef), важны для формирования вириона и его взаимоотношений с клеткой.

ВИЧ-1 инфицирует в основном лимфоциты, моноциты/макрофаги, дендритные клетки и клетки микроглии ЦНС. На поверхности всех этих клеток происходит экспрессия молекулы CD4, обладающей высоким сродством к молекуле gp120. Также известны ко-рецепторы к ВИЧ-1-CCR5 (экспрессируется на макрофагах и фолликулярных дендритных клетках) и CXCR4 (экспрессируется на CD4 молекулах Т-клеток). Тем временем у ВИЧ-1 имеется два штамма: ВИЧ-1 Х4 штамм обладает большей тропностью к ко-рецептору CXCR4 и штамм R5, который легче связывается с CCR5, в связи с этим Х4 вирус также известен как тропный к Т-клеткам, R5-к макрофагам.

Вначале ВИЧ-1 инфицирует макрофаги и дендритные клетки, связывая вирус через поверхностные молекулы CD4 и CCR5. R5 – вирусы не участвуют в образовании синцития. Позже происходит инфицирование CD4+ Т-клеток путем связывания поверхностных молекул CD4 и CXCR4. Эти Х4 ВИЧ-1 штаммы участвуют в образовании межклеточного синцития. Описаны штаммы ВИЧ-1 с двойным тропизмом. Если проникновение ВИЧ произошло через слизистую оболочку, то доминирует штамм R5. Если инфицирование происходит парентерально, то с самого начала заболевания преобладает агрессивный штамм Х4.

Таким образом, парентеральный путь передачи вируса служит независимым фактором неблагоприятного прогноза. Как только ВИЧ проник в клетку хозяина (процесс снятия оболочки), фермент обратная транскриптаза начинает образовывать молекулу ДНК из вирусной РНК. После процесса транскрипции вирусная ДНК проникает в ядро клетки и встраивается в клеточную ДНК. Процесс интеграции (встраивания) катализируется ферментом интегразой. После фазы интеграции, если клетка активировалась, происходит транскрипция и трансляция вирусной ДНК. Далее вновь образованные вирусные частицы проходят через процессы заключительной обработки и сшивания, и затем готовые и зрелые вирионы покидают активную инфицированную клетку. Вирусные протеазы являются важнейшими ферментами на конечных стадиях сшивания и созревания вируса.

Пути передачи вируса. Источник – ВИЧ-инфицированный человек в любой период течения инфекционного процесса. Вирус обнаруживают во всех биологических жидкостях зараженного человека, но в разных титрах: максимальная концентрация в крови, сперме, вагинальном отделяемом, грудном молоке. В то же время в слюне и слезной жидкости могут находиться лишь единичные экземпляры вируса. Инфицированный человек наиболее заразен при наличии виремии, т.е. через короткое время после заражения, а также в период наиболее тяжелых проявлений иммунодефицита. Пути заражения ВИЧ: парентеральный, половой, вертикальный. В группу риска парентерального заражения входят внутривенные наркоманы; медицинские работники, контактирующие с продуктами крови и жидкостями организма; пациенты, получающие трансфузии крови и ее продуктов. Вертикальный путь инфицирования происходит по одному из трех вариантов: антенатальному – транспланцентарный, интранатальному – в родах, постнатальному – в результате грудного вскармливания. ВИЧ не

передается бытовым путем (при рукопожатии, через общую посуду и столовые приборы, при пользовании ванной и туалетом, которыми пользуются ВИЧ-инфицированные), через кровососущих насекомых, воздушно-капельным путем при чихании и кашле.

Таким образом, на передачу ВИЧ-инфекции влияют следующие факторы: титр вируса, стадии заболевания, наличие местных травм, особенности эпителиальных рецепторов, интенсивность экспозиции вируса.

После попадания ВИЧ-1 на слизистую оболочку наблюдается селективное инфицирование дендритных клеток. Далее инфицированные клетки и CD4 + лимфоциты проникают в региональные лимфатические узлы, где происходит распространение вируса в активированные CD4+ лимфоциты. В последующем инфицированные вирусом клетки попадают в кровяное русло, откуда вирус распространяется в органы. Неизвестен точный механизм гибели инфицированных CD4+лимфоцитов. Возможными механизмами гибели являются направленный цитопатический эффект ВИЧ на CD4+ клетки и синцитиеобразование, приводящее к образованию многоядерных гигантских нежизнеспособных клеток, апоптоз.

Иммунопатогенез. В организме инфицированного ВИЧ-инфекция индуцирует развитие и гуморального и клеточного иммунного ответа. Острая вирусная инфекция характеризуется быстрым образованием антигенспецифичных клонов CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов. CD8+ Т-киллеры убивают зараженные клетки до выхода вируса из клетки, прерывая тем самым репликацию вируса, приводя к замедленному прогрессированию заболевания (длительный бессимптомный период). Таким образом, первоначально наблюдается быстрое падение содержания вируса в крови, однако, несмотря на реализацию механизмов адаптивного иммунитета, исчезновения его не происходит, вирусная репликация продолжается в различной степени во время разных фаз ВИЧ-инфекции. В последующем вследствие истощения CD4+ лимфоцитов наблюдается ухудшение течения как клеточного (Th1-зависимого), так и гуморального (Th2-зависимого) иммунного ответа. Снижение количества и функциональной активности Th2 адаптивной субпопуляции Т-лимфоцитов приводит к недостаточной активации В-клеток, в результате чего не происходит переключения синтеза иммуноглобулинов с IgM на IgG, снижается способность CD4+ Т-лимфоцитов синтезировать ИЛ-2. Кроме того, наблюдается и ослабление цитотоксической активности CD8+ Т-клеток; снижается их пролиферативная активность. Таким образом, в дальнейшем, несмотря на наличие антигенспецифических CD4+ и CD8+Т-клеток, происходит интенсивная репликация вируса и возникает состояние относительного гуморального иммунодефицита с восприимчивостью к стафилококковой или стрептококковой флоре, особенно в хронической стадии инфекции. В свою очередь клеточный иммунный ответ оказывается также не способным элиминировать вирус из организма в связи с высокой приспособляемостью вируса, основанной на его изменчивости. Неэффективны оказываются и НК-клетки, хотя они не являются объектом прямого инфицирования вирусом.

Лабораторная диагностика ВИЧ.

Для постановки диагноза необходимо **лабораторное определение** специальных маркеров ВИЧ, среди которых выделяют **обязательные и дополнительные**.

Специфические лабораторные маркеры ВИЧ-инфекции:

- **Обязательные** – определение анти-ВИЧ-антител.
Выявление методом ИФА антител к gp120, gp41, gp120/160 и др.
Определение методом иммуноблота антител к двум и более антигенам ВИЧ. (Иммуноблоттинг – качественный метод, позволяющий выявить антитела одновременно к ряду антигенов ВИЧ.)

- **Дополнительные** - определение антигенов ВИЧ
Определение ВИЧ в лимфоцитах методом ПЦР
Определение p24-антигена методом ИФА
Выделение ВИЧ в культуре *in vitro*.

Неспецифические лабораторные маркеры:

- Уменьшение количества CD4+ Т-клеток (менее 500/мкл)
- Снижение иммунорегуляторного индекса (соотношение CD4+ / CD8+ Т-клеток) меньше 1
- Гипергаммаглобулинемия (повышение концентрации IgA, IgM, IgG) или гипогаммаглобулинемия в терминальной стадии;
- Увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов
- Снижение продукции цитокинов;
- Ослабление ответа лимфоцитов на антигены и митогены
- Лейкопения, лимфопения, тромбоцитопения, анемия
- Повышение уровня бета2-микроглобулина и СРБ
- Повышение активности трансаминаз в сыворотке

Вопросы для самоконтроля:

1. Приведите характеристику вируса иммунодефицита человека.
2. Какие белки ВИЧ Вам известны?
3. Каковы формы существования генома ВИЧ?
4. Какие клетки-мишени для ВИЧ Вам известны?
5. Каков механизм инфицирования вирусом иммунодефицита человека клеток-мишеней?
6. Как происходит образование провируса?
7. Каким образом происходит активация провируса?
8. Каковы пути передачи вируса иммунодефицита человека?
9. Каков иммунопатогенез ВИЧ-инфекции?
10. Что понимается под понятием сероконверсии?
11. Каково цитопатогенное действие вируса на клетки при ВИЧ-инфекции?
12. Какие методы включает лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции?

Лекция №15

«Реакции гиперчувствительности»

Под термином *«гиперчувствительность»* понимают неадекватно выраженное проявление иммунных процессов, способное вызвать повреждение тканей организма.

До настоящего времени востребованной является классификация гиперчувствительности, предложенная П. Джеллом и Р. Кумбсом в 1969г. Согласно их теории, возможны 4 варианта реализации реакций гиперчувствительности. Однако недавно международным сообществом иммунологов была внесена поправка: из гиперчувствительности II типа выведены те случаи, когда имеет место так называемая рецепторная гиперчувствительность (V тип).

Таким образом, по механизму развития выделяют следующие *типы гиперчувствительности*:

- *Анафилактический;*
- *Цитотоксический;*
- *Иммунокомплексный;*

- *Клеточно-опосредованный;*
- *Антирецепторный.*

I тип – **IgE-опосредованный, анафилактический** (гиперчувствительность немедленного типа).

Аллергены, попадая в организм, индуцируют Th2-зависимый ГИО, итогом которого является образование антител IgE-класса (реагинов). При развитии первичного ответа на аллергены факторами, благоприятствующими формированию Th2-ответа, служат условия микроокружения дендритных клеток, поглощающих аллерген в слизистых оболочках. Наиболее существенно при этом отсутствие классических воспалительных стимулов, приводящих к формированию дендритных клеток типа DC1, а также действие на дендритные клетки IL10, продуцируемого тучными клетками. В результате формируются DC2 – продуценты IL4 (а не IL12, как при воспалительном иммунном ответе). DC2 мигрируют в региональный лимфатический узел и, презентуя антиген CD4+ Т-лимфоцитам в присутствии IL4, направляет их развитие в направлении Th2, которые секретируют классические цитокины Th2, в том числе IL4.

При последующем поступлении аллергена его презентация DC2 или В-лимфоцитами Т-клеткам памяти может происходить на месте, обычно в слизистых оболочках. В этом случае в еще большей степени проявляется эффект микроокружения, способствующего дифференцировке Th2-клеток (наличие источников IL4). В качестве источника IL4, необходимого для запуска дифференцировки Th2-клеток, выступают тучные клетки, НК, НКТ, а также эозинофилы, если они присутствуют в микроокружении.

Распознавание комплекса TCR ведет к активации Т-клеток, в результате которой происходит секреция IL4 и других цитокинов. Взаимодействие IL4 со своим рецептором на В-лимфоцитах является необходимым сигналом для переключения синтеза В клетками иммуноглобулинов других изотипов на синтез IgE при обязательном параллельном взаимодействии В и Т-клеток. В дальнейшем IgE фиксируются на высокоаффинных рецепторах тучных клеток и базофилов и низкоаффинных рецепторах других клеток, таких как моноциты, эозинофилы, В-лимфоциты. В результате перекрестного связывания аллергеном высокоаффинных рецепторов к Fc-фрагменту IgE происходит активация тучных клеток и базофилов, в результате запускается каскад биохимических процессов, приводящих к высвобождению медиаторов аллергии. Первоначально высвобождаются предобразованные факторы (гистамин, гепарин, химаза, триптаза, хемотаксический фактор эозинофилов и др.), которые немедленно проявляют свое действие. Вторая волна выделения активных молекул активированными тучными клетками связана с секрецией эйкозаноидов (липидные метаболиты, производные арахидоновой кислоты: лейкотриены E4, D4, C4; простагландин D2; тромбоксан A2). В целом, указанные медиаторы вызывают: расширение и повышение проницаемости сосудов, сокращение гладких мышц бронхов, кишечника, матки, усиление секреции слизи, хемотаксис эозинофилов, нейтрофилов. Следствием действия медиаторов является появление клинической симптоматики у больного: зуд глаз, кожи, носа, гиперемия, отек, бронхоспазм, чихание, водянистые выделения из носа и т.д.

Таким образом, описанные события составляют *раннюю фазу аллергической реакции*.

Поздняя фаза аллергической реакции развивается через 4-6 часов после воздействия аллергена. Она обусловлена привлечением из циркуляции крови эозинофилов, базофилов и нейтрофилов цитокинами, синтезируемыми тучными клетками и Th2-лимфоцитами (IL4, IL5, IL9, IL13), а также хемокинами. Эти цитокины, а также белки из гранул эозинофилов определяют

развитие местной воспалительной реакции по типу «эозинофильного воспаления», патогенетически отличающегося от классического «макрофагального» воспаления.

К нозологическим формам, протекающим по I-му типу аллергических реакций, относятся такие заболевания как аллергический ринит, атопическая форма бронхиальной астмы, крапивница, анафилактический шок.

II тип- цитотоксический:

Первичный контакт с аллергеном индуцирует ГИО с выработкой антител, относящихся к классу IgM и IgG. Таким образом, цитотоксический тип гиперчувствительности развивается при участии иммуноглобулинов класса M и G, чаще IgG. Они соединяются с антигеном на поверхности клетки, сформированный комплекс антиген-антитело активирует комплемент по классическому пути, что приводит к сборке МАК и лизису атакуемой клетки. Другой механизм клеточной цитотоксичности может осуществляться клетками, экспрессирующими рецепторы FcγIII (фагоциты, НК-клетки), что также приводит к повреждению и лизису клетки. Следует отметить, что в этой ситуации антиген может быть как чужеродным агентом, прикрепившимся к мембране одной из клеток организма, так и продуктом собственного тела (например, рецептором эритроцита или тромбоцита, тогда индуцируется гемолитическая анемия или тромбоцитопеническая пурпура).

Клинические проявления: лекарственная аллергия, трансфузионные реакции, тромбоцитопении, гемолитическая анемия, гемолитическая болезнь новорожденных, аутоиммунные заболевания.

III тип – цитотоксичность, опосредуемая иммунными комплексами:

Этот тип гиперчувствительности реализуется, когда циркулирующие антитела преимущественно класса IgG, образуя комплексы антиген-антитело, присоединяют комплемент, активация которого вызывает повреждение эндотелия сосудов. В дальнейшем циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) могут откладываться в различных тканях, где вырабатывающиеся в результате активации системы комплемента токсические субстанции вызывают повреждение тканей вплоть до некроза. ЦИК откладываются на сосудистой стенке, базальных мембранах, и на тех структурах, где есть Fc-рецептор.

Клинические проявления: реакция м.б. генерализованной – сывороточная болезнь, либо вовлекать отдельные органы и ткани, включая кожу (СКВ, феномен Артюса), почки (хронический гломерулонефрит), суставы (ревматоидный артрит).

IV тип – замедленная гиперчувствительность:

(Синоним гиперчувствительность замедленного типа – ГЗТ.) Иммунный ответ опосредован CD4+ - Th1 клетками, ранее сенсибилизированными антигеном. При повторном воздействии того же антигена в комплексе с молекулами МНСII Th1 клетки отвечают секрецией цитокинов, ответственных за развитие в течение последующих 24-48 часов симптомов хронического воспаления (замедленная гиперчувствительность). Активированные макрофаги поглощают антигены, но в связи с отсутствием антигенной специфичности могут также повреждать нормальные клетки.

Клинические проявления: аллергические контактные дерматиты, острые токсико-аллергические реакции (ОТАР), инфекционные гранулемы (туберкулез, лепра и др.) и т.д.

Vтип. Недавно международным сообществом иммунологов была внесена поправка: из гиперчувствительности II типа выведены те случаи, когда имеет место так называемая рецепторная гиперчувствительность. Антирецепторные реакции связаны с наличием антител (IgG) к физиологически важным детерминантам клеточной мембраны – рецепторам

(ацетилхолиновые рецепторы, бета-адренорецепторы, инсулиновые рецепторы, рецепторы для тиреоидного гормона, ТТГ). Реакция антител с рецепторами клеток может способствовать стимуляции, либо блокаде эффекта этих клеток.

Злокачественная миастения: аутоантитела против ацетилхолина на клетках мышц блокируют их связывание и активацию мышечных сокращений, что ведет к мышечной слабости.

Стимуляция рецептора для ТТГ имитирует действие ТТГ и, таким образом, стимулирует функцию щитовидной железы (болезнь Грейвса).

Таким образом, большинство реакций гиперчувствительности, лежащих в основе развития тех или иных аллергических заболеваний, протекает по первому типу гиперчувствительности, к ним относятся бронхиальная астма, аллергический ринит, аллергический конъюнктивит, атопический дерматит, крапивница и ангиоотек, пищевая аллергия. Подробнее об этих заболеваниях речь пойдет в следующей лекции.

Вопросы для самоконтроля:

1. Как вы понимаете термин «гиперчувствительность»?
2. Какие типы гиперчувствительности предусматривает классификация Джелла и Кумбса?
3. В чем суть реакций гиперчувствительности I-го типа. Какие клинические проявления этого типа реакции Вам известны?
4. В чем суть реакций гиперчувствительности II-го типа. Какие клинические проявления этого типа реакции Вам известны?
5. В чем суть реакций гиперчувствительности III-го типа. Какие клинические проявления этого типа реакции Вам известны?
6. В чем суть реакций гиперчувствительности IV-го типа. Какие клинические проявления этого типа реакции Вам известны?
7. Какой механизм подразумевается современной классификацией под V-типом гиперчувствительности?

Лекция №16

«Аллергические заболевания органов дыхания и кожи»

Аллергия – от греческого *allos* (другой) и *ergos* (действие, реакция) – иная, измененная реакция организма. Таким образом, аллергия – это особенность реакции организма, связанная с реализацией специфического иммунного ответа на экзогенные вещества, которые проникли в организм, преодолев защитные барьеры.

Термин «аллергия» был введен в 1906 г. австрийским педиатром Клеменсом Фон Пирке. Он заметил, что наблюдаемые симптомы у некоторых его пациентов могли быть вызваны определенными веществами из окружающей среды (аллергенами): пылью растений, бытовой пылью, пищевыми продуктами и др.

В 1963 г. британские иммунологи Филипп Джелл и Робин Кумбс выделили 4 основных типа реакций гиперчувствительности. Термин аллергия был сохранен за первым типом.

Кроме того, в аллергологии часто используется термин «атопия».

Атопия (от греч. *atoria* – необычное, странное): термин ввел А.Ф. Кока в 1922г. для определения наследственных форм повышенной чувствительности организма, которые

характеризуются наличием гуморальных антител и встречаются, главным образом, у людей. Он же ввел понятие «атопические антитела» (IgE-антитела, реагины).

Аллергические (атопические) болезни – это заболевания, возникающие в результате IgE-опосредованной гиперчувствительности к аллергену.

Доказано, что в патогенезе атопических заболеваний важную роль играет наследственная предрасположенность, в частности, наследование некоторых генов. При этом у пациента, при первичном контакте с аллергеном, формируется «сенсibilизация».

Сенсibilизация (от лат. *sensibilis* – чувствительный) обозначает повышение чувствительности организма к воздействию какого-либо фактора окружающей среды (аллергенам).

Аллергические реакции развиваются только в сенсibilизированном организме при повторном контакте с аллергеном.

Аллергены – вещества, в основном белки или низкомолекулярные соединения – антигены, которые при первом поступлении в организм, предрасположенный к развитию аллергии, вызывает сенсibilизацию (индуцирует ГИО с выработкой специфических IgE-антител), а при последующих проникновениях провоцирует клинические проявления аллергических реакций.

Патогенез аллергических реакций:

В развитии любой аллергической реакции условно выделяют 3 стадии:

1. *Иммунологическая стадия* – индукция аллергеном иммунного ответа с выработкой аллергенспецифических антител или Т-эффекторных лимфоцитов. При повторном попадании причинно-значимого аллергена в уже сенсibilизированный организм происходит взаимодействие аллергена с антителами или соответствующими лимфоцитами, что и приводит к развитию следующей стадии аллергической реакции.
2. *Патохимическая стадия* заключается в образовании и выделении биологически активных веществ – медиаторов аллергии.
3. *Патофизиологическая стадия* – стадия клинических проявлений.

Эпидемиология аллергических заболеваний (АЗ):

АЗ – глобальная медико-социальная проблема. Более 20% населения планеты страдает аллергическими заболеваниями. Ежегодно во всем мире регистрируется рост аллергопатологии. За последние 30 лет распространенность АЗ повсеместно удвоилась. По данным ВОЗ, в настоящее время около 5% взрослого и 15% детского населения планеты имеют признаки АЗ.

Каковы причины роста АЗ?

- Широкое распространение искусственного вскармливания детей;
- Прочное внедрение в быт средств для дезинфекции, дезинсекции и т.д.;
- Уменьшение инфекционного бремени;
- Резкое ухудшение экологии;
- Бесконтрольное, широкое применение медикаментов;
- Изменение характера питания;
- Острый и хронический стресс и др.

Особенно тревожным является рост АЗ у детей, ежегодный прирост которого составляет 4,8%. Наиболее заметно увеличение различных форм АЗ у детей первого года жизни – 32,7% от их общего числа.

Принципы диагностики АЗ:

- Сбор и анализ данных аллергологического анамнеза;
- Физикальное обследование;
- Тесты *in vivo* (кожные пробы и провокационные пробы с аллергенами);
- Тесты *in vitro* (лабораторные методы исследования).

Основные аллергические заболевания:

Бронхиальная астма.

Бронхиальная астма - гетерогенное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением дыхательных путей, наличием респираторных симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди и кашель, которые варьируют по времени и интенсивности и проявляются вместе с вариабельной обструкцией дыхательных путей (GINA 2017).

Таким образом, в настоящее время выделяют ряд фенотипов БА, различающихся по патогенезу: аллергическая БА, неаллергическая БА, бронхиальная астма с поздним началом, БА с фиксированным ограничением скорости воздушного потока, бронхиальная астма на фоне ожирения

Фенотип – это набор признаков, которые формируются на основе генотипа пациента под воздействием окружающей среды.

Аллергическая БА – это наиболее легко распознаваемый фенотип БА, который часто впервые проявляется в детстве и ассоциируется с наличием аллергического заболевания, такого как атопический дерматит, аллергический ринит или пищевая либо лекарственная аллергия в личном и/или семейном анамнезе. При исследовании мокроты, полученной до лечения, у таких пациентов часто выявляется эозинофильное воспаление дыхательных путей. Пациенты с этим фенотипом БА, как правило, хорошо отвечают на лечение ИГКС.

Классификация БА:

- По этиологии;
- По степени тяжести;
- По уровню контроля.

В диагностике аллергической формы БА наряду с проведением специфической диагностики в аллергологическом кабинете, ключевые позиции занимает исследование функции внешнего дыхания с исследованием ОФВ1 и ПОС, а также проведением теста с β 2-адреномиметика, позволяющему доказать обратимость бронхиальной обструкции.

Принципы терапии БА включает:

- Элиминация аллергена, направленная на исключение или ограничение контакта с причинно-значимым аллергеном;
- Фармакотерапия (базисная противовоспалительная и симптоматическая). Базисная терапия подразумевает назначение ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС), антилейкотриеновых препаратов, комбинированных препаратов (ИГКС и длительно действующих β 2-агонистов), омализумаба, др. Симптоматическая терапия, направленная на снятие острого приступа затрудненного дыхания – неотложная помощь включает ингаляционное использование β 2-адреномиметиков короткого действия и в ряде ситуаций ГКС.
- Аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ);
- Просветительская работа (для пациентов и членов их семей).

Аллергический ринит:

Аллергический ринит – это заболевание, характеризующееся IgE-опосредованным воспалением, которое развивается в результате попадания аллергенов на слизистую оболочку носа, и наличием симптомов:

- заложенность носа
- выделения из носа
- чихание
- зуд в полости носа.

Классификация АР:

- Интермиттирующий АР;
- Персистирующий АР.

Каждая из указанных форм может иметь легкое течение, течение средней степени тяжести и тяжелое течение.

Следует иметь в виду, что наличие АР является важнейшим фактором риска развития БА. Соответственно каждый больной с АР должен быть обследован на предмет наличия БА.

Принципы терапии АР:

- Элиминация аллергена, направленная на исключение или ограничение контакта с причинно-значимым аллергеном;
- Фармакотерапия: с целью патогенетической терапии назначаются топические антигистаминные препараты или антигистаминные препараты II поколения системного действия; топические интраназальные глюкокортикостероиды, антилейкотриеновые препараты. Симптоматическая терапия связана с назначением деконгестантов;
- Аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ).

Атопический дерматит:

Атопический дерматит является хроническим аллергическим лихенифицирующим воспалением кожи, возникающим в результате готовности иммунной системы к развитию аллергической реакции, способной быть запущенной как атопическими, так и неатопическими механизмами. Сопровождается кожным зудом и частым инфицированием. В структуре аллергических заболеваний АД является самым ранним и самым частым проявлением атопии и обнаруживается у 80-85% детей раннего возраста с аллергией.

Диагностические критерии АД:

Включают обязательное наличие зуда кожи и трех или более из следующих признаков:

- наличие дерматита (или дерматит в анамнезе) в области сгибательных поверхностей конечностей (локтевые и подколенные сгибы, передняя поверхность лодыжек);
- наличие у ближайших родственников бронхиальной астмы или поллиноза;
- распространенная сухость кожи;
- начало дерматита до 2-х летнего возраста.

Чувствительность такого набора критериев составляет 85%, а специфичность – 96%.

Классификация АД:

- Фаза болезни (острая, подострая, хроническая);
- Степень тяжести (легкое течение, средней степени тяжести и тяжелое течение).

Другая классификация предполагает выделение нескольких форм:

- Младенческая;
- Детская;

- Подростковая.

Принципы терапии АД:

- Элиминация аллергена: назначение диеты, соблюдение гипоаллергенного быта и т.д.;
- Местная противовоспалительная терапия: назначение топических глюкокортикостероидов, нестероидных противовоспалительных средств;
- Антигистаминные препараты системного действия;
- Лечебно-косметический уход за кожей.

Крапивница:

Крапивница – это гетерогенное заболевание, характеризующееся появлением кожной сыпи, первичным элементом которой является волдырь.

Ангиоотек (отек Квинке) – это заболевание, характеризующееся отеком кожи и подкожной клетчатки, а также слизистых оболочек различных органов и систем (дыхательной, пищеварительной, мочевыделительной и др.).

Классификация крапивницы:

- Имеется патогенетическая классификация крапивницы, включающая аллергическую форму, варианты физической формы крапивницы, холинергическую, аутоиммунную и др. При невозможности выяснения конкретной причины развития крапивницы её обозначают как «спонтанная форма».
- Крапивница классифицируется по течению: выделяют острую крапивницу (если симптомы заболевания рецидивируют в течение не более чем 6 недель) и хроническую крапивницу (если уртикарные высыпания фиксируются более 6 недель).
- Кроме того, исходя из количества уртикарных элементов и степени выраженности кожного зуда (основных симптомов крапивницы) крапивницу классифицируют по степени тяжести: легкая, средней степени тяжести, тяжелого течения.

Принципы терапии крапивницы:

- Элиминационные мероприятия по исключению контакта с причинно-значимым аллергеном: назначение диеты, исключение лекарственных препаратов, исключение или ограничение физических стимулов и т.д.;
- Назначение антигистаминных препаратов II поколения per os, в случае острой крапивницы с целью неотложной помощи используются антигистаминные препараты I поколения в/м, а в случае генерализованной тяжелой крапивницы, а также при сочетании крапивницы с острым ангиоотеком возможно добавление в комплексную терапию системных ГКС.
- При неэффективности антигистаминных препаратов II поколения в качестве монотерапии хронической крапивницы, в лечение возможно включать ГКС per os коротким курсом, циклоспорин или омализумаб.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каково современное понятие термина «аллергия» и «атопия»?
2. Как Вы понимаете термин «аллерген»? Какова классификация аллергенов?
3. Какие стадии выделяют в патогенезе аллергических реакций?
4. Принципы диагностики аллергических заболеваний.

5. Дайте современное определение бронхиальной астмы. Каковы классификация и клинические признаки БА?
6. Дайте современное определение аллергического ринита. Какова стратегия терапии АР?
7. Дайте современное определение атопического дерматита. Какие известны Вам диагностические критерии заболевания?
8. Какой морфологический элемент характеризует крапивницу? Каковы правила оказания неотложной помощи при острой крапивнице?

Лекция №17

«Неотложная помощь при острых аллергических состояниях»

Бронхиальная астма (БА) – гетерогенное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением дыхательных путей, наличием респираторных симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди и кашель, которые варьируют по времени и интенсивности и проявляются вместе с вариабельной обструкцией дыхательных путей

Обострения БА – эпизоды нарастающей одышки, кашля, свистящих хрипов, или заложенности в грудной клетке, требующие изменений обычного режима терапии. Для обострения БА характерно снижение пиковой скорости выдоха (ПСВ) и объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ1).

Пациентов с тяжелым обострением бронхиальной астмы следует немедленно направлять на прием к лечащему врачу или, в зависимости от организации местных учреждений здравоохранения, в ближайшую клинику или больницу, в которой оказывают помощь пациентам с обострением БА. Очень важно оценивать ответ на терапию в динамике (в том числе, ПСВ).

Основные мероприятия по лечению обострений включают (в порядке их назначения и в зависимости от тяжести обострений) кислородотерапию, повторные ингаляции β₂-агонистов короткого действия, раннее применение глюкокортикостероидов системного действия (сГКС). Целями лечения являются как можно более быстрое устранение бронхиальной обструкции и гипоксемии и предотвращение дальнейших рецидивов.

Ведение пациентов с обострением БА на догоспитальном этапе:

Нетяжелые обострения, для которых характерны снижение ПСВ на 25-50%, ночные пробуждения из-за БА и повышенная потребность в β₂-агонистах короткого действия, обычно можно лечить в амбулаторных условиях. Если пациент отвечает на увеличение дозы β₂-агониста короткого действия уже после первых нескольких ингаляций, необходимость обращения в отделение интенсивной терапии отсутствует, однако дальнейшее лечение под наблюдением врача первичного звена может включать применение сГКС. Следует также провести обучение пациента и пересмотреть поддерживающую терапию.

- 1) β₂-агонисты короткого действия (КДБА). При легком и среднетяжелом обострениях оптимальным и наиболее экономичным методом быстрого устранения бронхиальной обструкции является многократное применение ингаляционных β₂-агонистов короткого действия (от 2 до 4 ингаляций каждые 20 мин в течение первого часа). После первого часа необходимая доза β₂-агонистов будет зависеть от степени тяжести обострения. Легкие обострения купируются 2–4 дозами β₂-агонистов с помощью дозированных аэрозольных ингаляторов (ДАИ) каждые 3–4 ч; обострения средней тяжести потребуют 6–10 доз каждые 1–2 ч. Использование комбинации β₂-агониста и блокатора М-холинорецепторов короткого действия сопровождается снижением частоты госпитализаций (уровень

доказательности А) и более выраженным улучшением ПСВ и ОФВ1 (уровень доказательности В). Дозы препаратов подбирают в зависимости от ответа конкретного пациента, и в случае отсутствия ответа или наличия сомнений в ответе на лечение необходимо направить пациента в учреждение, где может быть проведена интенсивная терапия.

2) ГКС системного действия (сГКС) следует использовать при лечении всех обострений, кроме самых легких, особенно если:

- Начальная терапия ингаляционными КДБА не обеспечила длительного улучшения;
- Обострение развилось у пациента, уже получающего пероральные ГКС;
- Предшествующие обострения требовали назначения пероральных ГКС;
- Пероральные ГКС обычно не уступают по эффективности внутривенным ГКС и являются предпочтительными средствами;
- Адекватными дозами сГКС являются: преднизолон (или эквивалент) 40-50 мг/сут
- Длительность терапии 5-7 дней
- Нет необходимости в постепенном снижении дозы сГКС в течение нескольких дней, за исключением случаев, когда больной получал системные ГКС на постоянной основе до обострения.

Ведение пациентов с обострением БА на госпитальном этапе

Тяжелые обострения БА относятся к опасным для жизни экстренным ситуациям, лечение которых должно проводиться в стационарах с возможностью перевода пациентов в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ).

- 1) Задачей **кислородотерапии** при обострении БА является поддержание SaO₂ в пределах 93-95%.
- 2) **КДБА (сальбутамол)** являются наиболее эффективными препаратами терапии обострения БА, а быстрота и выраженность их бронхорасширяющего эффекта ставят КДБА в разряд препаратов первой линии терапии обострения БА. При использовании небулайзера обычно используют однократные дозы сальбутамола 2.5 мг на 1 ингаляцию. При тяжелом обострении БА часто используют следующую схему терапии: в 1-й час терапии проводится 3 ингаляции по 2.5 мг каждые 20 минут, затем ингаляции проводят каждый час до значимого улучшения состояния, после чего возможно назначение препарата каждые 4-5 часов. Однократная доза сальбутамола при использовании ДАИ со спейсером обычно составляет 400 мг, кратность введения может значительно варьировать, как правило, такая же, как при использовании небулайзера. Небулайзерная терапия комбинацией КДБА и блокатора М-холинорецепторов короткого действия (ипратропия бромида) может обеспечивать более выраженный бронхорасширяющий эффект, чем применение препаратов по отдельности. Использование комбинации КДБА и блокатора М-холинорецепторов сопровождается снижением частоты госпитализаций и более выраженным улучшением ПСВ и ОФВ1. При обострении БА рекомендовано использование ипратропия бромида при помощи небулайзера в дозе 500 мкг каждые 4-6 часов, возможно и более частое использование (каждые 2-4 часа).
- 3) **Системные глюкокортикостероиды.** Внутривенный и пероральный пути введения ГКС одинаково эффективны при обострении БА. У больных, неспособных принимать препараты per os (выраженная одышка или проведение вентиляции легких), предпочтение отдается парентеральному введению ГКС.

- Адекватными дозами сГКС являются: преднизолон (или эквивалент) 40-50 мг/сут 1 р/с в течение 5-7 дней (уровень доказательности В).
- 4) Если пациент получал **ингаляционные ГКС (иГКС)** до обострения, прием иГКС должен быть продолжен в повышенной дозе. Отмена назначенных системных ГКС проводится только на фоне назначения иГКС.
 - 5) С учетом эффективности и сравнительной безопасности КДБА **теофиллин** играет минимальную роль в лечении обострений БА. Его применение может сопровождаться тяжелыми и потенциально фатальными побочными эффектами. Кроме того, теофиллин уступает КДБА по выраженности бронхорасширяющего действия. Добавление теофиллина к рекомендуемой при тяжелом обострении БА терапии у взрослых не дает преимуществ.
 - 6) Проведение **искусственной вентиляции легких (ИВЛ)** требуется больным с обострением БА в тех случаях, когда все другие виды консервативной терапии оказались неэффективными. Ценными ориентирами при назначении ИВЛ являются клинические признаки: признаки чрезмерной работы дыхания и утомления дыхательной мускулатуры, тахипноэ, общее истощение, усталость, сонливость больного (маркеры гипоксии головного мозга), так как в данной ситуации существует высокий риск быстрого и неожиданного развития остановки дыхания.
 - 7) Не рекомендуется применение у больных с обострением БА следующих препаратов и методов: муколитики, тиопентал натрия, кинезиотерапия, введение больших объемов жидкости (может быть необходимо у детей); антибактериальные препараты (показаны только в случаях бактериальной инфекции – пневмонии, синусита), бронхоальвеолярный лаваж, плазмаферез.

Анафилаксия. Анафилактический шок:

Анафилаксия – аллергическая реакция немедленного типа (острые IgE-опосредованные реакции); состояние резко повышенной чувствительности организма, развивающейся при повторном введении аллергена сенсibilизированным пациентам. Данный термин был введен французским физиологом Шарлем Рише, который в 1913 г. за исследование анафилаксии получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине.

Таким образом, *анафилаксия* – это серьезная жизнеугрожающая, генерализованная или системная реакция гиперчувствительности.

Анафилактический шок (АШ) – острая системная аллергическая реакция на повторный контакт с аллергеном, угрожающая жизни и сопровождающаяся выраженными гемодинамическими нарушениями, а также нарушениями функций других органов и систем. Анафилактический шок относится к наиболее тяжелым проявлениям анафилаксии.

Классификация АШ:

1. По клиническим формам:

- Генерализованная (типичная форма);
- Гемодинамическая;
- Асфиктическая;
- Абдоминальная;
- Церебральная форма.

2. По степени тяжести:

- Легкое течение;
- Средней степени тяжести;

- Тяжелое течение.
3. По характеру течения:
- Острое злокачественное;
 - Острое доброкачественное;
 - Рецидивирующее;
 - Затяжное;
 - Абортивное.

Клиническая картина:

1. Период предвестников:

- Внутренний дискомфорт, чувство тревоги;
- Озноб;
- Слабость;
- Головокружение, шум в ушах, ухудшение зрения;
- Онемение пальцев рук, языка, губ;
- Боли в пояснице, животе;
- Кроме того, часто появляются кожный зуд, затруднение дыхания, крапивница и ангиоотек.

2. Период разгара характеризуется:

- Потерей сознания
- Падением артериального давления (менее 90/60 мм рт.ст.), тахикардией
- Бледностью кожных покровов, цианозом губ
- Холодным потом
- Одышкой
- Непроизвольным мочеиспусканием и дефекацией
- Уменьшением выделения мочи

3. Период выхода из шока:

Период выхода из шока продолжается, как правило, 3-4 недели, у больных сохраняются слабость, головная боль, ухудшение памяти. В этот период могут развиваться:

- Инфаркт миокарда;
- Нарушение мозгового кровообращения;
- Аллергический миокардит;
- Гломерулонефрит;
- Гепатит;
- Поражение нервной системы (менингоэнцефалит, арахноидит, полиневриты);
- Сывороточная болезнь;
- Крапивница и ангиоотек.

Принципы терапии АШ:

Неотложная помощь включает:

- Прекратить введение причинно-значимого лекарственного средства;
- Уложить больного на кушетку и опустить головной конец, повернуть голову на бок, удалить протезы, фиксировать язык;

- Наложить жгут (на 25-30 мин) на конечность проксимальнее места поступления аллергена (ЛС, яда насекомых);
- Обколоть место поступления аллергена раствором 0,1% адреналина, разведенного в 10 раз физиологическим раствором;
- Положить лед на место введения аллергена.

Медикаментозная терапия:

- *Адреналин* 0,1% в объеме 0,3-0,5 мл (у детей – 0,01 мг/кг массы тела, максимально 0,3 мг) внутримышечно предпочтительно в переднелатеральную поверхность бедра (приводит к более быстрому увеличению максимальной концентрации эpineфрина по сравнению с в/м или п/к путем введения в дельтовидную мышцу). Инъекции повторяют до стабилизации артериального давления.
- Системные ГКС в/м или в/в;

При сохраняющемся бронхоспазме назначают:

- Ингаляционные β 2-адреномиметики короткого действия (сальбутамол и др. 2,5-5 мг через небулайзер)
- Эуфиллин 2,4%-10 мл, разведенный физиологическим раствором внутривенно капельно медленно.

После стабилизации АД:

- Антигистаминные препараты I поколения в/м в терапевтической дозе.

При наличии в/в доступа начало инфузионной терапии.

Таким образом, современное лечение пациентов с аллергическими заболеваниями в целом включает 4 необходимых компонента:

1. Элиминацию или редукцию аллергена;
2. Фармакотерапия;
3. Образовательные программы для пациентов и членов их семей;
4. По показаниям проведение АСИТ.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что характерно для обострения БА?
2. В каких случаях при обострении БА требуется госпитализация?
3. Каковы принципы оказания неотложной помощи при остром приступе удушья?
4. Как вы понимаете термин «анафилаксия»?
5. Дайте определения анафилактического шока.
6. Каковы правила оказания неотложной помощи при анафилактическом шоке?

Практическое занятие №1

«Организация и принципы работы иммунологической лаборатории в ЛПУ»

Цели занятия:

Ознакомиться с организацией службы иммунологической лаборатории в ЛПУ.

Основные вопросы для обсуждения:

1. Принципы организации службы.
2. Возможности иммунологической лаборатории.
3. Задачи иммунологической лаборатории.

4. Методы, используемые в работе иммунологической лаборатории.
5. Оснащение, требование к безопасности и режим работы

Основные понятия, категории по теме занятия:

По определению экспертов ВОЗ, *клиническая иммунология* – это клиническая и лабораторная дисциплина, занимающаяся изучением вопросов диагностики и лечения больных с различными патологическими состояниями, в основе которых лежат иммунологические механизмы и состояния, в терапии и профилактике которых иммунопрепараты играют ведущую роль.

Клиническая иммунология и иммунологическая служба состоят из клинической и лабораторной составляющих.

Иммунологические лаборатории могут входить в состав:

1. Центров Роспотребнадзора;
2. Диагностических центров;
3. Лабораторий крупных больниц;
4. НИИ.

Иммунологическая лаборатория является структурным подразделением клинико-диагностической лаборатории (КДЛ) ЛПУ.

Деятельность КДЛ регламентируется «Положением о клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», приложение 1 приказа №380 от 25.12.1997

Основные принципы организации иммунологической лаборатории.

1. Востребованность клиницистами;
2. Преемственность лабораторных иммунологических исследований;
3. Стандартные протоколы методов;
4. Контроль качества;
5. Рентабельность лаборатории.

Современная иммунологическая лаборатория имеет возможность провести:

1. Оценку иммунного статуса
2. Диагностику первичных иммунодефицитов
3. Оценку показателей системы врожденного иммунитета (С, ингибиторы С, РР, фактои Н, фактор D и т.д.)
4. Оценку гуморальных факторов, секретируемых активированными иммунокомпетентными клетками (цитокины)
5. Аллергодиагностику
6. Диагностику аутоиммунных, инфекционных, онкологических заболеваний
7. Оценку совместимости тканей при трансплантации.
8. Оценку показателей иммунологической толерантности (аффинности Ат, антиидиотипические Ат, антигенсвязывающие клетки и др.)

Задачи лаборатории: проведение клинических лабораторных исследований и выдача по их результатам заключений.

Методы, используемые в работе иммунологической лаборатории:

1. Методы иммуноанализа
 - а) РА (реакция агглютинации)
 - б) Методы гемолиза
 - в) РП (реакция преципитации)
 - г) ИФА, РИА, иммунофлюоресцентный анализ

2. Методы фракционирования

- а) Выделение Ig солями серной кислоты
- б) Методы хроматографии
- в) Центрифугирование в средах с градиентами плавучей плотности
- г) Электрофорез

3. Определение Ат к антигенам тканей и их компонентам, метаболитам клеток и их рецепторов, к гормонам и их рецепторам, антигенов эритроцитов

4. Проточная цитофлюометрия

5. Иммуноцитохимические методы с моноклональными антителами

6. Определение Ag главного комплекса гистосовместимости

7. Методы биотехнологии – клонирование молекул, ПЦР, получение рекомбинантных белков, создание инбридных генов

8. Методы изучения свойств нативных клеток иммунной системы в культурах *in vitro* (тест фагоцитоза, НСТ-тест)

9. Методы исследования функции и взаимодействия клеток *in vivo*

Объекты для исследований в иммунологической лаборатории:

- Цельная и периферическая кровь
- Сыворотка крови
- Плазма крови
- Цитологический материал, пунктаты
- Клетки крови, отделенные от жидкой фракции
- Цереброспинальная жидкость
- Синовиальная жидкость
- Бронхоальвеолярный лаваж
- Выделения слизистых секретов половых органов
- Выделения из носа
- Моча
- Слюна

Составляющие стандартизации иммунологического обследования:

1. Стандартизация показаний к лабораторному иммунологическому обследованию
2. Стандартизация определения лабораторных иммунологических показателей
3. Стандартизация интерпретации результатов.

Оснащение и режим работы

Лаборатория должна быть отделена от тех частей здания, где передвижение сотрудников не ограничивается, например, в тупиковом конце этажа или располагаться в отдельном здании. Помещения лаборатории должны быть просторными для обеспечения безопасного проведения лабораторной работы. Стены, потолок, пол должны иметь гладкую, легко моющуюся поверхность. Оборудование лаборатории должно ограничивать или предупреждать контакт исследователя с биологическим материалом, должно быть изготовлено из прочных материалов, непроницаемых для жидкостей, устойчивых к коррозии. Оборудование должно быть сконструировано и установлено так, чтобы оно легко подвергалось чистке, обеззараживанию и проверке.

Рабочие помещения лаборатории должны быть снабжены подводкой холодной и горячей воды, электричеством, вакуумом, кислородом, воздухом высокого давления и т.п. В некоторых кабинетах оборудуются боксы и вытяжные шкафы (зонирование и боксирование рабочих мест).

Основное оборудование:

Центрифуги

Термостаты, автоклавы

Холодильник лабораторный

Микроскопы

Биохимический и иммунологический анализаторы (лазерный, флюорисцентный) с компьютером и программным обеспечением

Планшетные ридеры для измерения оптической плотности – фотометры и спектрофотометры

Планшетные промыватели (вошеры)

Лабораторные дозаторы (пипетки)

Расходные материалы:

Лабораторные планшеты

Диагностические тест-системы

Наконечники для дозаторов

Центрифужные пробирки, вакутейнеры

Предметные и покровные стекла

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Объект исследования в иммунологии
2. Меры безопасности при работе в иммунологической лаборатории
3. Способ получения моноклональных антител

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. «Положение о клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», приложение 1 приказ №380 от 25.12.1997

Дополнительная литература по теме:

1. Приказ МЗ РФ №64 от 01.01.2001 «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований»

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Тестовый контроль по предыдущей теме	20 мин
3	Устный опрос по предыдущей теме	20 мин
4	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	30 мин
5	Подготовка к выполнению лабораторной работы (конспект теории)	15 мин
6	Практическое ознакомление с организацией, работой и оснащением иммунологической лаборатории	60 мин
7	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	15 мин
8	Подведение итогов	10 мин
9	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме

«Организация и принципы работы иммунологической лаборатории в ЛПУ»

Ознакомьтесь с материалом:

1. «Положение о клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», приложение 1 приказ №380 от 25.12.1997

Дополнительная литература по теме:

1. Приказ МЗ РФ №64 от 01.01.2001 «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований»

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. В состав каких структур могут входить иммунологические лаборатории?
2. Какие задачи стоят перед иммунологической лабораторией?
3. Какие методы используют в работе иммунологической лаборатории?
4. Что является объектом для исследования в иммунологической лаборатории?

Практическое занятие № 2

«Клеточные факторы врожденного иммунитета. Методы оценки фагоцитоза»

Цель занятия: Дать понятие врожденного иммунитета. Рассмотреть клеточные факторы врожденного иммунитета.

Основные вопросы:

1. Биологические функции доиммунных механизмов защиты (врожденного иммунитета).
2. Характеристика фагоцитирующих клеток. Этапы фагоцитоза.
3. Оценка функциональной активности нейтрофильных фагоцитов.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Врожденный и приобретенный (адаптивный) иммунитет представляют собой две взаимодействующие части системы, обеспечивающей развитие иммунного ответа на генетически чужеродные субстанции. Врожденный иммунитет может быть определен как наследственно закрепленная система защиты многоклеточных организмов от любых патогенных и непатогенных микроорганизмов, а также эндогенных продуктов тканевой деструкции. Врожденный иммунитет не имеет механизмов индукции иммунологической памяти.

Факторы врожденного иммунитета можно разделить на три группы: механические (барьерные), клеточные, гуморальные.

Факторы врожденного иммунитета не изменяются в процессе жизни организма, контролируются генами зародышевой линии и наследуются.

В реализации эффекторных механизмов врожденного иммунитета участвуют различные клетки миелоидного ряда: фагоциты, НК-клетки, НКТ-лимфоциты, эозинофилы, базофилы, тучные клетки.

Клетки врожденного иммунитета активируются при распознавании специальными рецепторами (PRR) не индивидуальных молекул, а их групп – PAMP. Клетки врожденного иммунитета всегда готовы к осуществлению эффекторных функций. Для этого им не требуется пролиферации, дифференцировки и межклеточных взаимодействий, характерных для клеток адаптивного иммунитета.

Основная группа клеток системы врожденного иммунитета – фагоциты. Они имеют

миелоидное происхождение и обладают способностью к фагоцитозу. По морфологии и функции их разделяют на мононуклеарные клетки (моноциты/макрофаги) и нейтрофилы.

Первыми в очаг воспаления мигрируют нейтрофилы (в первые часы, сутки), затем макрофаги (в течение нескольких дней).

Несмотря на общность основных этапов нейтрофильного и макрофагального фагоцитоза, существуют особенности, характерные для процесса фагоцитоза, осуществляемого нейтрофилами и макрофагами. Нейтрофил может совершать свою эффекторную функцию (фагоцитоз) один раз, после чего он обычно гибнет. Макрофаг фагоцитирует многократно. Кроме того, макрофаги осуществляют процессинг и презентацию антигена.

Процесс фагоцитоза состоит из хемотаксиса; адгезии; активации мембраны; погружения объекта с образованием фагосомы; слияния фагосомы и лизосомы; киллинга и расщепления объектов фагоцитоза; выброса продуктов деградации.

Таким образом, вызванное воспалением проникновение нейтрофилов из сосудов в ткани обеспечивается рядом адгезивных взаимодействий между лейкоцитами и клетками эндотелия, а также действием хемокинов. В зоне воспаления фагоциты начинают распознавать опсонизированные патогены. В качестве опсонов выступают чаще всего инактивированные компоненты комплемента $iC3b$ и молекулы IgG. Опсонизированный патоген поглощается. Затем в образовавшейся фаголизосоме объект подвергается киллингу и расщеплению. Для уничтожения патогенов нейтрофилы и макрофаги обладают мощным потенциалом. Выделяют кислородзависимые и кислороднезависимые механизмы бактерицидности фагоцитов.

Для оценки функциональной активности нейтрофилов периферической крови могут быть использованы тест фагоцитоза, НСТ-тест, Vurst-тест.

Тест фагоцитоза используется для оценки поглотительной способности нейтрофилов периферической крови. Оцениваются два показателя: фагоцитарный индекс и фагоцитарное число. *Фагоцитарный индекс (фагоцитарный показатель)* – процент активных фагоцитов, т.е. содержащих фагоцитированный материал. В норме ФИ (ФП) = 40-80%. *Фагоцитарное число* – среднее количество поглощенных частиц на один фагоцит. В норме ФЧ = 4-9 частиц.

НСТ-тест отражает степень активации кислородзависимого метаболизма и связанную с ним наработку свободных радикалов. НСТ-тест основан на пиноцитозе нейтрофилами раствора нитросинего тетразолия (НСТ) и накоплении его в фагоцитарных вакуолях с последующим восстановлением и превращением растворимого бесцветного НСТ в нерастворимый темно-синий диформаза.

Спонтанный НСТ-тест характеризует функциональное состояние нейтрофилов *in vitro*. В норме не превышает 10%. Индуцированный НСТ-тест характеризует функциональный резерв нейтрофилов. Индуцированный НСТ-тест в норме 40-80%.

Vurst-тест позволяет определить в периферической крови пациента процент фагоцитирующих клеток, которые продуцируют активные формы кислорода, а также оценить их ферментативную активность. Тест проводится с использованием активаторов кислородного взрыва. Для визуализации процесса используется флюорогенный субстрат – дигидрорадамин, который, в случае образования активных форм кислорода в фагоцитирующих клетках, окисляется и превращается в родамин, что обеспечивает свечение. Процент клеток, продуцирующих кислородные радикалы, определяется методом проточной цитометрии по определению интенсивности флуоресценции.

Нормальные результаты:

Тип клеток	Активатор	% клеток, участвовавших в кислородном взрыве
Гранулоциты	E.coli	97-100
	fMLP	1-10
	ФМА	98-100
Моноциты	E.coli	70-100

Роль эозинофилов в иммунной защите в первую очередь состоит в осуществлении внеклеточного цитолиза, которому принадлежит основная роль в защите от многоклеточных паразитов. Большинство белков эозинофилов повреждают клетки макропаразитов.

НК-клетки реализуют первую линию противоопухолевой и противовирусной защиты. Для закрепления материала проводится лабораторная часть занятия, на которой осуществляется микроскопия мазков периферической крови с определением различных типов лейкоцитов, в том числе нейтрофилов. Также анализируются мазки в тесте фагоцитоза и НСТ-тесте.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Биологические функции доиммунных механизмов защиты от повреждений.
2. Основные рецепторы системы врожденного иммунитета.
3. Основные клеточные элементы системы врожденного иммунитета.
4. Дифференцировка и характеристика мононуклеарных фагоцитов.
5. Дифференцировка и характеристика нейтрофилов.
6. Вклад И.И.Мечникова в иммунологию.

Форма текущего контроля: устный опрос, тестирование

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, разд. 17. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: учебник [Электронный ресурс] / Р.М. Хайтов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, разд.7. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>
3. Микробиология, вирусология и иммунология: руководство к лабораторным занятиям [Электронный ресурс] / под ред. В.Б. Сбойчакова, М.М. Карапаца - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.- Занятие №8 <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970435755.html>

Дополнительная литература:

1. Иммунология [Электронный ресурс] / Ярилин А.А. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – разд.4. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: в 2 т. Том 1. [Электронный ресурс] : учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – разд. 9 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970436417.html>
- 3.

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Контроль базисных знаний (тестирование)	20 мин
3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин

4	Подготовка к выполнению лабораторной работы (конспект теории)	15 мин
5	Выполнение лабораторной работы	30 мин
6	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	25 мин
7	Подведение итогов	20 мин
8	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме

«Клеточные факторы врожденного иммунитета. Методы оценки фагоцитоза»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, разд. 17. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: учебник [Электронный ресурс] / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, разд.7. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>
3. Микробиология, вирусология и иммунология: руководство к лабораторным занятиям [Электронный ресурс] / под ред. В.Б. Сбойчакова, М.М. Карапаца - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.- Занятие №8 <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970435755.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Что означает формулировка: «врожденный иммунитет не зависит от индивидуального опыта отдельных членов популяции»?
2. Какие группы факторов врожденного иммунитета вы знаете?
3. Какие клетки врожденного иммунитета могут быть отнесены к «профессиональным фагоцитам»?
4. Морфологическая характеристика и дифференцировка нейтрофилов.
5. Морфологическая характеристика и классификация макрофагов.
6. Объясните процесс фагоцитоза.
7. В чем заключается феномен опсонизации?
8. Каково происхождение и морфология натуральных киллеров?
9. Назовите дифференцировочные антигены НК-клеток.
10. Основные функции натуральных киллеров.
11. НКТ-клетки как полноправные участники реакций врожденного иммунитета.

Практическое занятие № 3

«Гуморальные факторы врожденного иммунитета. Методы оценки»

Цель занятия:

Ознакомиться с гуморальными эффекторными механизмами врожденного иммунитета.

Основные вопросы:

1. Понятие гуморальных факторов врожденного иммунитета.
2. Характеристика лизоцима и его биологическое значение.
3. Система комплемента как одна из важных составляющих врожденного иммунитета.
4. Основные биологические свойства системы комплемента.

Основные понятия, категории по теме занятия:

К гуморальным компонентам системы врожденного иммунитета относят белки системы комплемента, белки острой фазы, лизоцим, провоспалительные цитокины, интерфероны 1-го типа, противомикробные пептиды. Гуморальные факторы присутствуют в сыворотке крови, секрете слизистых оболочек и некоторых других жидкостях организма. Они вырабатываются различными клетками иммунной системы, эпителиальными клетками, гепатоцитами, тромбоцитами и т.д. Могут оказывать опсонизирующее, прямое цитолитическое действие на микроорганизмы, выступать в роли хемотактантов и т.д.

Например, лизоцим оказывает цитолитическое действие на Грам+ бактерии. Этот фермент разрушает слой пептидогликанов клеточной стенки бактерий.

Комплемент – это система термолabileльных сывороточных белков с каскадным ферментативным действием.

Компоненты комплемента не транспортируются от матери к плоду через плаценту. К концу беременности содержание комплемента в сыворотке плода составляет 50-70% от материнского уровня. В возрасте 3 месяцев у большинства детей содержание комплемента соответствует уровню взрослого организма.

Наиболее важными из функций комплемента являются лизис мембран патогенов и опсонизация микроорганизмов.

Существуют три пути активации системы комплемента: классический, альтернативный и лектиновый.

Активация системы комплемента осуществляется в два основных этапа (фазы):

- запуск активации (происходит при участии факторов различной природы, не относящихся к системе комплемента), завершающийся формированием C3/C5-конвертаз;
- лизис клеток-мишеней.

Пути активации кардинально различаются особенностями первой фазы, тогда как фаза клеточного лизиса одинакова для всех трех путей.

Классический путь активации комплемента начинается с присоединения белка плазмы-компонента C1 (состоит из трех белков-фрагментов компонента – C1q, C1r и C1s, образующих комплекс в присутствии ионов кальция) к иммунным комплексам, в состав которых входят IgG1, IgG2, IgG3 или IgM. После связывания фрагмента компонента комплемента (C1q) с иммунным комплексом происходит активация C1r и C1s, которые расщепляют белки плазмы-компоненты C4 и C2 с образованием комплекса C4b2a, который является C3-конвертазой классического пути. Этот фермент расщепляет белок плазмы - компонент C3 с образованием фрагмента компонента C3b, который, в свою очередь, активирует остальные компоненты комплемента.

Альтернативный путь активации комплемента запускается при спонтанном расщеплении C3 или под влиянием C3-конвертаз, а также ряда сывороточных либо микробных протеаз. Кроме некоторых бактерий по альтернативному пути каскад комплемента запускают ЛПС, эндотоксин грамотрицательных бактерий, зимозан (компонент клеточных стенок некоторых грибов), агрегированные иммуноглобулины, а также фактор яда кобры. Образующаяся C3-конвертаза альтернативного пути представлена C3vBv.

Образование мембраноатакующего комплекса. При активации комплемента как по классическому, так и по альтернативному и лектиновому пути белок плазмы-компонент C3 расщепляется с образованием фрагмента компонента C3b. Компонент C3b выполняет множество функций.

На следующих этапах активации комплемента по классическому и альтернативному пути формируется комплекс C5b67 (состоит из трех белков - C5b, C6 и C7), фиксированный на мембране чужеродной клетки. Присоединение к нему белка плазмы-компонента C8 вызывает частичное повреждение мембраны и медленное разрушение клетки. Когда к этому комплексу присоединяется компонент C9, образуется мембраноатакующий комплекс C5v6789 – структура, которая встраивается в клеточную мембрану и нарушает ее целостность. Через образовавшийся канал в клетку устремляются вода и электролиты, что приводит к ее гибели.

Лектиновый путь активации комплемента почти идентичен классическому пути, но запускается независимо от антител.

Лектиновый путь активации комплемента инициируется маннан-связывающим белком (МСБ) – лектином крови, структурным аналогом C1q. МСБ связывается с маннозой поверхности микробной клетки с последующим расщеплением C4-, C2-компонентов комплемента и образованием C3-конвертазы классического пути (C4в2а).

Активацию лектинового пути комплемента инициируют многие Грамм-положительные и Грам - отрицательные бактерии, а также биополимеры с многочисленными остатками маннозы.

Комплементзависимый лизис бактериальных клеток – один из факторов противоинфекционной защиты, участвующий в повреждении микроорганизмов при инфекционном процессе. В то же время он обуславливает гемолиз при переливании несовместимой крови и анемии аутоиммунного генеза, участвует в повреждении ядросодержащих клеток при аутоиммунной патологии.

Однако в первую очередь роль системы комплемента в защите от патогенов заключается, по-видимому, в опсонизации клеток-мишеней, что делает их доступными для действия эффекторных клеток, имеющих рецепторы для компонентов комплемента, – прежде всего, фагоцитов (макрофагов и нейтрофилов).

Система комплемента взаимодействует с другими гуморальными системами, активируемыми при воспалительных процессах, и способствует вовлечению этих систем в реакцию иммунного воспаления. Наконец, отложение компонентов комплемента в составе иммунных комплексов на биологических мембранах инициирует развитие иммунопатологии в результате привлечения в очаг поражения макрофагов и других эффекторов иммунного воспаления.

Белки (реактанты) острой фазы представляют группу протеинов, секретируемых гепатоцитами. К белкам острой фазы относится СРБ (С-реактивный белок).

В ходе лабораторной работы будет проводиться определение СРБ методом латексной агглютинации.

Метод предназначен для качественного и полуколичественного определения содержания С-реактивного белка в сыворотке крови методом латекс-агглютинации. Латекс-реагент представляет собой суспензию латексных частиц, на поверхности которых иммобилизованы антитела против С-реактивного белка человека. При смешивании данного реагента с сывороткой крови человека, содержащей СРБ в концентрации превышающей 6,0 мг/л, происходит реакция взаимодействия между антителами к С - реактивному белку и антигеном С-реактивного белка. В результате этого взаимодействия наблюдается реакция агглютинация латексных частиц.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Регуляция активации комплемента.
2. Основные биологические свойства комплемента.
3. Механизмы запуска альтернативного пути активации системы комплемента.
4. Факторы контроля системы комплемента.
5. Заболевания с нарушениями в системе комплемента.
6. Роль комплементзависимых процессов в иммунной защите и повреждении.

Форма текущего контроля: устный опрос, тестирование.

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии (электронный ресурс): учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012, разд. 17. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: (электронный ресурс): учебник / Р.М. Хайтов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, разд.7. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература:

1. Иммунология (электронный ресурс) / Ярилин А.А. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – разд.4. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: в 2 т. Том 1. [Электронный ресурс] : учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – разд. 9 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970436417.html>

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Тестовый контроль предыдущей темы	20 мин
3	Устный опрос	45 мин
4	Заслушивание рефератов	25 мин
5	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	40 мин
6	Выполнение лабораторной работы	20 мин
7	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	15 мин
8	Подведение итогов	5 мин
9	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме

«Гуморальные факторы врожденного иммунитета. Методы оценки»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии (электронный ресурс): учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012, разд. 17. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: (электронный ресурс): учебник / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, разд.7. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Что относится к гуморальным факторам врожденного иммунитета?
2. Классический путь активации системы комплемента
3. Альтернативный путь активации системы комплемента
4. Лектиновый путь активации системы комплемента
5. Основные биологические свойства комплемента.
6. Характеристика белков острой фазы.
7. С-реактивный белок и его роль в воспалении.
8. Какие интерфероны относятся к I типу?
9. В чем заключается противовирусный эффект интерферонов I типа?
10. Характеристика лизоцима.

Форма текущего контроля: устный опрос на занятии, тестирование.

Практическое занятие № 4

«Органы иммунной системы»

Цель занятия:

Рассмотреть структуру, строение и функции центральных и периферических органов иммунной системы.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Центральные (первичные) органы иммунной системы: строение и функции. Значение в дифференцировке лимфоцитов.
2. Периферические органы иммунной системы: строение и функции. Значение в дифференцировке лимфоцитов.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Анатомический синоним иммунной системы – лимфоидная система. Различают центральные и периферические лимфоидные органы.

К центральным органам иммунной системы относятся *костный мозг и тимус*.

В центральных органах иммунной системы происходит *антигеннезависимая дифференцировка* лимфоцитов из стволовых клеток, селекция их в отношении аутореактивности. У млекопитающих Т-лимфоциты созревают в тимусе, В-лимфоциты - в печени плода и после рождения в костном мозге. В тимусе и костном мозге происходит важный процесс формирования репертуара специфических антигенраспознающих рецепторов Т- и В-лимфоцитов соответственно.

В периферических органах иммунной системы (селезенка, лимфатические узлы, лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками) происходит *антигензависимая дифференцировка* лимфоцитов (иммуногенез).

Тимус

Ткань тимуса обнаруживается уже на 5 неделе эмбрионального развития. Тимус состоит из 2 долей и расположен в переднем верхнем средостении.

Каждая доля тимуса состоит из долек, разделенных между собой перегородками (трабекулами). Т-лимфоциты появляются в ткани тимуса на 12 неделе эмбрионального развития. Внутри каждой дольки тимоциты образуют наружную корковую зону и внутреннюю мозговую зону.

В плотно заполненной корковой зоне преобладают относительно незрелые пролиферирующие тимоциты; в мозговой зоне находятся более зрелые формы.

Основу структуры долек тимуса составляют эпителиальные клетки, которые принимают участие в созревании тимоцитов. Выделяют несколько типов эпителиальных клеток: клетки-няньки, расположенные в кортикальной зоне, эпителиальные клетки корковой зоны, эпителиальные клетки мозговой зоны.

Т-лимфоциты начинают дифференцироваться на 16 неделе эмбрионального развития. Эпителиальные клетки, «няньки» наружного коркового слоя, содержат лимфоциты в цитоплазматических карманах и стимулируют пролиферацию клеток-предшественников, продуцируя ИЛ-7. Эпителиальные клетки коры экспрессируют адгезивные молекулы и молекулы НLA класса I и отвечают за позитивную селекцию Т-лимфоцитов. Медуллярные эпителиальные клетки экспрессируют разнообразные органоспецифичные аутоантигены, участвуя, таким образом, в негативной селекции, а именно в выбраковке аутоагрессивных клонов Т-лимфоцитов.

Дендритные клетки и макрофаги, локализующиеся в области перехода из кортикальной зоны в мозговую, экспрессируют на своей поверхности молекулы МНС, что важно для отбора Т-клеток. В мозговой зоне содержатся тельца Гассала.

Наибольших размеров железа достигает у новорожденных (4,4% массы тела), у детей в возрасте 2 лет, и с этого времени до полового созревания она мало увеличивается. Масса тимуса составляет у новорожденного 10-12 г., у ребенка 2 лет - 20 г., к 15 годам - 30-40 г. В дальнейшем наступает возрастная инволюция железы (к 25-30 годам - 25 г., к 70 годам - 6 г.). В ней развивается соединительная ткань с множеством жировых клеток, паренхима остается в виде небольших островков. Возрастная инволюция захватывает, прежде всего, корковую зону вплоть до полной атрофии, при сохранности мозговой зоны.

Основные функции тимуса:

- дифференцировка Т-лимфоцитов из мигрировавших в орган тимических предшественников;
- образование генов TCR из небольшого набора зародышевых генов путем их перегруппировки;
- «обучение» Т-клеток через этапы положительной и отрицательной селекции;
- контроль «аутоиммунитета»;
- синтез тимических гормонов;
- созревание CD4 + и CD 8+ Т-лимфоцитов и миграция их на периферию в форме наивных клеток, способных к распознаванию антигенов.

Селезенка

В селезенке различают: красную пульпу и белую пульпу.

Белой пульпой называют лимфоидную ткань селезенки. Лимфоидная ткань связана с артериолами селезенки. Она образует вокруг центральных артериол периартериальные лимфоидные муфты (ПАЛМ) и содержит Т- и В-клеточные зоны. Т-клетки окружают центральную артериолу и формируют тимусзависимую зону селезенки. В-клеточные фолликулы расположены ближе к краю муфты и образуют скопления первичных или вторичных фолликулов с зародышевыми центрами и клетками памяти.

Красная пульпа представлена венозными синусоидами и клеточными тяжами, пространство между которыми заполняют оседлые макрофаги, лимфоциты и многочисленные плазматические клетки.

Клетки селезенки отвечают на антигены, поступающие через кровоток, и осуществляют преимущественно адаптивный гуморальный иммунный ответ. Помимо выполнения иммунных функций селезенка депонирует тромбоциты, эритроциты, и гранулоциты. В красной пульпе разрушаются старые тромбоциты и эритроциты, которые затем фагоцитируются макрофагами.

Лимфатический узел

Лимфатические узлы находятся в местах слияния лимфатических сосудов и образуют сеть, которая собирает и фильтрует тканевую жидкость и лимфу и тем самым «вылавливает» антигены. Лимфатические узлы разделяют на подкожные и висцеральные.

Лимфатический дренаж участков тела осуществляется через лимфатические сосуды, приносящие лимфу в лимфатические узлы через трабекулы в выпуклой части лимфоузла. В вогнутой части лимфоузла находятся ворота, в которые входят афферентные артерии. Также в области ворот выходят эфферентные (выносные) лимфатические сосуды и вены. Лимфатический

узел окружает соединительнотканная капсула. Внутри от нее отходят тонкие перегородки – трабекулы. Ткань лимфатического узла состоит из коры и мозгового вещества. В наружной части коры имеются лимфоидные фолликулы, которые имеют округлую форму и служат местом сосредоточения В-лимфоцитов. Лимфоидные фолликулы могут быть первичными и вторичными. Первичные фолликулы имеют равномерную структуру. В них присутствуют малые лимфоциты. Во вторичных фолликулах имеют место так называемые зародышевые центры (или центры размножения). Они образуются при иммунном ответе в результате бластной трансформации лимфоцитов. Лимфоидные фолликулы также содержат фолликулярные дендритные клетки местного мезенхимального происхождения. В паракортикальных зонах лимфатических узлов расположены Т-клетки.

Пространство между фолликулами и пространство вне паракортикальных зон состоит из смешанной популяции лимфоцитов, которая включает и В-лимфоциты, и Т-лимфоциты. Контакт Т- и В-лимфоцитов очень важен для развития иммунного ответа. В лимфоузлах лимфоциты находятся временно, поскольку имеет место рециркуляция лимфоцитов. Соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов в лимфатических узлах примерно соответствует соотношению их в крови.

В мозговой зоне лимфоузлов присутствуют мозговые шнуры. Медуллярные синусы располагаются между мозговыми шнурами. В шнурах присутствуют и Т- и В-лимфоциты. В процессе иммунного ответа здесь также сосредоточивается значительная часть плазматических клеток.

Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками.

Первую линию защиты слизистых оболочек (дыхательные пути, пищеварительный, уrogenитальный тракт и т.д.) от патогенов обеспечивает не инкапсулированная лимфоидная ткань, включающая групповые лимфатические фолликулы (пейеровы бляшки, миндалины, аппендикс и др.) и диффузно расположенные клетки иммунной системы в эпителии слизистой оболочки (внутриэпителиальные Т-лимфоциты), в собственной пластинке (*lamina propria*), а также в подслизистом слое.

Практическая часть занятия включает демонстрацию гистологических препаратов: тимус, лимфоузел, селезенка, аппендикс.

Перечень тем сообщений-презентаций к занятию:

1. «Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой респираторного тракта. Кольцо Вальдейра-Пирогова».
2. MALT- система. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой кишечника.

Форма текущего контроля: устный опрос, устное сообщение-презентация.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 2.2.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс] / Хайтов Р.М. - 2-е изд., испр. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 528 с.: ил. Глава 2.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970426814.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология [Электронный ресурс] / Ярилин А.А. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.: ил. Глава 3.4
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Тестовый контроль по предыдущей теме	20 мин
3	Устный опрос	20 мин
4	Заслушивание рефератов	20 мин
5	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин
6	Выполнение лабораторной работы	30 мин
7	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	10 мин
8	Подведение итогов	10 мин
9	Задание на дом	5 мин

**Самостоятельная работа по теме
«Органы иммунной системы»**

Изучите источник:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 2.2.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс] / Хаитов Р.М. - 2-е изд., испр. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 528 с.: ил. Глава 2.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970426814.html>
3. Образовательный портал КГМУ дисциплина «Иммунология», презентация «Органы иммунной системы».

После изучения источников на образовательном портале в дисциплине «Иммунология» ответьте на тестовые вопросы темы «Органы иммунной системы».

Подготовьте ответы на устный опрос по следующим вопросам:

1. Тимус. Строение.
2. Тимус. Функции.
3. Красный костный мозг. Строение.
4. Красный костный мозг. Функции.
5. Селезенка. Строение.
6. Селезенка. Функции.
7. Лимфатический узел. Строение.
8. Лимфатический узел. Функции.
9. В каких органах иммунной системы происходит антигеннезависимая дифференцировка и созревание лимфоцитов?
10. В каких органах иммунной системы происходит антигензависимая дифференцировка и созревание лимфоцитов?

Практическое занятие №5 «Клетки адаптивного иммунитета»

Цель занятия:

Рассмотреть фенотипические и функциональные характеристики популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Лимфоцит – основной клеточный элемент системы адаптивного иммунитета.
2. Понятие положительной и отрицательной селекции тимоцитов.
3. Этапы дифференцировки Т-лимфоцитов;
4. Фенотипические и функциональные характеристики популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов;
5. Фенотипические и функциональные характеристики популяций и субпопуляций В-лимфоцитов.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Лимфоциты – неоднородная популяция клеток, участвующая в реакциях врожденного (НК-клетки, НКТ-клетки, В1 –лимфоциты и др.) и адаптивного иммунитета (Т-, В-лимфоциты и их субпопуляции).

Т- и В-лимфоциты являются основным клеточным элементом системы адаптивного иммунитета. Только Т- и В-лимфоциты способны:

- распознать антиген с помощью клонально экспрессированных антигенспецифических TCR и BCR;
- развивать антигенспецифические иммунные реакции, направленные на элиминацию антигена;
- создавать клоны себе подобных клеток после стимуляции антигеном;
- формировать иммунную память;
- развивать иммунную толерантность.

Т-клетки – разновидность лимфоцитов, основные этапы развития которых проходят в тимусе, что и определило их название (тимусзависимые, или Т-лимфоциты).

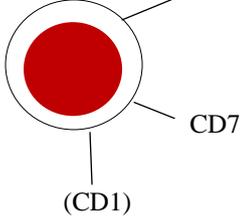
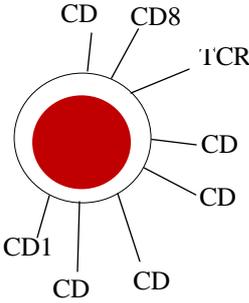
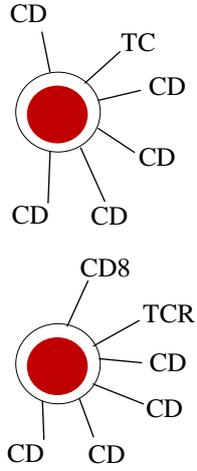
Селекция тимоцитов и формирование субпопуляций CD4+ и CD8+ клеток.

Многие особенности селекции Т-клеток (по сравнению с селекцией В-лимфоцитов) характеризуются большей сложностью процесса распознавания антигена Т-клетками и их особой ролью в обеспечении толерантности к собственным антигенам организма. *Положительной селекции* подвергаются дважды положительные тимоциты фенотипа CD4+ CD8+ CD31 α CD27-. Тимоциты, перемещаясь от периферии коры к кортикомедуллярной зоне, тесно контактируют с эпителиальным ретикуломом. При этих механических контактах TCR тимоцитов взаимодействуют с экспрессированными на поверхности эпителиальных клеток молекулами МНС как I, так и II классов, содержащими фрагменты различных эндогенных молекул (чужеродные молекулы в тимусе отсутствуют). Если TCR обладает сродством к молекуле МНС, тимоцит получает поддерживающий сигнал. Т-лимфоциты, рецепторы которых лишены сродства к МНС, подвергаются апоптозу «по умолчанию». Поскольку сродством к молекулам МНС обладают TCR лишь незначительной части клонов образующихся тимоцитов, на этапе положительной селекции погибает 90% CD4+ CD8+ тимоцитов.

Тимоциты, прошедшие положительную селекцию, мигрируют в кортикомедуллярное сочленение и в мозговой слой тимуса, где они проходят следующий этап отбора — *отрицательную селекцию*. На этом этапе происходит дискриминация тимоцитов по степени сродства к комплексу МНС–пептид. Клетки, обладающие высоким сродством, подвергаются апоптозу как потенциально опасные (поскольку они хорошо распознают пептидные фрагменты аутологических белков в составе аутологических молекул МНС, они могут индуцировать аутоиммунные реакции). В результате жизнеспособность сохраняют только тимоциты, рецепторы которых обладают умеренным (промежуточным) сродством к аутологичным комплексам МНС–пептид. Именно такие клетки мигрируют в периферический отдел иммунной системы и участвуют в развитии иммунного ответа и реализации антигенспецифической иммунной защиты.

Дифференцировка CD4+ и CD8+ тимоцитов.

Одновременно с селекцией тимоцитов происходит разделение их на субпопуляции, основанное на избирательной экспрессии корецепторов CD4 или CD8.

Созревание Т-клеток				
Локализация	Тимус			
	Фетальная печень Костный мозг			
Клетка	Пре-тимоциты 	Ранний тимоцит 	Незрелый тимоцит 	Зрелый тимоцит 
TCR	Рearанжировка (перестройка) TCR γ	Транскрипция TCR γ Рearанжировка TCR β	Поверхностная экспрессия TCR γ, α, β	Преимущественно экспрессия TCR α, β
Маркер	TdT – фермент (терминальная дезокси-нуклеотидилтрансфераза)	TdT, CD2, CD7 (CD1) Дважды негативный (Двойной отрицательный)	TdT, CD1, CD2, CD3, CD5, CD4 и CD8 Дважды позитивный (Двойной положительный)	Th: CD2, CD5, CD7, CD3, CD4 ЦТЛ: CD2, CD5, CD7, CD3, CD8 Моно позитивный (Одинарно положительный)

TCR, как и CD3, являются абсолютными маркерами Т-лимфоцитов: они экспрессируются только на зрелых Т-клетках. Рис.1

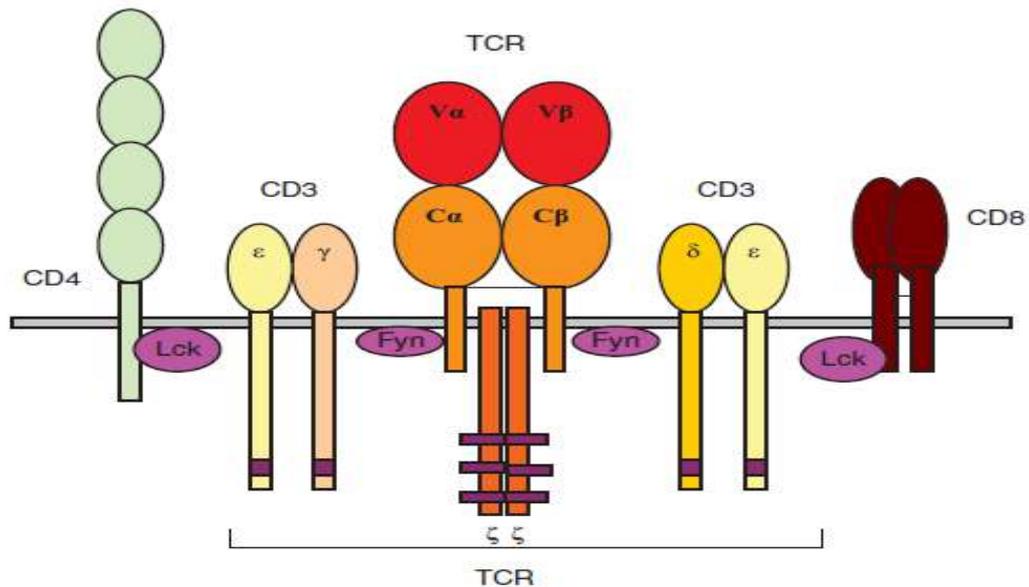


Рис.1 Схема T-клеточного рецептора.

Каждая T-клетка может нести на поверхности только один тип TCR — $\alpha\beta$ или $\gamma\delta$. На этой основе выделяют две главные разновидности T-клеток, кардинально различающиеся по своим свойствам. Большинство (>95%) T-клеток, локализующихся во вторичных лимфоидных органах, циркулирующих в крови и лимфе, имеют рецептор $\alpha\beta$ -типа. Рис.2.

$\gamma\delta$ T-клетки составляют минорную субпопуляцию (1–3%), представленную преимущественно в барьерных тканях, особенно в слизистой оболочке кишечника, где их содержание достигает 20–30% от общего числа T-лимфоцитов. Среди $\gamma\delta$ T-лимфоцитов выделяют субпопуляцию клеток, экспрессирующих гомодимерный вариант молекулы CD8 — CD8 $\alpha\alpha$ (CD8 $\alpha\alpha$ + $\gamma\delta$ T-клетки).

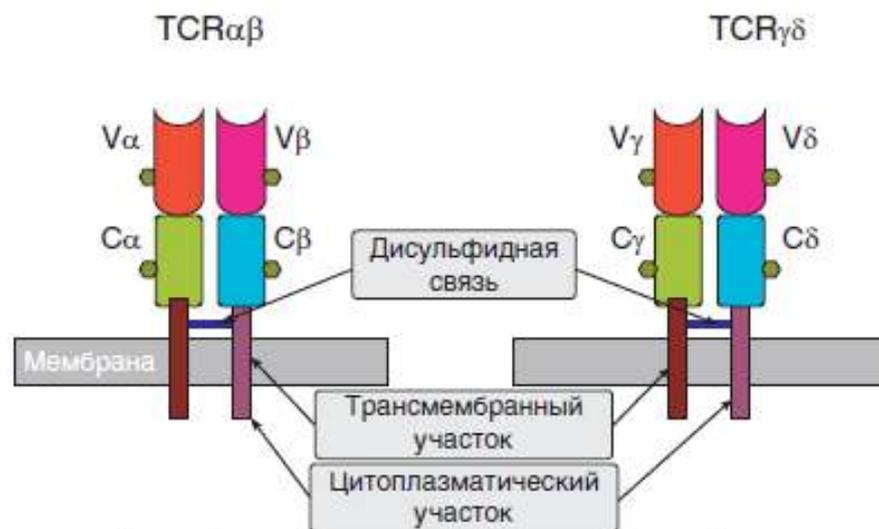


Рис.2 Строение антигенраспознающих молекул T-клеточных рецепторов.

CD4 и CD8 — маркеры двух главных субпопуляций $\alpha\beta$ T-клеток — соответственно, T-хелперов и цитотоксических T-лимфоцитов. CD4+ клетки распознают антигены в комплексе с молекулами MHC II класса. CD8+ клетки распознают антигены в комплексе с молекулами MHC I класса.

CD4⁺ Т-хелперы – функциональная субпопуляция Т-клеток, которые продуцируют различные цитокины и участвуют в распознавании антигенного пептида в комплексе с молекулами МНС II класса (на антигенпрезентирующей клетке), в генерации цитотоксических Т-лимфоцитов, в межклеточной кооперации с В-клетками, направляя их дифференцировку по пути плазматических клеток, синтезирующих антитела, а также в некоторых вариантах цитотоксичности.

По типу секретируемых цитокинов, Т-хелперы разделяются на Т-хелперы 1 типа (Th1) и Т-хелперы 2 типа (Th2).

Th1 секретируют IL-2, TNF α , TNF β , IL-3, GM-CSF (ключевой - IFN γ), принимают участие в активации цитотоксических Т-клеток, играют важную роль в борьбе с внутриклеточными возбудителями инфекций.

Th2 секретируют IL-4, IL-13, IL-5, IL-6, IL-9, IL-11, IL-21, IL-25, IL-10, IL-3, GM-CSF (ключевой - IL-4), участвуют в гуморальном иммунном ответе на Т-зависимые антигены.

Субпопуляция Th17-лимфоцитов, названных так по синтезу ими ключевого цитокина IL-17, дифференцируется из активированных CD4⁺ клеток независимо от Th1- и Th2-лимфоцитов. Подобно другим типам хелперных Т-лимфоцитов Th17-клетки могут участвовать как в иммунной защите от патогенов, так и в формировании иммунопатологии.

CD4⁺ Т-клетки, экспрессирующие внутриклеточный фактор FOXP3 и мембранные молекулы CD25 и CTLA-4 (CD152), образуют самостоятельную субпопуляцию **естественных регуляторных Т-клеток (Трег)**. Их основная функция — предотвращение реакции других Т-клеток на аутоантигены, а также ограничение (супрессия) любых форм иммунного ответа.

Цитотоксические CD8⁺ Т-лимфоциты (ЦТЛ) – клетки-киллеры, способные поражать инфицированные вирусом клетки-мишени, клетки трансплантата, опухолевые клетки. ЦТЛ распознают антигенные пептиды в комплексе с молекулами МНС класса I.

Небольшая часть $\alpha\beta$ –Т-клеток не экспрессирует ни CD-4, ни CD-8 маркеры (NKT– клетки, TCR-CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺). Они формируются в процессе Т-лимфопоэза, но на поздних этапах развития приобретают признаки NK-клеток. NKT-лимфоциты относят к клеткам врожденного иммунитета. Они выполняют роль источника цитокинов (в первую очередь IFN γ) на первом этапе реакции на внедрение патогенов. NKT-клетки могут выполнять регуляторную функцию, ограничивая интенсивность иммунного ответа, а также аутоагрессию.

В-лимфоциты отвечают за гуморальный адаптивный иммунный ответ, преимущественно направленный на элиминацию внеклеточных инфекционных агентов.

Дифференцировка В-лимфоцитов

Основное событие дифференцировки В-клеток — формирование BCR. Выделяют несколько стадий развития В-лимфоцитов: про-В (от англ. progenitor — предок), пре-В (от англ. precursor — предшественник), незрелые В-лимфоциты и зрелые наивные В-клетки.

Стадии про-В- и пре-В-клеток в свою очередь подразделяют на подстадии I и II (соответственно, ранние и поздние). На стадии про-В-II перестраиваются гены H-цепей. На стадии пре-В «проверяется» правильность прошедшей реаранжировки и перестраиваются гены L-цепей. На стадии незрелой В-клетки белковый продукт перестроенных генов иммуноглобулинов экспрессируется на мембране клетки в виде мембранного IgM, на стадии зрелой В-клетки к нему присоединяется IgD. Таким образом, завершающим событием в созревании В-лимфоцита является экспрессия на его поверхности IgD (вместе с IgM). Кроме того, при созревании В2-лимфоциты экспрессируют мембранные молекулы CD21 и CD23.

Последующая пролиферация В-клеток приводит к образованию клонов, в пределах

каждого из которых В-клетки несут идентичные по специфичности BCR, отличающиеся от таковой В-клеток других клонов.

Селекция В-клеток. Установлено, что 55–75% В-клеток, образующихся в костном мозге, специфичны к собственным антигенам организма – аутоантигенам. Уже в костном мозге значительная часть новообразованных В-клеток распознает аутоантигены. Однако незрелые В-клетки не активируются при связывании их BCR с антигеном. Распознавание аутоантигенов служит сигналом к «редактированию» генов BCR. При успешном редактировании В-клетка теряет аутореактивность. Если же этого не происходит, клетки выбраковываются путем апоптоза или подвергается очередным этапам селекции в периферическом отделе иммунной системы.

Выделяют несколько субпопуляций В-клеток: В1-, В2- и В-клетки маргинальной зоны (МЗВ). Среди названных клеток основной субпопуляцией являются В2-лимфоциты, или «обычные» В-клетки. Практически все данные о В-лимфоцитах получены на В2-клетках.

В1-клетки локализованы в серозных полостях и барьерных тканях, несут рецептор с низкой специфичностью к антигену, спонтанно вырабатывают низкоаффинные антитела преимущественно IgM-изотипа, в том числе к аутоантигенам. Имеют дополнительный маркер на мембране – CD5.

В-клетки маргинальной зоны – клетки, сходные с В1, но локализующиеся в маргинальной зоне селезенки.

В2-клетки локализованы в селезенке и лимфатических узлах (в том числе в фолликулах), костном мозге, лимфоидных тканях кишечника; эти клетки отвечают за образование высокоспецифичных и высокоаффинных антител разных изотипов.

Во 2-й половине 60-х годов XX века рецепторы В-клеток были идентифицированы как мембранные иммуноглобулины (mIg). Позже было показано, что BCR содержит, помимо иммуноглобулина, дополнительные белковые молекулы, обеспечивающие передачу сигнала внутрь клетки. Сокращенное обозначение этого молекулярного комплекса – BCR (B-cell receptor). Рис. 3.

Мембранный иммуноглобулин – специфический маркер В-клеток. Преобладающим классом мембранных иммуноглобулинов на наивных В-клетках является IgM. На зрелых наивных В-клетках наряду с IgM присутствует IgD. В процессе иммунного ответа происходит переключение классов иммуноглобулинов на IgG, IgA и IgE. В-клетки крови и вторичных лимфоидных органов несут на своей поверхности преимущественно IgG, а В-клетки слизистых оболочек – IgA.

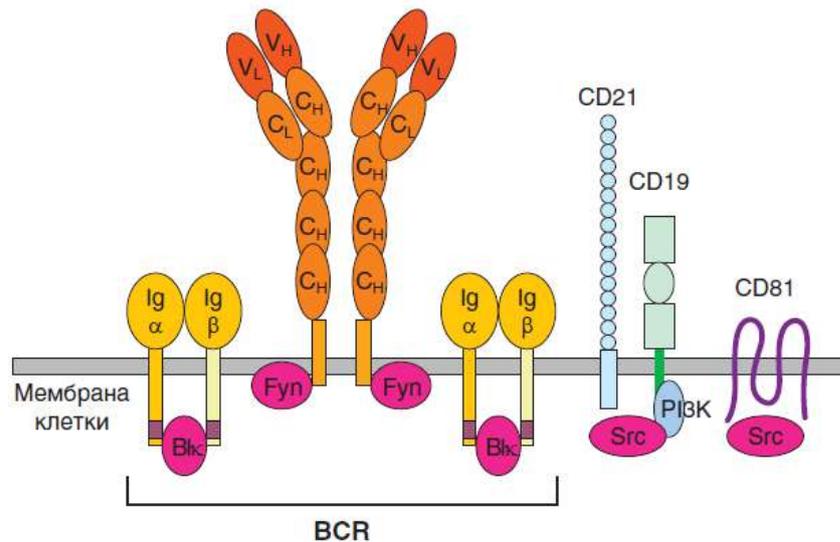


Рис. 3 . Строение В-клеточного рецептора.

В состав BCR помимо иммуноглобулина входит еще несколько молекул: **CD79a** и **CD79b** – составляют интегральную часть BCR (называют еще $Ig\alpha$ и $Ig\beta$). При помощи не ковалентных связей они формируют гетеродимеры, связанные с мембранным иммуноглобулином. Эти молекулы имеют сходные размеры и молекулярную массу (около 40 кДа). Участие $Ig\alpha$ и $Ig\beta$ в передаче сигнала основано на связи их цитоплазматической части с внутриклеточными тирозинкиназами.

CD19, **CD21** и **CD81** – функционально ассоциированы с BCR и формируют физическую связь только при активации клетки. Молекулу **CD19** относят к суперсемейству иммуноглобулинов. CD19 играет важную сигнальную функцию, поскольку эта молекула связана с киназой PI3K. **CD21** – рецептор для компонентов комплемента (CR2), участвующий в усилении антигенного сигнала, а также в регуляции активности В-лимфоцитов. Связывает фрагмент C3b после взаимодействия с антигеном. **CD81** относят к тетраспанинам (4 раза пронизывают мембрану); функция этой молекулы точно не определена.

С цитоплазматическими участками мембранного иммуноглобулина связана тирозинкиназа Fyn, а с молекулами CD79, CD19 и CD81 – тирозинкиназы Blk, Lyn, Lck, а также Syk, участвующие в передаче активационного сигнала. Кроме того, около цитоплазматической части молекулы CD19 располагается липидная киназа PI3K. Такое обилие сигнальных ферментов, связанных с компонентами BCR, обеспечивает запуск и передачу активационных сигналов при связывании антигена.

Для закрепления материала проводится лабораторная часть занятия, на которой осуществляется микроскопия мазков периферической крови с определением различных типов лейкоцитов, в том числе лимфоцитов.

Тема доклада-презентации к занятию:

1. Адаптивные субпопуляции Т-лимфоцитов (Th17, Treg)

Форма текущего контроля: устный опрос, тестирование.

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 2.1.2., Глава 3.2

<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>

2. Иммунология [Электронный ресурс] / Хаитов Р.М. - 2-е изд., испр. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 528 с.: ил. Глава 5, Глава 6.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970426814.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология [Электронный ресурс] / Ярилин А.А. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.: ил., Глава 3.3 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>
2. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624с.: с ил., Глава 2
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>
3. Иммунология: практикум [Электронный ресурс]: учебное пособие / Под ред. Л.В. Ковальчука, Г.А. Игнатъевой, Л.В. Ганковской. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – глава 2.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970435069.html>
4. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.: ил.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Опрос по предыдущей теме	20 мин
3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин
4	Представление студентами докладов-презентаций	30 мин
5	Лабораторная часть.	30 мин
6	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	20 мин
7	Подведение итогов	10 мин
8	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме

«Клетки адаптивного иммунитета»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 2.1.2., Глава 3.2
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс] / Хаитов Р.М. - 2-е изд., испр. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 528 с.: ил. Глава 5, Глава 6.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970426814.html>
3. Иммунология: практикум [Электронный ресурс]: учебное пособие / Под ред. Л.В. Ковальчука, Г.А. Игнатъевой, Л.В. Ганковской. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – глава 2.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970435069.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Какие клетки иммунной системы относятся к адаптивному иммунитету?
2. Какую функцию выполняют Т-регуляторные клетки (CD4+/CD25+)?
3. Где формируются и какую функцию выполняют НКТ-клетки?
4. Назовите главный маркер всех Т-лимфоцитов.
5. Опишите строение Т-клеточного антигенраспознающего рецептора.

6. Опишите строение и функцию корцепторного комплекса CD 3.
7. Какую функцию выполняют Th1- и Th2-лимфоциты?
8. Какие субпопуляции В-лимфоцитов выделяют?
9. Какова функция В1-лимфоцитов?
10. Какова функция В2-лимфоцитов?
11. Какова функция В-лимфоцитов маргинальной зоны?
12. Расскажите строение В-клеточного антигенраспознающего рецептора?
13. Какова функция корцепторного комплекса?

Используя рекомендованную литературу:

- 1) законспектируйте основные маркеры зрелых Т-лимфоцитов, а также их субпопуляций (естественных и адаптивных);
- 2) законспектируйте маркеры Т-лимфоцита (CD), появляющиеся на разных стадиях развития тимоцитов в тимусе;
- 3) законспектируйте основные маркеры зрелых В- лимфоцитов ;
- 4) законспектируйте строение BCR.

Практическое занятие №6

«Фенотипирование лимфоцитов»

Цель занятия:

Изучить принципы фенотипирования лимфоцитов, устройство и практическое применение проточного лазерного цитометра.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Принцип устройства проточного лазерного цитометра;
2. Возможности практического применения проточной лазерной цитометрии.

Основные понятия, категории по теме занятия:

В настоящее время для определения поверхностных маркеров лимфоцитов применяются моноклональные антитела, меченные флюорохромом, и проточная цитофлюориметрия.

Метод проточной цитофлюориметрии, предложенный в начале 1970-х годов, широко используется в медико-биологических и клинических исследованиях. Проточная цитометрия позволяет измерить до нескольких десятков тысяч клеток в секунду, при этом для каждой клетки одновременно можно оценить от 5 до 14 и более параметров.

Проточная цитометрия позволяет:

- проводить иммунофенотипирование клеток: дифференцировать популяции лейкоцитов, определять субпопуляционный состав лимфоцитов;
- оценивать функциональную активность клеток;
- проводить анализ клеточного цикла и плоидности клеток;
- проводить анализ программируемой клеточной гибели (апоптоза);
- определять внутриклеточные и растворимые формы цитокинов;
- оценивать фагоцитарную активность клеток;
- проводить анализ биологических жидкостей (секреты, слюна и др.);
- проводить количественное и качественное исследование рН, концентрации свободных ионов кальция, уровня окислительных процессов;
- осуществлять мониторинг иммунодефицитных состояний, проводить онкогематологические исследования.

Принцип метода

Метод проточной цитометрии основан на детекции флюоресценции клеток, маркеры которых связаны с моноклональными антителами, а также определении параметров прямого и бокового светорассеяния. Моноклональные антитела специфично связываются с присутствующими в клетке антигенам.

Каждая молекула антител конъюгирована с флюорохромом, который флюоресцирует при возбуждении молекулы светом определенной длины волны. Флюорохромы светятся в узком диапазоне флюоресцентного спектра.

Рассеяние света под малыми углами (переднее рассеяние - **forward scatter**) может быть использовано для определения размеров клетки (Рис. 1).

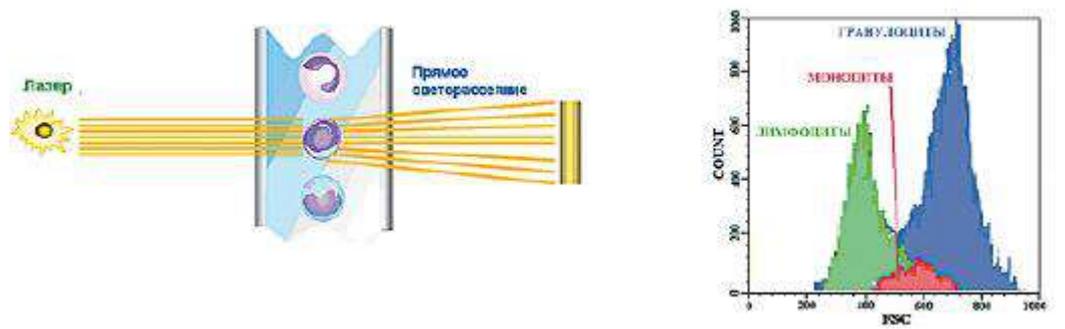


Рис. 1. Рассеяние света под малыми углами.

Рассеяние света под углом 90° (боковое рассеяние – **side scatter**) позволяет судить о соотношении размеров ядра и цитоплазмы и наличии гранул в клетке (Рис. 2).



Рис.2. Рассеяние света под углом 90° .

Одновременно можно проводить анализ поверхностных и внутриклеточных антигенов клеток с помощью моноклональных антител к ним, конъюгированных с различными флюоресцентными метками. Флюоресценция клетки в определенной области спектра указывают на присутствие исследуемого антигена, а флюоресценция в нескольких областях – на коэкспрессию нескольких антигенов.

В практике широко используются два флюоресцентных красителя – флюоресцеин-5-изотиоционат (ФИТЦ) и R-фикоэритрин (ФЭ). Они возбуждаются аргоновым лазером с длиной волны 488 нм и излучают флюоресценцию в разных диапазонах волн.

Проточный цитометр включает три основных блока:

- 1) оптический, где производится измерение;
- 2) блок обработки сигналов, где сигналы усиливаются и преобразуются в электрические;
- 3) блок сбора и обработки данных (Рис. 3).

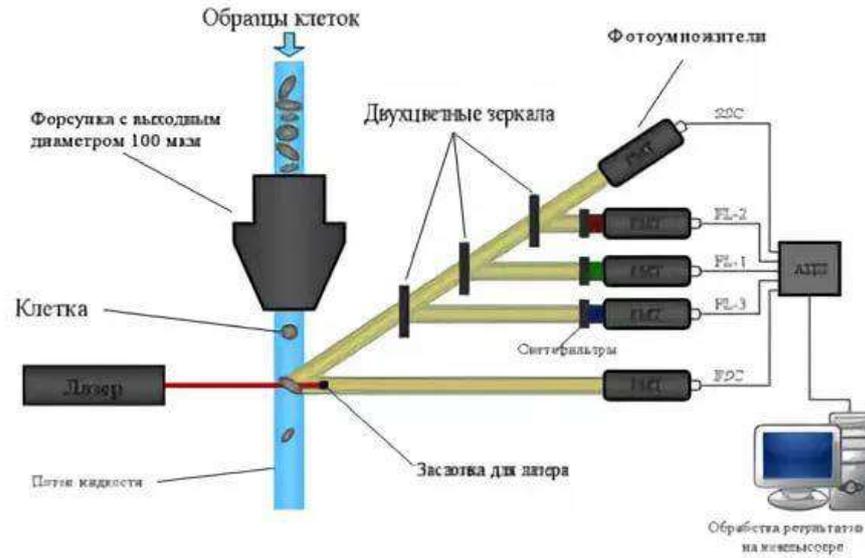


Рис. 3. Схема устройства проточного цитометра

Источником света обычно служит лазер. Он способен направить на клетку интенсивный световой сигнал и создать чувствительную систему детекции.

Световой сигнал проходит через соответствующие линзы и зеркала и попадает на ФЭУ. На этой стадии передачи сигнала используются оптические фильтры для выделения света с определенной длиной волны, благодаря чему на каждый детектор попадает только избранный тип светового сигнала, например зеленое или красное излучение клеток при флюоресценции или рассеянный свет. Оптический блок предназначен для измерения рассеяния света и флюоресценции. Современные цитометры оборудованы несколькими фотоэлектронными умножителями, что позволяет одновременно регистрировать несколько типов флюоресценции.

Сигналы, поступающие от детекторов, усиливаются, их амплитуды измеряются и анализируются в цифровой форме для каждой клетки отдельно.

Ограничения, накладываемые на регистрируемый параметр, называются окнами («gate»). Окна выделяются автоматически или вручную.

Результаты анализа используются для построения распределений исследованных клеток по их характеристикам. Эти распределения называют гистограммами (Рис.4).

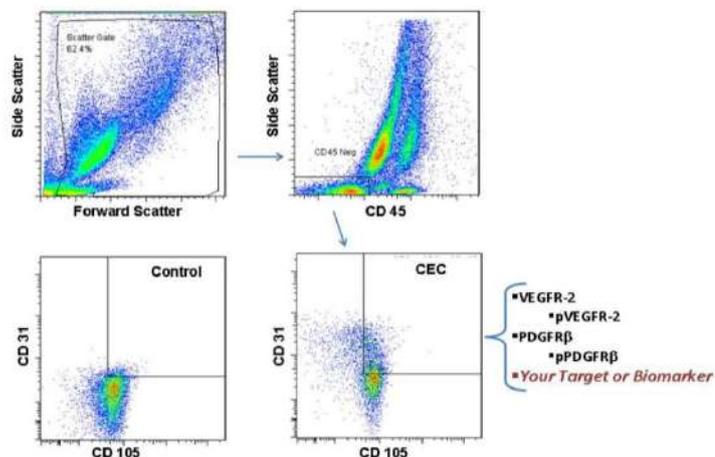


Рис. 4. Гистограмма.

Перечень тем сообщений к занятию:

1. Проточная цитометрия в диагностике онкогематологических заболеваний;
2. Проточная цитометрия в диагностике первичных и вторичных иммунодефицитов;
3. Проточная цитометрия при оценке эффективности химиотерапии онкологических и онкогематологических заболеваний.

Форма текущего контроля: устный опрос, устное сообщение.

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Контроль базисных знаний (тестирование)	20 мин
3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	45мин
4	Представление студентами докладов.	20 мин
5	Посещение лаборатории для ознакомления с работой проточного цитометра.	50 мин
6	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	25 мин
7	Подведение итогов	10 мин
8	Задание на дом	5 мин

Основная литература по теме:

1. Иммунология: практикум [Электронный ресурс] : учебное пособие / Под ред. Л.В. Ковальчука, Г.А. Игнатъевой, Л.В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 176 с., Глава 2
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970435069.html>

Дополнительная литература по теме:

- 1."Клиническая лабораторная диагностика. В 2 томах. Том 1. [Электронный ресурс]: национальное руководство / Под ред. В.В. Долгова - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – Глава 3. Высокотехнологичные лабораторные исследования.
<http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970421291.html>

**Самостоятельная работа по теме
«Фенотипирование лимфоцитов»****Изучите источник:**

- 1.Иммунология: практикум [Электронный ресурс] : учебное пособие / Под ред. Л.В. Ковальчука, Г.А. Игнатъевой, Л.В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 176 с., Глава 2, <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970435069.html>
- 2.Клиническая лабораторная диагностика. В 2 томах. Том 1. [Электронный ресурс]: национальное руководство / Под ред. В.В. Долгова - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – Глава 3. Высокотехнологичные лабораторные исследования.
<http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970421291.html>

Подготовьте ответы на устный опрос по следующим вопросам:

1. Каковы области применения проточной лазерной цитометрии?
2. Каковы возможности проточного лазерного цитометра?
3. Опишите принцип устройства проточного цитометра.

4. Для определения каких параметров клетки используется рассеяние света под малыми углами (переднее рассеяние - forward scatter) в проточной цитометрии?
5. Для определения каких параметров клетки используется рассеяние света под углом 90° (боковое рассеяние - side scatter) в проточной цитометрии?
6. Опишите устройство оптического блока проточного цитометра.

Практическое занятие №7

«Антигены»

Цель занятия:

Изучить строение, свойства, классификации антигенов. Ознакомиться с методикой определения антигенов эритроцитов системы АВ0 (H).

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Антигены: определение, строение, свойства.
2. Полные антигены и неполные антигены (гаптены).
3. Классификация антигенов.
4. Антигены эритроцитов (система АВ0, резус).
5. Антигены МНС.
6. Антигены микроорганизмов.

Основные понятия, категории по теме занятия

«Антиген» - это биополимер органической природы, генетически чужеродный для макроорганизма, который при попадании в последний распознается его иммунной системой и вызывает иммунные реакции, направленные на его устранение.

В полном антигене различают основную часть – носитель и специфические участки, которые связываются с антителами – эпитопы (антигенные детерминанты).

Неполные антигены – гаптены, не имеют достаточной молекулярной массы для развития иммунного ответа, это искусственно синтезированная молекула.

Количество однотипных антигенных детерминант характеризует валентность антигена.

Характерными **свойствами антигенов** являются чужеродность, иммуногенность и специфичность.

Чужеродность – это такая физико-химическая структура молекулы, которая не встречается в организме реципиента. Чужеродность возрастает по мере увеличения «эволюционного расстояния» между донором и реципиентом белка.

Иммуногенность – потенциальная способность антигена вызывать по отношению к себе в макроорганизме специфический продуктивный иммунный ответ. Важнейшее качество, определяющее иммуногенность антигенов, – размер молекулы. С повышением молекулярной массы полимерных молекул увеличивается их иммуногенность. Чем выше валентность антигена – тем выше иммуногенность.

Под *специфичностью* понимают избирательность взаимодействия индукторов и продуктов иммунных процессов, в частности, антигенов и антител. Специфичность определяется эпитопами (или детерминантами) антигена.

Классификация антигенов

Основываясь на отдельных характерных свойствах, все многообразие антигенов можно классифицировать по происхождению, природе, молекулярной структуре, степени иммуногенности, степени чужеродности, направленности активации и обеспеченности иммунного реагирования.

По *происхождению* различают экзогенные (возникшие вне организма) и эндогенные (возникшие внутри организма) антигены.

По *природе*: биополимеры белковой (протеиды) и небелковой (полисахариды, липиды, липополисахариды, нуклеиновые кислоты и др.) природы.

По *молекулярной структуре*: глобулярные (молекула имеет шаровидную форму) и фибриллярные (форма нити).

По *степени иммуногенности*: полные и неполные.

По *степени чужеродности*: ксено-, алло- и изоантигены (сингенные антигены).

В пределах отдельного организма в определенных органах или тканях обнаруживаются специфичные для них антигены, которые нигде больше не встречаются. Такие антигены получили название *органо- и тканеспецифических*.

По необходимости вовлечения Т-лимфоцитов в индукцию иммунного ответа выделяют *T-зависимые и T-независимые антигены*. Иммунная реакция в ответ на введение T-зависимого антигена реализуется при обязательном участии Т-хелперов. К ним относится большая часть известных антигенов. Для развития иммунного ответа на T-независимые антигены не требуется привлечение Т-хелперов. Эти антигены способны непосредственно стимулировать В-лимфоциты к антителопродукции, дифференцировке и пролиферации, а также вызывать иммунный ответ у бестимусных животных.

Антигены эритроцитов

Известно более 20 аллоантенных систем эритроцитов.

Практически все эритроцитарные аллоантигены имеют полисахаридную природу и различаются по концевым олигосахаридным остаткам.

Однако наиболее важное клиническое значение имеют антигены системы АВ0 и Rh (резус-фактор).

В *системе антигенов АВ0* выделяют три варианта антигенов, различающихся по строению углеводной части: H, A и B. Базовой молекулой является антиген H, специфичность которого определяют три углеводных остатка. Антиген A имеет в структуре дополнительный четвертый углеводный остаток – N-ацетил-D-галактозу, а антиген B – D-галактозу. Антигены системы АВ0 имеют независимое аллельное наследование, что определяет наличие в популяции 4 групп крови: 0(I), A(II), B(III) и AB(IV). Рис. 1.

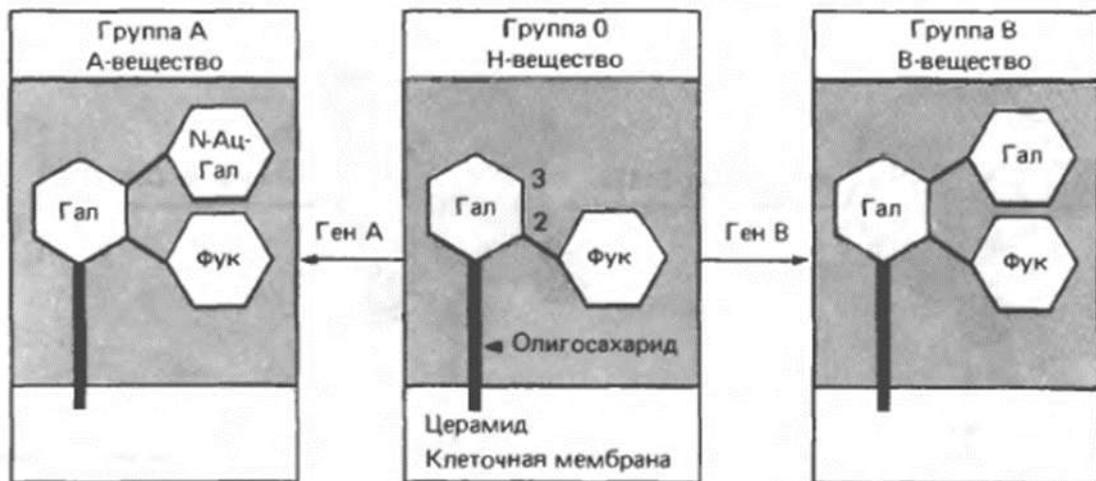


Рис. 1. Антигены эритроцитов H, A и B

Другой важнейшей системой эритроцитарных антигенов является *система резус-антигенов (Rh) или резус-факторов*. Выделяют 6 разновидностей этого антигена. Генетическая информация о его строении закодирована в многочисленных аллелях трех сцепленных между собой локусов (D/d, C/c, E/e).

Антигены гистосовместимости

На цитоплазматических мембранах практически всех клеток макроорганизма обнаруживаются антигены гистосовместимости. Большая часть из них относится к системе главного комплекса гистосовместимости, или МНС (от англ. Main Hystocompatibility Complex).

Гены МНС локализованы в нескольких локусах короткого плеча 6 хромосомы и содержат гены 3 классов: I, II, III класса.

Антигены гистосовместимости представляют собой гликопротеины, прочно связанные с цитоплазматической мембраной клеток.

Продукты генов МНС I экспрессируются на всех клетках организма, за исключением эритроцитов и клеток ворсинчатого трофобласта. Распознаются CD8⁺ Т-лимфоцитами.

Продукты генов МНС II – экспрессируются на профессиональных антиген-презентирующих клетках (макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты). Распознаются CD4⁺ Т-клетками. Рис.2

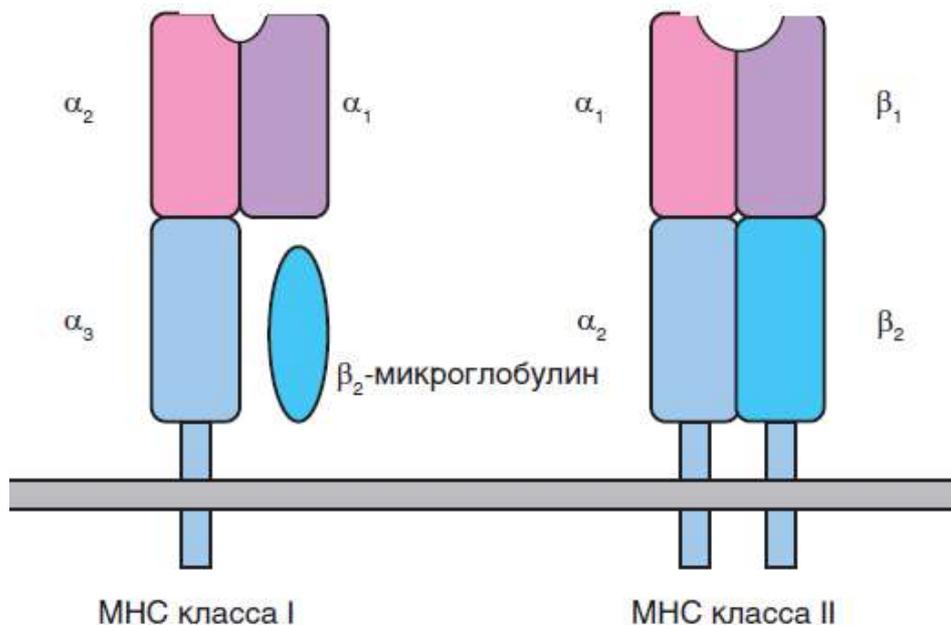


Рис. 2 Структура молекул гистосовместимости

Установлено, что антигены гистосовместимости играют ключевую роль в осуществлении специфического распознавания «свой-чужой» и индукции приобретенного иммунного ответа, определяют совместимость органов и тканей при трансплантации в пределах одного вида и другие эффекты.

Антигены бактерий

В структуре бактериальной клетки различают жгутиковые, соматические, капсульные и некоторые другие антигены.

Жгутиковые, или H-антигены, локализуются в их жгутиках и представляют собой эпитопы сократительного белка флагеллина. Соматический, или O-антиген, связан с клеточной стенкой бактерий. Его основу составляют липополисахариды. Капсульные, или K-антигены, встречаются у бактерий, образующих капсулу. Как правило, K-антигены состоят из кислых полисахаридов (уроновые кислоты). В то же время у бациллы сибирской язвы этот антиген построен из полипептидных цепей. По чувствительности к нагреванию различают три типа K-антигена: A, B и L.

Антигены вирусов

В структуре вирусной частицы различают ядерные, капсидные (или оболочечные) и суперкапсидные антигены. На поверхности некоторых вирусных частиц встречаются особые V-антигены - гемагглютинин и фермент нейраминидаза. Антигены вирусов различаются по происхождению, часть из них вирусоспецифические, кодируются в нуклеиновой кислоте вируса. Другие, являющиеся компонентами клетки хозяина (углеводы, липиды), формируют суперкапсид вируса при его размножении путем почкования. Антигены многих вирусов отличаются высокой степенью изменчивости, что связано с постоянными мутациями в генетическом материале вирусов. Примером могут служить вирус гриппа, ВИЧ и др.

Лабораторная часть занятия с целью закрепления материала по теме «Антигены»: *определение групп крови с помощью цоликлонов анти-А и анти-В.*

Антигены А и В определяют с помощью цоликлонов анти-А и анти-В (моноклональные анти-А и анти-В антитела).

Для исследования берут капиллярную кровь из пальца пациента. На специальную пластину (или планшетку), на расстоянии друг от друга с помощью специальной пипетки наносят по 1 крупной капле каждого из антител. Возле каждой из капель цоликлонов необходимо поместить по одной капле исследуемой крови и при покачивании планшетки постепенно их перемешать. Визуально результаты исследования можно определить уже через 5-10 секунд после начала анализа. В случае специфического взаимодействия эритроцитарного антигена с антителом (например, антиген А - цоликлон анти-А), образуется агглютинат.

Перечень тем докладов-презентаций к занятию:

1. Суперантигены.
2. Опухолевые антигены.

Форма текущего контроля: устный опрос, тестирование, доклады-презентации.

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 1.3 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: структура и функции иммунной системы [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 280 с. Глава 5 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970426449.html>
3. Электронное издание на основе: Иммунология [Электронный ресурс] / Р.М. Хаитов - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016., Глава 5 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970438428.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология [Электронный ресурс] / Ярилин А.А. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.: ил., Глава 3.2 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: в 2 т. Том 1. [Электронный ресурс] : учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016 - Т. 1. - 448 с. : ил., Глава 10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970436417.html>

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос).	20 мин
3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин
4	Выступление студентов с докладом-презентацией	20 мин
5	Подготовка к выполнению лабораторной работы «Определение группы крови методом цоликлонов» (конспект теории)	15 мин
6	Выполнение лабораторной работы	30 мин
7	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	20 мин
8	Подведение итогов	5 мин
9	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Антигены»

Запишите основные компоненты, необходимые для проведения теста, технику проведения определения группы крови с использованием цоликлонов теста.

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 1.3
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: структура и функции иммунной системы [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Глава 5
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970426449.html>
3. Электронное издание на основе: Иммунология [Электронный ресурс] / Р.М. Хаитов - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016., Глава 5
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970438428.html>

Подготовьтесь к устному ответу на следующие вопросы:

1. Что такое антиген?
2. Опишите строение антигена.
3. В чем отличие гаптена от антигена?
4. Что такое валентность антигена?
5. Каковы свойства антигена?
6. От каких характеристик антигена зависит иммуногенность антигена?
7. Тимус-зависимые антигены?
8. Тимус-независимые антигены?
9. Антигены эритроцитов: система АВ0, система-резус?
10. Антигены системы МНС. Строение. Свойства.
11. Определение группы крови с использованием цоликлонов.

Форма текущего контроля: устный опрос на занятии, тестирование.

Практическое занятие №8

«Антитела»

Цель занятия:

Определить понятия «антитело» и «иммуноглобулин». Изучить структурно-функциональные особенности иммуноглобулинов различных классов. Изучить методы определения антител.

Основные вопросы:

1. Структура молекулы иммуноглобулина;
2. Биохимические свойства иммуноглобулинов;
3. Структура и функции основных классов иммуноглобулинов;
4. Биологические функции антител;
5. Методы определения антител.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Антитела – основные эффекторные молекулы гуморального иммунитета.

Антитела - это особые растворимые белки с определенной биохимической структурой (иммуноглобулины), которые присутствуют в сыворотке крови и других биологических жидкостях, физиологическая функция которых – связывание комплементарными связями разнообразных лигандов и доставка связанных лигандов к мембранам собственных клеток, имеющих рецепторы к иммуноглобулинам (Fc-рецепторы).

Термин «*иммуноглобулин*» отражает химическую структуру молекулы без учета ее специфичности к конкретному антигену, а термин «*антитело*» определяет функциональные свойства молекулы и учитывает специфичность конкретного иммуноглобулина в отношении антигенов.

Антитела синтезируются В-лимфоцитами и их потомками - плазматическими клетками и в циркулирующей форме и в виде рецепторных комплексов на иммунокомпетентных клетках.

Молекула иммуноглобулина имеет универсальное строение, состоит из четырех полипептидных цепей: двух идентичных тяжелых (H-heavy) цепей с высокой молекулярной массой и двух идентичных легких (L-light) цепей с низкой молекулярной массой, связанных дисульфидными связями. Каждая цепь включает константные домены (C- constant) с относительно постоянной структурой и переменные домены (VL и VH-variable) с переменной структурой. Переменные домены легкой и тяжелой цепи совместно образуют участок, который специфически связывается с антигеном – *антигенсвязывающий центр* (*антигенраспознающий центр*, *активный центр*), или *паратоп* (определяющий специфичность молекулы иммуноглобулина). Известно 2 типа легких цепей Ig – κ (каппа) и λ (лямбда) и 5 типов тяжелых цепей – μ (мю), ε (эпсилон), δ (дельта), α (альфа), γ (гамма). По типу тяжелых цепей различают 5 классов (изотипов) иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA, IgA, IgD, имеющие структурно-функциональные отличия.

Обработка молекулы иммуноглобулина ферментом папаином приводит к ее гидролизу в образование 3 фрагментов. Два из них имеют одинаковую молекулярную массу и способны специфически связываться с антигеном. Они состоят из цельной легкой цепи и участка тяжелой (V и C-домены), и в их структуру входят антигенсвязывающий центр. Эти участки получили название Fab-фрагмент (англ. Fragment antigen-binding). Третий фрагмент, способный образовывать кристаллы, получил название Fc-фрагмент (англ. Fragment cristallizable). Он ответствен за связывание с рецепторами на мембране клеток макроорганизма (Fc- рецепторы).

Сродство антигенов с антителами количественно характеризуют такими понятиями, как «аффинность» и «авидность». *Аффинность* – сила связывания одного эпитопа с одним активным центром иммуноглобулина. *Авидность* – суммарная сила взаимодействия цельной молекулы антитела со всеми антигенными эпитопами. Данное свойство зависит от валентности антигенсвязывающего центра, т.е. количества активных центров (IgG- два, IgM-десять, IgE-два, IgA-два или четыре).

Иммуноглобулин, как и всякий другой белок, обладает антигенностью и выраженной иммуногенностью. При рассмотрении молекул иммуноглобулина в качестве антигена выделяют следующие антигенные детерминанты:

1. Изотипы – детерминанты, определяющие структурные особенности константных областей тяжелых цепей (изотип определяется типом тяжелых цепей). Изотипы являются групповыми, то есть одинаковыми у всех особей данного вида;
2. Аллотипы – индивидуальные аллельные варианты иммуноглобулинов в пределах одного изотипа, обусловленные вариативностью константных доменов или каркасных участков вариативных доменов. На основании строения аллотипических детерминант можно различить особи внутри одного вида;
3. Идиотипы – антигенные детерминанты, локализованные в вариативных доменах легкой и тяжелой цепей молекулы иммуноглобулина, определяющие специфичность молекулы антитела.

Механизмы защиты от патогенов, опосредуемые антителами, могут осуществляться за счет различных функций этих молекул:

- 1 Антигенспецифическая функция антител. В результате связывания патогена с активным центром антитела происходит нейтрализация патогенов и затрудняется их проникновение в клетки организма;
- 2 Опсонизация. Антитела могут опсонизировать бактерии и различные клетки-мишени, делая их более доступными для фагоцитоза (иммунный фагоцитоз) или антителозависимой клеточной цитотоксичности;

3 Эффекторные функции антител опосредуются через Fc-фрагмент молекулы иммуноглобулина, взаимодействующей с Fc-рецепторами клеток врожденного иммунитета (макрофаги, нейтрофилы, НК-клетки, эозинофилы, тучные клетки) или с комплементом, вовлекая их в деструкцию антигена и его элиминацию и организма:

- Активация комплемента по классическому пути и комплементопосредованный лизис клеток-мишеней; наилучшими свойствами обладает IgM (IgM < IgG3 < IgG1)
- Запуск антителозависимой клеточной цитотоксичности
- Индукция гиперчувствительности немедленного типа

Лабораторная часть занятия предусматривает демонстрацию метода простой радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини с целью определения иммуноглобулинов класса А,М,Г.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Структурно-функциональные особенности подклассов иммуноглобулина G.
2. Структурно-функциональные особенности подклассов иммуноглобулина А.
3. Нормальные (неиммунные) антитела.
4. Механизмы переключения классов иммуноглобулинов.
5. Определение антител методом ИФА.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник/ Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 640 с.: ил., с.132-142.
2. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология: учебник учебник для студентов мед.вузов и ун-тов.-3-е изд., переработан. И доп.-М.:Медицина, 2010.- 752 с., с.169-191, 400-414

Дополнительная литература:

1. Ярилин А.А., Иммунология – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.: ил., с. 231-244, 446-468
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Устный опрос. Тестовый контроль	45 мин
3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин
4	Подготовка к выполнению лабораторной работы (конспект теории)	10 мин
5	Выполнение лабораторной работы	30 мин
6	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	15 мин
7	Подведение итогов	10 мин
8	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Антитела»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник/ Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 640 с.: ил., с.132-142.
2. Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология: учебник учебник для студентов мед.вузов и ун-тов.-3-е изд., переработан. И доп.-М.:Медицина, 2010.- 752 с., с.169-191, 400-414.

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Охарактеризуйте химическое строение мономерной молекулы иммуноглобулина.
2. Охарактеризуйте понятия аффинности и авидности.
3. Антигенность антител. Охарактеризуйте понятия изотипа, аллотипа, идиотипа
4. Структура и функции иммуноглобулина G.
5. Структура и функции иммуноглобулина M.
6. Структура и функции иммуноглобулина E.
7. Структура и функции иммуноглобулина A.
8. Структура и функции иммуноглобулина D.
9. В чем заключается антигенспецифическая функция антител?
10. Перечислите эффекторные функции антител. В чем заключается каждая из них?

Практическое занятие №9

«Феномены взаимодействия антигенов и антител»

Цель занятия:

Изучить феномены взаимодействия антигенов и антител, лежащих в основе иммунологических тестов.

Основные вопросы:

1. Значение реакции антиген - антитело *in vivo* и *in vitro*
2. Физико-химические основы взаимодействия антигена и антитела
3. Методы оценки взаимодействия антигенов и антител:
 - 1) регистрация вторичных феноменов (реакция преципитации; реакция агглютинации);
 - 2) регистрация связывания антигенов и антител.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Реакция антиген–антитело специфическая. В основе реакции антиген–антитело лежит взаимодействие между эпитопом антигена и активным центром антитела, основанное на их пространственном соответствии (комплементарности). Образовавшийся комплекс носит название «иммунный комплекс» (ИК). Межмолекулярными силами, удерживающими антигены и антитела в составе иммунных комплексов, являются: *электростатические; водородные; гидрофобные; силы Ван-дер-Ваальса.*

Чем больше площадь контакта антител с антигеном, тем выше сила взаимного притяжения, особенно если при этом напротив друг друга оказываются заряды противоположного знака, а также гидрофобные участки молекул. По мере уменьшения межмолекулярного расстояния прочность связывания антигенов и антител возрастает.

Связывание антигенов с антителами *in vitro* состоит *из двух фаз*:

Первая фаза - специфическая, при которой происходит быстрое связывание антигенной детерминанты с активным центром Fab-фрагмента антител. После специфической фазы наступает более медленная - неспецифическая, которая проявляется видимым физическим явлением (например, образованием хлопьев при агглютинации и др.).

Иммуно-диагностические реакции обладают высокой чувствительностью и широко используются в медицинской практике. С помощью этих реакций можно решить следующие задачи:

- определение неизвестных антител по известным антигенам (антигенный диагностикум). Такая задача стоит, когда, например, необходимо определить в сыворотке крови пациента антитела к возбудителю (серодиагностика);
- определение неизвестных антигенов по известным антителам (диагностическая сыворотка). Это исследование проводят при идентификации культуры возбудителя, выделенной из материала пациента (серотипирование), а также при обнаружении антигенов микробов и их токсинов в крови и других биологических жидкостях.

Реакции между антигенами и антителами сыворотки крови также называют серологическими реакциями.

Для выявления взаимодействия антигена и антитела применяют две группы методов:

Первая группа методов оценки взаимодействия антител с антигенами основана на регистрации так называемых вторичных феноменов:

- преципитации (осаждения) иммунных комплексов;
- агглютинации (склеивания) частиц, несущих антиген (эритроцитов, частиц латекса и т.д.);
- связывания и активации комплемента с последующим лизисом эритроцитов, несущих антиген и т.д.

Вторая группа методов основана на непосредственной регистрации связывания антигенов и антител. Для этого один из компонентов (обычно антитела) метят и затем выявляют связывание меченого реагента с другим компонентом реакции. В качестве метки используют радиоактивные изотопы (радионуклиды), ферменты и флюоресцентные красители флюорохромы. Методы соответственно обозначают как радиоиммунные, иммуноферментные и иммунофлюоресцентные.

Виды серологических реакций:

- Реакция агглютинации
- Реакция преципитации
- Реакции нейтрализации
- Реакция связывания комплемента
- Реакция иммунофлюоресценции
- Радиоиммунологический анализ
- Иммуноферментный метод (ИФА)

Реакция агглютинации (РА) (agglutinacio – склеивание) – это иммунная реакция взаимодействия антигена с антителами, имеющими не менее 2-х валентностей, в присутствии электролитов. При этом антиген находится в корпускулярном состоянии (эритроциты, бактерии, частицы латекса с адсорбированными антигенами). При агглютинации происходит склеивание корпускулярных антигенов антителами, что проявляется образованием хлопьевидного осадка.

При *простой (прямой)* агглютинации антитела реагируют с антигенными детерминантами самих частиц.

Реакция прямой гемагглютинации основана на способности антител перекрестно связываться с эритроцитами, взаимодействуя с их поверхностными антигенами. *Пассивная или непрямая гемагглютинация (РПГА или РНГА)* применяется в двух вариантах: с известным антигеном для обнаружения антител или с известными антителами для выявления антигена. Для постановки РНГА используют эритроцитарные диагностикумы, приготовленные путем адсорбции на эритроцитах антигенов или антител в зависимости от цели исследования.

При РПГА в результате реакции АГ-АТ частицы носителя включаются в иммунные агрегаты, которые становятся видимыми даже при минимальных количествах антигенов и антител.

Реакция преципитации

Преципитация происходит в результате взаимодействия растворимых антигенов с антителами, имеющими по меньшей мере 2 активных центра. Преципитация – это выпадение осадка при образовании комплексов растворимого антигена и специфических антител. Образование максимального количества преципитата наблюдается при эквивалентных соотношениях антигена и антитела. Избыток одного из них снижает количество осаждающихся иммунных комплексов.

Процессы, происходящие при реакции преципитации, объясняет теория «решетки» (Marrack). Так, при взаимодействии антигена с малым количеством антител образуются растворимые комплексы из одиночных пар молекул. По мере увеличения количества антител возникает возможность не только каждой молекуле антитела связывать две молекулы антигена, но и разным молекулам антител взаимодействовать с одной и той же молекулой антигена. В результате формируется молекулярная «решетка», не способная удержаться в растворе и выпадающая в осадок.

Зависимость плотности преципитата от соотношения концентрации антигенов и антител отражает кривая преципитации Гайдельбергера (см. рисунок). В опыте Гайдельбергера количество антител оставалось постоянным в ряде пробирок, а количество антигена возрастало от пробирки к пробирке. Кривая преципитации по мере добавления антигена вначале показывает увеличение плотности преципитата с достижением максимума, а затем его количество постепенно уменьшается. При этом в супернатанте появляются растворимые комплексы антигена и антител.

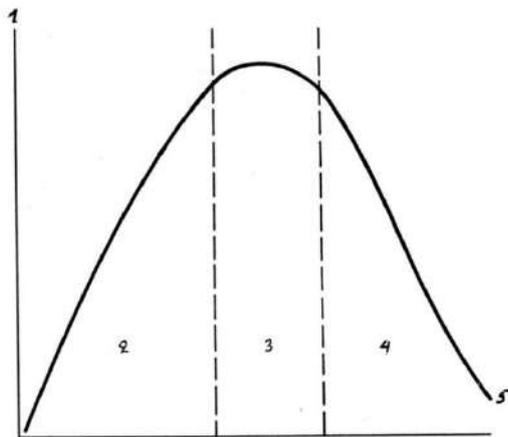


Рис. Обозначения: 1 – плотность преципитата; 2 – область избытка антител; 3 – область эквивалентности; 4 – область избытка антигена.

Варианты реакции преципитации:

- в жидкой среде – по типу реакции флоккуляции, кольцепреципитации.
- в плотной среде (в агаре, полиакриламидном геле) - реакция преципитации по Оухтерлони, радиальная иммунодиффузия по Манчини, реакция иммуноэлектрофореза.

Иммуноферментный и радиоиммунный анализы.

В основе самых распространенных на сегодня методов иммуноанализов, базирующихся на количественном определении растворимых веществ, 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 тот или иной прибор может «увидеть» (зарегистрировать) и измерить количество метки.

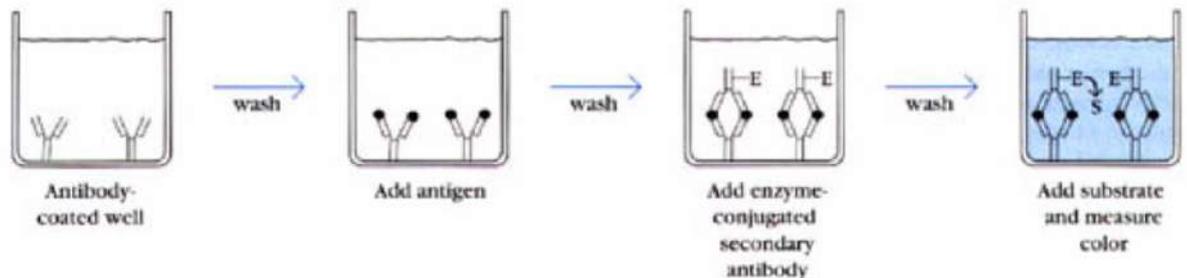
В ходе практического занятия предусмотрена **лабораторная работа**, предполагающая проведение отдельных этапов ИФА.

Иммуноферментный анализ (ИФА или ELISA)

«Сэндвич»-ИФА. Обнаружение антигена.

«Сэндвич»-ИФА разработан для антигенов, на которых есть не менее двух неперекрывающихся эпитопов. Против обоих эпитопов получают в качестве реагентов специфичные антитела. Антитела к одному из эпитопов сорбируют на твердой фазе. Испытуемую пробу добавляют к твердой фазе, инкубируют, отмывают. После отмывки вносят конъюгат антител ко второму эпитопу с ферментом. Ферментативная активность, остающаяся на твердой фазе, прямо пропорциональна содержанию антигена в пробе. Эти маркерные (индикаторные) ферменты способны расщеплять субстрат и вызывать изменение цвета среды.

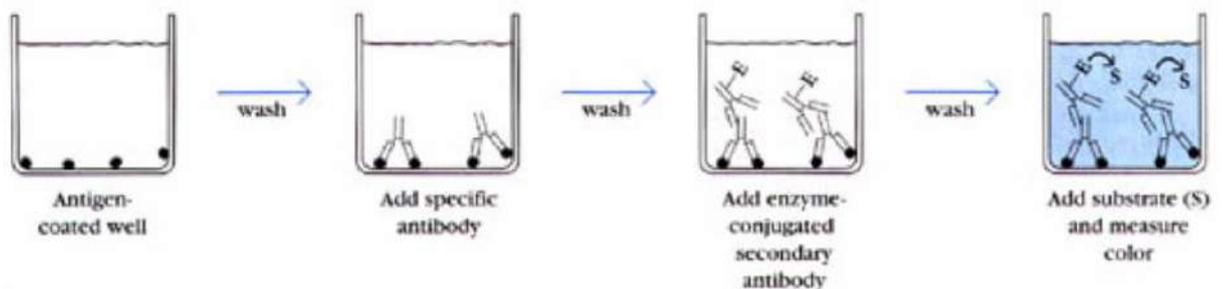
(b) Sandwich ELISA



ИФА. Обнаружение антител.

Это непрямой иммуноанализ. Метка присоединена к так называемым вторым антителам - антивидовым антииммуноглобулиновым антителам, т.е. антителам к иммуноглобулинам того вида животных или человека, с биологическим материалом которого работают.

(a) Indirect ELISA



Тема доклада-презентации к практическому занятию:

1. Реакции иммунофлюоресценции в клинической практике.

Форма текущего контроля: устный опрос, доклад.

Основная литература:

1. Иммунология /Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г / Учебная литература для студентов медицинских ВУЗов. – Москва, изд. Медицина, 2000, С. 431. С 377-386

Дополнительная литература

1. Иммунология: практикум [Электронный ресурс] : учебное пособие / Под ред. Л.В. Ковальчука, Г.А. Игнатъевой, Л.В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015., глава 4 - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970435069.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс] / Ярилин А.А. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.: ил., Глава 3.2.1.4. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Контроль знаний предыдущей темы практического занятия (устный опрос)	20 мин

3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин
4	Доклад-презентация	20 мин
5	Подготовка к выполнению лабораторной работы (конспект теории)	15 мин
6	Выполнение лабораторной работы – иммуноферментный анализ	30 мин
7	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	15 мин
8	Подведение итогов	10 мин
9	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа к занятию «Феномены взаимодействия антигенов и антител»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Иммунология /Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г / Учебная литература для студентов медицинских ВУЗов. – Москва, изд. Медицина, 2000, С. 431. С 377-386
2. Иммунология: практикум [Электронный ресурс] : учебное пособие / Под ред. Л.В. Ковальчука, Г.А. Игнатъевой, Л.В. Ганковской. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015., глава 4 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970435069.html>
3. Иммунология [Электронный ресурс] / Ярилин А.А. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.: ил., Глава 3.2.1.4. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

- 1) Какие силы лежат в основе взаимодействия антигенов и антител?
- 2) Какие методы используют для выявления взаимодействия антигенов и антител?
- 3) Приведите пример реакции преципитации.
- 4) Приведите пример реакции агглютинации.
- 5) Назовите области применения иммуноферментного анализа.
- 6) Опишите основные этапы проведения иммуноферментного анализа.

Ответьте на вопросы тестового контроля на образовательном портале по теме «Феномены взаимодействия антигенов и антител».

Практическое занятие №10

«Гуморальный иммунный ответ на Т-зависимые и Т-независимые антигены»

Цель занятия:

Изучить этапы реализации иммунного ответа.

Основные вопросы для обсуждения:

1. Иммунный ответ: понятие, виды. Стадии иммунного ответа: презентация и распознавание антигена, активация, дифференцировка, эффекторная стадия.
2. Межклеточные взаимодействия, как основа функционирования иммунной системы. Феномен «двойного распознавания». Иммунологический синапс.
3. Гуморальный иммунный ответ: индукторы, представление антигенов, характеристика эффекторов.
4. Различия гуморального иммунного ответа на Т- зависимые и Т-независимые антигены.
5. Формирование иммунологической памяти.
6. Первичный и вторичный иммунный ответ.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Иммунный ответ – многоэтапный процесс в ответ на поступление молекул, несущих признаки генетически чужеродной информации, с обязательным участием антигенпредставляющих клеток и лимфоцитов, взаимодействие которых происходит благодаря молекулам межклеточной адгезии и с помощью цитокинов. В зависимости от характеристики антигена, индуцирующего иммунный ответ, развивается либо гуморальный, либо клеточный иммунный ответ.

Гуморальный иммунный ответ инициируется антигенами инфекционного (бактерии, гельминты, их эндо- и экзотоксины) и неинфекционного происхождения (аллергены). Тип иммунного ответа определяется природой Т-хелперов: цитокины, продуцируемые Th2-лимфоцитами (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13) определяют развитие гуморального иммунного ответа.

Независимо от вида иммунный ответ включает индуктивную и эффекторную (продуктивную) фазы.

Индуктивная фаза инициируется антигеном, который поглощается антигенпредставляющими клетками, основной задачей которых является переработка и презентация антигена клеткам адаптивного иммунитета. К антигенпредставляющим клеткам относят дендритные клетки, активированные макрофаги и В-лимфоциты. Представление антигена лимфоцитам осуществляется в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости, что называется феноменом «двойного распознавания». При этом процесс различается в зависимости от происхождения и природы антигенов. Антигены, не связанные с клеткой (токсины, аллергены, разнообразные белки и др.), презентуются CD4+ лимфоцитам в комплексе с молекулой МНС II класса. Процесс распознавания Т-клеточным рецептором (TCR) комплекса «пептид-МНС» происходит при участии корецепторных молекул, что называется *молекулярным иммунологическим синапсом*.

Распознавание антигена является стимулом для пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов, что приводит к образованию клона дифференцированных антигенспецифичных Т-лимфоцитов, которые экспрессируют мембранные молекулы и продуцируют цитокины, необходимые для взаимодействия с В-лимфоцитами и другими клетками. Т-клеточный рецепторный комплекс TCR-CD3 взаимодействует с антигеном в комплексе с МНС II на мембране В-лимфоцита. Костимулирующее взаимодействие CD28- CD 80 приводит к экспрессии на мембране Th2 молекулы CD40L и продукции цитокинов. Взаимодействие CD40 (на В-лимфоците) и CD40L (на Th2) приводит к активации В-лимфоцита, повышая чувствительность к цитокинам Th2-лимфоцитов (IL-4, IL-5, IL-6), которые запускают пролиферацию, созревание и дифференцировку В-лимфоцитов. В последующем В-лимфоциты мигрируют в В-зависимые зоны периферических органов иммунной системы (вторичные лимфоидные фолликулы) и дифференцируются в плазматические клетки, синтезирующие антитела.

Вторым этапом иммунного ответа является элиминация антигена, что обусловлено действием образующихся специфических эффекторов, поэтому эта стадия иммунного ответа называется *эффекторной*. Эффекторами гуморального иммунного ответа являются антитела (IgA, IgM, IgG, IgE). Эффекторные свойства антител: нейтрализация антигена, активация системы комплемента по классическому пути, участие в фагоцитозе, реализация антителозависимой клеточной цитотоксичности.

Известно, что в зависимости от участия Т-лимфоцитов в иммунном ответе, антигены подразделяются на Т-зависимые и Т-независимые.

Гуморальный иммунный ответ с обязательным участием Т-хелперов индуцируется Т-зависимыми антигенами, к которым относится большая часть известных антигенов. Механизм такого реагирования описан выше.

Для развития иммунного ответа на Т-независимые антигены не требуется привлечения Т-хелперов. Т-независимые антигены представляют собой крупные молекулы (до 10^3 кД), которые способны непосредственно стимулировать В-лимфоциты к антителопродукции, дифференцировке и пролиферации, а также вызывать иммунный ответ у бестимусных животных. По способу активации В-лимфоцитов Т-независимые антигены делят на 2 группы: 1-го типа (ТН1-антигены) и 2-го типа (ТН2-антигены). ТН1-антигены (липополисахарид мембраны грамотрицательных бактерий) способны вызывать поликлональную активацию В-лимфоцитов. ТН2-антигены (флагеллин, фиккол), особенностью которых является наличие многочисленных однотипных эпитопов, обладают способностью одновременно взаимодействовать с многочисленными антигенраспознающими рецепторами В-лимфоцитов, приводя к их активации при участии цитокинов. Особенностью гуморального иммунного ответа на Т-независимые антигены является синтез IgM-антител и отсутствие формирования иммунологической памяти, либо формирование кратковременной памяти.

В результате протективного иммунного ответа происходит формирование иммунологической памяти, которая является основой развития быстрого и эффективного иммунного ответа при повторном попадании антигена. Материальной основой иммунологической памяти является образование антигенспецифичного клона лимфоцитов – клеток-памяти: В-лимфоцитов-памяти и Т-лимфоцитов-памяти, имеющих определенные фенотипические и функциональные особенности. Клетки памяти относятся к долгоживущим клеткам, обладают способностью к рециркуляции в организме. Длительность иммунологической памяти зависит от варианта патогена.

Различают первичный и вторичный иммунный ответ. При первичном иммунном ответе секретируются IgM-антитела, максимальная концентрация которых достигает к 4-5 суткам. На 5-7-е сутки происходит переключение на синтез IgG-антител, а также IgA и IgE. Высокий уровень сывороточных IgG сохраняется около 20 дней, затем их содержание в сыворотке снижается в течение 2-3 месяцев. При вторичном иммунном ответе на 1-2 сутки синтезируются IgG-антитела высокой специфичности, что связано с формированием иммунологической памяти после первого контакта с антигеном.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Антигенпредставляющие клетки, характеристика, основные свойства.
2. Антигенраспознающие рецепторы Т- и В-лимфоцитов.
3. Антигены главного комплекса гистосовместимости, их роль в представлении антигена.
4. Первичный и вторичный иммунный ответ.
5. Роль цитокинов в иммунном ответе.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, главы 3-5. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: учебник [Электронный ресурс] / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, главы 4,8,9 <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа 2011. – 624 с.: ил.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	70 мин
5.	Заслушивание докладов по теме	35 мин
6.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	15 мин
7.	Подведение итогов	10 мин
8.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, главы 3-5.
<http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: учебник [Электронный ресурс] / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, главы 4,8,9. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с. Глава 2
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Охарактеризуйте фенотип и функциональные особенности антиген-представляющих клеток.
2. Структура антигенраспознающих рецепторов Т- и В-лимфоцитов.
3. Что такое феномен «двойного распознавания» в иммунном ответе.
4. Дайте определение иммунного ответа и охарактеризуйте стадии иммунного ответа.
5. Назовите типы иммунного ответа.
6. Охарактеризуйте этапы гуморального иммунного ответа.
7. Дайте определение и классификацию цитокинов.
8. Назовите клетки, продуцирующие цитокины.
9. Охарактеризуйте механизмы действия цитокинов на клетки-мишени.
10. Что такое первичный и вторичный иммунный ответ.
11. Эффекторные свойства антител.
12. Объясните феномен иммунологической памяти.
13. Назовите фенотипические и функциональные особенности клеток памяти.
14. Сформулируйте значение факторов врожденного иммунитета в инициации иммунного ответа.

Практическое занятие № 11

«Клеточно-опосредованный иммунный ответ»

Цель занятия:

Изучить этапы клеточного иммунного ответа.

Основные вопросы для обсуждения:

1. Индукторы клеточного иммунного ответа.
2. Клеточный иммунный ответ: представление антигенов, характеристика эффекторов.
3. Цитотоксический тип клеточного иммунного ответа.
4. Воспалительный тип клеточного иммунного ответа.
5. Формирование иммунологической памяти.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Клеточный иммунный ответ (КИО) индуцируется антигенами, связанными с клетками (вирусы, внутриклеточные бактерии, опухолевые антигены и др.). При этом аналогично гуморальному, КИО включает индуктивную и эффекторную (продуктивную) фазы.

Индуктивная фаза инициируется антигеном, который поглощается антигенпредставляющими клетками. Представление антигена лимфоцитам осуществляется в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости, что называется феноменом «двойного распознавания». Основу индуктивной фазы клеточного иммунного ответа составляет образование комплекса антиген-МНС I на мембране антигенпредставляющей клетки (дендритной клетки) и взаимодействие его с антигенраспознающим рецептором TCR (CD3) на мембране Т-лимфоцита с участием корецептора CD8. Взаимодействие молекулы CD28 на мембране Т-лимфоцита и CD80 на дендритной клетке способствует пролиферации и дифференцировке Т-лимфоцитов в эффекторные клетки (CD8+ цитотоксические лимфоциты), которые способны непосредственно взаимодействовать с инфицированными клетками организма и подвергать их цитолизу. Активированные Т-лимфоциты мигрируют из региональных лимфатических узлов через эфферентные лимфатические сосуды, попадают в системную циркуляцию, а оттуда - в очаг воспаления в месте проникновения патогена.

Эффекторная фаза включает процессы, направленные на элиминацию антигена, что обусловлено действием образующихся специфических эффекторов. Эффекторами КИО являются CD8+ цитотоксические лимфоциты, основной функцией которых является осуществление цитолиза и апоптоза клеток-мишеней, например, вирусинфицированных клеток. Данный вид КИО называют цитотоксическим. Выделяют 3 механизма цитолиза инфицированных клеток:

1. Перфорин-гранзимовый механизм цитотоксичности

Т-цитотоксический лимфоцит распознает молекулы МНСI класса в комплексе с антигеном на клетках-мишенях с формированием цитотоксического иммунного синапса, в результате чего Т-лимфоцит выделяет перфорин и гранзимы, содержащиеся в гранулах. Перфорин представляет собой гидрофобный белок, который встраивается в мембрану клетки-мишени (в присутствии ионов Ca²⁺) и образует канал. Через эти каналы в клетку проникают гранзимы, что приводит к апоптозу клетки-мишени.

2. Fas-опосредованный апоптоз

Апоптоз может происходить с участием Fas-лиганда, экспрессируемого Т-клеткой, и Fas-рецептора клетки-мишени. Экспрессии Fas-рецептора на клетки-мишени способствует

инфицирование её вирусом. При взаимодействии лиганд-рецептор активируются внутриклеточные каспазы, приводящие клетку к апоптозу.

3. Цитокиновый механизм цитотоксичности

Активированный цитотоксический Т-лимфоцит синтезирует ФНО- α , который взаимодействует с соответствующими рецепторами на клетках-мишенях. Сигнал передается через домены смерти и приводит к развитию апоптоза по механизму, схожему с таковым при Fas-цитоллизе.

Другим вариантом элиминации патогена является активация CD4+ лимфоцитов, которые продуцируют цитокины (например, INF- γ), инициирующие миграцию макрофагов и нейтрофилов в очаг иммунного воспаления и их активацию. Активированные макрофаги выделяют факторы бактерицидности – оксид азота (NO), активные формы кислорода, цитокины: TNF α , IL6, IL1, IFN α . Эти вещества способствуют уничтожению внутриклеточных патогенов, но они же вызывают и деструкцию окружающих тканей. Это приводит к развитию гиперчувствительности замедленного типа. Данный вид КИО называется воспалительным. Воспалительный тип клеточного иммунного ответа развивается в тех случаях, когда микроорганизмы, фагоцитированные клетками, не разрушены в лизосомах вследствие различных причин. Примером таких возбудителей являются микобактерии, простейшие (хламидии, лейшмании), риккетсии, плазмодии, грибы рода Candida.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Антигенпредставляющие клетки, характеристика, основные свойства.
2. Антигенраспознающие рецепторы Т-лимфоцитов.
3. Цитотоксический тип иммунного ответа на примере гепатита В.
4. Воспалительный тип иммунного ответа на примере туберкулеза.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, главы 3-5. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: учебник [Электронный ресурс] / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, главы 4,8,9 <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа2011. – 624 с.: ил. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	70 мин
5.	Заслушивание докладов по теме	35 мин
6.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	15 мин
7.	Подведение итогов	10 мин
8.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Клеточный иммунный ответ»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, главы 3-5. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: учебник [Электронный ресурс] / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, главы 4,8,9. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с. Глава 2 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Охарактеризуйте антигены, индуцирующие клеточный иммунный ответ.
2. Структура антигенраспознающих рецепторов Т-лимфоцитов.
3. Иммунологический синапс, роль в КИО.
4. Цитокины, участвующие в цитотоксическом типе КИО.
5. Охарактеризуйте этапы цитотоксического типа клеточного иммунного ответа.
6. Механизмы цитолиза клеток-мишеней при цитотоксическом типе КИО.
7. Охарактеризуйте этапы воспалительного типа клеточного иммунного ответа.
8. Цитокины, участвующие в воспалительном типе КИО.
9. Роль макрофагов в развитии воспалительного типа КИО.
10. Формирование иммунологической памяти при КИО.

Практическое занятие №12

«Возрастные особенности иммунной системы»

Цель занятия:

Изучить возрастные особенности иммунной системы.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Особенности иммунной системы плода: развитие органов иммунной системы; становление факторов врожденного и адаптивного иммунитета.
2. Особенности иммунной системы ребенка в периоде новорожденности.
3. Возрастные критические периоды в развитии иммунной системы ребенка.
4. Особенности иммунитета в пожилом возрасте

Основные понятия, категории по теме занятия:

Развитие иммунной системы является генетически детерминированным процессом. Формирование иммунной системы плода начинается на ранних этапах эмбрионального развития. Зачатки центральных органов появляются с 4-5 недели эмбриогенеза, в это время происходит закладка селезенки. На 5-6 неделях отмечается закладка лимфатических узлов, с 9-14 недели – закладка небной и глоточной миндалин. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками различных отделов кишечника, появляется на 14-16 нед внутриутробного развития, язычная миндалина – на 24-25 нед, трубные миндалины – на 28-29 неделе. Начало функционирования костного мозга относят к 11-12 неделе. На 7-8 неделе внутриутробного развития тимус заполняется стволовыми клетками из печени и становится лимфоэпителиальным образованием. На сроке 8,5 недель в нем появляются предшественники Т-клеток. Т-клетки, имеющие $\gamma\delta$ TCR, участвующие во врожденном иммунитете, появляются раньше, чем Т-клетки с $\alpha\beta$ TCR – основные

участники адаптивного иммунитета. Большинство Т-клеток плода экспрессируют CD45RA – маркер наивных Т-клеток. Первые В-лимфоциты появляются в печени на 8-й неделе эмбрионального развития, затем – в костном мозге. С 12-й недели В-лимфоциты плода способны дифференцироваться в плазматические клетки и синтезировать IgM (в случае контакта с антигеном).

Онтогенез факторов врожденного иммунитета характеризуется ранними сроками их становления в организме плода. Начало синтеза некоторых компонентов комплемента (C3, C4, C5), интерферона, лизоцима относится к 8-9 неделям эмбрионального развития. В эти же сроки формируются клеточные факторы врожденного иммунитета. Гранулоциты и моноциты появляются в печени плода на 2 месяце эмбрионального развития, затем основным местом их образования является костный мозг. В функциональном отношении гранулоциты плода отличаются сниженной способностью к адгезии и хемотаксису. Фагоцитоз у плода незавершенный, что связано с недостаточностью высвобождения лизосомальных ферментов. Естественные киллеры находят в печени 5-недельного плода, и к 18-й неделе их количество увеличивается, достигая 15-25% всех клеток печени.

К моменту рождения органы иммунной системы здорового новорожденного достигают морфологической зрелости. Некоторые отличия имеются у детей, рожденных раньше срока.

В становлении иммунной системы ребенка выделяют пять критических периодов.

Первый критический период соответствует периоду новорожденности (до 28 дней). Иммунитет имеет пассивный характер и обусловлен IgG, которые активно проникают через трансплацентарный барьер в последнем триместре беременности. Пассивный иммунитет поддерживается и IgA, содержащимися в грудном молоке. Содержание SIgA в молозиве очень высоко и достигает 16-22,7 мг/л. С переходом молозивного молока в зрелое концентрация секреторных иммуноглобулинов существенно снижается. SIgA сохраняет свою активность во всех отделах желудочно-кишечного тракта. Наряду с этим в грудном молоке содержатся другие гуморальные факторы (цитокины, хемокины, лактоферрин, лизоцим, липаза) и клеточные элементы (макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты).

Система фагоцитоза имеет особенности: отмечается низкая активность нейтрофилов НК-клеток. Синтез собственных антител IgM очень низкий. В связи с этим отмечается слабая резистентность к условнопатогенной, гноеродной, грамотрицательной флоре, некоторым вирусам (герпес, цитомегаловирус, Коксаки В). Характерна склонность к генерализации микробновоспалительных процессов, к септическим состояниям. На 5-е сутки жизни происходит первый физиологический перекрест в лейкоцитарной формуле: устанавливается абсолютное и относительное преобладание лимфоцитов.

Второй критический период (3-6 мес.). Иммунологические основы: катаболизм материнских антител, формирование первичного иммунного ответа, супрессорная направленность иммунных реакций при выраженном лимфоцитозе, недостаточность местного иммунитета. Первичный иммунный ответ приводит к синтезу иммуноглобулинов класса М и не оставляет иммунологической памяти. Такой тип иммунного ответа наступает также при вакцинации против инфекционных заболеваний, и только ревакцинация формирует вторичный иммунный ответ с продукцией антител класса IgG. Дети отличаются очень высокой чувствительностью к респираторному синцитиальному вирусу, ротавирусу, вирусам парагриппа, аденовирусам (высокая подверженность воспалительным процессам органов дыхания, кишечным инфекциям). Атипично протекают коклюш, корь, не формируя стойкого иммунитета. Дебютируют аллергические заболевания, наследственные болезни, в том числе первичные иммунодефициты.

Третий критический период (3-й год жизни). Сохраняется первичный иммунный ответ (синтез IgM) на многие антигены с постепенным переключением иммунных реакций на образование антител класса IgG. Имеет место недостаточность местного иммунитета. Сохраняется высокая чувствительность к вирусам. В этот период впервые проявляются многие первичные иммунодефициты, аутоиммунные и иммунокомплексные болезни.

Четвертый критический период (4-6 лет). Иммунологические основы: среднее содержание IgG и IgM в сыворотке крови соответствует уровню взрослых, уровень IgA в сыворотке крови низкий. Содержание IgE в плазме крови отличается максимальным уровнем в сравнении с другими возрастными периодами. Система местного иммунитета недостаточно зрелая. Клинически отмечается высокая частота atopических, паразитарных, иммунокомплексных заболеваний, возможны первые клинические проявления первичных иммунодефицитов.

Пятый критический период соответствует подростковому периоду (12–13 лет у девочек и 14–15 лет – у мальчиков). Иммунологические основы: подавление клеточного звена иммунной системы, снижение содержания IgE в сыворотке крови. Отмечается подъем частоты хронических воспалительных, а также аутоиммунных и лимфопролиферативных заболеваний.

В последующем, с увеличением возраста человека, в иммунной системе также происходят изменения, причиной которых являются как экзогенные, так и эндогенные факторы: изменение клеточного окружения (нарушения нейрогуморального равновесия), изменения самих клеток иммунной системы. Так, морфогенез тимуса изменяется в зависимости от возраста: лимфоидная ткань к 17 годам составляет около 50% массы органа, к 60-годам – около 10%, что называется возрастной инволюцией тимуса. Предполагается, что основной причиной инволюции тимуса является изменение баланса цитокинов: гиперпродукция ИЛ-6, онкостатина М, ингибирующего лейкомию фактора и снижение содержания ИЛ-7, ИЛ-10, лептина, фактора роста кератиноцитов, тимического лимфопоэтина. Инволюция тимуса и уменьшение продукции Т-лимфоцитов является главным фактором возрастного изменения адаптивного иммунитета.

Характерным для старения является уменьшение количества Т-лимфоцитов: отмечается более выраженное снижение содержания популяции CD8+Т-лимфоцитов и менее выраженное – CD4+Т-лимфоцитов. Обнаруживаются определенные особенности внутри популяций CD4+Т-лимфоцитов у пожилых, в частности, наблюдается дефицит Т-клеток памяти. Снижается содержание Т-лимфоцитов не только в периферической крови, но и в тимусе, отмечается сужение спектра антигенного репертуара лимфоцитов. Наряду с этим изменяется экспрессия антигенов гистосовместимости на Т-лимфоцитах, уменьшается плотность распределения специфических рецепторов на их поверхности, что обуславливает снижение распознавания аллоантигенов и дальнейшей передачи информации, необходимой для развития иммунного ответа и элиминации антигена.

С увеличением возраста связана дисрегуляция гуморального иммунного ответа, что отражается на содержании IgA, IgM и IgG в сыворотке крови: отмечается снижение концентрации IgM и тенденция к увеличению уровня IgG и IgA. Иммуноглобулины характеризуются низкой аффинностью, высокой полиспецифичностью и аутогенной реактивностью.

Одной из важных причин изменения адаптивного иммунитета является угнетение антигенпрезентирующей способности дендритных клеток: снижается захват антигенов и хемотаксическая активность. Падение их способности поглощать и представлять аутоантигены приводит к нарушению клиренса ими собственных клеток организма, претерпевающих запрограммированную гибель. Избыточное накопление последних приводит к некрозу с выходом нуклеиновых кислот и белков, индуцирующих воспалительный процесс.

Функциональная активность факторов врожденного иммунитета при старении также изменяется. Например, выявлено снижение содержания таких гуморальных факторов, как лизоцим и С3-компонент системы комплемента. У пожилых лиц изменения в клеточных факторах врожденного иммунитета связаны с уменьшением числа активных клеток, снижением миграционной, поглотительной и переваривающей способности макрофагов.

Таким образом, изменения иммунной системы в пожилом возрасте являются основой для развития аутоиммунных, онкологических заболеваний, а также хронических воспалительных процессов.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Возрастная инволюция тимуса.
2. Факторы врожденного иммунитета: становление в процессе внутриутробного развития плода.
3. Роль пассивного иммунитета у детей в младенческом периоде.
4. Иммунологические теории старения.
5. Возрастные особенности лимфоидной ткани.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с. Главы 9-10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс]: учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - - 528 с. Глава 10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	45 мин
5.	Решение ситуационных задач	60 мин
6.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	15 мин
7.	Подведение итогов	10 мин
8.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме**«Возрастные особенности иммунной системы»****Ознакомьтесь с материалом:**

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с. Главы 9-10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс]: учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. Глава 10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

- Становление органов иммунной системы во внутриутробном периоде.
- Охарактеризуйте особенности клеточных и гуморальных факторов врожденного иммунитета плода.
- Охарактеризуйте особенности лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками, у ребенка в различные возрастные периоды.
- Перечислите критические периоды развития иммунной системы ребенка.
- Охарактеризуйте иммунологическую основу каждого критического периода становления иммунной системы.
- Обозначьте особенности иммунной системы при старении.

Практическое занятие №13

«Иммунопрофилактика инфекций»

Цель занятия:

Изучить иммунологические основы вакцинопрофилактики. Изучить характеристику иммунобиологических препаратов на основе антител, способы их получения и возможности применения в клинической практике.

Основные вопросы:

1. Иммунопрофилактика. Медицинские иммунобиологические препараты.
2. Вакцины. Определение. Классификация. Способы получения.
3. Сравнительная характеристика живых и инактивированных вакцин.
4. Иммунологические механизмы действия вакцин. Фазы формирования иммунного ответа на вакцины.
5. Состав вакцин. Понятия стабилизатор, консервант, адъювант.
6. Иммунные сыворотки. Классификация. Способы получения. Практическое значение.
7. Препараты иммуноглобулинов. Классификация. Способы получения. Практическое значение.
8. Моноклональные антитела. Способы получения. Практическое значение.
9. Осложнения при использовании препаратов антител.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Иммунопрофилактика - система мероприятий, осуществляемых в целях предупреждения, ограничения распространения и ликвидации инфекционных заболеваний путем введения в организм человека медицинских иммунобиологических препаратов.

Медицинские иммунобиологические препараты:

- Вакцины
- Анатоксины
- Сыворотки
- Препараты иммуноглобулинов

Вакцинация, с точки зрения иммунологии, - введение в организм человека заданного антигена в неагрессивной форме и в неагрессивных, но иммуногенных дозах с целью индукции защитного (протективного) иммунного ответа и формирования иммунологической памяти для профилактики реального инфекционного заболевания в будущем.

Вакцины - специально разработанные формы иммуногенов, предназначенные для создания искусственного активного иммунитета. Формирование иммунного ответа на вакцину можно охарактеризовать тремя периодами.

- 1) Латентный период - от введения вакцины до появления определяемых антител в сыворотке крови.
- 2) Фаза роста - экспоненциальное увеличение содержания антител в сыворотке крови, продолжительность которой для разных вакцинных препаратов может колебаться от 4 дней до 4 недель.
- 3) Фаза снижения наступает после достижения максимального уровня антител длительностью от нескольких лет до десятилетий. Снижение уровня антител до критического уровня, что обосновывает необходимость проведения ревакцинаций, дающих бустерный эффект.

Бустер-эффект (от англ. Booster - усилитель) - повышенная и ускоренная продукция антител и других факторов иммунного ответа на вторичное усиливающее введение антигена после первичной иммунизации.

Различают несколько видов вакцин: живые аттенуированные, инактивированные, химические, рекомбинантные. Кроме вакцин, для создания искусственного адаптивного иммунитета используются анатоксины.

Свойства живых вакцин

Преимущества:

- требуются низкие дозы антигенов, так как происходит репликация вакцинных вирусов в организме;
- для получения протективного иммунитета может быть достаточно введения одной дозы вакцины;
- поствакцинальный иммунитет длительный и стойкий;
- индуцируют гуморальный, клеточный, мукозальный иммунитет;
- не содержат адъювантов.

Потенциальные проблемы живых вакцин:

- возможность реверсии вирулентных свойств (вакциноассоциированные заболевания);
- противопоказаны иммунокомпromетированным лицам.

Проблемы безопасности живых вакцин:

- возможна низкая аттенуация вирусов;
- возможны мутации, приводящие к реверсии вирулентности;
- нестабильность вакцинных препаратов и их термолабильность;
- в состав входят белки среды культивирования, антибиотики, стабилизаторы, консерванты;
- возможна контаминация бактериями в культуре клеток.

Свойства инактивированных вакцин

Преимущества:

- не вызывают вакциноассоциированных заболеваний;
- иммунитет менее напряженный, чем вызываемый живыми вакцинами.

Потенциальные проблемы инактивированных вакцин:

- недостаточная активация вируса;
- разрушаются при замораживании;
- наличие в составе адъювантов, стабилизаторов;
- необходима бустерная вакцинация;
- повышен риск развития аллергических реакций.

Ассоциированными называются вакцины, в состав которых входит несколько разнородных антигенов, что позволяет проводить вакцинопрофилактику сразу нескольких инфекций.

Если в состав препарата входят однородные компоненты, то такую вакцину называют *поливакциной*, например, живая полиомиелитная вакцина, в состав которой входят аттенуированные штаммы вируса полиомиелита I, II и III типа.

Если препарат состоит из разнородных компонентов, его называют *комбинированной* вакциной. Примерами комбинированных вакцин является живая ассоциированная вакцина против кори, эпидемического паротита и краснухи и АКДС-вакцина (коклюш, дифтерия, столбняк).

Вакцина представляет собой сложный иммунобиологический препарат, в состав которого, кроме специфических антигенов, входят *стабилизаторы, консерванты, адъюванты*.

В качестве *стабилизаторов*, предохраняющих антиген от разрушения, чаще всего используют гомологичные белки (человеческий альбумин, сахарозо-агар-желатин и др.). В качестве *консервантов* применяют мертиолат, формалин.

Адьюванты - вещества, усиливающие иммуногенность инактивированных вакцин. Различают несколько групп адьювантов: минеральные (соли или гидроокись алюминия и др.), растительные (сапонины), микробные (ЛПС, полисахариды, пептидогликаны, нуклеиновые кислоты и др.), синтетические (полиэлектролиты), цитокины.

Вакцины применяют парентерально, внутримышечно, подкожно, чрескожно или интраназально, перорально.

Вакцинация детей проводится согласно Национальному календарю прививок с учетом показаний и противопоказаний.

Абсолютными противопоказаниями к вакцинации детей являются: сильная реакция или осложнение на предыдущее введение любой вакцины; первичный иммунодефицит, иммуносупрессия, злокачественные новообразования – для вакцинации живыми вакцинами; вес при рождении менее 2000 г – для вакцинации против туберкулеза, прогрессирующие заболевания нервной системы и афебрильные судороги в анамнезе – для вакцинации АКДС; тяжелые формы аллергических реакций на аминокликозиды и анафилактические реакции на белок куриного яйца (для коревой и паротитной вакцин).

К иммунным препаратам на основе антител относятся иммунные сыворотки, иммуноглобулины (цельномолекулярные и доменные), моноклональные антитела, абзимы (антитела-ферменты).

Иммунные сыворотки получают путем гипериммунизации, т.е. многократной интенсивной иммунизации животных (лошадей, ослов, иногда кроликов) специфическим антигеном с последующим, в период максимального антителообразования, кровопусканием и выделением из крови иммунной сыворотки. Иммунные сыворотки, полученные от животных, называют гетерогенными, так как они содержат чужеродные для человека сывороточные белки.

Для получения гомологичных не чужеродных иммунных сывороток используют сыворотки переболевших людей или специально иммунизированных людей–доноров либо сыворотки из плацентарной, а также абортной крови, содержащие антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней вследствие вакцинации или перенесенного заболевания. Гомологические сыворотки дают меньше побочных реакций в ответ на их введение, чем гетерогенные.

По направленности действия среди них выделяют:

- антитоксические (против различных бактериальных токсинов, например, противостолбнячная, противодифтерийная, противоботулиническая, противогангренозная);
- антибактериальные (противотифозная, противочумная);
- противовирусные (против клещевого энцефалита, против бешенства) сыворотки.

Поскольку нативные иммунные сыворотки содержат в своем составе ненужные балластные белки, например, альбумин, из них выделяют специфические белки-иммуноглобулины, которые подвергают очистке и концентрированию различными физико-химическими методами (осаждение спиртом или ацетоном на холоде, обработка ферментами, аффинная хроматография, ультрафильтрация). Для повышения специфичности и активности антител, из молекул иммуноглобулина выделяют только антигенсвязывающие участки (Fab-фрагменты), такие иммуноглобулины получили название доменных антител. Иммуноглобулины (до 95% IgG) выделяют из плазмы здоровых людей-доноров (не менее чем от 5000 человек). Антитела к ВИЧ, вирусу гепатита С и HBsAg в иммуноглобулиновых препаратах отсутствуют.

По методу введения выделяют иммуноглобулины для внутримышечного введения и внутривенного введения.

В настоящее время выделяют несколько поколений внутривенных иммуноглобулинов:

- I поколение (расщепленные ферментами): молекулы иммуноглобулинов химически или ферментативно повреждены, не имеют функционального Fc-фрагмента.
- II поколение (химически модифицированные): сохранена функция Fc-фрагмента, но не в полном объеме; низкая степень очистки.
- III поколение («мягкое фракционирование»): функция Fc-фрагмента полностью сохранена; высокоочищенные.
- IV поколение (обработка при кислом значении pH): функция Fc-фрагмента полностью сохранена; высокоочищенные, в виде готового раствора для инфузии; четыре метода инактивации вирусов.

Для практических целей целесообразно использование классификации внутривенных иммуноглобулинов, основанной на составе препаратов:

- Стандартные (поливалентные, широкого спектра действия) иммуноглобулины; содержат антитела класса IgG различной специфичности;
- Препараты, содержащие антитела класса IgG, обогащенные антителами классов IgA и IgM;
- Гипериммунные (направленного действия), содержащие значительно более высокие концентрации специфических антител класса IgG против определенных возбудителей.

Иммунные сыворотки и препараты иммуноглобулинов применяют с лечебной и профилактической (экстренной) целью. С лечебной целью эти препараты вводят как можно раньше в больших дозах. Профилактические дозы сывороточных препаратов значительно меньше, их вводят людям, имевшим контакт с больным человеком или источником инфекции (пассивная иммунизация). Иммунитет после введения данных препаратов кратковременный (2-5 недель).

После введения иммунных сывороток или препаратов иммуноглобулинов возможны осложнения в виде анафилактического шока и сывороточной болезни. Поэтому перед введением препаратов ставят пробу на гиперчувствительность по методу Безредки дробно, небольшими порциями.

Важное достижение медицины последних лет - разработка и клиническое использование биологических препаратов на основе моноклональных антител (МАТ). МАТ - иммуноглобулины, синтезируемые только одним В-лимфоцитом или полученным от него клоном. МАТ продуцирует гибридома - искусственно полученные гибридные опухолевые клетки, для которых в качестве родительских выбирают В-лимфоциты от иммунных мышей или человека и опухолевые клетки миелом. В результате клонирования в культуре *in vitro* и селекции выбирают гибридомы, продуцирующие искомые МАТ.

Перспективное направление в создание новых препаратов на основе моноклональных антител – каталитические антитела абзимы. Это молекулы, обладающие свойствами антител (могут связываться с определенными эпитопами) и биологических катализаторов различных химических реакций (энзимов).

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Вклад Э. Дженнера в формирование и развитие иммунопрофилактики как важнейшего направления медицины.
2. Вклад Л.Пастера в формирование и развитие иммунопрофилактики как важнейшего направления медицины.
3. Национальный календарь прививок РФ.

4. Показания и противопоказания к вакцинации.
5. Поствакцинальные реакции и осложнения.
6. Механизмы иммуномодулирующего действия иммуноглобулинов.
7. Абзимы. Области применения абзимов.
8. Области применения моноклональных антител.
9. Проблемы на пути использования моноклональных антител.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 14 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.: учебник: в 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - М., ГЭОТАР-Медиа, 2016. - Т. 1. - 448 с. Глава 14. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970436417.html>
3. Эпидемиология инфекционных болезней: учебное пособие/ Н.Д. Ющук [и др.]. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 496 с.: ил. Глава 7. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970428245.html>
4. Иммунология: учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. Глава 15 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература:

1. Иммунология / Ярилин А.А. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.: ил. Глава 4.8.3. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Тестовый контроль по предыдущей теме	20 мин
3	Устный опрос по предыдущей теме	20 мин
4	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов	100 мин
5	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	20 мин
6	Подведение итогов	10 мин
7	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Иммунопрофилактика инфекций»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 14 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.: учебник: в 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - М., ГЭОТАР-Медиа, 2016. - Т. 1. - 448 с. Глава 14. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970436417.html>
3. Эпидемиология инфекционных болезней : учебное пособие / Н.Д. Ющук [и др.]. - 3-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 496 с.: ил. Глава 7. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970428245.html>
4. Иммунология: учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. Глава 15 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

5. Иммунология / Ярилин А.А. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.: ил. Глава 4.8.3. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

6. Образовательный портал КГМУ дисциплина «Иммунология», презентация «Вакцины. Препараты антител».

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Что из себя представляют вакцины?
 2. Классификация вакцин.
 3. Живые вакцины. Примеры. Способы получения.
 4. Живые вакцины. Их свойства. Преимущества и недостатки.
 5. Инактивированные вакцины. Примеры. Способы получения.
 6. Инактивированные вакцины. Их свойства. Преимущества и недостатки.
 7. Что такое анатоксины? Примеры. Способы получения.
 8. Иммунологические механизмы действия вакцин.
 9. Охарактеризуйте периоды формирования иммунного ответа на вакцины.
 10. Состав вакцинных препаратов. Понятия стабилизатор, консервант, адъювант.
 11. Что такое адъювант? Группы адъювантов. Механизмы действия адъювантов.
 12. Требования, предъявляемые к вакцинам.
 13. Что из себя представляют иммунные сыворотки? Классификация. Способы получения.
 14. Области применения иммунных сывороток.
 15. Что из себя представляют препараты иммуноглобулинов. Способы получения.
 16. Классификации иммуноглобулинов.
 17. Области применения препаратов иммуноглобулинов.
 18. Осложнения при использовании иммунных сывороток и препаратов иммуноглобулинов. Сывороточная болезнь.
 19. Осложнения при использовании иммунных сывороток и препаратов иммуноглобулинов. Анафилактический шок.
 20. Методика пробы Безредки.
 21. Что такое «моноклональные антитела»? Химерные и гуманизированные моноклональные антитела. Способы получения. Понятие «гибридома».
- Форма текущего контроля: устный опрос на занятии, тестирование.

Практическое занятие №14

«Оценка иммунного статуса» (1 часть)

Цель занятия:

Дать определение понятия «Иммунный статус». Изучить методы оценки состояния иммунной системы.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Иммунодиагностика: определение. Показания к проведению иммунологического обследования.
2. Иммунный статус: тесты I и II уровня, характеристика методов, используемых для оценки иммунного статуса.
3. Интерпретация результатов исследования иммунного статуса.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Иммунный статус - состояние иммунной системы человека, оцениваемое системой качественных и количественных клинико-лабораторных показателей.

Иммунодиагностика – проведение лабораторного и клинического исследований, которые помогают выявить конкретные нарушения в иммунной системе. Иммунодиагностика дает возможность выявить нарушенное звено в стройной системе функционирования иммунной

системы; выбрать средство иммуностропной терапии; провести оценку эффективности проводимой иммуностропной терапии.

Иммунологические исследования проводятся в иммунологической лаборатории, оснащенной специальным оборудованием.

Основными объектами для иммунологического обследования являются клетки адаптивного (лимфоциты) и врожденного иммунитета (нейтрофилы), выделяемые из периферической крови, а также регуляторные и эффекторные молекулы (цитокины, комплемент и др.), получаемые из сыворотки (плазмы) крови. В некоторых случаях исследуются иммунокомпетентные клетки и регуляторные молекулы из тканей и различных биологических жидкостей.

В настоящее время выделяют иммунодиагностические методы 1-го и 2-го уровня.

Тесты 1 уровня позволяют выявить грубые дефекты различных звеньев иммунной системы. К ним относятся следующие методы:

- 1) подсчет относительного и абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови;
- 2) определение содержания относительного и абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, НК-клеток, основных естественных субпопуляций Т-лимфоцитов с использованием моноклональных антител (методом проточной цитофлуориметрии);
- 3) определение содержания сывороточных иммуноглобулинов основных классов (методом ИФА, иммунопреципитации в геле);
- 4) определение функциональной активности фагоцитов (тест фагоцитоза, НСТ-тест, Вurst-тест);
- 5) активности комплемента;
- 6) возможен анализ других показателей (например, цитокинов).

Тесты 2 уровня позволяют провести более глубокий анализ нарушений в состоянии иммунной системы, которые выявлены с помощью тестов 1-го уровня. К ним относятся:

- 1) определение количества субпопуляций Т-лимфоцитов, включая адаптивные субпопуляции;
- 2) фенотипическая характеристика клеток иммунной системы на разных этапах иммуногенеза и иммунопоэза;
- 3) определение экспрессии активационных маркеров на поверхности иммунокомпетентных клеток;
- 4) оценка способности Т- и В-лимфоцитов давать пролиферативный ответ на различные стимуляторы (антигены);
- 5) оценка апоптоза лимфоцитов;
- 6) оценка концентрации различных цитокинов;
- 7) определение классов и подклассов иммуноглобулинов, др.

Исследование иммунного статуса имеет важное значение в диагностике иммуноопосредованных заболеваний, прежде всего, таких, как иммунная недостаточность. Кроме того, иммунологические методы используются в других областях медицины. Так, метод проточной цитометрии используется в онкологии и онкогематологии для идентификации и подсчета клеток, относящихся к разным периодам клеточного цикла, обнаружения аномальных клеток, выявления степени пролиферативной активности клеток, выявления опухолевых маркеров. Диагностика любого инфекционного заболевания основана также на иммунологических методах определения антигенов возбудителей, либо антител, синтезированных против них.

При этом интерпретация результатов проводится во взаимосвязи с клинической картиной заболевания и с учетом возрастных особенностей иммунной системы.

Таким образом, исследование иммунного статуса является важным этапом диагностики иммунопатологических состояний.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Диагностическое значение изучения продукции и определения уровня отдельных цитокинов.

2. Общие принципы иммунодиагностики иммунодефицитов.
3. Характеристика иммунного статуса при различных вариантах иммунной недостаточности.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	45 мин
5.	Решение ситуационных задач	60 мин
6.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	15 мин
7.	Подведение итогов	10 мин
8.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Оценка иммунного статуса»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с. Главы 9-10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс]: учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. Глава 10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Что такое «иммунодиагностика»?
2. Что подразумевается под термином «иммунный статус»?
3. Назовите тесты I и II уровня.
4. Что является показанием для проведения иммунологического обследования?
5. Какие тесты используются для оценки клеточных факторов врожденного иммунитета?
6. Какие тесты используются для оценки гуморальных факторов врожденного иммунитета?
7. С помощью каких методов можно определить количество лимфоцитов и их популяций?
8. Какие методы используются для определения содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови?
9. Каково значение исследования иммунного статуса в клинической практике?
10. Каковы правила интерпретации показателей иммунного статуса?

Практическое занятие № 15 «Оценка иммунного статуса» (2 часть)

Цель занятия:

Практически выполнить основные этапы фенотипирования лимфоцитов и определения содержания иммуноглобулина G в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Проточная цитофлюориметрия: характеристика метода

2. Понятие моноклональных антител. Гибридная технология получения моноклональных антител
3. Методика выполнения иммунофенотипирования
4. Иммуноферментный анализ: методика выполнения для определения содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови

Основные понятия, категории по теме занятия:

Иммунофенотипирование – анализ гетерогенной популяции клеток с целью выявления наличия и соотношения популяций путем анализа поверхностных и внутриклеточных антигенов (маркеров), экспрессируемых клетками. Выявление и анализ антигенов производится с помощью конъюгированных с флюорохромами моноклональных антител путем детекции флюоресцентного сигнала проточным цитофлюориметром. В качестве антигенов чаще всего используются функциональные протеины мембран, вовлеченные в клеточную коммуникацию, адгезию и метаболизм.

Моноклональные антитела (МКАТ) – это антитела строго определённой специфичности, которые синтезируются одним клоном клеток (гибридомой). Особенностью моноклональных антител является их идентичность по специфичности и по физико-химическим свойствам.

Технология получения МКАТ (гибридная технология) разработана Георгом Келером и Цезарем Мильштейном, которые в 1984 г. стали лауреатами Нобелевской премии за это открытие. Учеными предложен метод получения гибридом путем слияния нормальной плазматической клетки, синтезирующей антитела к конкретному антигену и опухолевой клетки. В результате клетки гибридомы наследовали способность к синтезу антител строгой специфичности и, одновременно, к неограниченному числу делений.

Таким образом, в настоящее время получены МКАТ к различным антигенам клеток организма человека, в том числе опухолевых клеток, а также к антигенам микроорганизмов. МКАТ широко используются для диагностики заболеваний в различных областях медицины (инфекционная патология, онкология, аутоиммунная патология, клиническая иммунология и др.)

Для количественного содержания лимфоцитов применяется метод проточной цитофлюориметрии, отдельные этапы которого будут выполняться в ходе данного практического занятия.

В научных и клинических исследованиях применяется, прежде всего, фенотипирование клеток крови и костного мозга с помощью мультипараметрического (многоцветного) анализа поверхностных CD-маркеров. Данный метод позволяет разделить клетки на популяции с различными фенотипами, анализируя интенсивность сигналов исследуемых флюоресцентных маркеров. Проточный цитофлюориметр с тремя лазерами в конфигурации 3-6-3 полосных фильтра позволяет одновременно регистрировать до 11 флюоресцентных маркеров. Вариации метода:

- анализ поверхностных и/или внутриклеточных маркеров
- анализ живых/фиксированных клеток
- использование разных протоколов окрашивания (с помощью конъюгатов первичных антител/ с помощью конъюгатов вторичных антител)

Этапы выполнения иммунофенотипирования с использованием моноклональных антител

Протокол:

1. Материал для исследования: цельная кровь или предварительно выделенные из периферической крови лейкоциты.
2. Получают гепаринизированную периферическую венозную кровь (20-25 ЕД гепарина на 1 мл крови) в объеме 5 мл.
3. Выделяют лейкоциты из периферической крови с использованием 0,3% раствора желатина и инкубации в термостате для осаждения эритроцитов. Далее клетки отмывают и центрифугируют при обороте 1000 об/мин в течение 10 мин.

4. К клеточному осадку добавляют 50 мкл культуральной среды. Затем в каждую пробирку вносят 50 мкл предварительно разведенного образца моноклональных антител к CD-маркерам, меченых флюорохромами (например, МКАТ к CD4, CD8, CD3 и др.). Контрольная проба содержит клетки и культуральную среду.
5. Пробирки инкубируют 30 мин при 4°C, далее клетки отмывают в полной культуральной среде центрифугированием при 1000 об/мин в течение 5 мин.
6. Оставшиеся эритроциты подвергают лизису под действием лизирующего раствора, который состоит из 0,8% раствора NH₄Cl, 0,1% раствора NaHCO₃, 0,0037% натриевой соли ЭДТА (pH=7,2-7,4).
7. Проводят встряхивание проб на шейкере.
8. Центрифугируют 5 мин при 1000 об/мин, сливают надосадочную жидкость, добавляют культуральную среду и повторяют центрифугирование в прежнем режиме.
9. Для фиксации меченых клеток в каждую пробу добавляют по 100 мкл 2% параформальдегида и инкубируют 30 мин при 4°C.
10. Анализ образцов проводят на проточном цитометре. Далее результат оценивается в соответствии с интенсивностью флюоресценции исследуемых маркеров на соответствующих гистограммах.

Определение уровня IgG методом иммуноферментного анализа. В основе метода иммуноферментного анализа (ИФА) лежит реакция специфического взаимодействия антигена с антителом и образования иммунного комплекса с его последующей визуализацией с помощью специальной метки, предварительно конъюгированной либо с антителом, либо с антигеном. В качестве метки используются ферменты (пероксидазу хрена, бета-галактозидазу, щелочную фосфатазу), катализирующие бесцветный субстрат в цветной продукт, поэтому метод носит название иммуноферментного анализа. Результат ИФА определяют с помощью спектрофотометра, измеряющего оптическую плотность субстрата.

Выделяют следующие варианты ИФА: гомогенный и гетерогенный. В основе *гомогенного* ИФА, который используется для определения низкомолекулярных субстанций, лежит ингибирование активности фермента при его соединении с антигеном и восстановление ее в результате реакции антиген-антитело или же, наоборот, потеря активности фермента в результате реакции. Гомогенный ИФА используется редко. При *гетерогенном* ИФА используется твердая фаза, на которую из раствора фиксируется антиген или антитело, в связи с чем этот вариант метода называется твердофазным. В качестве твердой фазы применяют: пластмассу (например, полистирол) в виде штампованных микроплашек с 96 или 60 лунками; пористые материалы в виде стрипов или плоских листов. Остальные реагенты используют в виде растворов, которые добавляют к твердой фазе поочередно, инкубируют, затем отмывают не связавшиеся реагенты. Результат реакции «остается» на твердой фазе и регистрируется количественно.

Метод ИФА включает 3 основных этапа: 1) образование иммунного комплекса «антиген (исследуемое вещество) – специфическое к нему антитело» или наоборот; 2) формирование связи конъюгата с образовавшимся на предыдущем этапе иммунным комплексом или со свободными местами связывания (детерминантами); 3) преобразование субстрата под действием ферментной метки в регистрируемый сигнал в результате биохимической реакции (Рис.1).

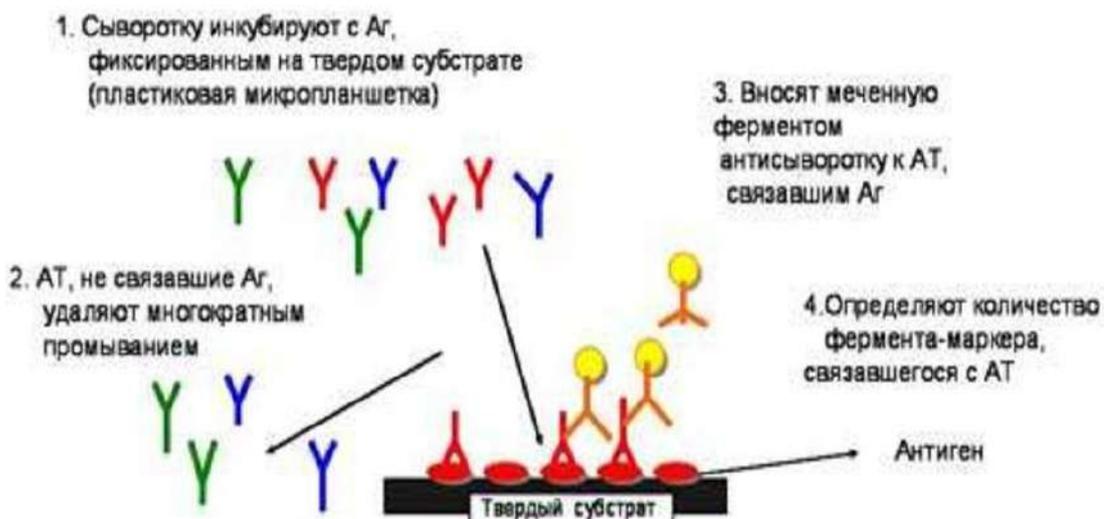


Рис.1 Схема иммуноферментного анализа

Протокол выполнения твердофазного ИФА для определения содержания иммуноглобулина G в сыворотке крови человека. Используется «Сэндвич» - вариант твердофазного ИФА.

1. Для выполнения данного анализа необходима венозная кровь. После забора крови и формирования сгустка сыворотку крови отделяют путем центрифугирования.
2. В лунки планшета, на котором иммобилизованы моноклональные антитела к IgG, вносят образцы проб, инкубируют в течение 1 часа, далее отмывают.
3. Вносят конъюгат антииммуноглобулиновых антител с конъюгированным ферментом в разведении согласно инструкции к тест-системе. Инкубируют в течение 1 часа.
4. Вносят в лунки раствор субстрата того фермента, который входит в состав антииммуноглобулинового конъюгата (если фермент – пероксидаза хрена, то субстратом могут быть ортофенилендиамин и перекись водорода).
5. Через 10-15 мин в лунках, где произошла реакция антиген-антитело, появляется желто-коричневое окрашивание.
6. Для остановки ферментативной реакции в лунки вносят стоп-реагент.
7. Интенсивность ферментативной реакции измеряют в единицах оптической плотности на спектрофотометрах, уровень которой зависит от содержания иммуноглобулина G в сыворотке крови человека.

Аналогично проводится исследование уровня других классов иммуноглобулинов.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Моноклональные антитела в иммунодиагностике заболеваний
2. Иммуномагнитная сепарация клеток в клинической лабораторной практике.
3. Иммуноферментный анализ в клинической лабораторной диагностике.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	35 мин
5.	Проведение лабораторной работы «Фенотипирование лимфоцитов»	35 мин

6.	Проведение лабораторной работы «Определение содержания иммуноглобулина G в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа»	35 мин
7.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	15 мин
8.	Подведение итогов	10 мин
9.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Оценка иммунного статуса»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с. Главы 9-10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс]: учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. Глава 10
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Что такое моноклональные антитела?
2. Охарактеризуйте фенотип зрелых Т и В-лимфоцитов.
3. Фенотипирование лимфоцитов: методика выполнения.
4. Интерпретация результатов фенотипирования лимфоцитов.
5. Иммуноферментный анализ: виды, методика выполнения.
6. Интерпретация результатов иммуноферментного анализа.
7. Значение иммуноферментного анализа в диагностике иммунной недостаточности.

Практическое занятие №16

«Первичные иммунодефициты»

Цель занятия:

Изучить клинические проявления, современные принципы диагностики и лечения первичных иммунодефицитов.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Иммунодефициты: определение, классификация.
2. Первичные иммунодефициты: классификация.
3. Принципы терапии первичных иммунодефицитов.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Иммунодефицит (иммунная недостаточность) – снижение количественных показателей и функциональной активности компонентов иммунной системы, которое приводит к снижению резистентности, в первую очередь к различным микроорганизмам.

Иммунодефициты подразделяют на *первичные (врожденные)* и *вторичные иммунодефициты*.

Первичные (врожденные) иммунодефициты (ПИД) возникают вследствие генетического дефекта органов иммунной системы (пороки развития центральных органов иммунной системы, нарушение процесса созревания и дифференцировки клеток иммунной системы).

Классификация первичных иммунодефицитов в зависимости от конкретного дефекта в механизмах иммунологической защиты (2015 г., Международный союз иммунологических обществ, IUIS):

- I. Дефекты клеточного и гуморального звена (в том числе варианты тяжелой комбинированной иммунной недостаточности (ТКИН) и менее тяжелые комбинированные дефекты).
- II. Комбинированные ПИД, ассоциированные с синдромальными проявлениями (в том числе дефекты репарации ДНК и др.).
- III. Преимущественно гуморальные дефекты (с отсутствием, снижением или нормальным числом В-лимфоцитов).
- IV. ПИД с иммунной дисрегуляцией (наследственные гемафагоцитарные синдромы, дефекты Т-регуляторных клеток, аутоиммунные лимфопролиферативные синдромы, иммунная дисрегуляция с поражением кишечника, интерфернопатии 1-го типа).
- V. Количественные и качественные дефекты фагоцитов (врожденные нейтропении, дефекты подвижности фагоцитов, дефекты респираторного взрыва).
- VI. Дефекты врожденного иммунитета (менделевская чувствительность к микобактериям, эпидермплазия, чувствительность к вирусным инфекциям, чувствительность к инвазивным микозам и др.).
- VII. Аутовоспалительные заболевания.
- VIII. Дефекты системы комплемента.
- IX. Фенокопии ПИД, вызванные соматическими мутациями.

Большинство первичных иммунодефицитов дебютируют в младенческом или раннем детском возрасте, в связи с этим для ранней диагностики выделяют 12стораживающих признаков врожденных иммунодефицитов:

1. Положительные данные о наследственном анамнезе по первичному иммунодефициту.
2. Восемь или более гнойных отитов в течение года.
3. Два или более тяжелых синусита в течение года.
4. Две или более пневмонии в течение года.
5. Антибактериальная терапия, проводимая более 2 месяцев, без эффекта.
6. Осложнения при проведении вакцинации ослабленными живыми вакцинами (БЦЖ, полиомиелит).
7. Нарушения переваривания в период грудного возраста, с/или без хронических поносов.
8. Рецидивирующие глубокие абсцессы кожи и мягких тканей.
9. Две или более генерализованные инфекции (менингит, остеомиелит, септический артрит, эмпиема плевры, сепсис).
10. Персистирующая кандидозная инфекция кожи и слизистых у детей старше 1 года жизни.
11. Хроническая реакция трансплантат-против-хозяина (например: неясные эритемы у детей грудного возраста).
12. Рецидивирующая системная инфекция, вызванная атипичными микобактериями (не только однократные шейные лимфадениты).

Настораживающие признаки отражают основное клиническое проявление первичных иммунодефицитов - так называемый инфекционный синдром, который характеризуется

рецидивирующим течением, полиэтиологичностью, политопностью, отсутствием ответа на адекватную терапию. Кроме инфекционного синдрома, у пациентов с первичными иммунодефицитами могут наблюдаться неинфекционные проявления, такие как аутоиммунный, атопический и гастроинтестинальный, лимфопролиферативный синдромы.

Диагноз иммунодефицита устанавливается на основании анализа анамнестических данных в совокупности с клиническим течением, результатов проведенного иммунологического обследования (лабораторные данные иммунного статуса).

Для верификации диагноза используются медико-генетические исследования с целью выявления причины, т.е. наличия конкретного дефекта иммунной системы.

Принципы терапии пациентов с иммунодефицитами включают: контроль инфекционного синдрома, что подразумевает проведение антибактериальной, противовирусной, противогрибковой терапии. Важное значение имеет заместительная терапия – введение иммуноглобулиновых препаратов (в большинстве случаев используются стандартные внутривенные иммуноглобулины). При некоторых формах иммунодефицитов успешно проводится трансплантация костного мозга, которая приводит к полной реконституции иммунной системы.

При большинстве иммунодефицитов противопоказана вакцинация живыми вакцинами ввиду возможности развития вакцинассоциированного заболевания.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Алгоритм диагностики первичных иммунодефицитов.
2. Гуморальные дефекты: клинические особенности, диагностика и терапия.
3. Гипер-IgE-синдром: клинические особенности, диагностика и терапия.
4. Заместительная терапия при первичных иммунодефицитах у детей.
5. Особенности иммунопрофилактики при первичных иммунодефицитах.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с. Главы 9-10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс]: учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. Глава 10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	45 мин
5.	Решение ситуационных задач	60 мин
6.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	15 мин
7.	Подведение итогов	10 мин
8.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Первичные иммунодефициты»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с. Главы 9-10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс]: учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. Глава 10 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс]: учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Что такое «первичный иммунодефицит»?
2. Классификация первичных иммунодефицитов.
3. Назовитестораживающие признаки первичных иммунодефицитов.
4. Что является показанием для проведения иммунологического обследования?
5. Какие тесты используются для оценки врожденного иммунитета?
6. С помощью каких методов можно оценить состояние адаптивного иммунитета.
7. Особенности лабораторных показателей иммунного статуса при различных вариантах первичных иммунодефицитов у детей.

Практическое занятие №17

«Вторичные иммунодефициты. Методы иммунодиагностики ВИЧ-инфекции»

Цель занятия:

Изучить особенности формирования и клинических проявлений вторичных иммунодефицитов, ознакомиться с принципами иммунодиагностики ВИЧ-инфекции.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Понятие вторичных (приобретенных) иммунодефицитов (ВИД).
2. Характеристика форм ВИД.
3. Принципы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции.
4. Алгоритм выявления анти-ВИЧ-антител в диагностике ВИЧ-инфекции.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Вторичные (приобретенные) иммунодефициты

Вторичные иммунодефициты (ВИД) - это нарушения иммунной системы, которые развиваются в позднем постнатальном периоде или у взрослых и которые, как принято считать, не являются результатом какого-то генетического дефекта, клинически проявляются часто рецидивирующими бактериальными, грибковыми, вирусными инфекциями, плохо поддающимися традиционным методам лечения.

В числе основных факторов возникновения ВИД следует назвать:

- инфекционные (типичная ВИЧ-инфекция, туберкулез и др.);
- алиментарные (белково-энергетическая недостаточность питания, дефицит витаминов, микроэлементов: цинка, селена и др.);

- лекарственные (иммунодепрессанты, цитостатики, антибиотики);
- химические (иммунотропные токсичные вещества, яды, производственные факторы);
- физические (радиационное воздействие и др);
- метаболические (например, на фоне тяжелых системных заболеваний, при злокачественных новообразованиях);
- стресс, травмы и др.

Выделяют *три формы вторичных иммунодефицитов*:

- индуцированная;
- спонтанная;
- приобретенная (СПИД)

Приобретенная форма. Наиболее ярким примером приобретённой формы ВИД является СПИД, развивающийся в результате инфицирования ВИЧ, поражающего в первую очередь клетки иммунной системы.

Индуцированная форма ВИД возникает в результате воздействия конкретных причинных факторов, а именно: рентгеновского излучения, цитостатической терапии, применения глюкокортикоидов, травмы, хирургических вмешательств и др. К этой же группе ВИД относят нарушения иммунитета, развивающиеся вторично по отношению к основному заболеванию (при сахарном диабете, заболеваниях печени, почек, злокачественных новообразованиях).

Спонтанная форма ВИД характеризуется отсутствием явной причины, вызвавшей нарушение в иммунной системе. Клинически проявляется в виде хронических, часто рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессов органов дыхания, придаточных пазух носа, урогенитального тракта, глаз, кожи, мягких тканей, вызванных оппортунистическими и условно-патогенными микроорганизмами.

Наиболее трудными для диагностики и часто остающимися нераспознанными считаются проявления спонтанной формы ВИД, особенно в случае затяжных, часто рецидивирующих, тяжелых форм без явных изменений показателей иммунного статуса.

В группу риска по возникновению ВИД с ведущим инфекционным синдромом следует включать обследуемых больных с хроническими, рецидивирующими или непрерывно текущими, плохо поддающимися традиционной терапии очагами инфекции различной этиологии и локализации.

ВИД могут развиваться как с обратимыми, так и с необратимыми нарушениями иммунной системы.

ВИД с необратимыми нарушениями иммунной системы развивается при ВИЧ-инфекции, воздействии запредельных доз ионизирующей радиации, токсическом воздействии на систему кроветворения (лекарственные агранулоцитозы, препараты с лимфотоксическим эффектом и т. п.), при лимфопролиферативных и других злокачественных заболеваниях, необратимых поражениях иммунной системы, обусловленных тяжелыми бактериальными, вирусными, грибковыми и другими заболеваниями (туберкулез, системные микозы и т. п.) и др.

ВИД с обратимыми нарушениями иммунной системы может формироваться у лиц при несбалансированном питании (голодание, дефицит отдельных пищевых ингредиентов), воздействии острого и хронического стресса, эндокринной патологии (сахарный диабет, заболевания щитовидной железы и др.), длительной терапии антибиотиками, цитостатиками, глюкокортикостероидами, иммунодепрессантами и другими препаратами, после трансплантации органов и тканей, воздействии неблагоприятных факторов внешней среды, в т. ч. антропогенного

характера (радиационное воздействие, химические факторы, воздействие ксенобиотиков и др.).

ВИД представляет чисто клиническое понятие, важнейшим признаком которого является повышенная инфекционная заболеваемость различной этиологии и локализации и отсутствие достаточного клинического эффекта после назначения стандартной терапии по поводу имеющегося у пациента заболевания.

В связи с этим клиническими признаками, позволяющими предполагать наличие ВИН, являются:

- генерализованные инфекции (сепсис, гнойные менингиты) и т.п.
- хронические бронхиты с частыми рецидивами, сочетающиеся с заболеваниями ЛОР-органов (гнойными синуситами, отитами);
- часто повторяющиеся пневмонии, плевропневмонии;
- бронхоэктатическая болезнь;
- хронические бактериальные поражения кожи и подкожной клетчатки (пиодермия, фурункулез, абсцессы, флегмоны, септические гранулёмы, рецидивирующий парапроктит у взрослых);
- хронические грибковые поражения кожи и слизистых оболочек, генерализованный кандидоз;
- паразитарные заболевания;
- рецидивирующий афтозный стоматит в сочетании с повышенной заболеваемостью острыми респираторными вирусными инфекциями;
- рецидивирующая герпесвирусная инфекция различной локализации;
- гастроэнтеропатия с хронической диареей неясной этиологии;
- лимфаденопатия, повторные лимфадениты;
- длительный субфебрилитет, лихорадка неясной этиологии.
-

Иммунодиагностика ВИЧ-инфекции

Еще на доклинической стадии ВИЧ-инфекции возникает необходимость использования иммунологических методов диагностики.

Специфические лабораторные маркеры ВИЧ-инфекции:

- *Обязательные* – определение анти-ВИЧ-антител.

С этой целью используются иммуноферментные тест-системы, позволяющие определять наличие в сыворотке крови антител к белкам ВИЧ.

- Твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) является наиболее распространенным методом лабораторного обнаружения анти-ВИЧ-антител. На данном этапе обнаруживаются суммарные антитела к антигенам ВИЧ.
- Окончательный диагноз ВИЧ-инфекции принято ставить при помощи иммуноблота. Иммуноблоттинг – метод, позволяющий определять антитела к конкретным белкам ВИЧ. (Критерии оценки иммуноблоттинга см.ниже)
 - *Дополнительные*
- Определение антигена p24 с помощью «ловушечного» иммуноферментного анализа.
- Определение РНК и ДНК вируса (методом ПЦР) (не относится к методам иммунодиагностики)
- Выделение живого реплицирующегося вируса (высев в культуру клеток *in vitro*) (не относится к методам иммунодиагностики)

Неспецифические лабораторные маркеры ВИЧ-инфекции:

- Уменьшение количества CD4⁺ Т-клеток.
- Снижение иммунорегуляторного индекса (соотношение CD4⁺/ CD8⁺ Т-клеток), меньше 1.
- Гипергаммаглобулинемия.
- Увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).
- Лейкопения, лимфопения, тромбоцитопения, анемия.

При массовом скрининге и проверке донорской крови на ВИЧ используют ИФА для одновременного определения антител к ВИЧ и антигена - белка р24 в сыворотке. Считается, что антитела можно выявить примерно через 1,5 мес после заражения, а антиген р24 - примерно после 3-й недели. Впоследствии антиген (р24) выявить не удаётся, поскольку он находится в составе иммунных комплексов.

Трёхэтапное выявление антител к ВИЧ, принятое в России.

Первый этап – скрининговый. Отрицательный результат скрининговой ИФА-диагностики считается окончательным.

Положительный результат ИФА диктует необходимость двойной перепроверки с использованием тест-систем другой серии. При этом дважды отрицательный результат считается окончательным.

При повторном положительном результате ИФА проводится исследование методом иммуноблота. Иммуноблоттинг считается положительным при обнаружении антител к двум или трем белкам вируса, кодируемым геном Env (gp41, gp120 и их предшественник gp160). Положительный иммуноблоттинг подтверждает диагноз ВИЧ-инфекции.

Отрицательный результат иммуноблоттинга фиксируется при отсутствии антител к антигенам ВИЧ (отсутствуют окрашенные полосы на целлюлозной мембране). Если результат иммуноблоттинга нельзя расценить как положительный или отрицательный, его считают сомнительным. Сомнительный результат иммуноблоттинга делает необходимым динамический контроль через 1, 3 и 6 мес.

Согласно современным требованиям в случаях положительного или сомнительного результата иммуноблоттинга дополнительно проводится определение антигена р24 с помощью «ловушечного» иммуноферментного анализа.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Вторичные иммунодефициты при белково-энергетической неполноценности питания.
2. Вторичный иммунодефицит при стрессе.
3. «Болезни-маски» иммунодефицитов.
4. Диагностика ВИЧ-инфекции у детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей.
5. Иммуноблоттинг как метод окончательного подтверждения ВИЧ-инфекции.
6. ПЦР в диагностике ВИЧ-инфекции

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html> Электронное издание на основе: Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. 2012. - 640 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-2241-0. Глава 11.
2. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html> Электронное издание на основе: Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3345-4. Глава 12.

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа2011. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html> Электронное издание на основе: Иммунология. Атлас: учебное пособие. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. 2011. - 624 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-1858. Глава 3.
2. Иммунология / А.А. Ярилин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. Глава. 4.
3. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	40 мин
5.	Выполнение отдельных этапов ИФА и иммуноблоттинга для выявления анти-ВИЧ-антител в сыворотке.	70 мин
6.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	10 мин
7.	Подведение итогов	10 мин
8.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме**«Вторичные иммунодефициты. Методы иммунодиагностики ВИЧ-инфекции»****Ознакомьтесь с материалом:**

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html> Электронное издание на основе: Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. 2012. - 640 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-2241-0. Глава 11.
2. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html> Электронное издание на основе: Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3345-4. Глава 12.

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология / А.А. Ярилин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. Глава 4. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Назовите основные индукторные факторы возникновения ВИД.
2. Какие вы знаете формы ВИД? Дайте им характеристику.
3. Перечислите клинические признаки ВИД.
4. Какие специфические лабораторные маркеры ВИЧ-инфекции вы знаете?
5. Какие методы используются в настоящее время для определения анти-ВИЧ-антител в сыворотке?
6. Что из себя представляет скрининг в диагностике ВИЧ-инфекции?
7. В чем суть трехэтапного выявления антител к ВИЧ?
8. Перечислите неспецифические лабораторные маркеры ВИЧ-инфекции

Практическое занятие №18 «Принципы иммунотерапии»

Цель занятия:

Рассмотреть принципы иммунотерапии. Изучить механизмы действия иммуностропных препаратов

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Иммунотерапия, определение, цели назначения
2. Классификация иммуностропных препаратов
3. Характеристика отдельных групп иммуностропных препаратов
4. Принципы применения иммуномодуляторов у больных с недостаточностью противомикробной защиты

Основные понятия, категории по теме занятия:

Иммунотерапия – способ лечения и/или предупреждения развития заболевания человека при помощи лекарственных средств, направленных на усиление, подавление или замещение функций системы иммунитета.

Имуномодуляторов, обладающих селективным действием в отношении иммунной системы, не существует. Это связано с тем, что регуляция всех иммунных процессов осуществляется с помощью цитокинов, действие которых всегда плеiotропное. В этой связи можно говорить лишь о преимущественном воздействии соответствующего иммуномодулятора на те или иные клетки иммунной системы.

В настоящее время не существует единой общепризнанной классификации иммуностропных лекарственных средств. Наиболее часто используемой в клинической практике является классификация иммуностропных препаратов по происхождению, приведенная в Национальном руководстве «Аллергология и иммунология» (под ред. Р.М.Хайтова, Н.И.Ильиной):

Препараты экзогенного происхождения

- Бактериальные.
- Растительные.

Препараты эндогенного происхождения

- Иммунорегуляторные пептиды.
 - ◊ Естественные.
 - ◊ Химически синтезированные.
- Цитокины.
 - ◊ ИЛ.
 - ◊ ИФ.
 - Препараты природных ИФ.
 - Препараты рекомбинантных ИФ.
 - ◊ Индукторы ИФ.
 - Синтетические соединения.
 - Природные соединения.
 - ◊ Прочие препараты.

Химически чистые и синтезированные.

- Вещества, полученные с помощью направленного химического синтеза.
 - ◊ Низкомолекулярные.
 - ◊ Высокомолекулярные.
- Аналоги иммуномодуляторов эндогенного происхождения.
- Иммуноглобулины.

Характеристика отдельных иммуотропных средств

Иммуномодуляторы бактериального происхождения

высокоочищенные бактериолизаты:

- системного действия
- топического действия

- рибосомально-протеогликановые комплексы бактерий

Также следует отметить глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) — синтетический аналог структурного фрагмента оболочки (пептидогликана) бактериальных клеток.

Механизм действия

Механизм действия иммуномодуляторов бактериального происхождения состоит в усилении функциональной активности клеток моноцитарно-макрофагальной системы, активации гуморального и клеточного иммунитета, стимулировании продукции интерферонов, увеличении продукции секреторного IgA.

Иммунорегуляторные пептиды

Иммунорегуляторные пептиды на основе экстрактов ткани тимуса (тимические факторы):

- Естественные (экстракты тимуса крупного рогатого скота)
- К аналогам иммуномодуляторов эндогенного происхождения относятся:
 - синтетические пептиды, воспроизводящие структуру нативных пептидов тимуса
 - синтетические пептиды, являющиеся модифицированными аналогами природных пептидов тимуса.

Область применения тимических факторов – иммуностимуляция при ВИН, преимущественно затрагивающей Т-клеточное звено иммунной системы.

Препараты неэффективны при первичных ИД.

Цитокины

Цитокины - низкомолекулярные гормоноподобные биомолекулы - регуляторы межклеточных взаимодействий, продуцируемые активированными иммунокомпетентными клетками.

- *Интерлейкины*
 - рекомбинантный ИЛ-2

Индуктирует рост, дифференцировку и пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, моноцитов, макрофагов и других клеток с рецепторами к ИЛ-2. Повышает активность НК-клеток и ЦТЛ, активирует противоопухолевый иммунитет. Показания: тяжелые инфекционные заболевания, сепсис, онкопатология.

- *Колонистимулирующие факторы (КСФ)*
 - Гранулоцитарные (Г-КСФ)
 - Гранулоцитарно-макрофагальный (ГМ-КСФ)
- *Интерфероны*

Препараты ИФН подразделяют по типу активного комплекса на α , β , γ , а по технологии получения - на естественные (природные) (ИФН первого поколения) и рекомбинантные (ИФН второго поколения).

- ИФН α (лейкоцитарный ИФН), продуцируется лейкоцитами;
- ИФН β (фибробластный ИФН), продуцируется фибробластами;
- ИФН γ (иммунный ИФН), продуцируется Т-лимфоцитами

Антивирусные свойства в большей степени выражены у ИФН- α - и ИФН- β , в то время как иммунорегуляторные и антипролиферативные - у ИФН- γ .

Индукторы интерферонов

Индукторы синтеза ИФН - вещества природного или синтетического происхождения, способные индуцировать в организме человека продукцию эндогенного ИФН.

Иммуноглобулины

Иммуноглобулиновые препараты получают из донорской крови. В настоящее время принято выделять 4 поколения ВВИГ

По способу введения делятся на препараты:

- для внутримышечного введения
- для внутривенного введения (ВВИГ)
- для подкожного введения

Большое распространение получили препараты иммуноглобулинов для внутривенного введения, так называемые внутривенные иммуноглобулины.

Классификация ВВИГ, основанная на составе препаратов:

1. Стандартные (поливалентные) иммуноглобулины; содержащие антитела класса IgG различной специфичности.
2. Обогащенные ВВИГ, содержащие иммуноглобулины трех классов: А, М, G.
3. Специфические гипериммунные препараты, содержащие значительно более высокие концентрации специфических антител класса IgG против определенных возбудителей, например, против цитомегаловируса и вируса гепатита В.

Применение ВВИГ показано при лечении первичных и вторичных иммунодефицитов в качестве заместительной терапии, в комплексном лечении тяжелых инфекций; при терапии аутоиммунных (аутоиммунные цитопении) заболеваний - с иммуномодулирующей целью и при неврологических (синдром Гийена–Барре) заболеваниях.

В настоящее время для заместительной терапии также рекомендуются иммуноглобулиновые препараты для подкожного введения.

Принципы применения иммуномодуляторов у больных с недостаточностью противоинфекционной защиты:

- использование в комплексной терапии одновременно с антибиотиками, противогрибковыми, противопаразитарными или противовирусными средствами;
- использование в виде монотерапии при проведении иммунореабилитационных мероприятий, в частности, при неполном выздоровлении после перенесенного острого инфекционного заболевания;
- раннее назначение в комплексной терапии (желательно с первого дня применения химиотерапевтических этиотропных средств);
- иммуномодуляторы, действующие на фагоцитарное звено иммунитета, можно назначать больным как с выявленными, так и не выявленными нарушениями иммунного статуса, т.е. на основании клинической картины;
- при применении иммуномодуляторов целесообразно проводить иммунологический мониторинг;
- у практически здорового человека снижение иммунных показателей не является обязательным основанием для назначения иммуностимулирующей терапии.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Общие принципы применения иммуностимулирующих препаратов у больных с иммунодефицитами.
2. Современный взгляд на препараты из группы интерферонов.
3. Иммуностимулирующие препараты микробного происхождения.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М.:ГЭОТАР-Медиа, 2012. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html> Электронное издание на основе: Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии:

учебник. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. 2012. - 640 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-2241-0. Главы 11, 14.

- Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html> Электронное издание на основе: Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3345-4. Глава 15.

Дополнительная литература по теме:

- Иммунология / А.А. Ярилин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. Глава. 4.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин
5.	Рассмотрение клинических случаев. Решение ситуационных задач	40 мин
6.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	20 мин
7.	Подведение итогов	10 мин
8.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Принципы иммунотерапии»

Ознакомьтесь с материалом:

- Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html> Электронное издание на основе: Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. 2012. - 640 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-2241-0. Главы 11, 14.
- Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html> Электронное издание на основе: Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3345-4. Глава 15.

Дополнительная литература по теме:

- Иммунология / А.А. Ярилин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. Глава 4.
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970413197.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

- Какие группы иммунотропных препаратов по происхождению вы можете выделить?
- Охарактеризуйте группу иммуномодуляторов бактериального происхождения.
- Какие препараты относятся к группе тимических факторов, когда показано их использование?
- Как можно классифицировать препараты из группы интерферонов? Интерфероны естественные и рекомбинантные.

5. Назовите принципы применения иммуностропных средств у больных с недостаточностью противоинфекционной защиты.

Практическое занятие №19

«Реакции гиперчувствительности»

Цель занятия: Рассмотреть пять типов реакций гиперчувствительности. Изучить механизмы развития реакций и основные клинические синдромы, в основе развития которых лежат реакции гиперчувствительности.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

5. Гиперчувствительность немедленного типа. Механизм развития. Клинические синдромы.
6. Цитотоксический тип гиперчувствительности. Механизм развития. Клинические синдромы.
7. Иммунокомплексный тип гиперчувствительности. Механизм развития. Клинические синдромы.
8. Гиперчувствительность замедленного типа. Механизм развития. Клинические синдромы.
9. Антирецепторный (стимулирующий) тип гиперчувствительности. Механизм развития. Клинические синдромы.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Под термином «гиперчувствительность» понимают неадекватно выраженное проявление иммунных процессов, способное вызвать повреждение тканей организма. Ученые **R. Coombs** и **P. Gell (1969)** выделили 4 типа реакций гиперчувствительности: I, II, III, IV.

4 типа реакций гиперчувствительности (R. Coombs и P. Gell):

1-й тип — *гиперчувствительность немедленного типа (анафилактический тип)*. Обусловлена освобождением медиаторов из тучных клеток, сенсibilизированных IgE-антителами, при связывании ими аллергена.

2-й тип — *цитотоксический*. Гиперчувствительность, обусловленная цитотоксическим эффектом антител IgG и IgM.

3-й тип — *иммунокомплексный*. Реакция обусловлена действием растворимых иммунных комплексов с участием IgG.

4-й тип — *гиперчувствительность замедленного типа*. Связана с активностью Т-лимфоцитов и активируемых ими макрофагов.

На сегодняшний день выделяют также **V тип** реакций гиперчувствительности — **антирецепторный (стимулирующий) тип**.

Тип I – гиперчувствительность немедленного типа.

В 1921 г. Прауснитц и Кюстнер показали, что за развитие аллергических реакций немедленного типа отвечают реагены — факторы, обнаруженные в сыворотке больных этой формой аллергии. В 1966 году японский ученый К.Ишизака (*K. Ishizaka*) установил, что реагены относятся к новому, ранее не известному классу иммуноглобулинов, названные впоследствии IgE. Сейчас достаточно хорошо изучен как сам IgE, так и его роль в патогенезе заболеваний, обусловленных аллергическими реакциями немедленного типа.

Аллергические реакции немедленного типа — это опосредованные IgE иммунные реакции, протекающие с повреждением собственных клеток и тканей.

IgE – 8S мономерный иммуноглобулин (т.е. его молекула содержит 2 тяжелые ϵ - и 2 легкие цепи) с молекулярной массой 190 кДа. Вовлечение IgE в развитие аллергии обусловлено наличием в домене С ϵ 3 участка связывания для рецептора Fc ϵ RI.

Концентрация IgE в сыворотке крови здорового человека ниже, чем любых других иммуноглобулинов. Она колеблется в пределах 85–350 нг/мл. Содержание IgE выражают в международных единицах – 1 МЕ = 2,42 нг IgE. IgE отсутствует в сыворотке крови новорожденных, но начиная с 3 мес его концентрация постепенно нарастает, достигая уровня взрослых только к 10 годам. Содержание IgE в секретах выше, чем в сыворотке крови (особенно много его в молозиве).

Выделяют 3 стадии развития аллергической реакции немедленного типа:

- иммунологическую (фаза иммунных реакций);
- патохимическую (фаза биохимических реакций);
- патофизиологическую (фаза патологических реакций, определяющих
- внешние проявления аллергии).

На первой (иммунологической) стадии аллерген взаимодействует с рецепторами Fc ϵ RI на поверхности тучных клеток, при этом происходит перекрестное сшивание комплексов антитело–рецептор и запуск активирующего сигнала в тучную клетку.

На следующей (патохимической стадии) происходит дегрануляция тучных клеток, сопровождающаяся выбросом гистамина и других активных субстанций, содержащихся в гранулах, и последующим синтезом эйкозаноидов.

Быстрота развития аллергии немедленного типа обусловлена наличием в гранулах преобразованных факторов, которые проявляют свое действие немедленно после выхода в межклеточное пространство. Гранулы тучных клеток содержат вазоактивные амины, включая главный из них — гистамин, а также пептидогликаны — хондроитинсульфаты А и С и гепарин, ферменты (протеазы, дегидрогеназа, пероксидаза, РНКаза, гистидинкарбоксилаза и кислые гликозамингликаны).

Главный эффекторный фактор *ранней фазы* аллергической реакции немедленного типа — гистамин. Он действует на клетки, экспрессирующие рецепторы для этого амина. H₁- рецепторы представлены на гладких мышцах и эндотелии сосудов, что обеспечивает два главных эффекта гистамина – спазм гладкой мускулатуры бронхов и расширение сосудов с повышением проницаемости капилляров. С действием гистамина связано также усиление секреции слизи и ощущение зуда, характерного для аллергических реакций.

Гепарин и другие пептидогликаны также обуславливают основные проявления ранней фазы аллергической реакции – расширение сосудов, повышение их проницаемости и спазм гладкой мускулатуры, но выраженность их эффектов слабее, чем у гистамина. Протеазы (химазы и триптаза) вызывают иные эффекты, характерные для более поздней фазы аллергической реакции, – они обуславливают локальный протеолиз, усиление секреции слизи, ремоделирование эпителия.

Эйкозаноиды — липидные метаболиты, производные арахидоновой кислоты, служащие медиаторами аллергических реакций. К активным участникам аллергических реакций относят лейкотриены LTC₄, LTD₄, LTE₄ и простагландин D₂ (в меньшей степени E₂, F α ₂ и I₂), а также тромбоксан TxA₂. Для большинства эйкозаноидов клетками-мишенями служат эндотелиальные клетки сосудов, гладкие мышцы, особенно бронхиальные, а также клетки слизистых желез, тромбоциты и нейтрофилы. Действуя через рецепторы, эти факторы, прежде всего, лейкотриены, расширяют сосуды (тромбоксан суживает их) и повышают их проницаемость,

вызывают спазм гладких мышц (основной эффект — бронхоспазм), стимулируют выделение слизи, вызывают хемотаксис нейтрофилов. Среди эффектов лейкотриенов доминирует их действие на гладкие мышцы бронхов: они обуславливают реализацию медленной фазы бронхоспазма. Тромбоксан A2 вызывает агрегацию тромбоцитов с освобождением из них ферментов и других активных факторов, способствующих пролиферации лимфоцитов.

Поздняя фаза аллергических реакций немедленного типа развивается через 4–6 ч после действия аллергена. Она обусловлена привлечением из циркуляции крови эозинофилов, базофилов и нейтрофилов цитокинами, синтезируемыми тучными клетками и Th2-лимфоцитами, — IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, а также хемокинами.

Ответ клеток окружающих тканей (сосудистого эндотелия, гладких мышц, слизистых оболочек, желез, нервных окончаний) составляет *патофизиологическую стадию*. В патофизиологическую стадию можно наблюдать клинические проявления, вызванные действием биологически активных веществ выделяемых из тучной клетки и базофилов как в раннюю фазу, так и в позднюю фазу аллергического воспаления. Заболевания, обусловленные гиперчувствительностью I типа: атопическая бронхиальная астма, аллергический конъюнктивит, аллергический ринит, анафилактический шок.

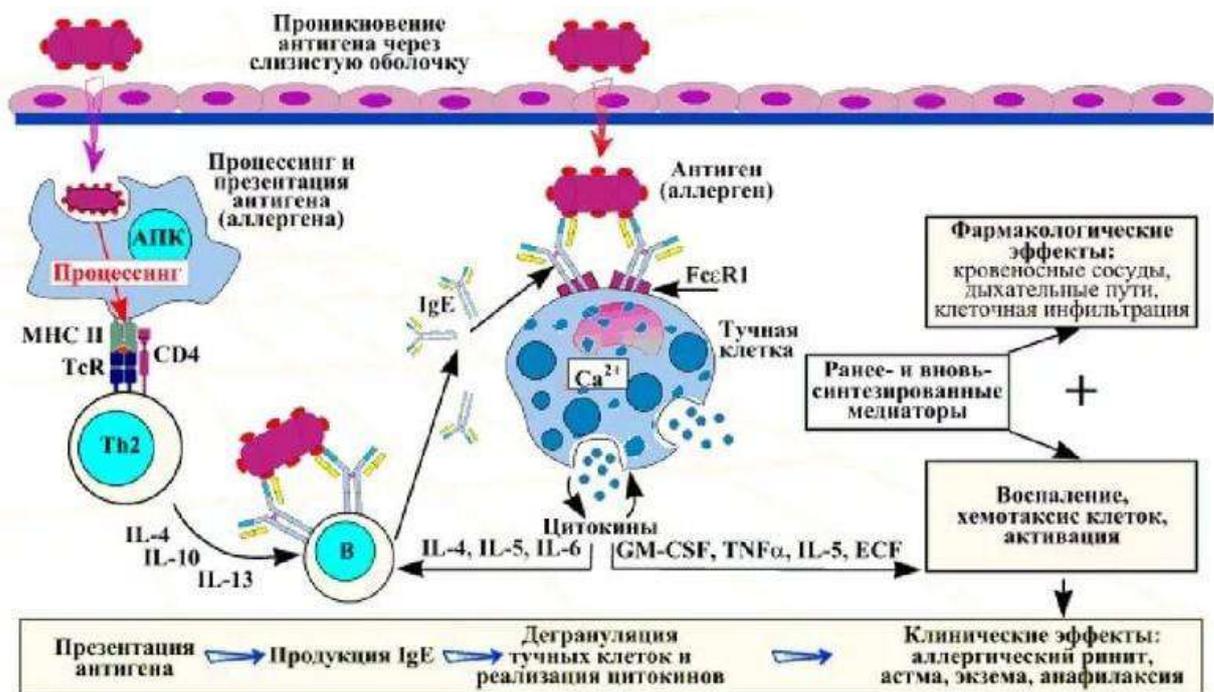


Рис 1. Тип I – гиперчувствительность немедленного типа.

II тип – цитотоксический.

В стадию иммунных реакций при первом поступлении аллергена развивается гуморальный иммунный ответ с синтезом IgG (подклассов 1, 2 и 3), а также IgM.

Патохимическая стадия развивается при повторном попадании аллергена в сенсibilизированный организм. Иммуноглобулины IgG и IgM взаимодействуют с изменёнными антигенными детерминантами на поверхности клеток и внеклеточных структур организма. Антигенами (гаптенами), сорбирующимися на поверхности клеток, чаще всего являются лекарственные метаболиты, бактериальные продукты, вирусы. Клетками-мишенями, с которыми связываются антигены, являются клетки крови – эритроциты, тромбоциты, лейкоциты. При этом реализуются механизмы комплементзависимого (активация системы комплемента по

классическому пути) и антителозависимого цитолиза. Активация комплемента сопровождается опсонизацией, активацией миграции воспалительных клеток, усилением фагоцитоза, высвобождением гистамина под влиянием C3a, C5a, образованием кининов, разрушением мембраны клеток.

Активация нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов приводит к выделению из них лизосомальных ферментов, образованию супероксидного анион-радикала, синглетного кислорода. Все эти вещества участвуют в развитии повреждения мембраны клеток, в инициации и поддержании свободно-радикального окисления липидов клеточных мембран.

Стадия клинических проявлений обусловлена следствием повреждения изменённых структур организма с формированием ряда клинических синдромов аллергического характера: «лекарственных» цитопений (эритро-, лейко-, тромбоцитопений), гемолитической болезни новорождённых; аллергических или инфекционно-аллергических форм нефрита, миокардита, энцефалита, гепатита, тиреоидита, полиневрита и др.

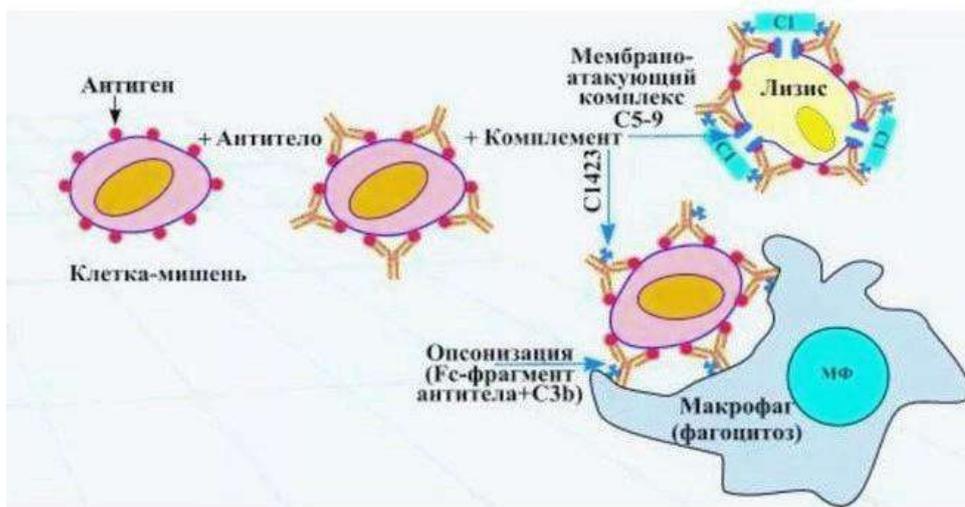


Рис 2. II тип гиперчувствительности – цитотоксический.

III тип – иммунокомплексный.

Индукторами **иммунокомплексного** типа реакций гиперчувствительности выступают растворимые антигены. Чаще всего это лекарственные метаболиты, гетерологичные сыворотки, препараты иммуноглобулинов, антигены вирусов, бактериальные продукты, аутоантигены.

В стадию иммунных реакций растворимые антигены индуцируют развитие гуморального иммунного ответа с образованием Ig G. Образовавшиеся иммунные комплексы циркулируют в кровотоке и адсорбируются на эндотелии сосудов, базальной мембране клубочков почек.

Патохимическая стадия сопровождается активацией системы комплемента по классическому пути образовавшимися иммунными комплексами. Активация системы комплемента сопровождается привлечением фагоцитов в очаг воспаления с высвобождением лизосомальных ферментов, образованием кининов, супероксидных радикалов, высвобождению биологически активных веществ из тучных клеток и базофилов под действием анафилатоксинов (компоненты комплемента C3a, C5a) и последующими событиями, приводящими к повреждению тканей. Активация проагрегантов и прокоагулянтов создаёт условия для тромбообразования, нарушений микроциркуляции, ишемии тканей, развития в них дистрофии и некроза.

Стадия клинических проявлений. Этот тип аллергической реакции является ключевым звеном патогенеза сывороточной болезни, мембранозного гломерулонефрита, альвеолитов,

васкулитов, узелковых периартериитов, феномена Артюса и др. Если иммунные комплексы образуются в крови или лимфе, а затем фиксируются в различных тканях и органах, то развивается системная (генерализованная) форма аллергии. Примером её может служить сывороточная болезнь. В тех случаях, когда иммунные комплексы формируются вне сосудов и фиксируются в определённых тканях, развиваются местные формы аллергии (например, мембранозный гломерулонефрит, васкулиты, периартерииты, альвеолит, феномен Артюса).



Рис 3. III тип гиперчувствительности - иммунокомплексный.

IV тип - гиперчувствительность замедленного типа.

В основе реакции гиперчувствительности замедленного типа лежит воспалительная форма клеточного иммунного ответа, обусловленная CD4+T-клетками (Th1) и их взаимодействием с макрофагами.

Эта реакция развивается на повторное введение антигена и проявляется локальной воспалительной реакцией, в основе которой лежит активация Th1-клеток и макрофагов.

Выделяют три вида реакции ГЗТ: гиперчувствительность туберкулинового типа, контактная чувствительность (достигают максимума через 72 часа), гранулематозная ГЗТ (развивается через 21-28 суток).

В развитии ГЗТ можно выделить две фазы: сенсибилизирующую и эффекторную.

В первой (сенсибилизирующей, или индуктивной) фазе антиген (или гаптен, связанный с белком) поглощается клетками Лангерганса, которые затем мигрируют в Т-зависимые зоны регионарного лимфатического узла. Эти клетки представляют процессированный антиген CD4+ Т-лимфоцитам (Th0). В результате клеточного иммунного ответа появляются эффекторные клетки Th1 и CD4+ Т-клетки памяти.

Дифференцировку Th1-лимфоцитов обеспечивают ИЛ-12, ИФН- γ . Ил-12 продуцируют дендритные клетки, макрофаги, а ИФН- γ – ЦТЛ и НК-клетки.

В эффекторной фазе Th1-клетки активируют макрофаги.

Контактная (кожная) гиперчувствительность проявляется локально в зоне контакта с антигеном.

Индукторами развития КАД являются антигены, как правило, представляющие собой гаптены, проникшие в кожу и ковалентно связанные белками-носителями.

Примеры веществ, способных вызвать КАД: никель, кобальт, хром, алюминий, химические вещества, в том числе динитрохлорбензол, формальдегид, консерванты, ланолин, лекарственные средства, некоторые растения и т.д.

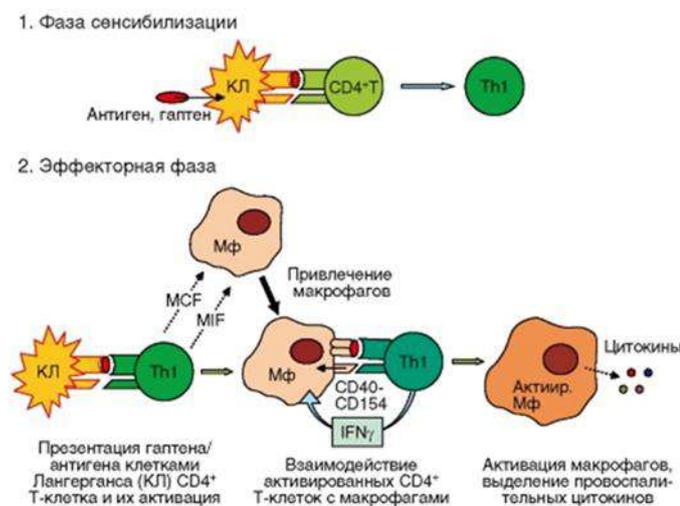
В первой (сенсibiliзирующей, или индуктивной) фазе антиген захватывается в коже дендритными клетками (а именно - клетками Лангерганса), в которых и происходит процессинг антигена. Антигенпрезентирующие клетки Лангерганса мигрируют из кожи через эфферентные лимфатические сосуды в регионарные лимфатические узлы. В течение 24 часов после аппликации антигена клетки Лангерганса презентуют его наивным CD4⁺ Т-лимфоцитам, что обеспечивает их клональную пролиферацию и дифференцировку в Th1-клетки. Также образуются CD4 Т-клетки памяти. В свою очередь Th1-клетки способны мигрировать в очаги воспаления. Процесс сенсibiliзации продолжается в среднем 10-12 суток.

Эффекторная фаза наблюдается при повторном попадании антигена в организм. (см. рис.4) Презентация антигена клетками Лангерганса эффекторным Th1-клеткам и клеткам памяти происходит в коже и регионарных лимфатических узлах.

Повторная аппликация антигена вызывает образование провоспалительных цитокинов клетками Лангерганса и выработку ИЛ-1 α и хемокинов кератиноцитами, в результате чего на клетках эндотелия экспрессируются молекулы адгезии и осуществляется миграция мононуклеаров в дерму и эпидермис. Th1-клетки получают стимул от клеток Лангерганса, затем пролиферируют и секретируют цитокины. Воспалительная реакция таким образом поддерживается. В свою очередь CD8 Т-лимфоциты оказывают цитотоксическое действие на клетки эпидермиса и вырабатывают ИФН- γ .

Воспалительная реакция и манифестация кожных проявлений развивается в течение 48 часов после повторного контакта с аллергеном.

Рис.4. Реакция замедленной гиперчувствительности (IV тип) и стадии ее развития.



V тип – антирецепторная (стимулирующая) гиперчувствительность.

При реализации реакций этого типа повреждения клеток не наступает, а, напротив, происходит активация функции клеток. Особенностью этих реакций является то, что в них участвуют антитела, не обладающие комплементсвязывающей активностью. Если такие антитела направлены против компонентов клеточной поверхности, участвующих в физиологической активации клетки, например, против рецепторов физиологических медиаторов, то они будут вызывать стимуляцию данного типа клеток. Например, взаимодействие антител с антигенными детерминантами, входящими в структуру рецептора тиреоидстимулирующего гормона, приводит к реакции, аналогичной действию самого гормона: к стимуляции тиреоидных клеток и продукции тиреоидного гормона. Фактически такие антитела относятся к аутоиммунным

антителам. Этот иммунный механизм лежит в основе развития болезни Грейвса — диффузного токсического зоба.

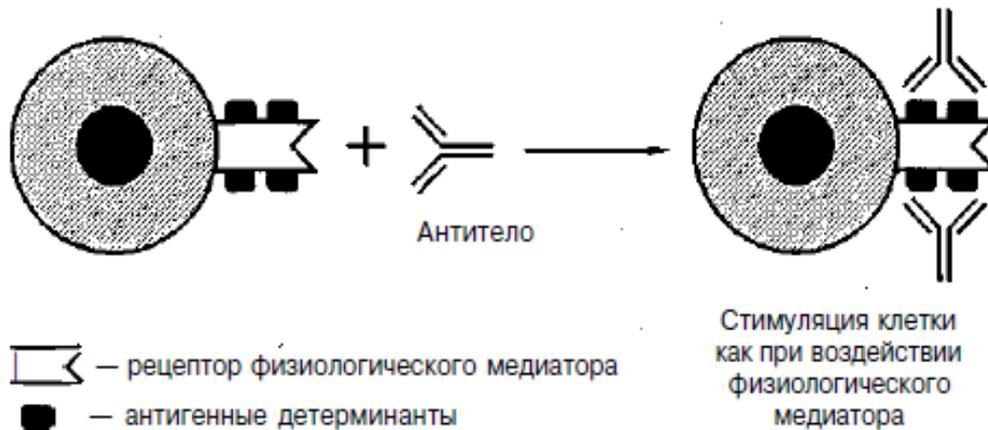


Рис 5. Схема аллергической реакции V типа.

Перечень тем сообщений к занятию:

1. Клиническое значение повышения уровня иммуноглобулина Е в сыворотке крови.

Форма текущего контроля: устный опрос, устное сообщение.

Основная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970418581.html>, Глава 3.3
2. Иммунология [Электронный ресурс] / Ярилин А.А. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970413197.html>, Глава 4.5

Дополнительная литература по теме:

1. Патофизиология [Электронный ресурс] / Литвицкий П.Ф. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - <http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970414798.html>, Глава 16.

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Тестовый контроль по предыдущей теме	20 мин
3	Устный опрос	20 мин
4	Заслушивание сообщений	20 мин
5	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин
6	Выполнение лабораторной работы	30 мин
7	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	10 мин
8	Подведение итогов	10 мин
9	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Реакции гиперчувствительности»

Изучите источник:

1. Патофизиология [Электронный ресурс] / Литвицкий П.Ф. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - <http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970414798.html>, Глава 16.

2. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. -

<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970418581.html>, Глава 3.3

3. Иммунология [Электронный ресурс] / Ярилин А.А. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. -

<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970413197.html>, Глава 4.5

Подготовьте ответы на устный опрос по следующим вопросам:

1. Классификация типов реакций гиперчувствительности по R. Coombs и P. Gell.
2. Гиперчувствительность немедленного типа. Механизм развития.
3. Клинические синдромы гиперчувствительности немедленного типа.
4. Цитотоксический тип гиперчувствительности. Механизм развития.
5. Клинические проявления цитотоксического типа гиперчувствительности.
6. Механизм развития иммунокомплексного типа гиперчувствительности
7. Клинические проявления иммунокомплексного типа гиперчувствительности.
8. Гиперчувствительность замедленного типа. Механизм развития.
9. Клинические проявления гиперчувствительности замедленного типа.
10. Антирецепторный (стимулирующий) тип гиперчувствительности. Механизм развития.
11. Клинические проявления антирецепторного типа гиперчувствительности.

Практическое занятие №20

«Аллергены»

Цель занятия: Дать определение аллергенов и охарактеризовать их как иммунобиологические препараты, используемые в диагностических и лечебных целях. Изучить классификацию аллергенов, способы и этапы их получения, процесс стандартизации аллергенов. Рассмотреть различные формы лечебных аллергенов.

Основные вопросы:

1. Определение и классификация аллергенов.
2. Диагностические аллергены.
3. Этапы получения неинфекционных аллергенов.
4. Стандартизация аллергенов. Единицы стандартизации аллергенов.
5. Лечебные аллергены. Их сравнительная характеристика. Применение в клинической практике.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Аллергены - антигены или гаптены, которые при первом поступлении в организм вызывают образование IgE-антител у генетически предрасположенных индивидуумов (т.е. вызывают сенсибилизацию), а при последующем введении - развитие аллергической реакции.

В практике используют диагностические и/или лечебные «аллергенные продукты» (**аллергены**) — иммунобиологические препараты, содержащие аллергены или компоненты аллергенов и применяемые у человека для диагностики, профилактики и лечения аллергических заболеваний.

Номенклатура аллергенов была унифицирована в 1994 г. Номенклатурным подкомитетом по аллергенам при ВОЗ и основана на таксономическом названии рода и вида источника аллергенов. В соответствии с данной номенклатурой сокращенное название аллергена формируется следующим образом: первые три буквы латинского названия рода, первая буква вида, арабская цифра, например, Der f 1- Dermatophagoides farinae. В связи с появлением помимо

аллергенов природного происхождения синтетических и рекомбинантных форм аллергенов используют дополнительные буквенные обозначения: n (естественные), r (рекомбинантные), s (синтетические).

Классификация аллергенов

• По происхождению:

- ✓ Аллерген неинфекционного происхождения (бытовые, аллергены животных, пыльцевые, инсектные, пищевые, промышленные, лекарственные).
- ✓ Аллергены инфекционного происхождения (бактериальные, грибковые, вирусные, паразитарные)

• По способам поступления в организм:

- ✓ ингаляционные (аэроаллергены) (бытовая пыль, клещи домашней пыли, пыльцевые, грибковые, инсектные)
- ✓ пищевые (белки коровьего молока, куриного яйца, рыбы и т.д)
- ✓ Контактные (латекс, никель и т.д.)
- ✓ Парентеральные (лекарственные средства, сыворотки, вакцины, яд перепончатокрылых насекомых, слюна кровососущих насекомых).

• По встречаемости в разных условиях:

- ✓ Бытовые
- ✓ Профессиональные.

Такое деление аллергенов лишь несколько упорядочивает их рассмотрение, однако следует помнить, что один и тот же аллерген можно отнести к нескольким группам. Например, латекс — одновременно и профессиональный, и бытовой аллерген, а также аэроаллерген и контактный аллерген.

Получение неинфекционных аллергенов

- **Получение сырья и подготовка его к экстракции** (измельчение, накопление в нем активных компонентов, обезжиривание)
- **Экстрагирование и фильтрация.**
- **Диализ экстракта физико-химическими методами** (электрофорез, высокоразрешающая жидкостная хроматография, аффинная хроматография). Данный этап обеспечивает удаление низкомолекулярных компонентов, присутствие которых в аллергенах нежелательно
- **Стерилизация фильтрата.** Правильный выбор условий стерилизации имеет большое значение для обеспечения минимальных потерь общего белка и сохранения специфичности субстрата
- **Стабилизация фильтрата.** Практикуется длительное (до 3-6 месяцев) выдерживание фильтрата при 4+/-2 С в целях окончательной стабилизации его физических свойств
- **Получение готовой формы.** Фильтрат разводят до требуемой концентрации и разливают в стерильные флаконы, закрывают и маркируют флаконы. Емкости для разлива аллергенов должны готовиться из нейтрального стекла, закрытых резиновыми пробками
- **Контроль стерильности, безвредности, специфичности и физико-химических свойств готовых форм.**

Аллергенная активность лечебных и диагностических препаратов в первую очередь обусловлена биологической активностью исходного сырья. Известно, что в разных сериях сырья,

в зависимости от времени и места его сбора, условий выращивания возможна вариабельность концентрации аллергенов. Также препараты содержат, помимо аллергенных, иные компоненты, что отражается на качестве продукта.

Поэтому при проведении аллергологического обследования и аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ) важна *стандартизация* препаратов, которая позволяет сгладить природные вариации и гарантировать качество и стабильность иммунологической активности препарата.

В настоящее время не существует универсальной системы стандартизации.

Общая всемирная стратегия стандартизации аллергенных препаратов предусматривает обязательный учет следующих признаков:

- суммарной аллергенной активности;
- биологической активности;
- содержания в единице массы препарата *главных (мажорных)* аллергенов (аллерген, обладающий способностью связывать около 50% IgE-антител в сыворотке крови больного, имеющего сенсибилизацию к данному аллергену).

Суммарную аллергенную активность препарата стандартизируют по соотношению степени вызываемой им кожной аллергической реакции (prick-тест) со степенью кожной реакции на гистамин у пациентов, чувствительных к данному аллергену.

Для дозирования лечебных и диагностических препаратов используют следующие системы стандартизации:

- ✓ **Единицы Noon** - объем антигена, который экстрагируют из 1 мкг пыльцы
- ✓ **PNU (protein nitrogen unit)** - единица белкового азота; 1 PNU равна 0,00001 мг белкового азота в 1 мл экстракта. Примерная эквивалентность 1 PNU = 2,1 ед. Noon. Водно-солевые экстракты диагностических и лечебных аллергенов, выпускаемые в РФ, стандартизируют по содержанию в препарате PNU (10000 PNU/мл, т.е 0,1 мг белкового азота). Их аллергенную активность определяют при кожном тестировании на чувствительных к данному аллергену пациентах, но количественно не оценивают ни в испытаниях *in vitro*, ни на пациентах. Недостатком системы стандартизации по содержанию PNU является то, что она оценивает лишь общее количество белка в экстракте аллергена без оценки какая его часть приходится на главный (мажорный) аллерген и обладает необходимой аллергенной активностью, а какая присутствует в неактивном состоянии либо в виде неспецифических аллергенов. При применении препаратов, стандартизированных по этому критерию, сложно прогнозировать реакцию пациента и быть уверенным в эффективности АСИТ.
- ✓ **AU (Allergy Units - аллергенные единицы)** - система стандартизации, разработанная Туркельтауб в лаборатории FDA (США). Оценивают степень выраженности кожной реакции пациента *in vivo*: суммарный диаметр эритемы в миллиметрах при внутрикожном титровании аллергена.
- ✓ **BU (Biological Units – биологические единицы)** разработанная и применяемая в Европе. Доза аллергена измеряется в биоэквивалентных единицах, которые рассчитываются по кожной реакции при прик-тестировании. 1000BU/мл эквивалентны кожной реакции пациента на раствор гистамина в концентрации 10 мг/мл. Одним из примеров стандартизации аллергенов в биологических единицах является использование ИР (индекс реактивности).

В основе иммунобиологической стандартизации лежит создание экстракта, используемого, как референтный препарат (эталон). Все последующие серии препарата сравниваются с эталоном (методом ИФА), их активность подгоняется до установленного значения, в итоге получают препарат с гарантированным постоянством аллергенной активности и соответствием указанным дозам от серии к серии.

Регулирующий орган, осуществляющий стандартизацию, контроль за качеством и чистотой лечебных аллергенов в США-FDA (Food and Drug Administration). В Европе действуют несколько регулирующих организаций, работающие в соответствии с рекомендациями ВОЗ. В России органом, осуществляющим стандартизацию, является ФГБУ «НЦ экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ.

Лечебные формы аллергенов

Лечебные формы аллергенов применяют для проведения аллергенспецифической иммунотерапии.

Основные лечебные формы аллергенов

- водно-солевые экстракты аллергенов пыльцы деревьев, злаковых трав, сорных трав, домашней пыли, клещей рода *Dermatophagoides* для подкожной АСИТ. Этот тип продуктов представлен натуральными лиофилизированными экстрактами, не содержащими адъювантов и не подвергавшиеся химической модификации;
- аллергены для сублингвального применения;
- Депонированные (продолгованные) аллергены, адсорбированные на фосфате кальция или гидроксида алюминия, в форме суспензии для подкожной АСИТ;
- Аллергоиды - натуральные экстракты, которые подвергают химической модификации путем полимеризации аллергена формальдегидом или карбамелированием

При стандартизации модифицированных аллергенов необходимо соблюдать следующие правила:

- стандартизация исходного аллергена до модификации;
- воспроизводимость процесса модификации с сохранением содержания главных аллергенных эпитопов в конечном продукте;

Депонированные и модифицированные лечебные аллергены обладают меньшей аллергенностью и большей иммуногенностью, вследствие чего эти средства более эффективны и вызывают меньше побочных эффектов при проведении АСИТ.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Бытовые аллергены. Общая характеристика. Аллергены домашней пыли. Аллергены клещей домашней пыли.
2. Пыльцевые аллергены. Общая характеристика. Календарь пыления. Аллергены пыльцы деревьев. Аллергены пыльцы луговых трав, злаковых. Аллергены сорных трав.
3. Пищевые аллергены. Общая характеристика. Пищевые аллергены животного происхождения. Пищевые аллергены растительного происхождения.
4. Аллергены животных. Общая характеристика. Аллергены кошек и собак. Аллергены грызунов. Аллергены лошади.
5. Грибковые аллергены. Общая характеристика. Аллергены плесневых грибов. Аллергены дрожжевых грибов.
6. Инсектные аллергены. Общая характеристика. Инсектные аллергены, содержащиеся в яде и слюне насекомых.
7. Перекрестные реакции между аллергенами.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 12
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. Глава 13
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>
3. Аллергология и иммунология. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. Р. М. Хаитова, Н. И. Ильиной. - М. :ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 640 с. Глава 6
<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970427347.html>

Дополнительная литература:

1. Аллергия и аллергенспецифическая иммунотерапия /Гущин И.С., Курбачова О.М. – М.: «Фармарус Принт Медиа», 2010. - 228с.
2. Аллергология. Федеральные клинические рекомендации/ под ред. Хаитова Р.М., Ильиной Н.И. – М.: «Фармус Принт Медиа», 2014. – 126 с.
3. Клиническая аллергология и иммунология: руководство для практикующих врачей/ под ред. Горячкиной Л.А., Кашкина К.П. – М.: Миклош, 2009. – 432 с.
4. Доказательная аллергология-иммунология/ Колхир П.В. – М.: Практическая медицина, 2010. – 528с.
5. Диагностические и лечебные аллергены: монография/ Фрадкин В.А. – М.: Медицина, 1990. – 256 с: ил.

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Устный опрос. Тестовый контроль	30 мин
3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	50 мин
4	Демонстрация иммунобиологических препаратов (аллергенов)	20 мин
5	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	15 мин
6	Подведение итогов	10 мин
7	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Аллергены»**Ознакомьтесь с материалом:**

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс]: учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.: с ил. Глава 12
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. Глава 13
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>
3. Аллергология и иммунология. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. Р. М. Хаитова, Н. И. Ильиной. - М. :ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 640 с.
<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970427347.html>
4. Образовательный портал КГМУ дисциплина «Общая и клиническая иммунология», презентация «Аллергены»

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Охарактеризуйте аллергены, как иммунобиологические препараты
2. Номенклатура аллергенов
3. Классификации аллергенов.
4. Этапы получения неинфекционных аллергенов.
5. Системы стандартизации аллергенов. Процесс стандартизации аллергенов. Надзорные органы.
6. Формы лечебных аллергенов. Показания к применению.
7. Охарактеризуйте водно-солевые аллергены, их преимущества и недостатки.
8. Охарактеризуйте депонированные аллергены, их преимущества и недостатки.
9. Охарактеризуйте аллергоиды, их преимущества и недостатки.

Форма текущего контроля: устный опрос на занятии, тестирование.

Практическое занятие №21**«Диагностические программы в аллергологии»****Цель занятия:**

На основе механизмов развития реакций гиперчувствительности определить показания к диагностике аллергических заболеваний, изучить методы диагностики и особенности интерпретации полученных результатов.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Аллергия: определение. Аллергены, характеристика, классификация.
2. Диагностика аллергических заболеваний. Роль аллергологического анамнеза.
3. Методы диагностики *in vivo*. Интерпретация результатов.
4. Методы диагностики *in vitro*. Интерпретация результатов.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Под аллергией понимают неадекватную по интенсивности реакцию на повторное введение молекул, называемых аллергенами. Аллергены – антигены, способные индуцировать аллергическую реакцию. По происхождению аллергены подразделяются на пищевые, лекарственные, животного происхождения, растительные аллергены, инсектные, грибковые и др.

Аллергические процессы состоят из двух фаз: сенсibilизации и проявления аллергических реакций. Обе фазы запускаются введением особой разновидности антигенов — аллергенов.

Аллергические реакции развиваются быстро (в течение минут).

Различают системные и местные аллергические реакции.

Цель аллергодиагностики – выявление заболеваний или состояний, обусловленных аллергенспецифической гиперчувствительностью.

Для выявления IgE-опосредованной аллергии и установления спектра причинно-значимых аллергенов применяют определенный алгоритм диагностических мероприятий, включающий:

- сбор аллергологического анамнеза
- постановку кожных проб (прик-тесты, скарификационные, внутрикожные)
- постановку аллергенспецифических внутрикожных проб
- *in vitro* лабораторные исследования для выявления аллергенспецифического IgE либо специфической чувствительности клеток-мишеней аллергии к определенным аллергенам

Аллергологический анамнез отличается от других видов анамнеза тем, что не только позволяет определить нозологическую форму заболевания, но и одновременно помогает установить возможный механизм развития заболевания и вид аллергена, к которому у пациента повышена чувствительность.

Кожное тестирование – один из основных в диагностике IgE-опосредованной аллергии немедленного типа в силу высокой специфичности и информативности. С помощью кожного тестирования выявляют сенсibilизацию к различным аллергенам, стандартизованным и разрешенным к применению в лечебно-диагностических целях.

Кожные пробы проводятся на здоровых участках кожи чаще всего в области внутренней поверхности предплечья, реже – на спине. В зависимости от метода постановки это могут быть скарификационные кожные пробы, прик-тест, внутрикожные пробы, реже – капельные пробы.

При постановке кожных проб необходимы два контроля. В качестве заведомо положительного контроля используется 0,01% раствор гистамина; в качестве отрицательного контроля используется тест-контрольная жидкость.

Учет результатов при кожном тестировании производится через 15-20 минут.

При отсутствии реакции на гистамин кожные пробы считаются ложноотрицательными и не учитываются. При наличии положительной реакции на тест-контрольную жидкость (ТКЖ) кожные пробы считаются ложноположительными и тоже не учитываются.

Провокационные тесты – методы диагностики, основанные на реакциях, которые возникают при контакте шокового органа с аллергеном. Их используют, если данные анамнеза расходятся с результатами кожного тестирования. В зависимости от способа введения аллергена в организм различают назальный, конъюнктивальный, ингаляционный, сублингвальный, оральный тесты.

В настоящее время широко применяют лабораторные методы диагностики аллергических заболеваний, которые позволяют выявлять аллергенспецифические IgE-антитела. Кроме этого, в медицинскую практику внедрены современные лабораторные методы выявления медиаторов, секретируемых активированными клетками.

Для лучшего усвоения материала планируется посещение процедурного кабинета с ознакомлением с документацией, демонстрацией препаратов аллергенов и кожных проб с аллергенами.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Инсектные аллергены: характеристика и роль в развитии реакций гиперчувствительности немедленного типа
2. Лекарственные аллергены.
3. Основы перекрестных реакций на лекарственные аллергены.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html> Электронное издание на основе: Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. 2012. - 640 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-2241-0. Глава 12.
2. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html> Электронное издание на основе: Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3345-4. Главы 10, 13.

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа2011. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html> Электронное издание на основе: Иммунология. Атлас: учебное пособие. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. 2011. - 624 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-1858. Глава 2.

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	10 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	30 мин
5.	Посещение процедурного кабинета. Демонстрация аллергенов, документации. Демонстрация кожных проб.	20 мин
6.	Решение ситуационных задач	30 мин
7.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	10 мин
8.	Подведение итогов	5 мин
9.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме

«Диагностические программы в аллергологии»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html> Электронное издание на основе: Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. 2012. - 640 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-2241-0. Глава 12.
2. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html> Электронное издание на основе: Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3345-4. Главы 10, 13.

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа2011. - <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html> Электронное издание на основе: Иммунология. Атлас: учебное пособие. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. 2011. - 624 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-1858. Глава 2.

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Назовите основные методы диагностики *in vivo* заболеваний, в основе которых лежит IgE-опосредованный механизм развития.
2. Каковы особенности сбора аллергологического анамнеза?
3. Механизм положительной кожной реакции немедленного типа на аллергены.
4. Ложноположительные и ложноотрицательные кожные пробы с аллергенами.
5. Назовите провокационные пробы в зависимости от способа введения аллергена.

Практическое занятие №22

«Аллергодиагностика *in vitro*»

Цель занятия: Изучить основные тесты *in vitro*, применяемые для диагностики реакций гиперчувствительности немедленного и замедленного типов.

Основные вопросы:

1. Основные показания для проведения тестов *in vitro*;
2. Основные тесты *in vitro* для диагностики реакций гиперчувствительности немедленного типа;
3. Основные тесты *in vitro* для диагностики реакций гиперчувствительности замедленного типа;

Основные понятия, категории по теме занятия:

Основными показаниями для назначения лабораторных методов специфической аллергодиагностики, проводимых *in vitro*, являются:

- ранний детский возраст;
- высокая степень сенсibilизации пациента;
- наличие противопоказаний к проведению кожного тестирования;
- непрерывно рецидивирующее течение заболевания без периодов ремиссии;
- невозможность отмены антигистаминных и других препаратов, влияющих на кожную чувствительность;
- полисенсibilизация, когда невозможно провести тестирование *in vivo* сразу со всеми предполагаемыми аллергенами в ограниченные сроки обследования;
- резко изменённая реактивность кожи;
- ложноположительный или ложноотрицательный результат при кожном тестировании;
- уртикарный дермографизм.

Основными преимуществами методов специфической аллергодиагностики *in vitro* являются:

- Безопасность больного;
- Высокая информативность;
- Малое количество крови, необходимое для исследования.

В клинической практике наиболее широко применяют следующие методы специфической диагностики аллергии, проводимые *in vitro*:

Для диагностики реакций гиперчувствительности немедленного типа

- иммуноферментные методы анализа для выявления общего и специфических IgE с колориметрическим, флюориметрическим и хемилюминесцентным способом регистрации результатов;
- радиоаллергосорбентный тест (РАСТ) для выявления специфических IgE;
- непрямой базофильный тест (тест Шелли);
- прямой базофильный тест (тест Шелли);
- реакция специфического высвобождения гистамина из базофилов периферической крови пациента;
- молекулярная аллергодиагностика – инновационный метод, используемый для картирования аллергеной активности сенсibilизации на молекулярном уровне с

применением очищенных или рекомбинантных аллергенов или компонентов аллергенов вместо экстрактов аллергенов.

Определение уровня общего IgE в сыворотке крови. Исследование проводят с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Повышенный уровень общего IgE может указывать на развитие атопического заболевания. Показатель обладает относительной информативностью. Его повышение в некоторых случаях может быть связано с другими причинами, в том числе с наличием паразитарных или грибковых поражений, некоторыми первичными иммунодефицитами. В то же время у многих пациентов с атопическими заболеваниями регистрируют нормальный уровень общего IgE. Это можно объяснить, в частности, моносенсibilизацией или сенсibilизацией к небольшому количеству аллергенов, когда суммарный уровень IgE остаётся невысоким.

Определение уровня аллергенспецифических IgE в сыворотке крови проводят с помощью ИФА, радиоаллергосорбентного теста (РАСТ), множественного аллергосорбентного теста. Тест позволяет определить спектр сенсibilизации пациента. Его выполняют чаще всего при невозможности проведения или интерпретации результатов кожного аллергологического тестирования. Тестирование можно проводить для выявления сенсibilизации к бытовым, эпидермальным, пыльцевым, пищевым, инсектным, грибковым, латексным аллергенам.

Преимущества метода по сравнению с кожным тестированием с аллергенами: исследование можно проводить в период обострения заболевания, отсутствует непосредственный контакт пациента с аллергеном, исключена опасность развития тяжёлых реакций при проведении тестирования и обострения АЗ, нет необходимости отменять фармакотерапию на период проведения исследования, есть возможность выявления сенсibilизации сразу к большому количеству аллергенов.

К недостаткам метода относят более длительный период проведения пробы по сравнению с кожным тестированием, высокую стоимость обследования, вероятность получить отрицательные результаты у пациентов с атопическими заболеваниями в период ремиссии в связи с небольшой продолжительностью жизни циркулирующих IgE.

Для диагностики лекарственной аллергии (ЛА) используют следующие методы: базофильный тест (для выявления аллергии к пенициллинам, местным анестетикам, анальгетикам, барбитуратам), тест Шелли и его модификации.

Непрямой базофильный тест (тест Шелли) основан на изучении морфологических изменений базофилов в результате взаимодействия сыворотки больного и специфического аллергена. Краситель нейтральный красный избирательно окрашивает гранулы базофилов в кирпично-красный цвет, что позволяет отличить их от других клеток. Реакцию наблюдают под микроскопом с иммерсионной системой. Неизменённые базофилы имеют круглую форму; гранулы, окрашенные краской, располагаются внутри клетки.

Положительная реакция проявляется деформацией клеток, образованием псевдоподий, усиленным движением гранул и в редких случаях – выходом гранул из клетки с разрывом ее. В каждом препарате сосчитывается 40 базофилов, вычисляют процент морфологически изменённых клеток и в опыте, и в контроле.

Условно выделяют 3 степени реакции: слабая – процент изменённых базофилов в опыте превышает таковой в контроле на 10%, умеренная – на 15%, резко положительная – на 20% и более. Во всех случаях имеются в виду результаты контроля с наивысшей неспецифической реакцией базофилов.

Прямой базофильный тест (тест Шелли) основан на изучении морфологических изменений базофилов в периферической крови больного аллергическим заболеванием при взаимодействии со специфическим аллергеном. Оценка проводится аналогично оценке при непрямом базофильном тесте.

Реакция высвобождения гистамина из базофилов периферической крови больного (по Scov, S.Norne, B.Weeke) основана на учете процента высвобождения гистамина после обработки базофилов специфическими аллергенами. Тест высвобождения гистамина из базофилов и лейкоцитов используют для диагностики лекарственной и латексной аллергии.

Новый вид диагностики IgE-опосредованных заболеваний – молекулярная диагностика (МА). Достижения МА стали основой разработки метода компонентной алергодиагностики, позволяющего оценить наличие сенсибилизации к отдельным белкам (мажорным, минорным) в составе аллергена. **Мажорные алергокомпоненты (М)** – это аллергенные молекулы, антитела к которым встречаются более чем у половины пациентов в популяции, реагирующей на данный источник. Аллергены с распространенностью менее 10% относят к **минорным (m)**.

МА позволяет повысить точность диагноза и прогноза при аллергии и играет важную роль в трех ключевых аспектах алергодиагностики:

- 1) дифференциации истинной сенсибилизации и перекрестной реактивности у полисенсибилизированных пациентов, что улучшает таким образом выявление причинных аллергенов;
- 2) оценки, в отдельных случаях, риска развития острых системных реакций вместо слабых и местных при пищевой аллергии, что уменьшает таким образом необоснованное волнение пациента и необходимость проведения пищевых провокационных тестов;
- 3) выявлении пациентов и причинных аллергенов для алергенспецифической иммунотерапии (АСИТ).

На рынке доступны разные платформы для МА аллергий как для единичных, так и для множественных исследований. Технология чипов с иммобилизованными аллергенами на твердой фазе (Immuno-Solid phase Allergen Chip, ISAC) – это самая полноценная платформа, доступная на данном этапе, которая включает в себя технологию биочипов для определения количества алергенспецифических IgE (asIgE) против более чем ста алергенных молекул в одном исследовании. МА доступна на платформах для единичных исследований – ImmunoCAP и NuTech. В этих платформах используются панели отдельных алергенов вместе с соответствующим экстрактом алергенов.

Данные методы лабораторной диагностики позволяют выявить только состояние сенсибилизации, т.е. наличие антител при немедленном типе гиперчувствительности свидетельствует о том, что у обследуемого пациента имел место контакт с данным алергеном.

Для диагностики реакций гиперчувствительности замедленного типа

- тест трансформации лимфоцитов (ТТЛ);
- определение уровня экспрессии CD69;
- определение выработки цитокинов (ИФН- γ ; ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-13).

ТТЛ применяется для диагностики лекарственной аллергии замедленного типа (ЛАЗТ). Он основан на активации и пролиферации сенсибилизированных Т-лимфоцитов (клон Т-лимфоцитов, несущих специфический антигенраспознающий рецептор к соответствующему антигену) под действием причинно-значимого препарата. Чаще всего используется при подозрении на ЛАЗТ на антибиотики (β -лактамы, хинолоны, сульфаниламиды и пр.),

нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), противоэпилептические препараты (карбамазепин, фенобарбитал, фенитоин), местные анестетики.

Определение уровня экспрессии CD69. Данный тест является более простой и доступной формой альтернативой ТТЛ. Он основан на том, что после активации сенсibilизированных Т-лимфоцитов причинно-значимым препаратом на поверхности клеток экспрессируются такие молекулы, как CD25, CD69, CD40L и позднее CD71, HLA-DR, которые можно определить методами проточной цитометрии или иммунофлюоресценции. Наиболее быстро и значимо повышается экспрессия CD69.

Определение выработки цитокинов. Данная методика основана на определении уровня цитокинов, которые вырабатываются сенсibilизированными Т-лимфоцитами после активации их причинно-значимым препаратом. ИФН- γ является одним из основных цитокинов, секреция которого повышается при различных проявлениях ЛАЗТ.

Лабораторная диагностика ЛАЗТ имеет как свои плюсы, так и недостатки.

Недостатки	Преимущества
Необходимо наличие высококвалифицированного специалиста	Безопасность
Требует дорогостоящего оборудования, реактивов	
Сложность в выполнении	
Разработаны для определенных лекарственных препаратов	
Возможна постановка только с растворами	
Не разработана для метаболитов	
Возможность ложноположительных и ложноотрицательных результатов	

Главное и очень важное преимущество лабораторных методов *in vitro*, используемых для диагностики ЛАЗТ – это их безопасность. Но множественные недостатки сильно ограничивают их применение в повседневной практике. Методы диагностики ЛАЗТ *in vitro* в настоящее время не сертифицированы.

Таким образом, диагностика аллергических заболеваний должна быть комплексной, с учетом данных анамнеза, объективного осмотра, тестов *in vivo* и *in vitro*.

Для закрепления материала практическая часть предполагает выполнение отдельных этапов ИФА с определением иммуноглобулина Е.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Методика проведения непрямого базофильного теста Шелли;
2. Методика проведения прямого базофильного теста Шелли;
3. Методика проведения теста высвобождения гистамина из базофилов периферической крови больного;
4. Молекулярная алергодиагностика. Технология ISAC (Immuno-Solid phase Allergen Chip);
5. Молекулярная алергодиагностика. Технология ImmunoCAP.

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература:

1. Иммунология: учебник / Р. М. Хаитов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 528 с.: ил. Глава 13;
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>;
2. Методы диагностики в алергологии и иммунологии / Е. Н. Медуницына, Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 640 с. Глава 1.3
<http://www.studentlibrary.ru/book/970409039V0001.html>.

Дополнительная литература:

1. Иммунология: учебник / Р. М. Хаитов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 497 с.: ил. Глава 13;

2. Клиническая аллергология: руководство для практических врачей / Р. М. Хаитов. – М.: МЕДпресс-информ, 2002. – 624 с.: ил. Глава 3.1.6;
3. Согласительный документ WAO-ARIA-GA2LEN по молекулярной аллергодиагностике;
4. Диагностика лекарственной аллергии, протекающей по замедленному типу / Т. С. Романова и др. // Российский аллергологический журнал. – 2017. – Том 14, № 6. – С. 7-20.

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Устный опрос. Тестовый контроль	50 мин
3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	70 мин
4	Выполнение отдельных этапов ИФА с определением иммуноглобулина Е.	30 мин
5	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	10 мин
6	Подведение итогов	10 мин
7	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме «Аллергодиагностика *in vitro*»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Иммунология: учебник / Р. М. Хаитов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 528 с.: ил. Глава 13; <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>;
2. Методы диагностики в аллергологии и иммунологии / Е. Н. Медуницына, Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 640 с. Глава 1.3 <http://www.studentlibrary.ru/book/970409039V0001.html>;
3. Иммунология: учебник / Р. М. Хаитов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 497 с.: ил. Глава 13;
4. Клиническая аллергология: руководство для практических врачей / Р. М. Хаитов. – М.: МЕДпресс-информ, 2002. – 624 с.: ил. Глава 3.1.6;
5. Согласительный документ WAO-ARIA-GA2LEN по молекулярной аллергодиагностике;
6. Диагностика лекарственной аллергии, протекающей по замедленному типу / Т. С. Романова и др. // Российский аллергологический журнал. – 2017. – Том 14, № 6. – С. 7-20;
7. Образовательный портал КГМУ дисциплина «Общая и клиническая иммунология», презентация «Аллергодиагностика *in vitro*».

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Перечислите основные показания для проведения тестов *in vitro*;
2. Перечислите основные тесты *in vitro* для диагностики реакций гиперчувствительности немедленного типа;
3. Охарактеризуйте иммуноферментные методы анализа для выявления общего и специфических IgE антител. Принцип метода. Методика проведения. Интерпретация результатов;
4. Охарактеризуйте радиоаллергосорбентный тест (РАСТ) для выявления специфических IgE-антител. Принцип метода. Методика проведения. Интерпретация результатов;
5. Перечислите преимущества и недостатки РАСТ для выявления специфических IgE-антител;
6. Охарактеризуйте непрямой и прямой базофильный тест (тест Шелли). Принцип метода. Методика проведения. Интерпретация результатов;
7. Охарактеризуйте реакцию специфического высвобождения гистамина из базофилов периферической крови. Принцип метода. Методика проведения. Интерпретация результатов;
8. Дайте определение молекулярной и компонентной аллергодиагностике. Понятия мажорный и минорный аллергокомпоненты. Возможности молекулярной аллергодиагностики;
9. Перечислите основные тесты *in vitro* для диагностики реакций гиперчувствительности замедленного типа;
10. Охарактеризуйте тест трансформации лимфоцитов. Принцип метода. Применение в

- клинической практике. Методика проведения. Интерпретация результатов;
11. Охарактеризуйте тесты, направленные на определение уровня экспрессии CD69. Принцип метода. Применение в клинической практике. Методика проведения;
 12. Охарактеризуйте тесты, направленные на определение уровня цитокинов (ИФН- γ ; ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-13). Принцип метода. Применение в клинической практике. Методика проведения;
 13. Перечислите преимущества и недостатки лабораторной диагностики лекарственной аллергии замедленного типа (ЛАЗТ)

Практическое занятие №23

«Аллергические заболевания органов дыхания»

Цель занятия:

Охарактеризовать основные клинические симптомы, принципы диагностики, терапии и профилактики аллергических заболеваний органов дыхания.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Клинические симптомы, критерии диагностики аллергического ринита
2. Клинические симптомы, критерии диагностики бронхиальной астмы
3. Принципы терапии аллергических заболеваний органов дыхания
4. Элиминационные мероприятия в лечении
5. Характеристика антигистаминных препаратов: фармакокинетика, показания, противопоказания к назначению
6. Топические глюкокортикостероиды в лечении аллергических заболеваний органов дыхания
7. Аллергенспецифическая иммунотерапия (лечебные аллергены, механизм эффективности, методы проведения)

Основные понятия, категории по теме занятия:

Аллергический ринит - заболевание, в основе которого лежит IgE-опосредованная реакция, вызванная попаданием аллергенов на слизистую оболочку полости носа.

Причиной аллергического ринита являются бытовые, эпидермальные, пыльцевые аллергены.

Симптомы: зуд в полости носа, ринорея (обильные водянистые выделения из носа), многократное чихание, заложенность носа.

Классификация аллергического ринита:

интермиттирующий, симптомы:

- менее 4 сут. в неделю или
- менее 4 нед. в году

персистирующий, симптомы:

- более 4 сут. в неделю и
- более 4 нед. в году



Легкая степень тяжести

- нормальный сон
- нормальная дневная активность
- отсутствие мучительных симптомов

средней степени тяжести

- симптомы нарушают сон
 - препятствуют дневной активности
- тяжелой степени
- симптомы значительно ухудшают качество жизни пациента при отсутствии лечения

Выделяют следующие фенотипы бронхиальной астмы:

1. аллергическая
2. неаллергическая
3. бронхиальная астма с поздним дебютом
4. бронхиальная астма с фиксированной обструкцией дыхательных путей
5. бронхиальная астма у больных с ожирением.

По степени тяжести выделяют интентитирующее течение, персистирующее легкой, средней и тяжелой степени.

Крайне тяжелой степенью является астматический статус – затянувшийся приступ экспираторного удушья, не купирующийся в течение нескольких часов.

Основной целью лечения бронхиальной астмы является достижение контроля над симптомами заболевания. Контроль заболевания подразумевает купирование симптомов бронхиальной астмы на фоне адекватной базисной противовоспалительной терапии. Оценка контроля бронхиальной астмы осуществляется на основании совокупности следующих критериев:

Контроль симптомов БА	Хорошо контролируемая БА	Частично контролируемая БА	Не поддающаяся контролю БА
За последние 4 недели у пациента наблюдались: <ul style="list-style-type: none"> • Дневные симптомы Возникают чаще 2-х раз в неделю • Любое ночное пробуждение, вызванное БА • Потребность в препаратах неотложной помощи для купирования симптомов БА возникает чаще 2-х раз в неделю • Любое ограничение активности, вызванное БА 	Ни одно из перечисленного	1-2 из перечисленного	3-4 из перечисленного

Осложнения: легочные (эмфизема легких, пневмосклероз, ателектазы, пневмоторакс), внелегочные (сердечная недостаточность, дистрофия миокарда, аритмия).

Фармакотерапия бронхиальной астмы. Целью терапии бронхиальной астмы является достижение контроля заболевания. Таким образом, лечение включает назначение препаратов для контроля заболевания (базисная противовоспалительная терапия) и препараты неотложной помощи (для снятия острого приступа бронхообструкции). Метод доставки препаратов, используемых для лечения бронхиальной астмы, ингаляционный в виде дозированного порошкового ингалятора, дозированного аэрозольного ингалятора или применения небулайзера.

Лечение бронхиальной астмы, основанное на контроле симптомов и минимизации будущих рисков (GINA, 2017)

				Шаг 5
				Шаг 4
Шаг 1	Шаг 2	Шаг 3	Средние /высокие дозы ИГКС/ДДБА	Добавить тиотропиум, омализумаб, меполизумаб, реслизумаб
Поддерживающая терапия, предпочтительный выбор	Низкие дозы ИГКС	Низкие дозы ИГКС/ДДБА	Средние /высокие дозы ИГКС/ДДБА	Добавить тиотропиум, омализумаб, меполизумаб, реслизумаб
Поддерживающая терапия, иные варианты	<i>Низкие дозы ИГКС</i>	<i>Низкие дозы ИГКС</i>	<i>Низкие дозы ИГКС</i>	<i>Низкие дозы системных ГК</i>
	<i>Антагонист лейкотриеновых рецепторов (АЛТР)</i> <i>Низкие дозы теофиллина*</i>	<i>Средние /высокие дозы ИГКС</i> <i>Низкие дозы ИГКС+ АЛТР</i> <i>(или+теофиллин*)</i>	<i>Добавить тиотропиум</i> <i>Высокие дозы ИГКС+АЛТР</i> <i>(или+теофиллин*)</i>	<i>Добавить низкие дозы системных ГК</i>
Препараты по потребности	КДБА по потребности		КДБА по потребности или низкие дозы ИГКС/формотерол	

* препараты теофиллина не рекомендованы детям в возрасте 6-11 лет

Рассмотрите возможность добавления метода АСИТ к лечению у взрослых НДМ-чувствительных пациентов (сенсibilизированных к клещам домашней пыли) с аллергическим ринитом, у которых, несмотря на лечение обострений с использованием ИКС, FEV1 составляет 70% от ожидаемого.

Безусловный приоритет среди препаратов базисной противовоспалительной терапии принадлежит ингаляционным ГКС. К ним относятся: беклометазона дипропионат, будесонид, флутиказона пропионат, мометазона фураат, циклесонид. При персистирующем течении средней степени тяжести и тяжелом течении БА назначаются комбинированные препараты, включающие ингаляционные глюкокортикостероиды и длительно действующие β2-агонисты (будесонид/формотерол, мометазон/формотерол, сальметерол/флутиказон, виллантерол/флутиказон). Кроме глюкокортикостероидов в качестве альтернативной терапии рекомендуется применение антагонистов лейкотриеновых рецепторов (монтелукаст). При неконтролируемом течении бронхиальной астмы, на V ступени терапии, назначаются системные глюкокортикостероиды (преднизолон, дексаметазон), а также рассматривается возможность назначения препаратов биологической терапии (омализумаб, меполизумаб, реслизумаб).

С целью неотложной помощи при остром приступе бронхообструкции используются короткодействующие β2-агонисты (фенотерол, сальбутамол).

Патогенетически обоснованным методом лечения аллергических заболеваний является *аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ)*, которая назначается пациентам с сенсibilизацией к бытовым, пыльцевым аллергенам при отсутствии противопоказаний.

В процессе практического занятия будет проведена демонстрация и клин разбор пациентов с БА и АР.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Антигистаминные препараты в лечении аллергических заболеваний.
2. Ингаляционные глюкокортикостероиды в лечении бронхиальной астмы.
3. Лечебные аллергены. Методы аллергенспецифической иммунотерапии.
4. Дифференциальная диагностика БА и ХОБЛ

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с.: ил. Глава 12 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>

2. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. Главы 10,13
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	20 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	45 мин
5.	Заслушивание рефератов и обсуждение тем	20 мин
6.	Решение ситуационных задач	20 мин
7.	Демонстрация и клинический разбор пациентов с аллергическим ринитом и бронхиальной астмой.	30 мин
8.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	10 мин
9.	Подведение итогов	5 мин
10.	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме

«Аллергические заболевания органов дыхания»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с.: ил. Глава 12 <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. Главы 10,13
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Клинические симптомы аллергического ринита, принципы диагностики.
2. Клинические симптомы бронхиальной астмы, принципы диагностики.
3. Перечислите основные принципы терапии аллергических заболеваний.
4. Дайте характеристику антигистаминных препаратов (классификация, механизм действия, побочные эффекты).
5. Дайте характеристику глюкокортикостероидов, используемых в лечении аллергических заболеваний (классификация, механизм действия, побочные эффекты).
6. Назовите показания и противопоказания к назначению глюкокортикостероидов.
7. Механизм эффективности аллергенспецифической иммунотерапии.

Практическое занятие №24

«Аллергические заболевания кожи»

Цель занятия:

Охарактеризовать основные клинические симптомы, принципы терапии и профилактики аллергических заболеваний кожи.

Основные вопросы (этапы) для обсуждения:

1. Клинические проявления, критерии диагностики атопического дерматита
2. Клинические проявления, критерии диагностики крапивницы
3. Принципы терапии крапивницы
4. Топические глюкокортикостероиды в лечении аллергических заболеваний кожи

Основные понятия, категории по теме занятия:

К аллергическим заболеваниям кожи относятся атопический дерматит, аллергическая крапивница/ангиоотек, контактный аллергический дерматит.

Атопический дерматит – заболевание, в основе которого лежит хроническое воспаление, характеризуется выраженным зудом, появлением определенных морфологических элементов на коже, гиперреактивностью кожи на воздействие специфических и неспецифических факторов.

Наиболее частым этиологическим фактором являются пищевые аллергены (белки коровьего молока, куриного яйца, сои и др.). Отмечается раннее начало заболевания (в младенческом возрасте), значительное влияние на качество жизни.

Выделяют ограниченный, распространенный и диффузный вариант течения заболевания. В настоящее время считается, что атопический дерматит является первой ступенью в развитии «атопического марша».

Фармакотерапия атопического дерматита. В качестве базисной терапии атопического дерматита назначаются противовоспалительные средства: топические глюкокортикостероиды или препараты нестероидного происхождения (в зависимости от степени тяжести) и независимо от степени тяжести эмолиенты - увлажняющие средства. Для оценки степени тяжести атопического дерматита используют полуколичественные шкалы, из которых наиболее широкое применение получила шкала SCORAD (Scoring of Atopic Dermatitis). SCORAD предусматривает балльную оценку шести объективных симптомов: эритема, отек/папулезные элементы, корки/мокнутые, эксфолиации, лихенификация/шелушение, сухость кожи. Интенсивность каждого признака оценивается по 4-уровневой шкале: 0 – отсутствие, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – сильная. Значения индекса могут варьировать в пределах от 0 (нет заболевания) до 103 (максимально тяжелое течение атопического дерматита).

Ступенчатый подход в терапии больных атопическим дерматитом

Тяжелая степень: SCORAD > 40 / упорное течение АтД (непрерывное обострение)	Системная иммуносупрессивная терапия: системные ГКС (коротким циклом), циклоспорин.
Среднетяжелая степень: SCORAD 15–40 / рецидивирующий АтД	Седативные антигистаминные препараты, УФ терапия (УФВ, УФА1), коррекция психосоматического состояния, климатотерапия
Легкая степень: SCORAD < 15 / транзиторный АД	Топические ГКС или топические блокаторы кальциневрина
Базисная терапия	Обучающие программы, эмолиенты, масла для ванн, элиминационная диета у пациентов, склонных к пищевой аллергии, устранение аллергенов (в случае их выявления при аллергологическом исследовании)

В зависимости от морфологической картины применяют различные лекарственные формы наружных препаратов: аэрозоли, лосьоны, эмульсии, кремы, мази. При обострении заболевания используются топические глюкокортикостероиды.

К топическим глюкокортикостероидам относятся: фторированные (дексаметазон, бетаметазон, клобетазол, флутиказон) и нефторированные (гидрокортизон, преднизолон и его производные, мометазона фураат, метилпреднизолон ацепонат). При тяжелом течении атопического дерматита назначаются системные глюкокортикостероиды короткими курсами (преднизолон, дексаметазон).

При наличии вторичной инфекции применяются комбинированные наружные препараты.

Кроме того, в качестве базисной терапии атопического дерматита независимо от степени тяжести назначаются эмолиенты - увлажняющие средства, сохраняющие водно-липидный баланс кожи. При наличии интенсивного зуда кожи дополнительно назначают антигистаминные средства per os.

Принципы лечения аллергического контактного дерматита аналогичны таковым при атопическом дерматите.

Аллергическая крапивница – синдром (заболевание), в основе которого лежит I тип гиперчувствительности, клиническим проявлением которого являются уртикарная сыпь. Крапивница может сопровождаться ангиоотеком.

Причиной аллергической крапивницы являются пищевые, лекарственные, пыльцевые, инсектные, редко – эпидермальные аллергены. По течению выделяют острую (симптомы наблюдаются в течение не более 6 недель) и хроническую крапивницу (симптомы наблюдаются в течение более 6 недель).

Специфическая диагностика аллергической крапивницы: анализ данных аллергологического анамнеза, результаты кожного тестирования и определения аллергенспецифических иммуноглобулинов E.

Фармакотерапия крапивницы/ангиотека. Антигистаминные препараты являются патогенетически обоснованной группой медикаментозных средств, рекомендованной для лечения крапивницы/ангиотека. При легком течении острой крапивницы назначаются антигистаминные препараты II поколения per os в терапевтической дозировке длительностью до 1 месяца. К пероральным блокаторам H1-гистаминовых рецепторов II поколения относятся цетиризин, левоцетиризин, лоратадан, дезлоратадин, эбастин, фексофенадин, рупатадин, биластин. При среднетяжелом и тяжелом течении острой крапивницы с целью оказания неотложной помощи применяют антигистаминные препараты I поколения (дифенгидрамин, клемастин, прометазин, хлорпирамин, хифенадин) парентерально в возрастной дозировке. В случае тяжелого течения крапивницы или сочетания её с ангиоотеком назначаются глюкокортикостероиды системного действия.

В качестве базисной терапии хронической крапивницы рекомендуются антигистаминные препараты II поколения. При этом возможно повышение дозы некоторых из них (фексофенадина - в 1,5 раза, эбастина и цетиризина - в 2 раза) для достижения контроля над симптомами крапивницы. При отсутствии эффекта наряду с антигистаминными препаратами используют препараты альтернативной линии терапии: антилейкотриеновые препараты, моноклональные анти-IgE-антитела (омализумаб), системные ГКС короткими курсами, а также циклоспорин.

Контактный аллергический дерматит – заболевание, в основе которого лежит аллергическое воспаление кожи в ответ на повторное воздействие различных веществ.

Этиология контактного аллергического дерматита: химические соединения, входящие в состав косметических и лекарственных средств, некоторых растений (первоцвет, хризантема, дуб), латекс, резина, металлы. В патогенезе заболевания лежит реакция гиперчувствительности IV типа. Особенностью контактного аллергического дерматита является возникновение симптомов через 12-48 часов после повторного контакта с аллергеном. При профессиональном контактном аллергическом дерматите имеет место четкая связь появления симптомов заболевания при выходе на работу, отсутствие обострения в выходные дни и во время отпуска.

Специфическая диагностика контактного аллергического дерматита включает: анамнез, проведение кожных аппликационных тестов (patch-тесты) со стандартным набором аллергенов.

Фармакотерапия крапивницы/ангиотека. Антигистаминные препараты являются патогенетически обоснованной группой медикаментозных средств, рекомендованной для лечения крапивницы/ангиотека. При легком течении острой крапивницы назначаются антигистаминные препараты II поколения per os в терапевтической дозировке длительностью до 1 месяца. К пероральным блокаторам H1-гистаминовых рецепторов II поколения относятся цетиризин, левоцетиризин, лоратадан, дезлоратадин, эбастин, фексофенадин, рупатадин, биластин. При среднетяжелом и тяжелом течении острой крапивницы с целью оказания

неотложной помощи применяют антигистаминные препараты I поколения (дифенгидрамин, клемастин, прометазин, хлорпирамин, хифенадин) парентерально в возрастной дозировке. В случае тяжелого течения крапивницы или сочетания её с ангиоотёком назначаются глюкокортикостероиды системного действия.

В качестве базисной терапии хронической крапивницы рекомендуются антигистаминные препараты II поколения. При этом возможно повышение дозы некоторых из них (фексофенадина - в 1,5 раза, эбастина и цетиризина - в 2 раза) для достижения контроля над симптомами крапивницы. При отсутствии эффекта наряду с антигистаминными препаратами используют препараты альтернативной линии терапии: антилейкотриеновые препараты, моноклональные анти-IgE-антитела (омализумаб), системные ГКС короткими курсами, а также циклоспорин.

В ходе занятия планируется демонстрация пациентов с аллергическими заболеваниями кожи, клинический разбор.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Дифференциальный диагноз атопического дерматита.
2. Дифференциальный диагноз аллергических и неаллергических форм крапивницы.
3. Топические ГКС, классификация

Форма текущего контроля: устный опрос.

Основная литература по теме:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с.: ил. Глава 12- <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. Главы 10, 13. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.: ил. Глава 2. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Хронологическая карта занятия

1.	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2.	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3.	Контроль знаний по предыдущей теме (устный опрос)	25 мин
4.	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	45 мин
5.	Заслушивание рефератов и обсуждение тем	20 мин
6.	Решение ситуационных задач	20 мин
7.	Демонстрация пациентов с аллергическими заболеваниями кожи, клинический разбор	25 мин
8.	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической и практической части	15 мин
9.	Подведение итогов	5 мин
10.	Задание на дом	5 мин

**Самостоятельная работа по теме
«Аллергические заболевания кожи»**

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 640 с.: ил. Глава 12- <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р. М. Хаитов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 528 с. : ил. Главы 10, 13. <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433454.html>

Дополнительная литература по теме:

1. Иммунология. Атлас [Электронный ресурс] : учебное пособие / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с ил. Глава 2
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970418581.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Атопический дерматит, клинические проявления
2. Принципы терапии атопического дерматита
3. Клинические проявления крапивницы
4. Классификация крапивницы
5. Принципы терапии крапивницы/ангиоотека
6. Неотложная помощь при крапивнице/ангиоотеке

Практическое занятие № 25**«Диагностика побочных лекарственных реакций»****Цель занятия:**

Ознакомиться с основными этапами диагностического поиска при возникновении побочных лекарственных реакций у пациента.

Основные вопросы:

1. Основные методы, используемые в диагностике побочных лекарственных реакций.
2. Особенности сбора фармакотерапевтического анамнеза.
3. Характеристика тестов *in vivo* в диагностике побочных лекарственных реакций.
4. Характеристика тестов *in vitro* в диагностике побочных лекарственных реакций.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Согласно терминологии, предложенной ВОЗ, неблагоприятная побочная реакция (ПЛР) определяется как любая непреднамеренная и нежелательная для организма реакция, которая возникает при использовании лекарственного препарата в рекомендуемых дозах с целью профилактики, лечения, диагностики. ПЛР разнообразны по своим клиническим проявлениям, механизмам развития и частоте возникновения.

Лекарственная аллергия (ЛА) - это ПЛР, развивающаяся по иммунным механизмам в результате развития гиперчувствительности организма пациента к лекарственным средствам (ЛС).

Диагностика ЛА является одной из самых сложных проблем современной клинической аллергологии и иммунологии.

В настоящее время основные методы, применяемые в диагностике побочных лекарственных реакций можно подразделить на три группы:

- I. Аллергологический и фармакотерапевтический анамнез.
- II. Тесты *in vivo*.
- III. Тесты *in vitro*.

Тщательно собранный аллергологический и фармакотерапевтический анамнез (анамнез на предмет переносимости лекарственных средств) имеет основное значение в диагностике лекарственной аллергии. Он позволяет выделить больных группы риска, а также определить показания для дальнейших исследований другими методами. При сборе фармакотерапевтического анамнеза необходимо выяснить у больного следующие данные:

1. Выявить нехарактерные для заболевания, по поводу которого назначено лечение, объективные и субъективные признаки, которые могут быть обусловлены введением лекарственного средства. В последующем клиническую картину реакции необходимо зафиксировать в медицинской документации.
2. Получить информацию о всех лекарственных средствах, принимавшихся больным в течение последнего месяца, а также о наблюдавшихся ранее реакциях на лекарства.
3. Оценить интервал времени между приемом подозреваемого лекарственного средства и проявлением клинических признаков реакции (наличие или отсутствие периода сенсibilизации). Если больной ранее не был сенсibilизирован к препарату или перекрестно реагирующему лекарственному средству, этот интервал редко бывает меньше недели. Для большинства медикаментов реакции обычно возникают в течение 1 месяца после начала терапии (Р. Паттерсон, 2000).
4. Важное значение в формировании лекарственной аллергии имеет генетическая детерминированная предрасположенность к развитию аллергии и наличие сопутствующих заболеваний;
5. Причиной сенсibilизации может быть профессиональный контакт с лекарственными препаратами на фармацевтических производствах, в аптеках, медицинских и ветеринарных лечебных учреждениях.

Вторую группу составляют **тесты *in vivo***, которые предполагают постановку кожных и провокационных проб в период ремиссии. Несомненным преимуществом метода кожного тестирования (скарификационные, прик-тесты, патч-тесты) является простота методики, быстрота получения результатов, возможность выполнения в любом клиническом учреждении, но ценность информации значительно снижается в связи с отсутствием искусственных метаболитов медикаментов, являющихся индукторами лекарственной реакции. Это приводит к увеличению частоты ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Тем не менее, положительные кожные тесты являются достаточным основанием для того, чтобы пациент был отнесен в группу риска развития анафилактической реакции. С целью минимизации ошибок при трактовке результатов кожных проб необходимо при их постановке строго придерживаться методики выполнения теста. Обязательным является постановка двух контролей: с 0,01% раствора гистамина (заведомо положительный контроль) и разводящей жидкостью, в качестве которой может быть использован либо физиологический раствор или вода для инъекций (заведомо отрицательный контроль). Только в случае соблюдения всех правил выполнения кожных проб можно рассчитывать на максимально возможную достоверность полученных результатов (с учетом указанных недостатков метода). Таким образом, методически тщательно выполненные и грамотно оцененные кожные тесты могут дать важную информацию, позволяющую предположить возможность возникновения лекарственной аллергии. В нашей стране применяют тест торможения естественной эмиграции лейкоцитов *in vivo*, предложенный академиком АМН СССР А.Д. Адо, разработанный Г.П. Бондаревой. Для диагностики лекарственной аллергии на пиразолоны, НПВС, антибиотики, сульфаниламиды, местные анестетики этот тест используется с 1980 г. Принцип метода сводится к подсчету в камере Горяева числа лейкоцитов в изотоническом растворе хлорида натрия после полоскания им полости рта. Первая порция раствора не содержит лекарства, во второй растворяется лекарственный препарат в специально подобранной дозе, затем проводятся еще два полоскания через 15 и 30 минут и подсчитывается число лейкоцитов в последней порции. Индекс эмиграции лейкоцитов в полости рта подсчитывают по формуле:

$$ИЭ = \frac{H_k - H_o}{H_k} \times 100\%$$

где H_k – количество лейкоцитов (нейтрофилов) в первой, исходной порции;
 H_o – количество лейкоцитов (нейтрофилов) в опытных стаканчиках №№ 2 и 3.

Тест считается положительным, если число лейкоцитов снизилось на 30% и более. Оценивая диагностическую эффективность этого метода, ТТЕЭЛ *in vivo* выделяют как информативный, достоверный и простой в исполнении тест. Отмечается высокая корреляция вышеописанного метода с результатами кожных проб, а также с некоторыми тестами *in vitro*. Кроме того к тестам *in vivo* относятся провокационные тесты (подъязычный, пероральный, в/м или подкожный тесты) которые проводятся строго по показаниям, при невозможности замены препаратом из другой группы, только в условиях стационара с отделением реанимации. Проведение провокационных тестов *in vivo* является «золотым стандартом» в диагностике ЛА. Результат диагностики *in vivo* всегда остается приоритетным по сравнению с лабораторными данными. Если результат данных тестов положительный, то отрицательное значение теста *in vitro* с тем же медикаментом не имеет значения. И, соответственно, наоборот: если провокационные тесты *in vivo* отрицательные, то положительный тест *in vitro* с тем же медикаментом не имеет значения.

Тесты *in vitro* для определения лекарственной гиперчувствительности имеют очевидные преимущества, так как позволяют избежать каких-либо осложнений у больного при их постановке. Однако их достоверность сомнительна в связи с отсутствием специальных форм аллергенов для постановки *in vitro*. В этой группе есть методы, направленные на выявление IgE-опосредованных реакций, а также IgG-, IgM-опосредованных, клеточно-опосредованных реакций. Если выявление лекарственноспецифичных IgE обычно считается важным, то наличие других лекарственноспецифичных классов иммуноглобулинов или клеточно-опосредованной гиперчувствительности – слабо коррелирует с клинической картиной лекарственной аллергии. Большинство тестов рекомендуется проводить через 6 недель после перенесенной реакции.

К тестам *in vitro* относятся:

Тесты для диагностики атопических реакций:

1. Тесты высвобождения гистамина из базофилов (прямой и непрямой тест Шелли).
2. Определение уровня цистеиновых лейкотриенов методом РИА и ИФА.
3. Определение IgE-антител к лекарственным препаратам методом РИА или ИФА, др.

Тесты для диагностики иммунокомплексных реакций:

1. Определение содержания комплемента и его компонентов методами ИФА, радиальной иммунодиффузии.
2. Определение циркулирующих иммунных комплексов.

Тесты для диагностики аллергических реакций замедленного типа:

- 1) тест трансформации лимфоцитов (ТТЛ);
- 2) определение уровня экспрессии CD69;
- 3) определение выработки цитокинов (ИФН- γ ; ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-13).

1) *ТТЛ* применяется для диагностики лекарственной аллергии замедленного типа (ЛАЗТ). Он основан на активации и пролиферации сенсibilизированных Т-лимфоцитов (клон Т-лимфоцитов, несущих специфический антигенраспознающий рецептор к соответствующему антигену) под действием причинно-значимого препарата. Чаще всего используется при подозрении на лекарственную аллергию замедленного типа (ЛАЗТ) на антибиотики (β -лактамы, хинолоны, сульфаниламиды и пр.), нестероидные противовоспалительные средства

(НПВС), противоэпилептические препараты (карбамазепин, фенобарбитал, фенитоин), местные анестетики.

2) *Определение уровня экспрессии CD69.* Данный тест является более простой и доступной формой альтернативой ТТЛ. Он основан на том, что после активации сенсibilизированных Т-лимфоцитов причинно-значимым препаратом на поверхности клеток экспрессируются такие молекулы, как CD25, CD69, CD40L и позднее CD71, HLA-DR, которые можно определить методами проточной цитометрии или иммунофлюоресценции. Наиболее быстро и значительно повышается экспрессия CD69.

3) *Определение выработки цитокинов.* Данная методика основана на определении уровня цитокинов, которые вырабатываются сенсibilизированными Т-лимфоцитами после активации их причинно-значимым препаратом. ИФН- γ является одним из основных цитокинов, секреция которого повышается при различных проявлениях ЛАЗТ.

При осуществлении диагностического процесса в отношении той или иной ПЛР необходимо детально анализировать и сопоставлять всю совокупность полученной информации: начиная с данных анамнеза, результатов объективного осмотра пациента (клинических особенностей реакции), результатов тестов *in vivo* и заканчивая лабораторными методами исследования. При этом для повышения информационной значимости и степени достоверности результатов тестов *in vivo* и *in vitro* большинство отечественных и зарубежных авторов рекомендуют использовать одновременно несколько методов в диагностике лекарственных побочных реакций у одного и того же больного. Только в случае корреляции результатов указанных методов можно сделать вывод о генезе побочной лекарственной реакции.

Пример дифференциальной диагностики ПЛР.

Форма реакции	Анамнез	Кожная проба с лекарственным препаратом	ТТЕЭЛ <i>in vivo</i> с лекарственным препаратом	IgE общий	IgE лекарственно-специфический
Лекарственная аллергия (анафилактическая реакция)	Клиника острой крапивницы, ангиоотека, анафилактического шока	+	>30%	>100 МЕ/мл	высокий
Псевдоаллергическая реакция	Проявления, подобные клинике аллергических реакций	–	<30%	Норма	отсутствуют
Реакция вследствие выраженного побочного действия препарата	Соответствует побочным реакциям, описанным в инструкции к лекарственному средству	–	<30%	Норма	отсутствуют

Для закрепления материала в ходе практического занятия предусмотрено выполнение лабораторной работы - ТТЕЭЛ.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Клинические проявления побочных лекарственных реакций, развивающихся по 1 типу реакций гиперчувствительности.
2. Клинические проявления побочных лекарственных реакций, развивающихся по 2 типу реакций гиперчувствительности.
3. Клинические проявления побочных лекарственных реакций, развивающихся по 3 типу реакций гиперчувствительности.
4. Клинические проявления побочных лекарственных реакций, развивающихся по 4 типу реакций гиперчувствительности.
5. Методика ТТЕЭЛ.
6. Правила и методика проведения кожных тестов с лекарственным препаратом.

Форма текущего контроля: устный опрос, тестирование.

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии (электронный ресурс): учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, разд. 17. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: (электронный ресурс): учебник / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, разд. 7. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>
3. Аллергология и иммунология: национальное руководство / под ред. Р.М. Хаитова, Н.И.Ильиной. – М.: ГЭОТАР- Медиа, 2009.-656 с.

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Контроль знаний по предыдущей теме (тестирование)	20 мин
3	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	60 мин
4	Подготовка к выполнению лабораторной работы (конспект теории)	15 мин
5	Выполнение лабораторной работы	30 мин
6	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части и по лабораторной работе	25 мин
7	Подведение итогов	20 мин
8	Задание на дом	5 мин

Самостоятельная работа по теме**«Диагностика побочных лекарственных реакций»****Ознакомьтесь с материалом:**

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии (электронный ресурс): учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012.
<http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Аллергология и иммунология: национальное руководство / под ред. Р.М. Хаитова, Н.И.Ильиной. – М.: ГЭОТАР- Медиа, 2009.-656 с.

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Основные методы, используемые в диагностике побочных лекарственных реакций.
2. Особенности сбора фармакотерапевтического анамнеза.
3. Основные тесты in vivo в диагностике побочных лекарственных реакций.
4. Основные тесты in vitro в диагностике побочных лекарственных реакций.

Форма текущего контроля: устный опрос на занятии, тестирование.

Практическое занятие №26

«Анафилактический шок»

Цель занятия:

Изучение клинических проявлений анафилактического шока и алгоритма оказания неотложной помощи.

Основные вопросы:

1. Этиология анафилактического шока.
2. Основные патогенетические механизмы анафилактического шока
3. Клинические симптомы анафилактического шока.
4. Оказание неотложной помощи при анафилактическом шоке.

Основные понятия, категории по теме занятия:

Анафилактический шок (АШ) - это генерализованная аллергическая реакция немедленного типа, сопровождающаяся снижением артериального давления и нарушением кровоснабжения жизненно важных органов.

Наиболее частая причина развития АШ – введение различных лекарственных средств (20,8 – 34%), ужаления перепончатокрылых насекомых и пищевые продукты.

Развитие АШ происходит при повторном попадании аллергена в организм с последующим запуском каскада реакций, характерных для развития аллергической реакции I типа.

Действие основных медиаторов анафилактической реакции (таблица 1) приводит к коллапсу сосудов, гиповолемии), к сокращению гладких мышц, бронхоспазму, гиперсекреции слизи, появлению отеков различной локализации и другим патологическим изменениям. Такие изменения вызывают уменьшение объема циркулирующей крови, падение артериального давления, паралич сосудодвигательного центра и гемоконцентрацию. Происходит уменьшение ударного объема сердца, снижение его сократительной способности, и, как следствие, развивается сердечно-сосудистая недостаточность. Симптоадреналовую реакцию, в отличие от других видов шока, в этом случае не выявляют, поскольку нарушена реакция на симпатические раздражители.

Дыхательная недостаточность может быть следствием бронхоспазма, отделением вязкой слизи в просвет бронха, отека гортани, появления геморагий и ателектазов в легочной ткани, а также застойных явлений в малом круге кровообращения.

Повышение сосудистой проницаемости и другие изменения в покровных тканях приводят к возникновению кожных проявлений анафилаксии: кожного зуда, крапивницы и отека Квинке.

Могут развиваться спазм мелких гладких мышц печеночных вен, расширение капилляров и артерий брюшной полости с депонированием в них крови, а также спазм гладких мышц мочевого пузыря и кишечника, что может быть причиной произвольных актов дефекации и мочеиспускания. Спазм гладкой мускулатуры матки может провоцировать появление кровянистых выделений.

Наиболее часто встречается генерализованная (типичная) форма анафилактического шока, в течение которой условно выделяют три периода: период предвестников, период разгара и период выхода из шока.

В зависимости от выраженности клинических симптомов условно выделяют гемодинамическую, асфиктическую, абдоминальную и церебральную.

Принципы лечения анафилактического шока:

В процессе оказания неотложной помощи при анафилактическом шоке традиционно выделяют три этапа:

- проведение противошоковых мероприятий
- интенсивная терапия
- терапия в период выхода больного из шока.

Следует подчеркнуть, что противошоковые мероприятия должны проводиться на месте развития анафилаксии и, несмотря на многочисленные манипуляции, которые должны быть осуществлены врачом уже на первом этапе, следует помнить, что основным препаратом, препаратом выбора является раствор адреналина гидрохлорида 0,1%.

Проведение противошоковых мероприятий:

- По возможности необходимо уложить больного на кушетку и опустить головной конец. С целью профилактики асфиксии рвотными массами и др. инородными телами необходимо повернуть голову пациента на бок, удалить протезы и фиксировать язык.
- Обеспечить поступление к больному свежего воздуха или ингалировать кислород (6-8 л/мин).
- Действия, направленные на прекращение или, по крайней мере, ограничение поступления в системный кровоток причинно-значимого аллергена, который индуцировал развитие анафилактического шока. С этой целью рекомендуют: наложить венозный жгут на 25-30 минут на конечность проксимальнее места поступления антигена (лекарственного средства, яда перепончатокрылых насекомых). Обколоть его раствором 0,1% адреналина, разведенного в 10 раз физиологическим раствором в 5-6 точек, удалить жало (при ужалении насекомых) и положить лед на место введения аллергена.
- Как можно быстрее ввести 0,1% адреналина в объеме 0,3-0,5 мл (детям 0,01 мг/кг массы тела, максимум 0,3) внутримышечно. Наиболее быстрое всасывание препарата отмечается при его инъекциях в переднелатеральную поверхность бедра. Повторное введение адреналина осуществляется через 5-15 минут (макс. доза 2,0 мл).
- При бронхоспазме, резистентном к адреналину, назначают ингаляционные β_2 -адреномиметики короткого действия (сальбутамол 2,5-5 мг др. через небулайзер с использованием маски). При отсутствии сознания и невозможности проведения небулайзеротерапии, внутривенно медленно вводят эуфиллин (2,4%-10,0 мл), предварительно разведенного физиологическим раствором.
- Введение глюкокортикостероидов (ГКС) в настоящее время относят к препаратам второго ряда при оказании неотложной помощи при анафилактическом шоке.
- Применение блокаторов H₁-гистаминовых рецепторов (клемастин, хлорпирамина гидрохлорид, дефенгидрамин и др. возможно только *на фоне полной стабилизации гемодинамики!*)
- Если шок вызван инъекцией пенициллина, вводят пенициллиназу (1млн ЕД внутривенно в 2 мл физиологического раствора).
- При отсутствии эффекта проводимой терапии при отеке гортани показана трахеостомия или коникостомия или перевод больного на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ). ИВЛ показана также при не купируемой гипотонии, стойком бронхоспазме с развитием дыхательной недостаточности, не купирующемся отеке легких, развитии коагулопатического кровотечения.
- В случае клинической смерти осуществляют искусственное дыхание и непрямой массаж сердца.

Все перечисленные выше мероприятия проводят максимально быстро до нормализации артериального давления и восстановления сознания больного.

Во время практического занятия планируется посещение процедурного кабинета с демонстрацией противошокового набора.

Перечень тем сообщений, рефератов, докладов к занятию:

1. Эпидемиология и этиология анафилактического шока.
2. Отличительные особенности анафилактического шока от анафилактоидных реакций.
3. Клиническая картина анафилактического шока.
4. Проведение противошоковых мероприятий при анафилактическом шоке.
5. Профилактика анафилактического шока.

Форма текущего контроля: устный опрос, тестирование.

Основная литература:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии (электронный ресурс): учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, разд. 17. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: (электронный ресурс): учебник / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, разд.7. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>
- 3.

Хронологическая карта занятия

1	Организационный момент, в т.ч. проверка присутствия	5 мин
2	Тестовый контроль предыдущей темы	20 мин
3	Устный опрос	20 мин
4	Теоретические аспекты изучаемой темы, обсуждение вопросов.	35 мин
5	Заслушивание рефератов	20мин
6	Деловая игра	20 мин
7	Посещение процедурного кабинета с демонстрацией противошокового набора	15 мин
8	Ситуационные задачи	20 мин
9	Ответы преподавателя на вопросы по теоретической части	15 мин
10	Подведение итогов	10 мин

Самостоятельная работа по теме

«Анафилактический шок»

Ознакомьтесь с материалом:

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии (электронный ресурс): учебник / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012, разд. 17. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970422410.html>
2. Иммунология: (электронный ресурс): учебник / Р.М. Хаитов.- 2-е изд. перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, разд.7. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970433454.html>

Ответьте на вопросы, подготовьтесь к устному ответу:

1. Назовите варианты анафилактического шока в зависимости от ведущего клинического синдрома.
2. Типы течения анафилактического шока.
3. Характеристика типичной формы анафилактического шока.

4. Характеристика гемодинамической формы анафилактического шока.
5. Характеристика асфиктической формы анафилактического шока.
6. Характеристика церебральной формы анафилактического шока.
7. Характеристика абдоминальной формы анафилактического шока.
8. Принципы лечения анафилактического шока.

7. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Требования к ведению рабочей тетради:

Ведение тетради в произвольной форме

Требования к оформлению презентации:

1. Презентация не должна быть меньше 10 слайдов и больше 30 слайдов.
2. Первый слайд – это титульный лист, содержащий сведения о наименовании университета, факультета, теме курсовой работы, фамилию, имя, отчество студента, фамилию, имя, отчество руководителя.
3. На следующем слайде вы представляете план (вопросы) вашего доклада и презентации.
4. Алгоритм выстраивания презентации соответствует логической структуре работы и отражает последовательность ее этапов.
5. На одном слайде не должно быть больше 4 предложений и больше 20 слов. Помните, что люди могут одновременно запомнить не более трех фактов, выводов, определений. Наибольшая эффективность достигается тогда, когда ключевые пункты отображаются по одному на каждом отдельном слайде.
6. Не делайте презентацию путем копирования текста из вашей работы: в презентации используют короткие фразы, минимизируйте количество предлогов, наречий, прилагательных; заголовки должны привлекать внимание аудитории
7. Используйте в презентации иллюстрации: это могут быть фотографии, относящиеся к вашему объекту исследования, образы из художественных произведений, какие-то метафоры и т.д.
8. Внимательно проверьте свою презентацию на грамотность. Презентация с грамматическими и стилистическими ошибками снижает впечатление от вашей работы.
9. Последний слайд – Спасибо за внимание!
10. Для оформления слайдов презентации используйте простые шаблоны. Анимацию можно использовать, но не во всех слайдах. Старайтесь не отвлекать слушателей от основного вашего доклада. Рекомендуется соблюдать единый стиль оформления всех слайдов: использовать на одном слайде не более 3 цветов - один для фона, один для заголовков, один для текста. Смена слайдов устанавливается по щелчку.
11. Выбираемый шрифт должен быть в пределах размеров – 18-72 пт. Не следует использовать разные шрифты в одной презентации. При копировании текста из программы Word на слайд он должен быть вставлен в текстовые рамки на слайде.
12. В презентации материал целесообразнее представлять в виде таблиц, моделей, программ

Требования к реферативным сообщениям:

1. На титульном листе обязательны: название университета, кафедры, темы работы, месяц и год выполнения
2. Актуальность выбранной темы
3. План
4. Цели и задачи
5. Основная часть доклада должна соответствовать плану
6. Использование таблиц, схем и графиков приветствуется
7. Заключение
8. Список используемых источников
9. Объем реферата не должен составлять более 20-25 страниц печатного текста
10. Время устного доклада составляет 10 минут

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник/ Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 640 с.: ил.
2. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология: учебник для студентов мед.вузов и ун-тов.-3-е изд., переработан. и доп.-М.: Медицина, 2010.-752 с.
3. Аллергология и иммунология. Национальное руководство. / под ред. Р. М. Хаитова, Н.И. Ильиной - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 649 с.
4. Хаитов Р. М. Иммунология: атлас/ Р. М. Хаитов, А. А. Ярилин, Б. В. Пинегин. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 624 с.
5. Иммунология. Практикум: клеточные, молекулярные и генетические методы исследования: учеб. пособие [авт. коллектив: Л. В. Ковальчук и др.]; под ред.: Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатъевой, Л. В. Ганковской. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 174с.
6. Цинкернагель Р. Основы иммунологии: учебное пособие/ Р. Цинкернагель; пер. с нем. Л. А. Певницкого; под ред.: В. А. Черешнева, Г. А. Бочарова. - М.: Мир, 2008. – 135 с.
7. Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, А. А. Ярилин : Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы : рук. для врачей / - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 345 с.
8. Аллергология и иммунология: национальное руководство/ под ред. Р.М.Хаитова, Н.И.Ильиной. М - ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 656 с.
9. Клиническая иммунология и аллергология с возрастными особенностями: учебник/ В.Е.Казмирчук, Л.В.Ковальчук, Д.В.Мальцев. -2-е изд., переработ. и допол.- К.: ВСИ «Медицина», 2012.-520 с.
10. Основы общей иммунологии: Учеб. пособие для студентов мед.вузов/[Ганковская Л.В., и др.]; под ред. Л.В.Ганковской, Л.С.Намазовой-Барановой, Р.Я.Мешковой; учеб.метод.комис.по клин иммунологии Учеб.-метод. об-ния по мед. и фармацевт.образованию вузов России [и др.]-М.: ПедиатрЪ, 2014.-124 с.
11. Основы клинической иммунологии и аллергологии: уч.пособие/ под ред. Л.С.Намазовой-Барановой, Л.В.Ганковской, Н.Г Астафьевой.-М.: ПедиатрЪ, 2016.-152 с.
12. Иммунология / Ярилин А.А. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.
13. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. : учебник : в 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - М., ГЭОТАР-Медиа, 2016. - Т. 1. - 448 с.
14. Успехи клинической иммунологии и аллергологии / под ред. А.В.Караулова.- М.: Регион отд-ние РАЕН в 3-х томах, Том 3 М. 2002.-416 с.
15. Ю.А. Александров. [Основы радиационной экологии](#) /Учебное пособие. – Йошкар-Ола: Мар. гос. ун-т, 2007. – 268 с.
16. Ярилин А. А. Действие ионизирующей радиации на лимфоциты (повреждающий и активирующий эффекты) // Иммунология. — 1988. — № 5. — с. 5-11.
17. Патологическая физиология/ под ред. А.Д. Адо, М.А. Адо, В.И. Пыцкого, Г.В. Порядина, Ю.А. Владимирова.- учебник для мед ВУЗов.- М.: Триада-Х, 2000. – 573 с.
18. Аллергия и аллергенспецифическая иммунотерапия /Гущин И.С., Курбачова О.М. – М.: «Фармарус Принт Медиа», 2010. - 228с.
19. Аллергология. Федеральные клинические рекомендации/ под ред. Хаитова Р.М., Ильиной Н.И. – М.: «Фармус Принт Медиа», 2014. – 126 с.
20. Клиническая аллергология и иммунология: руководство для практикующих врачей/ под ред. Горячкиной Л.А., Кашкина К.П. – М.: Миклош, 2009. – 432 с.
21. Согласительный документ WAO-ARIA-GA2LEN по молекулярной аллергодиагностике
22. Оценка и коррекция иммунного статуса/ Никулин.Б. А. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 376с.

23. Иммунодефициты: принципы диагностики и лечения/ Сетдикова Н.Х., Латышева Т.В., Пинегин Б.В., Ильина Н.И. –М.: Фармус Принт, 2006. - 20с.
24. Чепель Э., Хейни М., Мисбах С., Сновден Н. Основы клинической иммунологии/Перевод с англ.-5 изд.- М.:ГЭОТАР-Медиа, 2008.-416 с.
25. Иммунология репродукции/Медицинская иммунология. – Специальный выпуск «Дни иммунологии в СПб 2017».- 2017; 19: 175-199
26. Сотникова Н.Ю. Иммунные механизмы регуляции инвазии трофобласта/Российский иммунологический журнал.-2012, т.6 (14), №2 (1).-С.9-13
27. Ярилин А.А. Онтогенез лимфоидных органов. Роль межклеточных взаимодействий/ Российский иммунологический журнал.-2012, т.6 (14), №2 (1).-С.14-16
28. Латышева Т.В., Латышева Е.А., Мартынова И.А. Место иммуноглобулинов для внутривенного введения в современной клинической практике: Привиджен — новый 10% иммуноглобулин/ Терапевтический архив 2016; 4:82-87
29. Донюш Е. Использование внутривенных иммуноглобулинов в клинической практике. Вопросы современной педиатрии. 2011;2(10):49-63.
30. Латышева Е.А., Латышева Т.В. Применение внутривенных иммуноглобулинов в клинической практике/Педиатрическая фармакология. 2013; 10 (1): 26–30.
31. Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов / Под ред. С. В. Готье. – М. – Тверь: ООО «ИздательствоТриада», 2011. – 382 с.
32. Данович Габриэль М. Трансплантация почки / Пер. с англ. под ред. Я. Г. Мойсюка. – М: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 848 с.
33. Аллергология и иммунология: национальное руководство/ под ред. Р.М.Хаитова, Н.И.Ильиной. – М., ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 656 с.
34. Углова Т.А. Подкожное введение иммуноглобулинов при заместительной терапии у детей с первичными иммунодефицитами/ Медицинские новости.-2014.-№5.-С.47-51
35. Иммунология [Электронный ресурс] : учебник / Р.М.Хаитов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ГОЭТАР-Медиа, 2015.
36. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Текст: Электронная копия] :учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальностям 31.05.01 "Лечебное дело", 31.05.02 "Педиатрия" по дисциплине "Общая и клиническая иммунология", по специальностям 30.05.01 "Медицинская биохимия", 30.05.02 "Медицинская биофизика", 30.05.03 "Медицинская кибернетика" по дисциплине "Иммунология" / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. — Электронные данные (1 папка: 1 файл оболочки и подкаталоги). — 2014 г. (Репродуцирован в 2017 году) (Москва [Нахимовский проспект, 49] : ЦНМБ Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, 2017).
37. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии [Электронный ресурс] : учебник под редакцией Ковальчук ЛЕВ., Ганковская Л.В., Машкова Р. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2014-
<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970429105.html>
38. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.[Электронный ресурс]: учебник в 2-х томах /Под ред. В.В.Зверева, М.Н.Бойченко – М. : ГОЭТАР-Медиа, 2016. -
<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970436424.html>
39. Аллергология и иммунология[Электронный ресурс] / под ред. Р.М.Хаитова, Н.И.Ильиной.- М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013-
<http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970427347.html>

40. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х томах [Электронный ресурс] : учебник / Под ред. В.В.Зверева, М.Н.Бойченко _ М. : ГОЭТАР-Медиа, 2010. - <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970436424.html>
41. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х томах [Электронный ресурс] : учебник / Под ред. В.В.Зверева, М.Н.Бойченко _ М. : ГОЭТАР-Медиа, 2016. - <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970414187.html>
42. Федеральные клинические рекомендации по диагностике аллергических заболеваний - http://nrcki.ru/docs/allerg_klinrek.jpg
43. Федеральные клинические рекомендации по бронхиальной астме - <chrome-extension://mhjfbmdgcfjbbpaeojfohoefgiehjai/index.html>
44. Лекарственная аллергия. Федеральные рекомендации - <chrome-extension://mhjfbmdgcfjbbpaeojfohoefgiehjai/index.html>
45. Фармакотерапия иммунодефицитных состояний [Электронный ресурс] /Н.Х.Сетдигов – М. : ГОЭТАР-Медиа, 2011. - <http://www.studentlibrary.ru/book/970409039V0004.html>
46. Анафилактический шок. Федеральные рекомендации - <chrome-extension://mhjfbmdgcfjbbpaeojfohoefgiehjai/index.html>
47. Лекарственная аллергия. Методические рекомендации для врачей (Часть 1) Ильина Н.И., Латышева Т.В., Мясникова Т.Н., Лусс Л.В., Курбачева О.М., Ерохина С.М.Российский аллергологический журнал. 2013 № 5. С.27-40 - <https://elibrary.ru/contents.asp?id=33959176>
48. Лекарственная аллергия. Методические рекомендации для врачей (Часть 2) Ильина Н.И., Латышева Т.В., Мясникова Т.Н., Лусс Л.В., Курбачева О.М., Ерохина С.М.Российский аллергологический журнал. 2013 № 6. С.25-40 - <https://elibrary.ru/contents.asp?id=33959176>
49. Лекарственная аллергия. Методические рекомендации для врачей (Часть 1) Ильина Н.И., Латышева Т.В., Мясникова Т.Н., Лусс Л.В., Курбачева О.М., Ерохина С.М.Российский аллергологический журнал. 2014 № 1. С.45-52 - <https://elibrary.ru/contents.asp?id=33959176>
50. Вакцины, вакцинопрофилактика : учеб. пособие / В.Л.Мельников, Н.Н.Метрофанов. – Пенза : Изд-во ПГУ, 2015.- 76 с.

Периодические издания

Журналы:

1. «Аллергология и иммунология»
2. «Иммунопатология, аллергология и инфектология»
3. «Иммунология»
4. «Российский аллергологический журнал»
5. «Медицинская иммунология»

8. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» (далее – сеть «Интернет»), необходимых для освоения дисциплины (модуля)

1. Электронный каталог научной библиотеки КГМУ. Собственный ресурс. http://www.kgmu.kcn.ru:8888/cgi-bin/irbis64r_12/cgiirbis_64.exe?C21COM=F&I21DBN=BOOK&P21DBN=BOOK&S21FMT=&S21ALL=&Z21ID=&S21CNR=
2. Электронно-библиотечная система КГМУ. Правообладатель: научная библиотека КГМУ (ФС по интеллектуальной собственности № 2012620798, дата регистрации 17.08.2012 г.) <http://kgmu.kcn.ru/j3/biblioteka/elektronno-bibliotchnaya-sistema.html>
3. Электронно-библиотечная система «Консультант студента»: электронная библиотека медицинского вуза – база данных электронных версий учебников по медицине. Правообладатель: ООО «Политехресурс»). Договор №2/2017/А от 06.03.2017г. Срок доступа: 06.03.2017г.-06.01.2018г. (10 мес.) Неограниченный доступ, <http://www.studmedlib.ru>.
4. Электронно-библиотечная система elibrary.ru - электронные версии российских научно-технических журналов. Правообладатель: ООО «РУНЭБ». Действующий договор № Д-3917 от 14.02.2017г. Срок доступа: 14.02.2017 г.-14.02.2018г. Неограниченный доступ с компьютеров университета, <http://elibrary.ru>
5. Medline – медицинская реферативно-библиографическая база данных/система поиска. Система PubMed предоставляет доступ к Medline. PubMed документирует медицинские и биологические статьи из специальной литературы, а также даёт ссылки на полнотекстовые статьи, если они имеются в Интернете. PubMed содержит рефераты из следующих областей: медицина, стоматология, общее здравоохранение, психология, биология, генетика, биохимия, цитология, биотехнология, биомедицина и т. д. / <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

ПРИЛОЖЕНИЕ**Темы докладов и рефератов по дисциплине «Иммунология»**

1. Биологические функции доиммунных механизмов защиты от повреждений.
2. Основные рецепторы системы врожденного иммунитета.
3. Основные клеточные элементы системы врожденного иммунитета.
4. Дифференцировка и характеристика мононуклеарных фагоцитов.
5. Дифференцировка и характеристика нейтрофилов.
6. Вклад И.И.Мечникова в иммунологию.
7. «Лимфоидная ткань ассоциированная со слизистой респираторного тракта. Кольцо Вальдейра-Пирогова».
8. MALT- система. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой кишечника.
9. Адаптивная субпопуляция Т-лимфоцитов (Th 17, Treg)
10. Проточная лазерная цитометрия в клинической практике
11. Принципы фенотипирования лимфоцитов
12. Антигены главного комплекса гистосовместимости (MHC I, MHC II). Строение, биологические функции.
13. Гемолитическая болезнь новорожденных
14. Реакции иммунофлюоресценции в клинической практике
15. Антигенпредставляющие клетки, характеристика, основные свойства.
16. Антигенраспознающие рецепторы Т- и В-лимфоцитов.
17. Антигены главного комплекса гистосовместимости, их роль в представлении антигена.
18. Первичный и вторичный иммунный ответ.
19. Роль цитокинов в иммунном ответе.
20. Возрастная инволюция тимуса.
21. Факторы врожденного иммунитета: становление в процессе внутриутробного развития плода.
22. Иммунологические теории старения.
23. Возрастные особенности лимфоидной ткани.
24. Анамнез как важный этап иммунодиагностики у пациентов с иммунной недостаточностью
25. Инсектные аллергены: характеристика и роль в развитии реакций гиперчувствительности немедленного типа
26. Лекарственные аллергены.
27. Основы перекрестных реакций на лекарственные аллергены.
28. Патогенез атопического дерматита.
29. Дифференциальный диагноз аллергических и неаллергических форм крапивницы.
30. Антигистаминные препараты в лечении аллергических заболеваний.
31. Ингаляционные глюкокортикостероиды в лечении бронхиальной астмы.
32. Лечебные аллергены. Методы аллергенспецифической иммунотерапии.
33. Вклад Э.Дженнера в иммунопрофилактику
34. Вклад Л.Пастера в иммунопрофилактику
35. Национальный календарь прививок РФ.
36. Показания и противопоказания к вакцинации
37. Поствакцинальные реакции и осложнения

Подписано в печать 17.09.2018. Формат 60x84 1/16.
Печ.л. 12. Тираж 100 экз. Заказ С-661.
Отпечатано с готового оригинал-макета
в типографии Филиала АО «Татмедиа» ПИК «Идел-Пресс».
420066, г. Казань, ул. Декабристов, 2.
www.idel-press.ru; E-mail: idelpress@mail.ru