**Тема 3. Антигены и их свойства. Система мононуклеарных фагоцитов.**
Свойства антигенов, тимусзависимые и тимуснезависимые антигены. Клеточный состав СМФ, ее функции. Процессинг и презентация антигенов.

Различают экзогенные (поступающие в организм извне) и эндогенные антигены (аутоантигены - продукты собственных клеток организма), а также антигены, вызывающие аллергические реакции (аллергены), Т-зависимые и Т-независимые антигены, суперантигены.

**Свойства антигенов:**

**Чужеродность -** наличие признаков генетической чужеродности;

**Толерогенность -**развитие неотвечаемости;

**Антигенность -**способность вызывать выработку антител;

**Иммуногенность -**способность антигена вызывать иммунный ответ;

**Специфичность -**особенность, за счет которой антигены отличаются друг от друга.

**Антиген** -любая молекула, которая может быть распознана иммунной системой организма как чужеродная. Антигенами могут быть пептиды, углеводы, полифосфаты, стероиды, в том числе в комплексе с любыми химическими структурами.

**Чужеродность антигенов**

Основная функция иммунной системы - защита организма от чужеродного. Эндогенная агрессия (опухоли) связана с приобретением собственными клетками определенных черт чужеродности.

Ранее в качестве маркеров чужеродности рассматривали именно антигены, в настоящее время считают РАМР,поскольку именно они ответственны за включение процессов, составляющих основу иммунной защиты.Чужеродные молекулы можно рассматривать как маркеры клеток, потенциально опасных для организма. Эти молекулы служат наиболее ранним сигналом опасности, распознаваемым задолго до проявления патогеном своих вредоносных качеств. Таким образом, эволюция избрала косвенный путь выявления потенциально опасных агентов по их чужеродности для данного организма.

Но чужеродность — не абсолютная характеристика антигена, т.к возможно образование аутоантител к собственным молекулам организма, например, к «забарьерным тканям».

**Иммуногенность антигенов -** способность антигена вызывать иммунный ответ.

Зависит от свойств молекул, пути и режима их введения в организм, использования адъювантов,особенностей реакции организма.Существует генетический контроль иммунного ответа на конкретные антигены.

Антигенами могут быть белки и углеводы. Липиды, нуклеиновые кислоты и другие органические вещества эффективны лишь в составе комплексных соединений (например, с белками). При этом специфичность антигена определяется гаптеном, а иммуногенность — носителем.

С позиций современной иммунологии, предполагающей необходимость кооперации вовлекаемых в тимусзависимый иммунный ответ В-лимфоцитов с Т-хелперами, иммуногенность обусловлена преимущественно способностью антигена активировать Т-хелперы.Важным условием развития иммунного ответа служитпредварительная активация дендритных клеток в результате распознаванияими РАМР. Следовательно, иммуногенность молекул антигена во многом определяется наличием в их составе РАМР.

Важнейшее качество, определяющее иммуногенность — размер молекулы. С повышением молекулярной массы иммуногенность увеличивается. Однако для разных веществ минимальный размер молекулы, обладающей иммуногенностью,различается. Для углеводов минимальный размер молекулы, обладающей иммуногенностью, больше, чем для белков.Минимальный размер белковой молкулы, вероятно, определяется появлением α-спиральной структуры (7—10 аминокислотных остатков), однако он варьирует в зависимости от конкретного состава молекулы.

Способность вызывать такие ответные реакции (т.е. образование антител и сенсибилизацию - приобретение организмом чувствительности к антигену) присуща не всей молекуле антигена, а только особой её части, которую называют антигенной детерминантой, или **эпитопом**.

Помимо формирования структур, определяющих иммуногенность (например, α-спирали для белков), размер молекулы важен и для увеличения числа групп (эпитопов), распознаваемых рецепторами лимфоцитов, т.е. для повышения валентности антигена. Значение этого фактора наиболее четко проявляется при использовании конъюгатов, содержащих различное число гаптенных групп. С повышением числа идентичных групп иммуногенность конъюгата растет, даже если его размеры не увеличиваются. После достижения определенной эпитопной плотности дальнейшее возрастание иммуногенности с увеличением числа эпитопов прекращается и может наблюдаться даже снижение иммуногенности вследствие стерических помех, создаваемых расположением эпитопов, их взаимной маскировки и блокады факторов, определяющих иммуногенность. С повышением числа идентичных групп иммуногенность конъюгата растет, даже если его размеры не увеличиваются.

Влияние валентности на иммуногенность связано также с разнообразием эпитопов, присутствующих на молекуле. Установлено, что молекулаприобретает иммуногенность только при достаточном разнообразии ееструктуры.

Молекулярные агрегатыимеют высокую иммуногенность в связи с тем, что они активно фагоцитируются, что важно для процесса обработки антигена и его представления (презентации) Т-хелперам.

Иммуногенность антигенов зависит от жесткости их структуры, т.е.способности сохранять определенную конфигурацию. Стабилизации конформации способствует наличие ароматических заряженных полярных аминокислотных остатков. Так, молекула желатина, утратившая жесткость конформации в результате обработки, практически не иммуногенна, но приобретает иммуногенность после введения в ее состав ароматических аминокислот.

Существует еще одно свойство антигенов, от которого зависит их иммуногенность: они должны принадлежать к классам полимеров, из которыхпостроены организмы высших животных. Это обусловленонеобходимостью деградации молекулы антигена для формирования на егооснове лиганда для рецепторов Т-клеток. Осуществлениедеградации требует наличия соответствующих ферментов. Ферменты ворганизме обычно участвуют в расщеплении продуктов питания и собственных макромолекул. Отсутствие ферментов, способных расщеплять некоторые полимеры, служит основой слабой иммуногенности таких веществ.

Вышесказанное относится преимущественно к антигенам, вызывающим тимусзависимый ответ, т.е. **тимусзависимым антигенам**.

Гуморальный иммунный ответ на белковые антигены обычно требуетучастия не только В-, но и Т-клеток.При этом В-клетки распознаютнативный антиген, тогдакак Т-клетки - его фрагменты (эпитопы), встроенные в состав молекулгистосовместимости (МНС). Т-клетки могут выступать в качестве клеток-помощников при иммунном ответе только на те молекулы, чьи фрагменты могутвстраиваться в состав молекул МНС (например, белковые антигены).

Ответ на другие антигены (например, полисахаридные) осуществляетсяВ-клетками без участия Т-лимфоцитов. Антигены, способные индуцировать иммунный ответ без участия Т-лимфоцитов, называют**тимуснезависимыми**(ТН).

ТН-антигены - это крупные молекулы (с молекулярной массойпорядка 103 кДа), полисахариды,ЛПС или белки.Они поливалентны, содержат повторяющиеся эпитопы.Для ответа на эти антигены не требуются их обработка и презентация АПК. ТН-антигены не презентируются Т-хелперам в составе МНС. Именно поэтому Т-хелперы не участвуют в ответе на эти антигены.

В иммунном ответе на тимуснезависимые антигены участвуют не только В-лимфоциты, но и вспомогательные клетки (макрофаги, дендритные клетки, Т- и NK-лимфоциты)

Основной изотип антител, специфичных к тимуснезависимым антигенам, — IgM; при этом переключения изотипа обычно не происходит, отсутствует «созревание аффинитета» и практически не формируется иммунологическая память и, как следствие, не развивается вторичный иммунный ответ.

Т-независимые АГ I типа (классический пример - бактериальный ЛПС) - в достаточно высоких концентрациях способны индуцировать поликлональную активацию В-лимфоцитов и продукцию поликлональныхIgM.

Т-независимые АГ II типа представлены длинными молекулами с повторяющимися структурами(полисахариды бактериальных стенок, фиколл). Они мультивалентны, могут вызвать сшивку иммуноглобулиновых рецепторов. В отличие от ТН-1, они способны активировать только зрелые В-клетки, преимущественно В1-лимфоциты и В-клетки маргинальной зоны селезнки (MZB). В незрелых клетках такие АГ индуцируют анергию илиапоптоз. Хотя этот ответ является антиген-специфичным, иммунологической памяти при этом не фомируется.

**Толерогенность**

Альтернатива индукции иммунного ответа при ответе на антигены —развитие неотвечаемости. Это не просто отсутствие ответа, а активное иизбирательное его подавление в отношении данного конкретного антигена.На уровне клетки эту реакцию называют **анергией,** а на уровне организма —**иммунологической толерантностью.**

Толерантность индуцируется при введении высоких доз белков и полисахаридов при отсутствиимолекулярных агрегатов. Для белков может развиться также низкодознаятолерантность.

Одно из важных свойств антигенов, способствующих индукции толерантности, — способность избегать поглощения АПК(например, отсутствие молекулярных агрегатов).Проявлению толерогенности способствует также относительно низкая молекулярная масса и высокая эпитопная плотность.

Такимобразом, одни и те же молекулы могут выступать в качестве иммуногенов и

толерогенов или не оказывать действия на иммунную систему в зависимостиот их физического состояния (степени агрегированности).

Имеет значениетакже присутствие в микроокружении цитокинов, регулирующих активность АПК: IL-12 и IFNγ способствуют проявлению иммуногенности, a IL-10 - толерогенности. Очень важную роль играет степень экспрессии на поверхности дендритных клеток костимулирующих молекул. Анергия развивается при слабой экспрессии этих молекул.

**Специфичность антигенов**

***Антигенные детерминанты***

Специфическое взаимодействие антител с молекулой антигена связанос относительно небольшим участком ее поверхности, соответствующимпо размеру антигенсвязывающему участку рецепторов и антител(эпитопом). Специфичность конъюгата определяют молекулы гаптена, к которым направлены образующиесяантитела.

Пусковым моментом иммунного ответа является распознавание эпитопа рецептором.

***Линейные и конформационные эпитопы***

Белковые молекулы имеют сложную пространственную структуру, приэтом гидрофильные остатки экспонированны на поверхности, тогда какгидрофобные скрыты в глубине белковой глобулы. Эпитопы, как правило, соответствуют гидрофильным поверхностным структурам, содержащим циклические остатки, которые придают эпитопу пространственнуюиндивидуальность. При свертывании белковой глобулы могут сближаться остатки, отдаленные друг от друга в линейной последовательности.

Это обстоятельство определяет существование двух типов эпитопов —линейных и конформационных. Первые образованы линейной последовательностью аминокислотных остатков, вторые - отдаленными друг от другаостатками, сближенными на поверхности белковой глобулы. Нарушениетретичной структуры белка, вызванное разрывом дисульфидных связей илиденатурацией, приводит к исчезновению конформационных детерминантпри полной сохранности линейных.

Существование конформационных эпитопов демонстрирует важность распознавания не только линейной структуры, но и пространственной конфигурации молекул.

**Суперантигенами** называют такие антигены, которые вызывают поликлональную активацию Т-лимфоцитов. К ним относятся экзотоксины, белковые компоненты вирусов. Например, стафилококковый экзотоксин способствует массовой активации Т-хелперов, происходит неадекватный выброс ими цитокинов, а затем их массовая гибель по механизму апоптоза.

**СИСТЕМА МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ**

Моноциты и макрофаги представляют стадии развития миелоидныхклеток. Они образуют мононуклеарнуюфагоцитирующую систему.

Циркулирующий вариант клеток — моноцит, тканевый — макрофаг.

Превращение моноцита в макрофаг происходит под влиянием тканевогомикроокружения и сопровождается экспрессией новых генов, т.е. можетрассматриваться как дифференцировка клеток, которую регулирует M-CSF (макрофагальный).

Моноциты представляют крупные клетки(диаметром 9—15 мкм) с ядром бобовидной формы и тонкой структуройхроматина.

Макрофаги значительно крупнее моноцитов (диаметр составляет 20—25 мкм) и имеют распластанную форму.

**Функции макрофагов:**

• фагоцитоз,

• распознавание и представление (презентация) антигенов,

• секреция медиаторов системы иммунитета.

**Фагоцитоз** – это процесс поглощения клеткой крупных макромолекулярных комплексов или корапускулярных структур.

Многие тип клеток способны к фагоцитозу (клетки эндотелия, фибробласты и др.), но выделяют «профессиональные» фагоциты: нейтрофилы, моноциты, макрофаги, дендритные клетки.

Феномен фагоцитоза открыт в 1883 году И. И. Мечниковым. Процесс фагоцитоза происходит в несколько **стадий**: хемотаксис, поглощение, переваривание.

Стадия хемотаксиса представляет собой целенаправленное движение макрофагов к объекту фагоцитоза (корпускулярный антиген), который выделяет хемотаксические факторы (бактериальные компоненты, анафилатоксины, лимфокины и т. д.).

При контакте анигена с макрофагом происходит распластывавние и захват.Еслимикроорганзмыопсонированы с помощью антител и/или комплемента, то процесс их фагоцитоза ниболее эффективен.

Стадия эндоцитоза (поглощения). При этом происходит инвагинация мембраны фагоцита и обволакивание объекта фагоцитоза псевдоподиями с образованием фагосомы. В дальнейшем фагосома сливается с лизосомами и образуется фаголизосома.

Стадия переваривания. В эту стадию происходит активация лизосомальных ферментов, генерируются активные формы кислорода и азота, разрушающие объект фагоцитоза.

Различают завершенный и незавершенный фагоцитоз. При завершенном фагоцитозе происходит полное переваривание и бактериальная клетка погибает. При незавершенном фагоцитозе микробные клетки остаются жизнеспособными. Это обеспечивается различными механизмами. Так, микобакгерии туберкулеза и токсоплазмы препятствуют слиянию фагосом с лизосомами; гонококки, стафилококки и стрептококки могут быть устойчивыми к действию лизосомальных ферментов, риккетсии и хламидии могут долго персистировать в цитоплазме вне фаголизосомы.

**Рецепторы моноцитов/макрофагов:**

Наиболее важные в функциональном отношении мембранные молекулы моноцитов/макрофагов — рецепторы, предназначенные для распознавания РАМР, в первую очередь — толл-подобные рецепторы (TLR). Это обеспечивает макрофагам и моноцитам возможность распознавать фактически все основные группы паттернов. С мембранным рецептором TLR-4 функционально связан один из основных маркеров моноцитов и макрофагов — молекула CD14. CD14 взаимодействует с комплексом бактериального ЛПС с ЛПС-связывающим белком, что облегчает взаимодействие ЛПС с TLR-4. TLR, распознающие чужеродные нуклеиновые кислоты (TLR-3, TLR-7, TLR-8, TLR-9), локализованы внутриклеточно — на мембранах цитоплазматических гранул.

К группе мембранных молекул, распознающих паттерны, следует отнести молекулу CD13 (аминопептидаза N), характерную для моноцитов, но не макрофагов. CD13 обладает сродством к антигенам оболочки ряда вирусов.

Для моноцитов/макрофагов свойственна также экспрессия других рецепторов врожденного иммунитета — лектиновых.

Сигналом к фагоцитозу является также связывание с лигандами так называемых scavenger-рецеторов («мусорщиков»), к которым относят молекулу MSR (Macrophagescavengerreceptor, CD36), обладающую сродством к коллагену.

Другая группа рецепторов, разнообразно представленных на моноцитах/макрофагах — Fc-рецепторы (молекулы, распознающие Fc-участок молекул иммуноглобулинов, обычно в связанном с антигеном состоянии). Эти рецепторы обеспечивают распознавание и облегчают фагоцитоз и разрушение моноцитами и макрофагами опсонизированных антителами клеток (в том числе патогенных); параллельно происходит активация фагоцитов. Моноциты экспрессируют полный набор Fcγ-рецепторов — FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16). На макрофагах присутствуют только FcγRII и FcγRIII. FcγRI обладает наиболее высоким сродством к молекуле IgG. На моноцитах и макрофагах представлены также рецепторы для Fc-части IgA. (FcαR) и низкоаффинные рецепторы для IgE — FcεRII (CD23).

Рецепторы для комплемента (CR) эти клетки распознают фрагменты факторов комплемента, прикрепленные к поверхности патогенов. Большинство рецепторов распознает фрагменты СЗb и C3d. Функция их: облегчают распознавание клеток-мишеней фагоцитами и поставляют в фагоцитирующие клетки активационные сигналы. Моноциты/макрофаги экспрессируют также рецепторы для фактора Clq и хемотаксических факторов-анафилатоксиновСЗа и С5а.

Поскольку для проявления функциональной активности моноцитам/макрофагам важно взаимодействие с межклеточным матриксом (в процессе миграции) и с другими клетками (при участии в реакциях иммунитета), на их поверхности представлено большое число молекул адгезии (интегрины).

Важная группа мембранных молекул моноцитов/макрофагов — рецепторы для цитокинов (например, рецепторы для интерферона γ), мн/мф имеют широкий спектр рецепторов для хемокинов.

**Распознавание и представление (презентация) антигенов.**

Функционально важную группу поверхностных молекул моноцитов/макрофагов образуют молекулы МНС и костимулирующие молекулы. Роль МНС состоит в представлении (презентации) антигенных пептидов TCR. Молекулы MHC-I присутствуют на всех ядросодержащих клетках организма, то молекулы МНС-II экспрессированы на специализированных АПК. Экспрессия молекул МНС-II усиливается при активации клеток.

Презентация антигена - узловое событие иммунного ответа, связывающее реакции врожденного и адаптивного иммунитета. В ходе презентации молекула МНС распознается как самим TCR, так и корецепторами — CD8 и CD4, обладающими сродством к молекулам MHC-I и МНС-II соответственно. Для эффективной активации Т-клеток необходима их костимуляция. Со стороны АПК (в том числе макрофага) в роли костимулирующих выступают молекулы CD80 и CD86. CD80 - появляется на поверхности клетки только после активации, CD86 экспрессируетсяконститутивно, но при получении активационного сигнала ее экспрессия усиливается.

**Секреция медиаторов системы иммунитета.**

Моноциты и макрофаги секретируют некоторые ферменты, провоспалительные цитокины (IL-1, TNFα, IL-6, IL-12, IL-23, IL-27), гормоны (АКТГ и соматотропный гормоны, β-эндорфин и др.), катионные белки, протеогликаны, метаболиты арахидоновой кислоты, компоненты комплемента, белки межклеточного матрикса (фибронектин, тромбоспондин).

ИЛ-1 и ФНО - основные медиаторы макрофагов, выделяются под действием эндотоксина - липополисахарида многих видов бактерий, индуцируют синтез белков острой фазы воспаления, септический шок. Основным их свойством является провоспалительное действие.

Макрофаги продуцируют все 3 разновидности колониестимулирующих факторов, интерфероны (особенно IFNα, но также IFNβ и IFNγ), гомеостатический цитокин IL-15, супрессорные цитокины (IL-10 и трансформирующий фактор роста β — TGFβ), ростовые/ангиогенные факторы (фибробластный — FGF, тромбоцитарный — PDGF и сосудистый эндотелиальный — VEGF). Моноциты/макрофаги образуют большую часть провоспалительныххемокинов.

Миграция моноцитов в ткани сопровождается их превращением в разнообразные формы макрофагов и дендритных клеток.

**Разновидности макрофагов** — резидентные и воспалительные.

Резидентные макрофаги возникают в результате спонтанной (≪плановой≫) миграции моноцитов из кровотока в ткани, не связанной с воспалением, тогда как воспалительныемакрофаги образуются в процессе экстренной миграции в очаги воспаления.

Превращение в макрофаги сопровождается увеличением размера и формыклеток (обусловлены перестройкой цитоскелета), изменением экспрессиинекоторых мембранных молекул.

Воспалительные макрофаги обладаютвысокой фагоцитарной и бактерицидной активностью, выделяют ряд цитокинов и других гуморальных веществ, важных для формирования воспаленияи реализации иммунной защиты.

Резидентные макрофаги выполняют гомеостатические и регуляторные функции, участвуя в разрушении старых клетоки регуляции иммунных и воспалительных процессов, а также выступаютв роли АПК. Резидентные макрофаги обладают более длительным срокомжизни (годы по сравнению с неделями для воспалительных макрофагов).

Резидентные макрофаги, локализованные в разных органах:

-макрофаги печени, называемые *клетками Купфера*, имеют звездчатую форму; они занимают пространство междусосудами печени и гепатоцитами и участвуют в фильтрации продуктов, поступающих из кровотока в паренхиму печени.

*-Альвеолярные макрофаги* (способны мигрировать в просвет альвеол),

-*перитонеальные макрофаги*,

-макрофаги центральной нервной системы (*микроглия*),

-почек (*мезангиальные клетки*),

-костей (*остеокласты*),

-*тимуса* (их важнейшая функция состоит вудалении тимоцитов, погибающих в процессе развития иселекции),

-*макрофаги вторичных лимфоидных органов* и т.д.