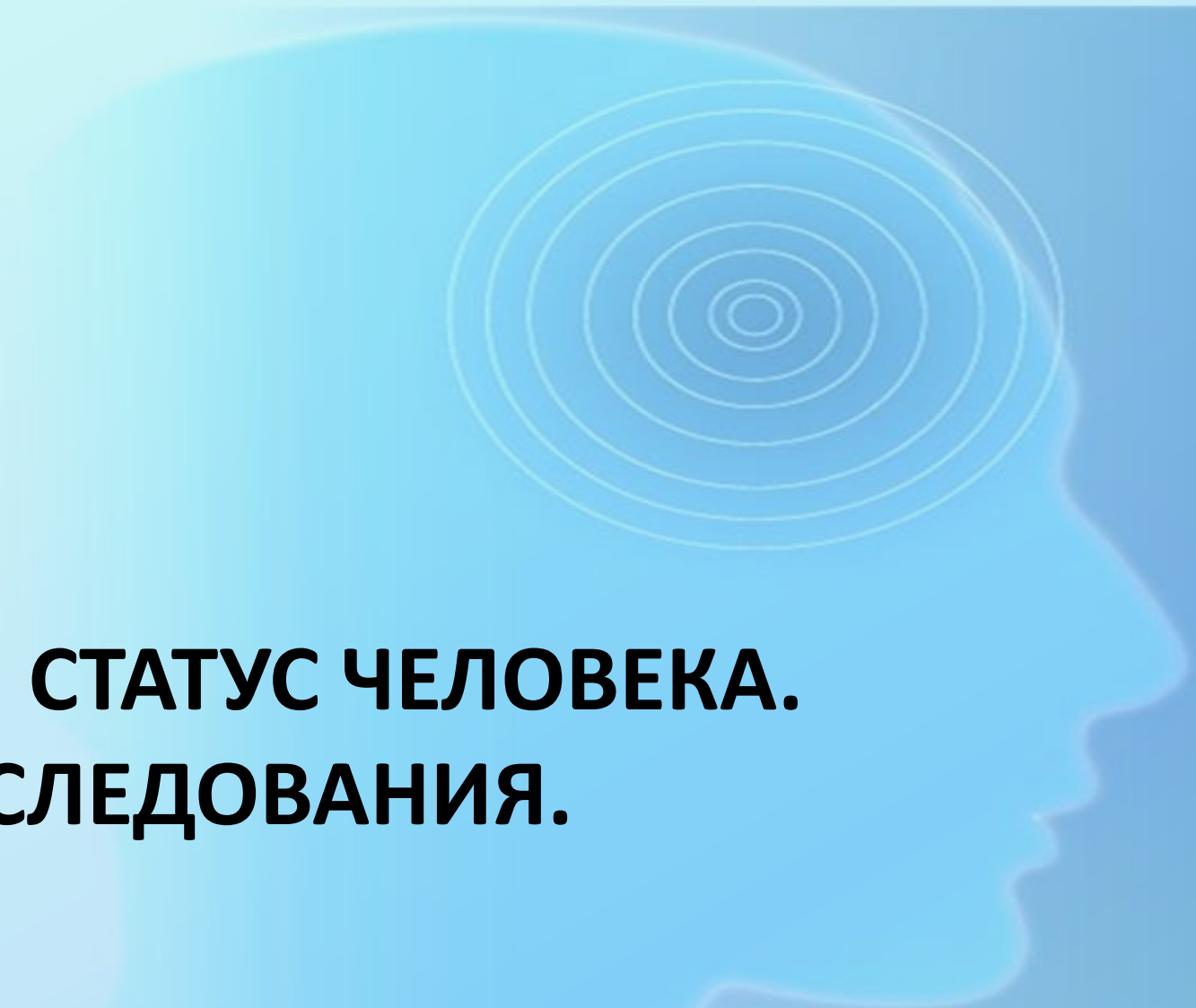




ИММУННЫЙ СТАТУС ЧЕЛОВЕКА. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Иммунный статус

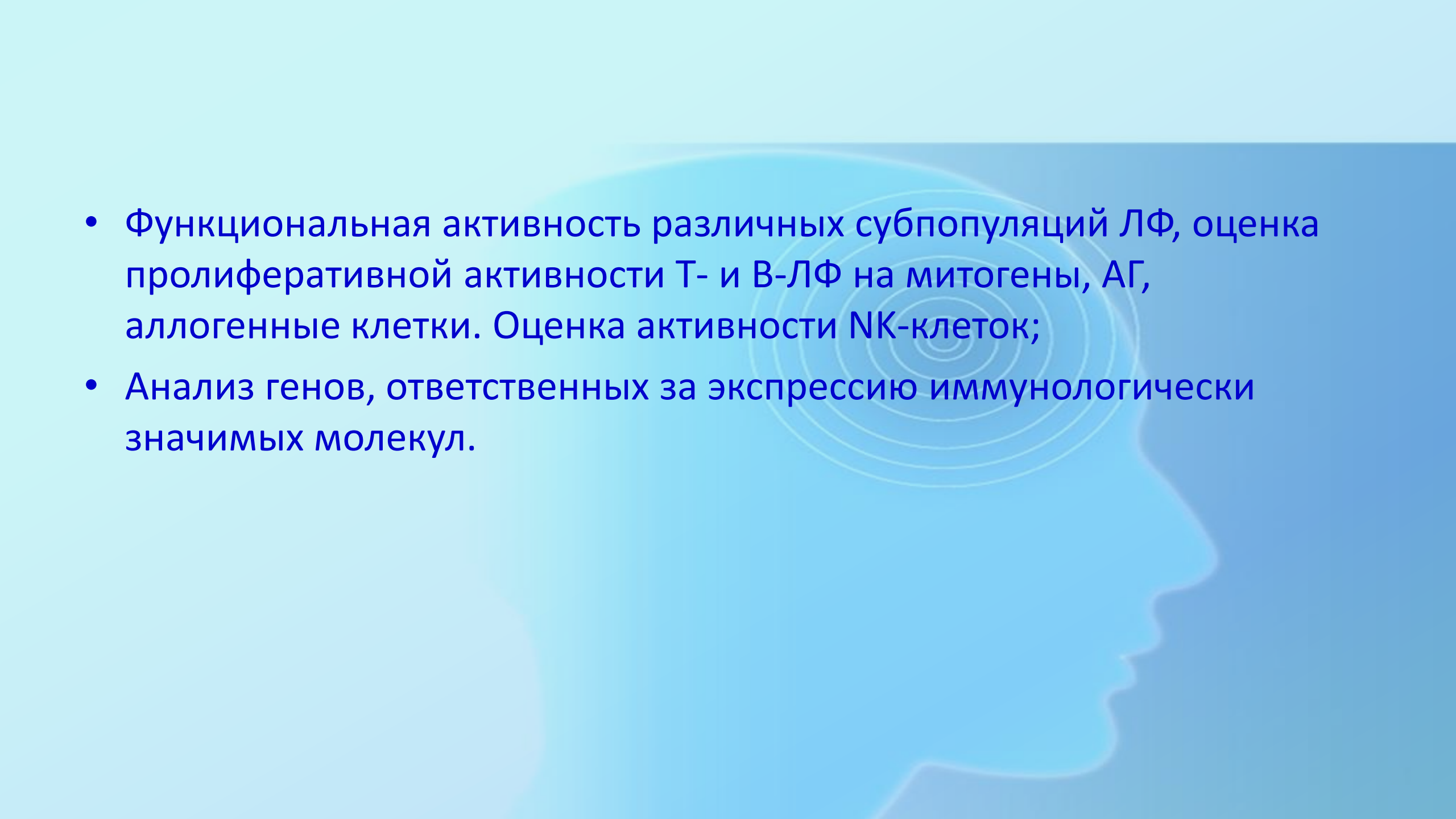
- ИС – это структурное и функциональное состояние иммунной системы человека, определяемое комплексом клинических и лабораторных показателей.
- ИС характеризует способность каждого конкретного организма к иммунному ответу на определенный антиген в данный момент времени.

Тесты 1-го уровня

- Определение относительного и абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови;
- Тесты иммунофенотипирования для определения относительного и абсолютного кол-ва Т- и В-ЛФ;
- Определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов основных классов;
- Определение показателей фагоцитоза;
- Гемолитическая активность комплемента

Тесты 2-го уровня

- Развернутая оценка различных этапов фагоцитоза и рецепторного аппарата фагоцитирующих клеток;
- Основные классы и субклассы иммуноглобулинов (в т.ч. в секретах), аффинность АТ, определение ЦИК;
- Определение кол-ва комплемента и его компонентов;
- Определение субпопуляций Т-ЛФ
- Цитокиновый статус, в т.ч. уровень продукции и рецепции ИЛ;

- 
- Функциональная активность различных субпопуляций ЛФ, оценка пролиферативной активности Т- и В-ЛФ на митогены, АГ, аллогенные клетки. Оценка активности НК-клеток;
 - Анализ генов, ответственных за экспрессию иммунологически значимых молекул.

Оценка клеточных показателей иммунитета

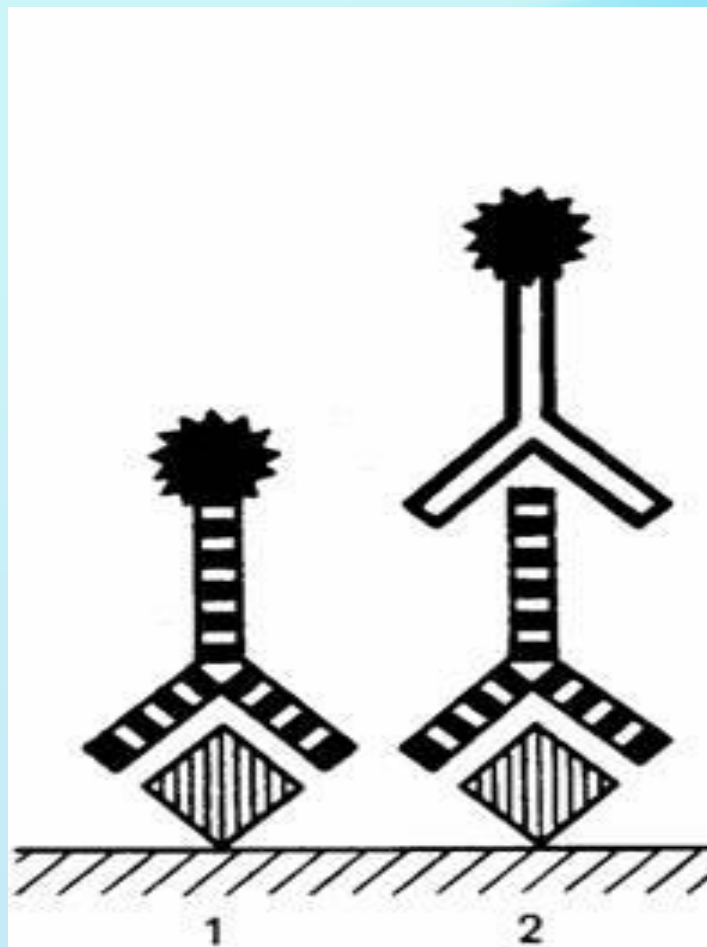
Показатели	Морфологические тесты	Функциональные тесты
Стволовые клетки	Кол-во CD34+ клеток	
Гранулоциты	Формула крови с определением абсолютного и относительного числа юных, палочкоядерных, сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов и базофилов	Определение фагоцитарной активности Нф, НСТ-тест, спонтанная и индуцированная хемилюминисценция, оценка миграционной активности, экспрессии молекул адгезии (CD11 и CD18)

Показатели	Морфологические тесты	Функциональные тесты
Макрофаги	Формула крови с определением абсолютного и относительного числа моноцитов	РТМЛ с ФГА, антигенами, аллергенами, продукция лимфокинов; рецепция интерлейкинов
Лимфоциты и их субпопуляции	Определение содержания основных субпопуляций ЛФ в крови: CD3+, CD4+, CD8+	РБТЛ, активность внутриклеточных ферментов, определение экспрессии активационных рецепторов ЛФ: HLA-DR, CD25и др.
	Определение % и абсолютного числа В-ЛФ	РБЛ В-лимфоцитов
	Определение % и абсолютного числа NK-клеток	Цитотоксическая активность NK-клеток

Идентификация поверхностных дифференцировочных антигенов на клетках иммунной системы с помощью моноклональных антител

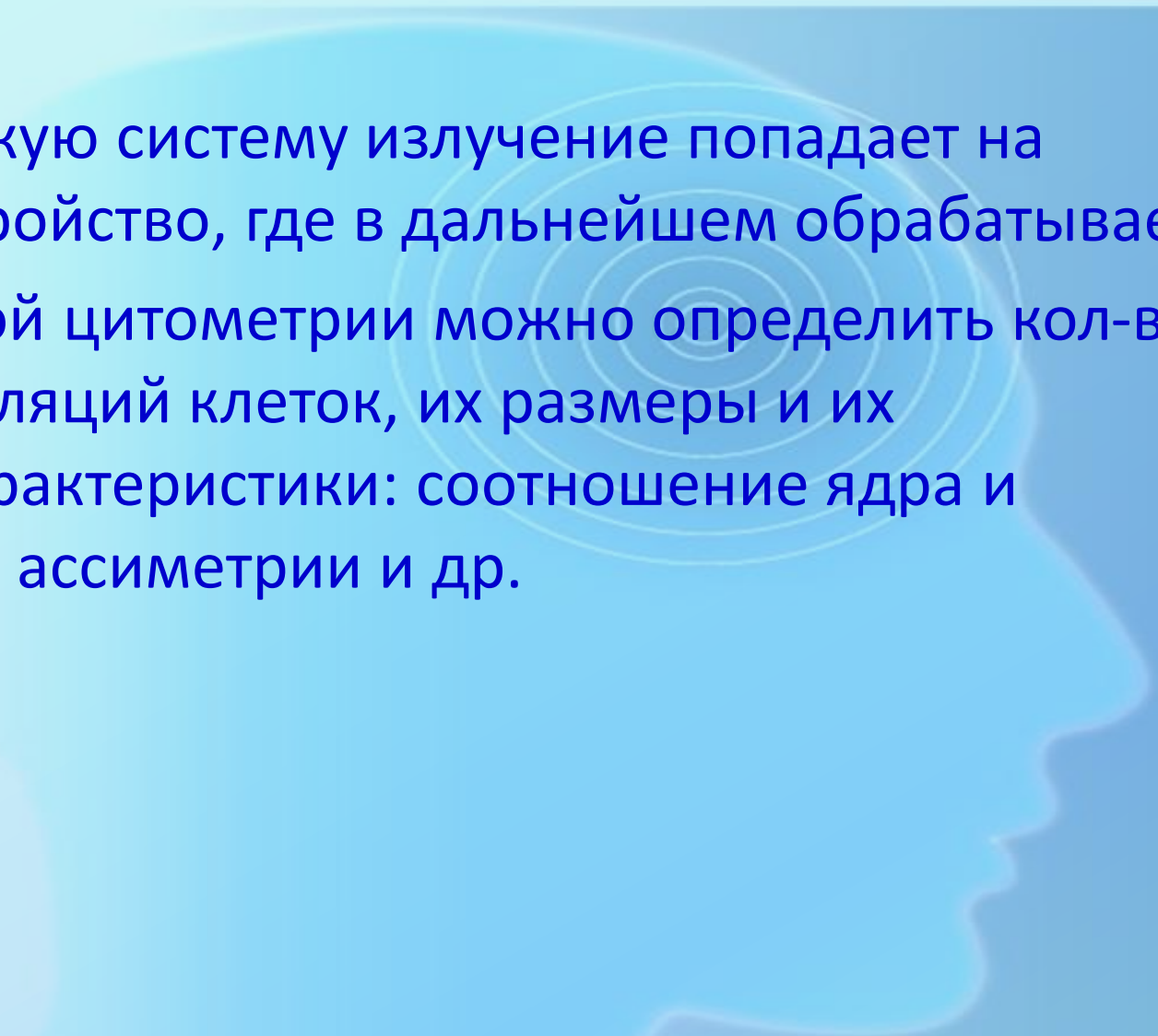
- Суть метода заключается в связывании АГ лимфоцитов с МКАТ и дальнейшим их окрашиванием антиглобулиновыми АТ, меченными флюорохромом (метод НРИФ).
- В дальнейшем происходит измерение меченных клеток с помощью люминисцентного микроскопа или проточной цитометрии

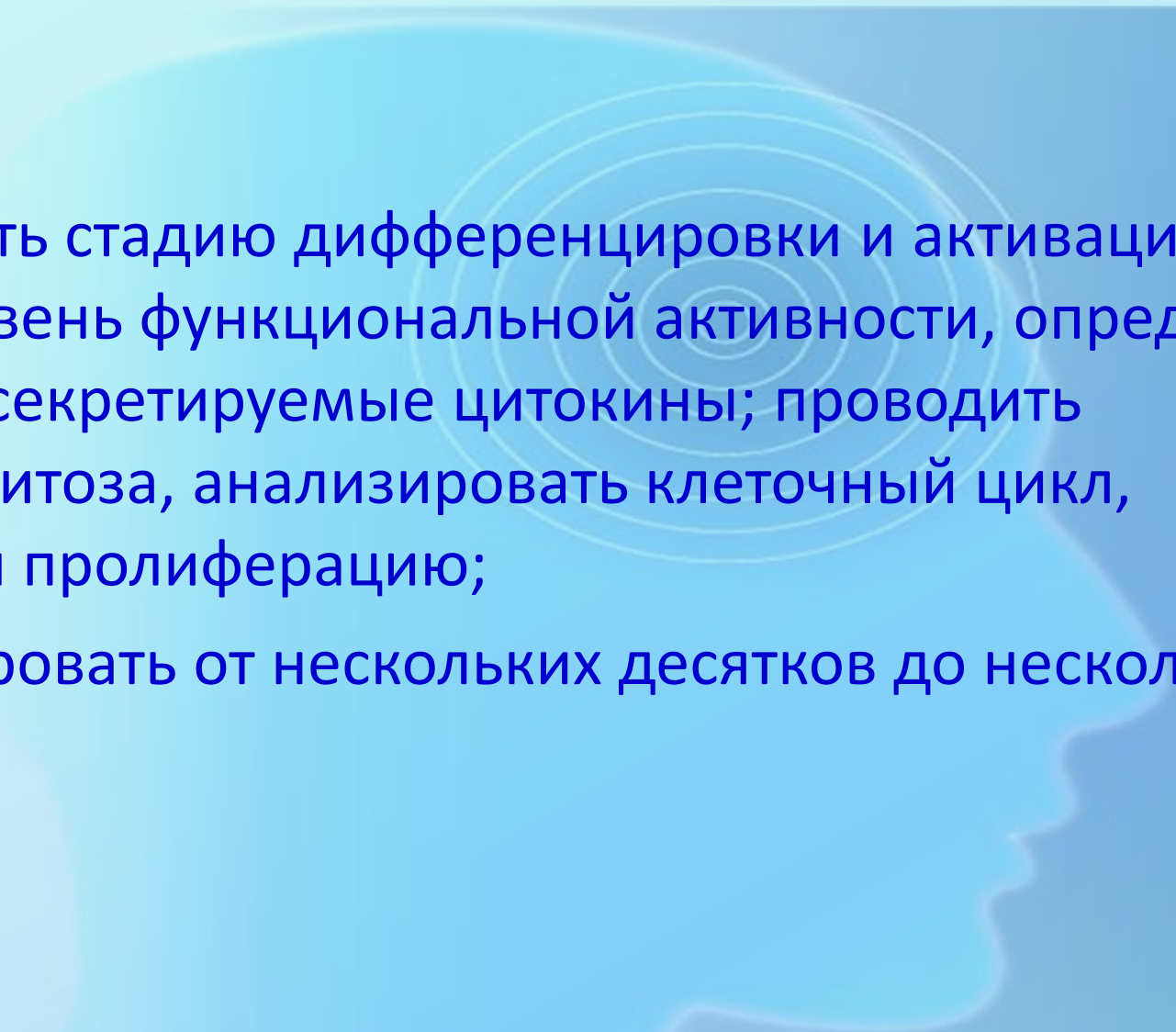
Непрямая реакция иммунофлюоресценции



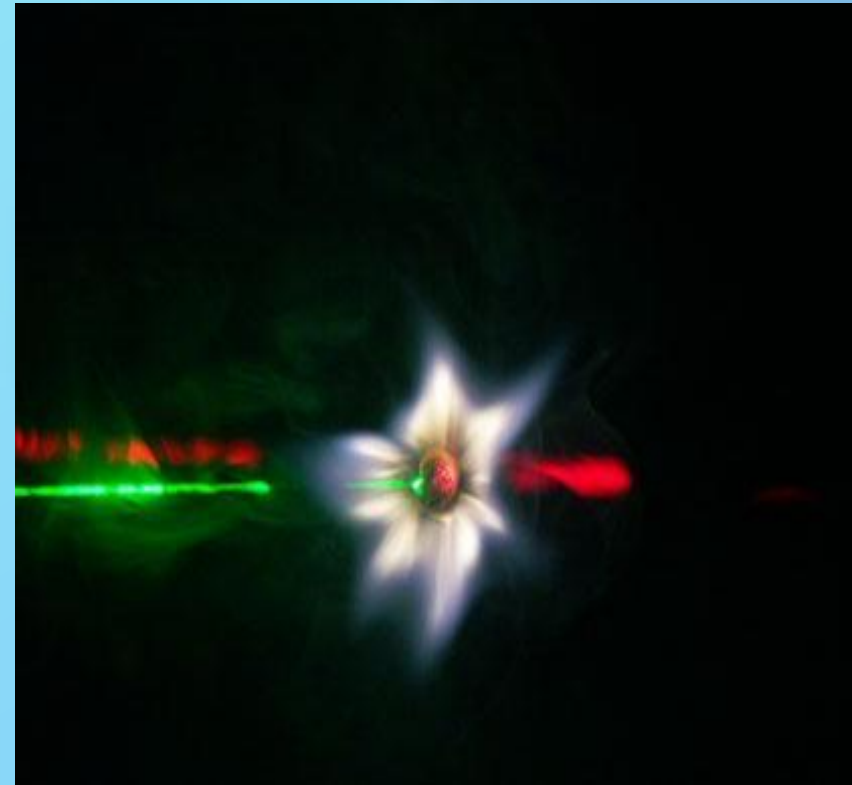
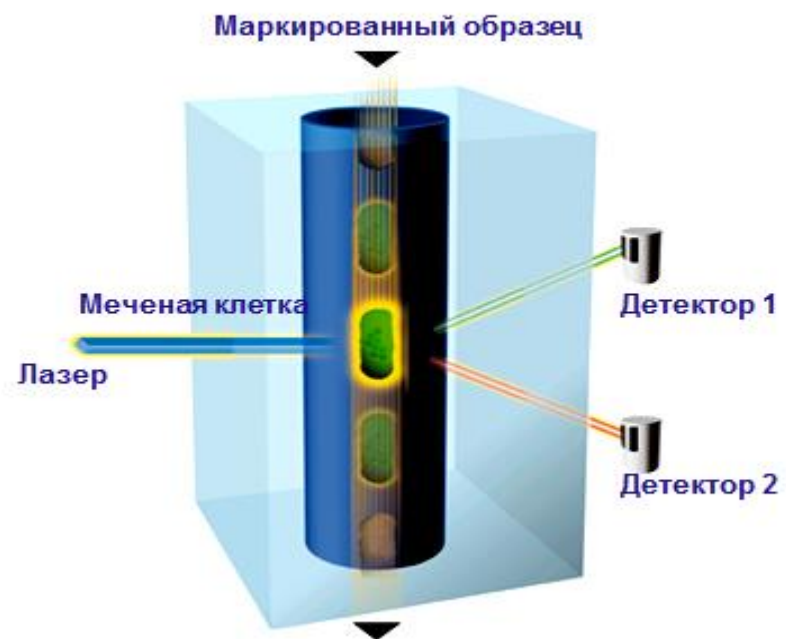
Проточная лазерная цитометрия

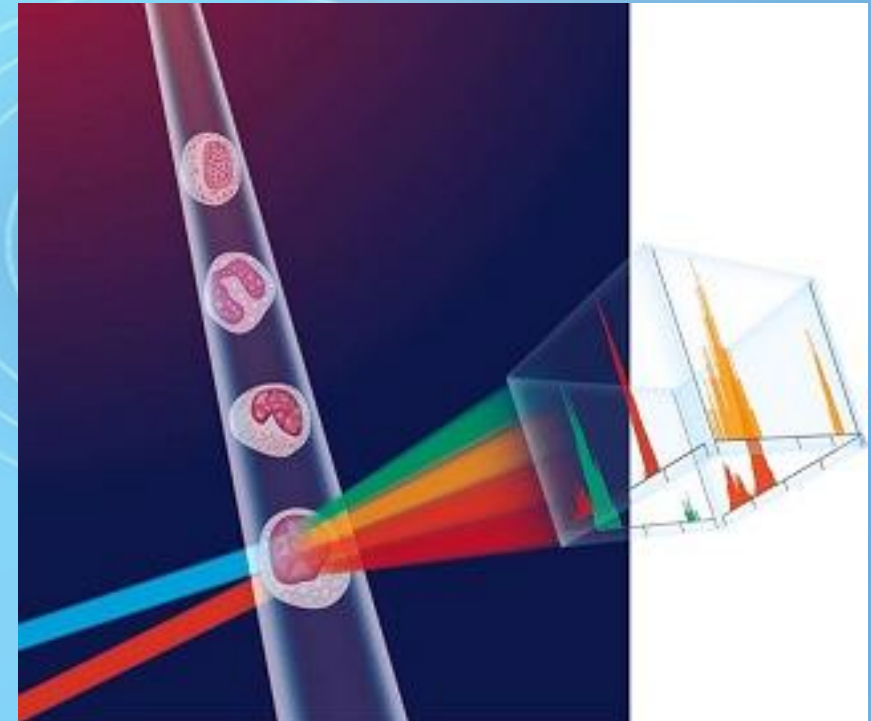
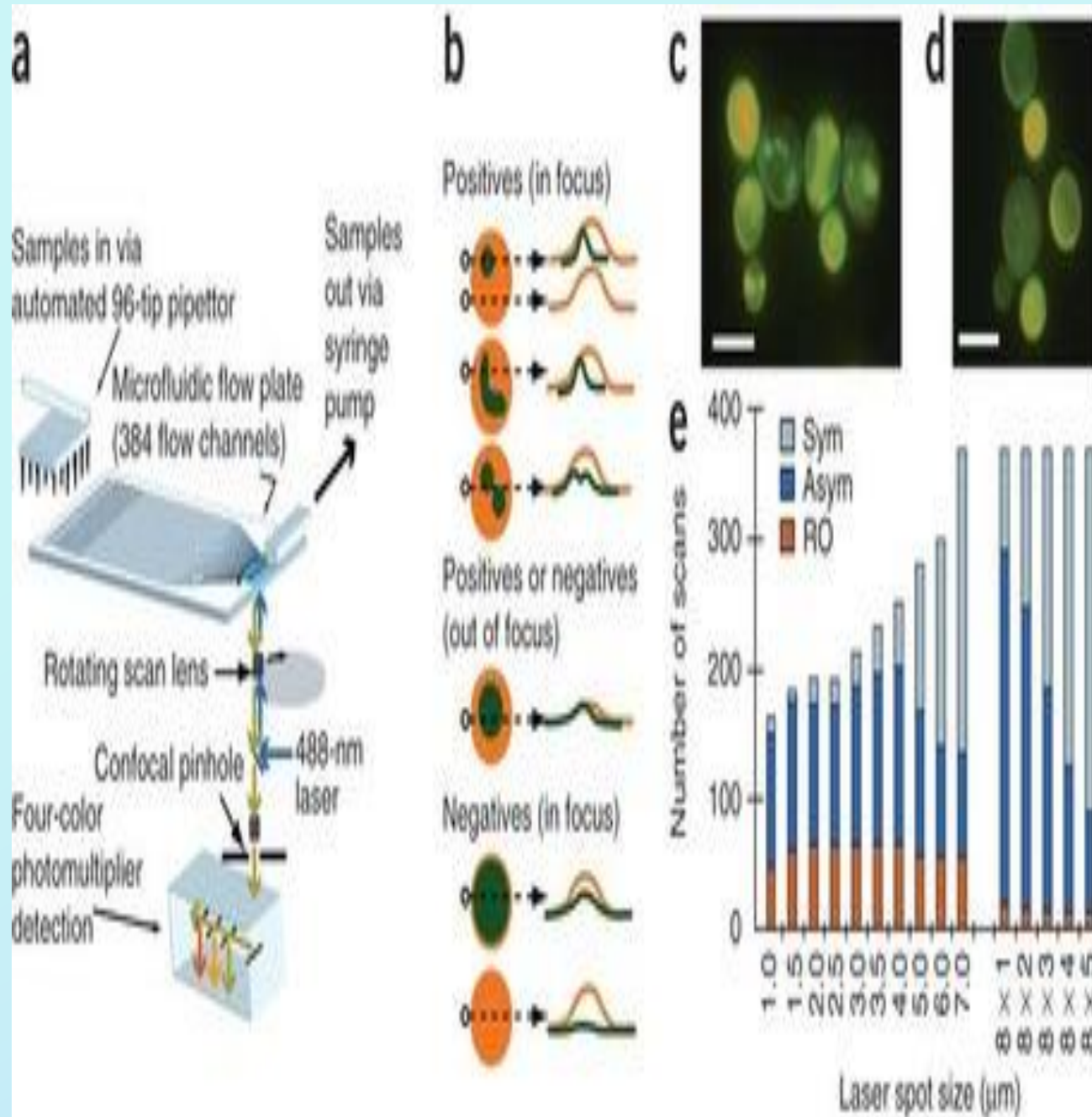
- Это технология быстрого измерения различных параметров клеток или их органелл
- Клеточная суспензия, предварительно обработанная флюорисцентными МКАТ или флюорисцентными красителями, подается к потоковому элементу. Клетки идут одна за другой, где в проточной ячейке их пересекает лазерный луч, под действием которого окрашенные клетки флюоресцируют

- 
- Далее через оптическую систему излучение попадает на регистрирующее устройство, где в дальнейшем обрабатывается.
 - С помощью проточной цитометрии можно определить кол-во популяций и субпопуляций клеток, их размеры и их морфологические характеристики: соотношение ядра и цитоплазмы, степень асимметрии и др.

- 
- Также можно выявить стадию дифференцировки и активации клеток, оценить уровень функциональной активности, определять внутриклеточные и секретируемые цитокины; проводить исследования фагоцитоза, анализировать клеточный цикл, оценивать апоптоз и пролиферацию;
 - Можно проанализировать от нескольких десятков до нескольких миллионов клеток

- проточная:





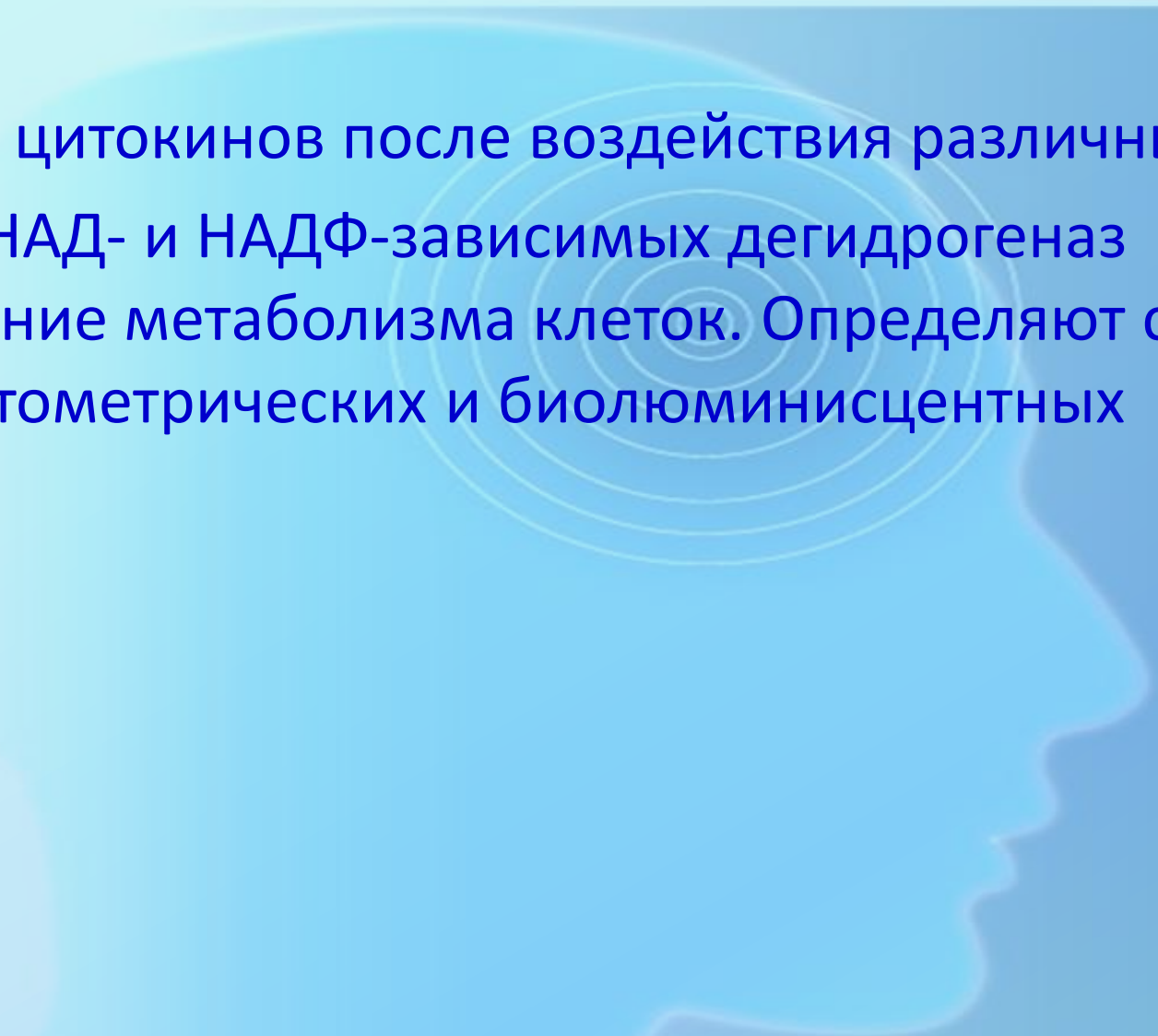
Оценка функциональной активности клеток иммунной системы

- РБЛ

Существуют вещества, которые оказывают на ЛФ стандартно мгновенное действие:

- ✓ ФГА и конкавалин А стимулируют Т-ЛФ
- ✓ Митоген лаконоса – В-ЛФ.

Величина спонтанной бластной трансформации ЛФ в норме 10%, стимулированной на ФГА – 44-72%, КонА – 40-75%

- 
- Определение уровня цитокинов после воздействия различных АГ
 - Уровень активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ характеризует состояние метаболизма клеток. Определяют с помощью спектрофотометрических и билюминисцентных методов.

Оценка функции фагоцитирующих клеток

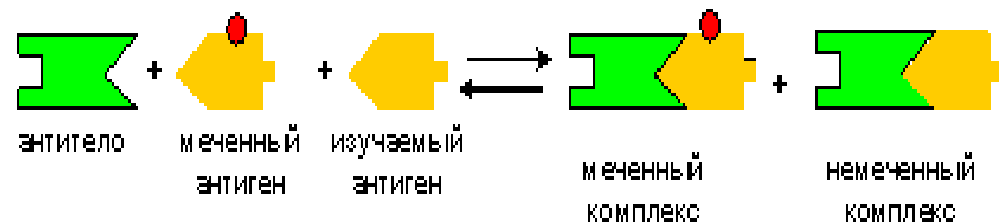
- Миграцию и хемотаксис оценивают при использовании агарозных тестов (РТМЛ);
- Адгезивную способность фагоцитов можно измерить по прилипанию к волокнам из нейлона;
- Поглотительную способность измеряют по захвату различных частиц (микроорганизмы, латекс);
- Метаболическая активность оценивается в тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тест) или с помощью хемилюминисцентного метода

Хемилюминисцентный метод

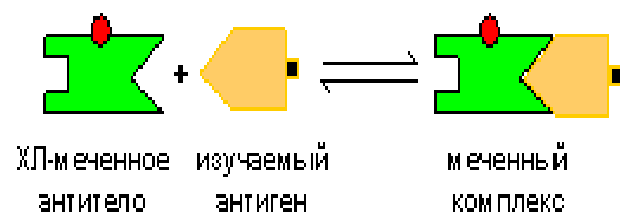
- Уровень хемилюминисценции при фагоцитозе характеризует интенсивность «респираторного взрыва» в клетках с продукцией активных форм кислорода. Первичные метаболиты: супероксидный анион-радикал, перекись водорода, гидроксильный радикал, синглетный кислород. Вторичные метаболиты: гипохлорная кислота, хлорамины, продукты ПОЛ и др.

- Взаимодействие высокоэнергетических оксидантов с люминесцирующими посредниками (люминол, люцигенин) приводит к переходу последних в электронно-возбужденное состояние, выход из которого сопровождается испусканием кванта света, что регистрируется с помощью хемилюминометра.

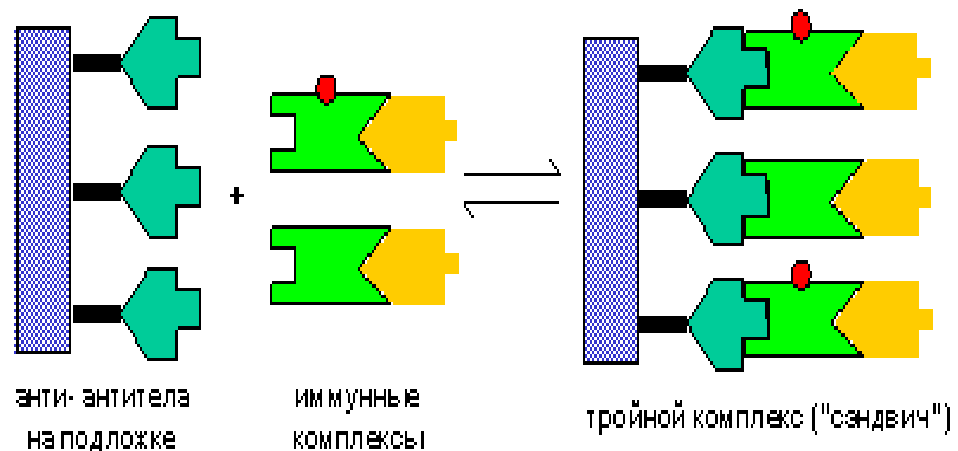
А. Метод CIA



Б. Метод ICMA



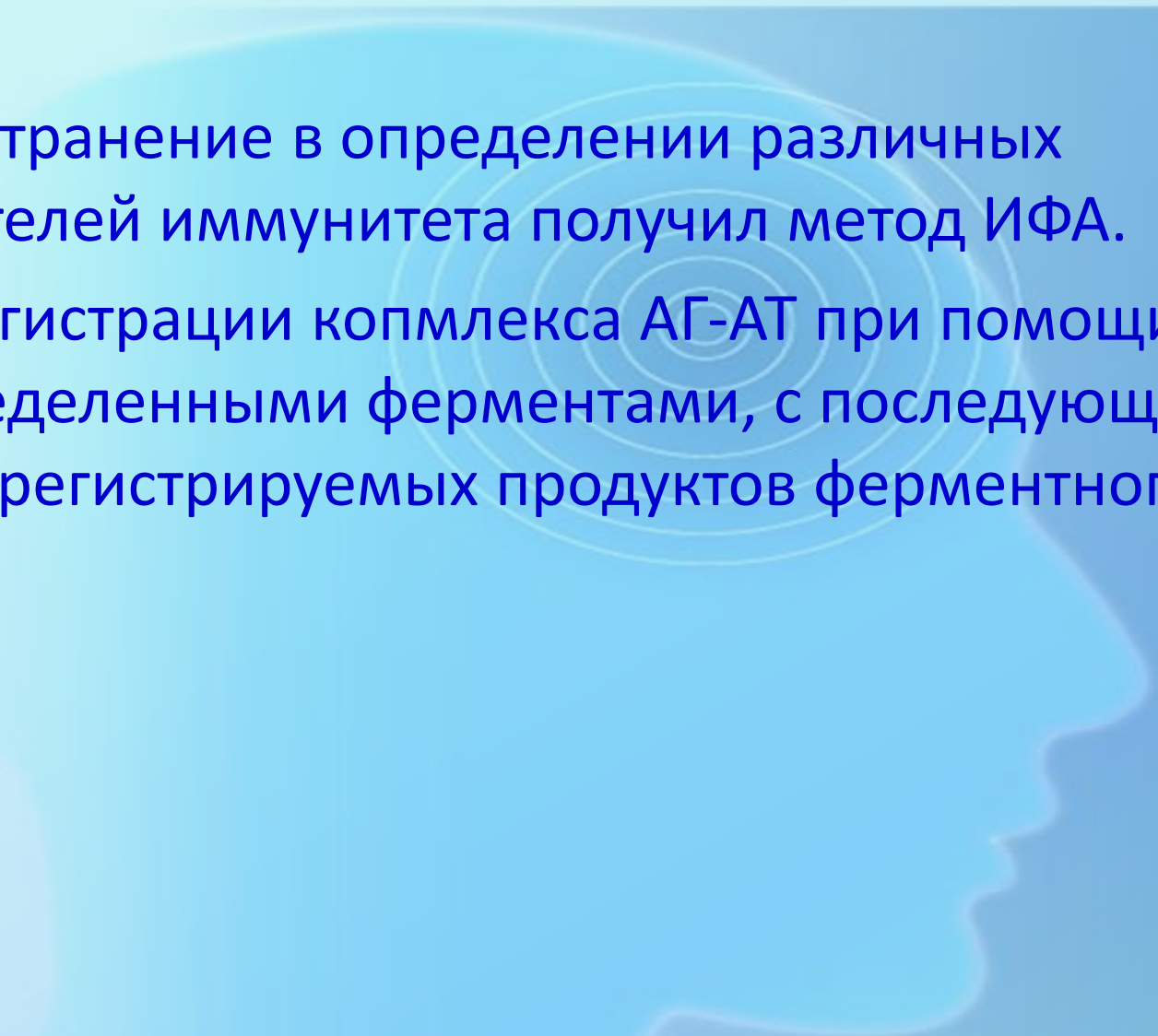
В. Выделение иммунных комплексов



- В норме фагоцитарный показатель (% фагоцитирующих клеток): спонтанный 62-68%, стимулированный – 80-88%
- Фагоцитарное число (среднее число частиц, поглощенных одним фагоцитом) спонтанное – 3-5; стимулированное – 7-11 (ОФР).
- Завершенность фагоцитоза (отношение числа погибших микробных клеток к живым в препарате) в норме 55-60;
- В норме число НСТ-положительных фагоцитов 10% (или 50-130 у.е.), после стимуляции – 40-80% (80-200 у.е.)

Оценка гуморальных показателей иммунитета

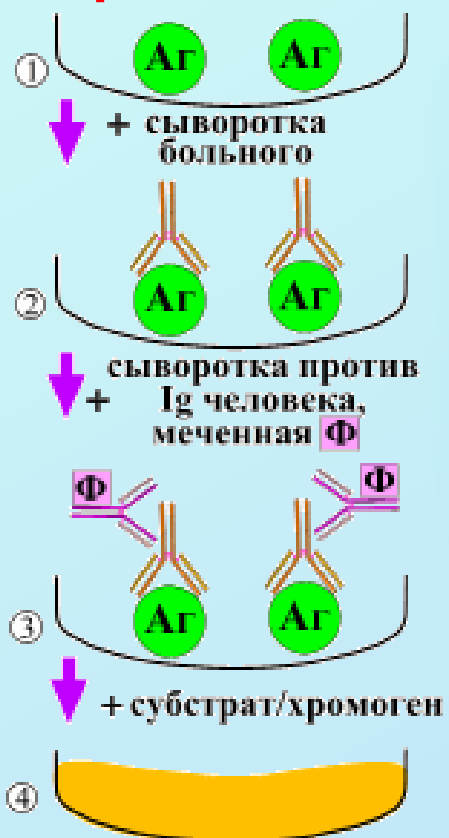
Показатели	Количественные тесты	Функциональные тесты
Комплемент	Определение содержания комплемента и его компонентов (С3, С4, С5, С1-ингибитор)	Определение активности комплемента (реакция гемолиза)
Белки острой фазы	Концентрация СРБ	
Медиаторы	Концентрация гистамина, серотонина, простагландинов, и др.	
Цитокины	Концентрация ИЛ, ИФН, ФНО и др.	
Иммуноглобулины	IgA, М, Е, G, sIgA, субклассов IgG	Определение АТ к инфекционным АГ, РФ, аутоантител и т.д.
ЦИК	Концентрация	Состав ЦИК

- 
- Наибольшее распространение в определении различных гуморальных показателей иммунитета получил метод ИФА.
 - Метод основан на регистрации комплекса АГ-АТ при помощи АТ, маркированных определенными ферментами, с последующим образованием легко регистрируемых продуктов ферментного превращения.

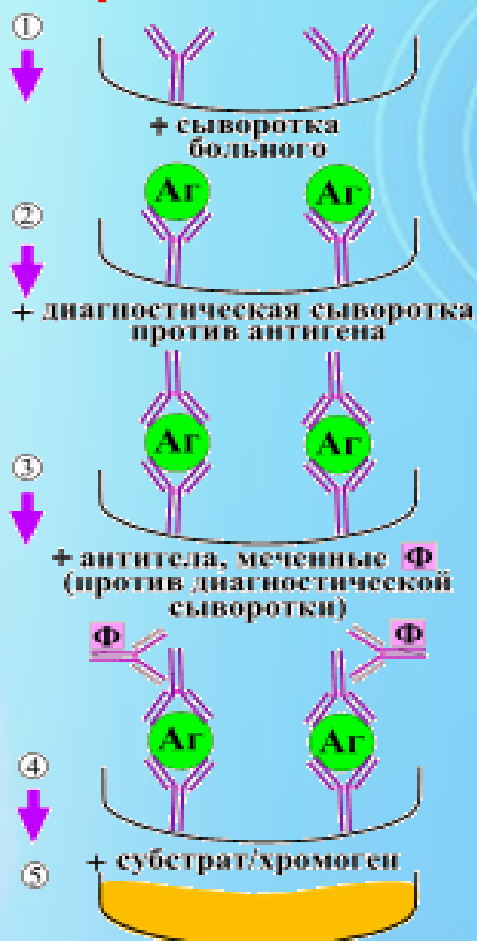
Твердофазный ИФА

- один из компонентов иммунной реакции (антиген или антитело) сорбирован на твердом носителе.

Определение АТ:

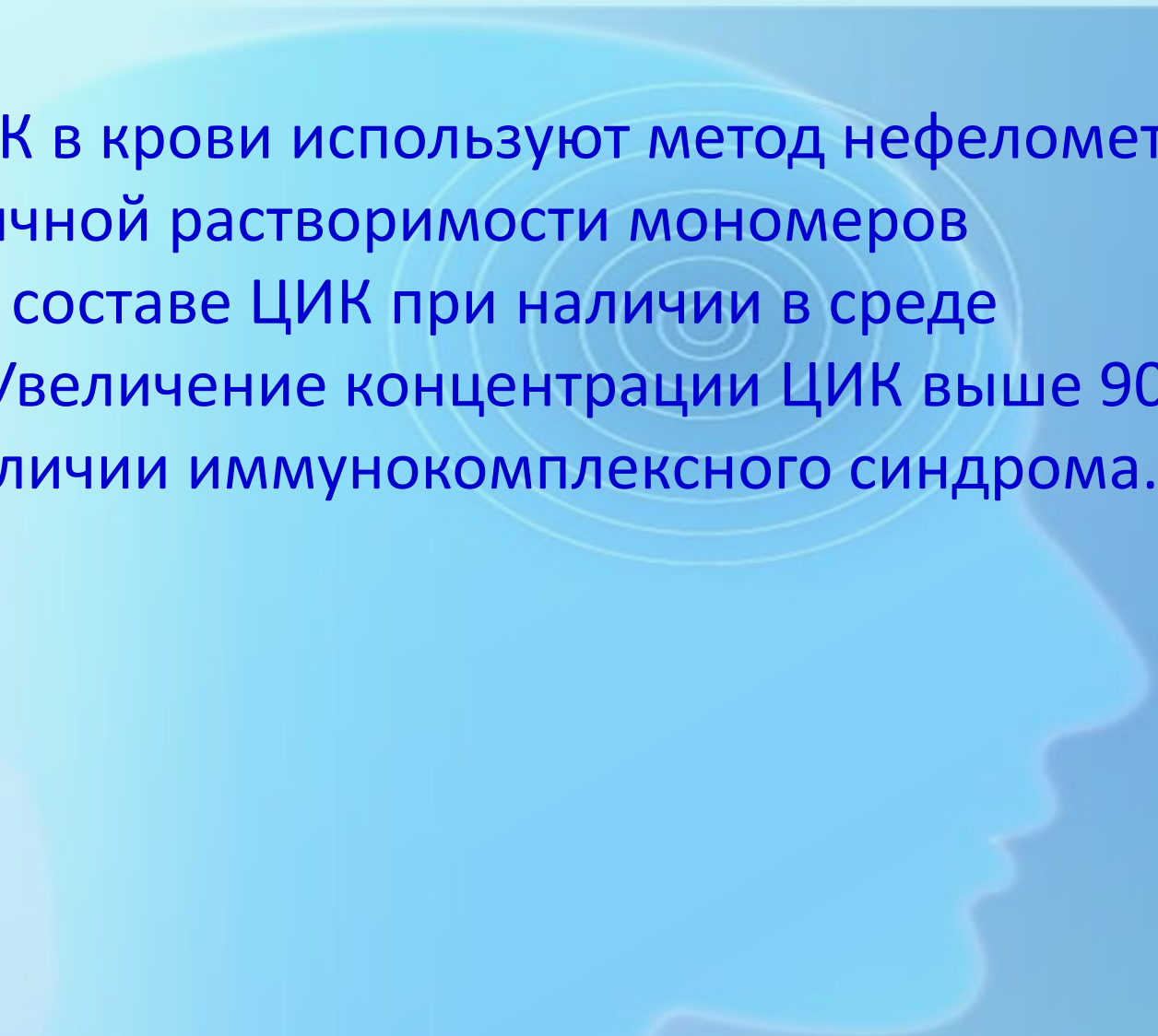


Определение Аг:



Каждый раз после добавления очередного компонента из лунок удаляют не связавшиеся реагенты путем тщательного промывания.

При положительном результате изменяется цвет раствора хромогена.

- 
- Для определения ЦИК в крови используют метод нефелометрии, основанный на различной растворимости мономеров иммуноглобулинов в составе ЦИК при наличии в среде полиэтиленгликоля. Увеличение концентрации ЦИК выше 90 о.е. свидетельствует о наличии иммунокомплексного синдрома.

Для объективной оценки состояния ИС человека минимальный набор тестов должен включать:

- ✓ Определение состояния гуморального звена по уровню продукции иммуноглобулинов классов А, М, Е, G с оценкой субклассов IgG, содержание В-ЛФ и ЦИК;
- ✓ Оценку состояния Т-клеточного звена с установлением основных субпопуляций Т-ЛФ и содержания НК-клеток;
- ✓ Исследование интерферонового статуса;
- ✓ Оценку состояния системы фагоцитов;
- ✓ Уровень цитокинов;
- ✓ Определение аутоантител и онкомаркеров.



КЛАССИФИКАЦИЯ НАРУШЕНИЙ В ИММУННОЙ СИСТЕМЕ

Типы патологии иммунной системы

- Аллергические заболевания
- Аутоиммунные расстройства
- Иммунодефицитные состояния (ИДС)
 - Первичные (врожденные)
 - Вторичные (приобретенные)
- Опухоли из клеток иммунной системы

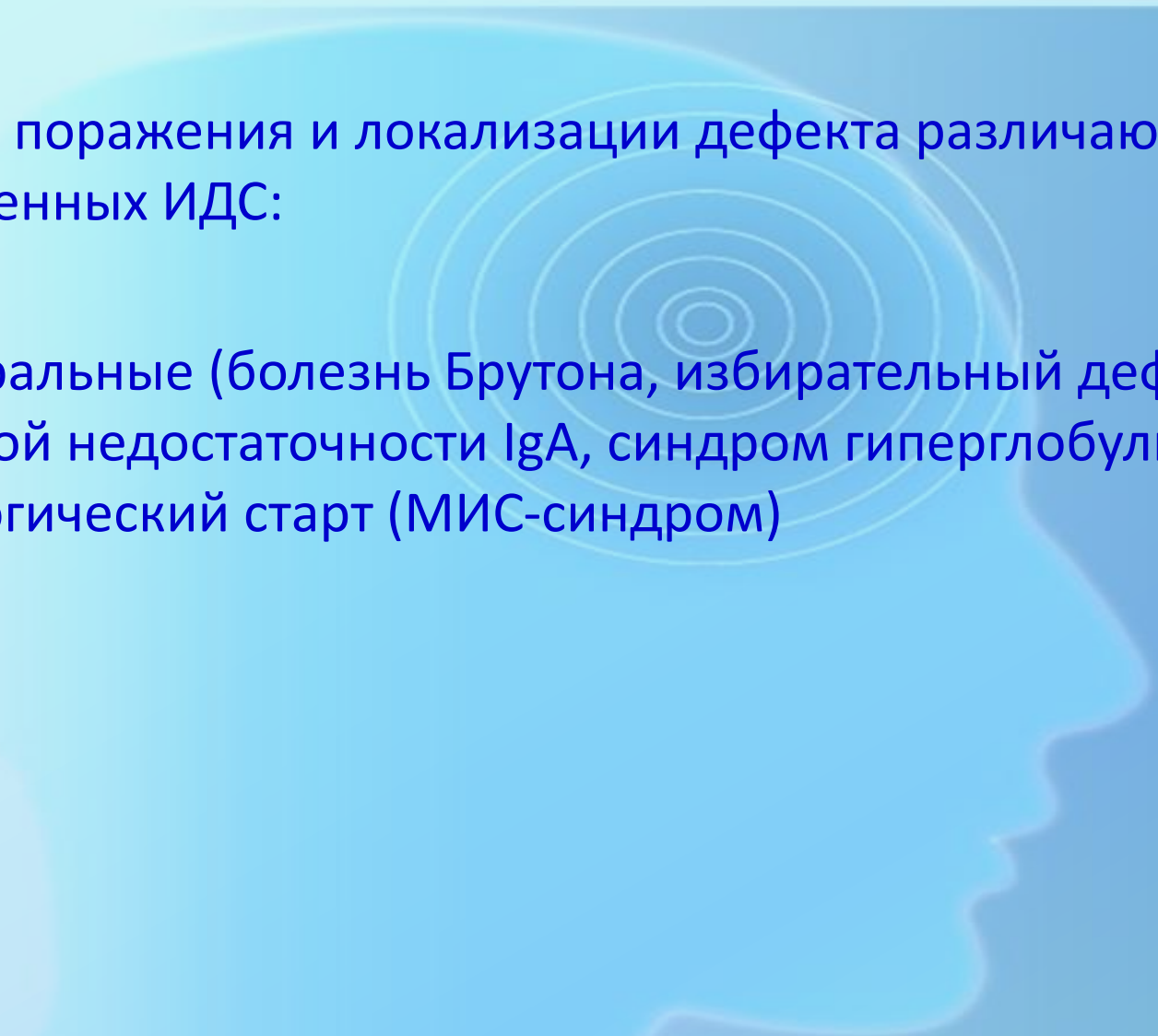


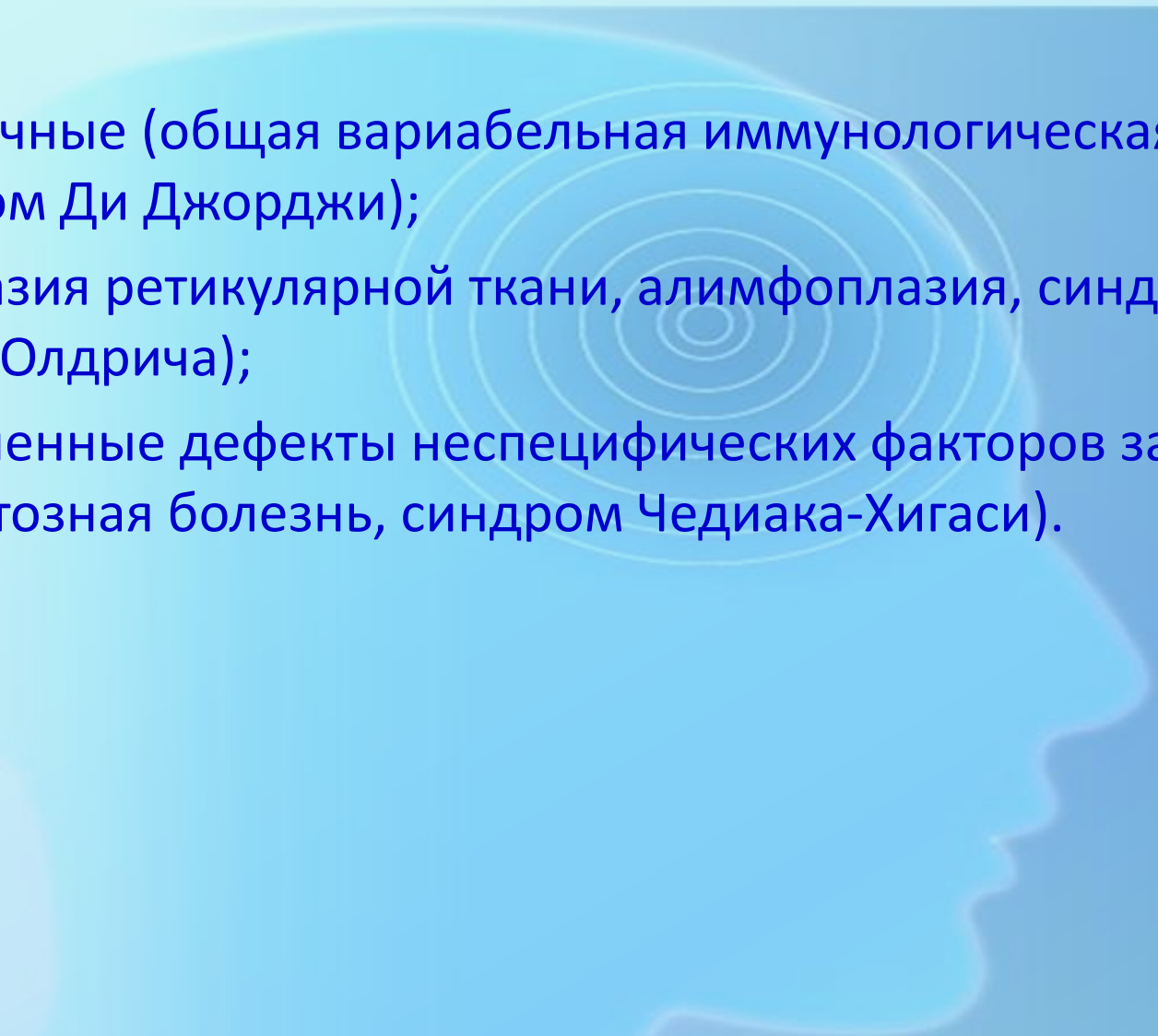
Аутоиммунные реакции

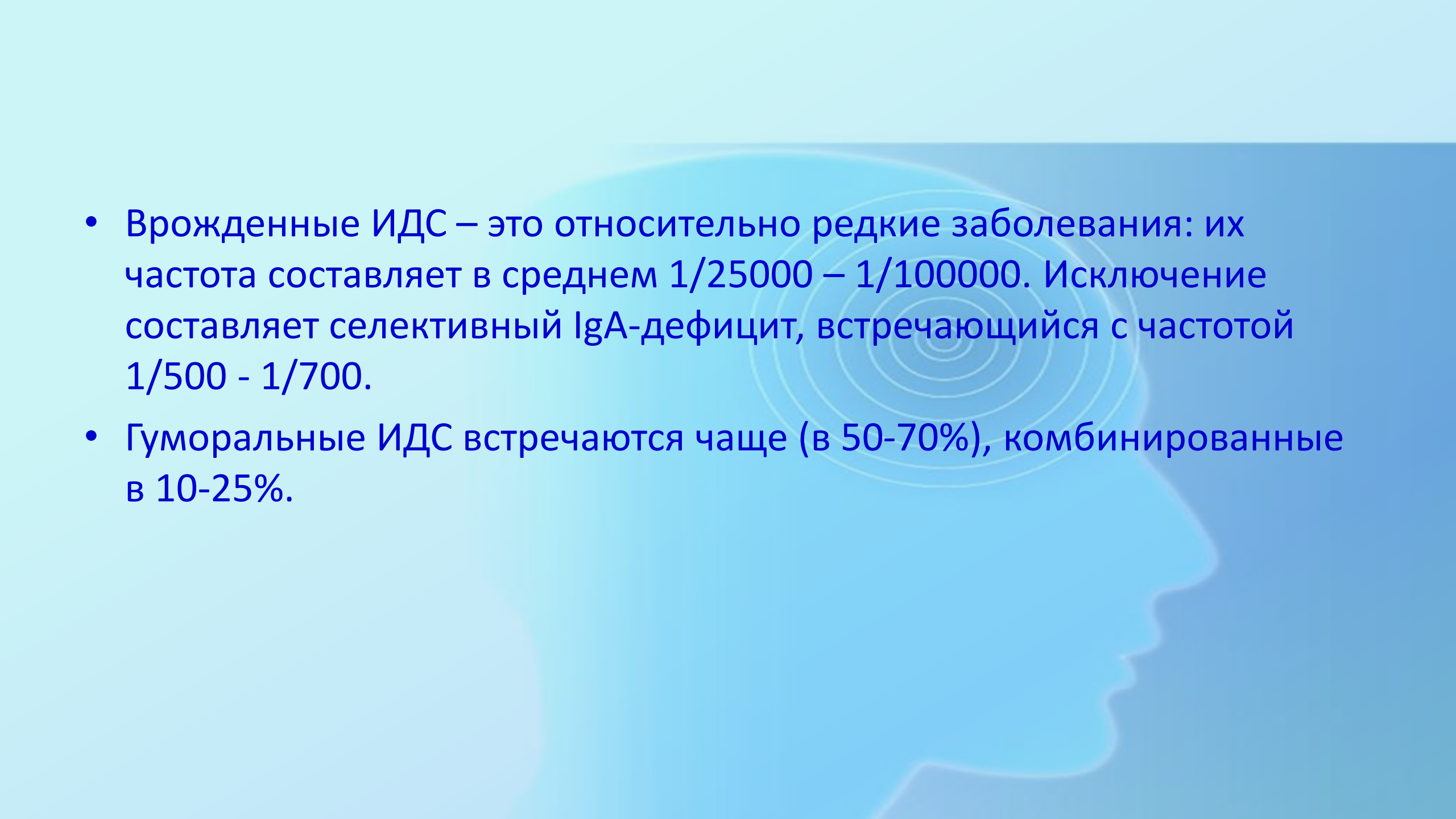
- К аутоиммунным заболеваниям относятся те случаи, когда аутоиммунным процессом определяется патогенез заболевания, т.е. реакция иммунитета против собственных тканей. Развивается диффузное поражение соединительной ткани, органов, сосудов.
- Различают органоспецифические, органонеспецифические и смешанные аутоиммунные болезни.
- Для всех аутоиммунных заболеваний характерно длительное течение с периодами обострения и ремиссий.

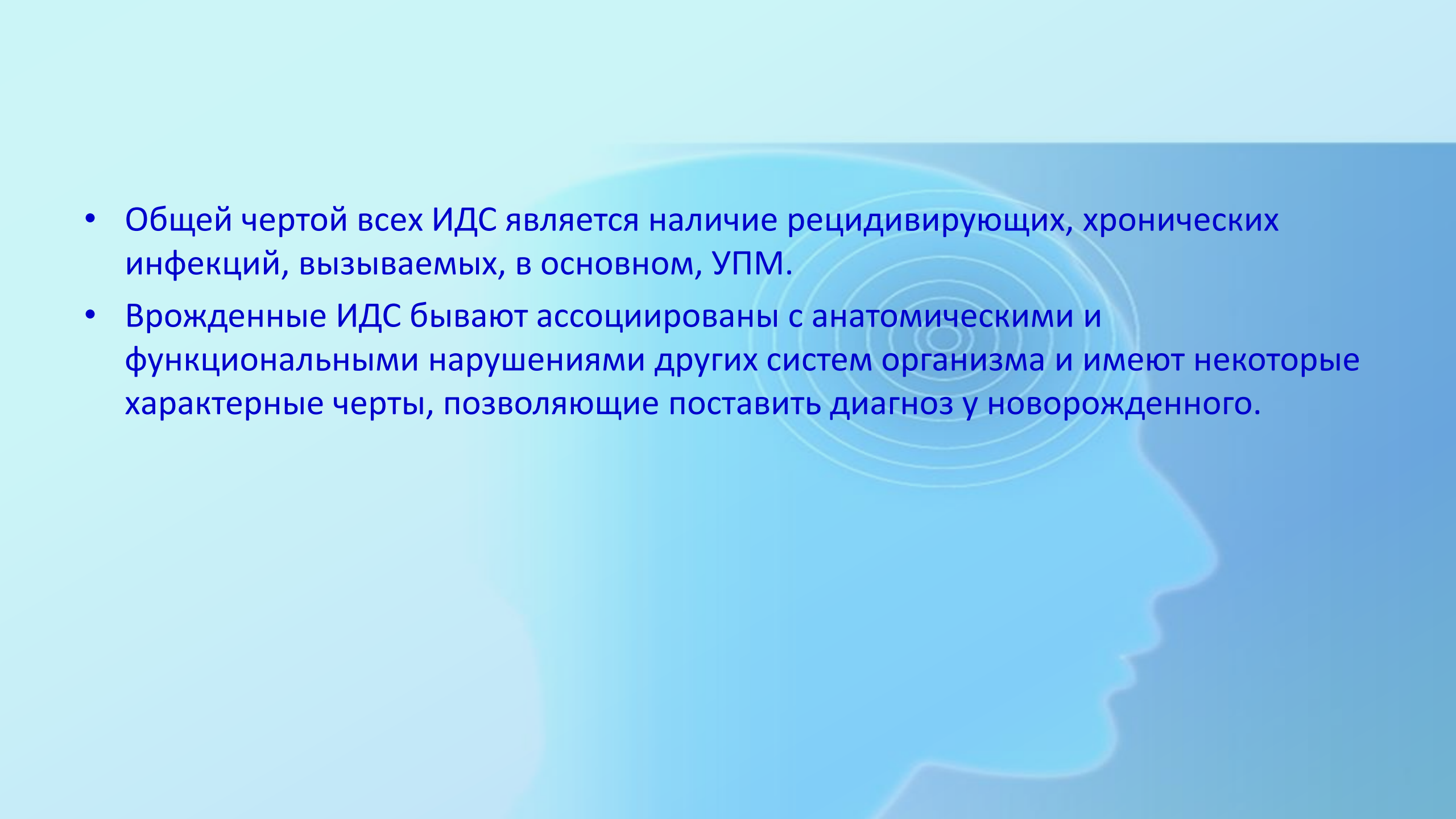
ИДС

- В основе *первичных (врожденных) иммунодефицитов* - генетический дефект, который может реализоваться на разных стадиях развития иммунокомпетентных клеток - стволовой клетки, этапах дифференциации Т- и В- клеток, при созревании плазматических клеток.
- Спектр хромосомных дефектов иммунитета достаточно широк - мутации, нарушения транскрипции и трансляции, генетически детерминированные дефекты мембран клеток.
- Около трети первичных иммунодефицитов сцеплены с полом и передаются по наследству.

- 
- В зависимости от уровня поражения и локализации дефекта различают следующие виды врожденных ИДС:
 - ❖ Преимущественно гуморальные (болезнь Брутона, избирательный дефицит IgM, синдром врожденной недостаточности IgA, синдром гиперглобулинемии E, медленный иммунологический старт (МИС-синдром))

- 
- ❖ Преимущественно клеточные (общая переменная иммунологическая недостаточность, синдром Ди Джорджи);
 - ❖ Комбинированные (аплазия ретикулярной ткани, алимфоплазия, синдром Луи-Бара, синдром Вискотта-Олдрича);
 - ❖ Наследственно обусловленные дефекты неспецифических факторов защиты (хроническая гранулематозная болезнь, синдром Чедиака-Хигаси).

- 
- Врожденные ИДС – это относительно редкие заболевания: их частота составляет в среднем $1/25000$ – $1/100000$. Исключение составляет селективный IgA-дефицит, встречающийся с частотой $1/500$ - $1/700$.
 - Гуморальные ИДС встречаются чаще (в 50-70%), комбинированные в 10-25%.

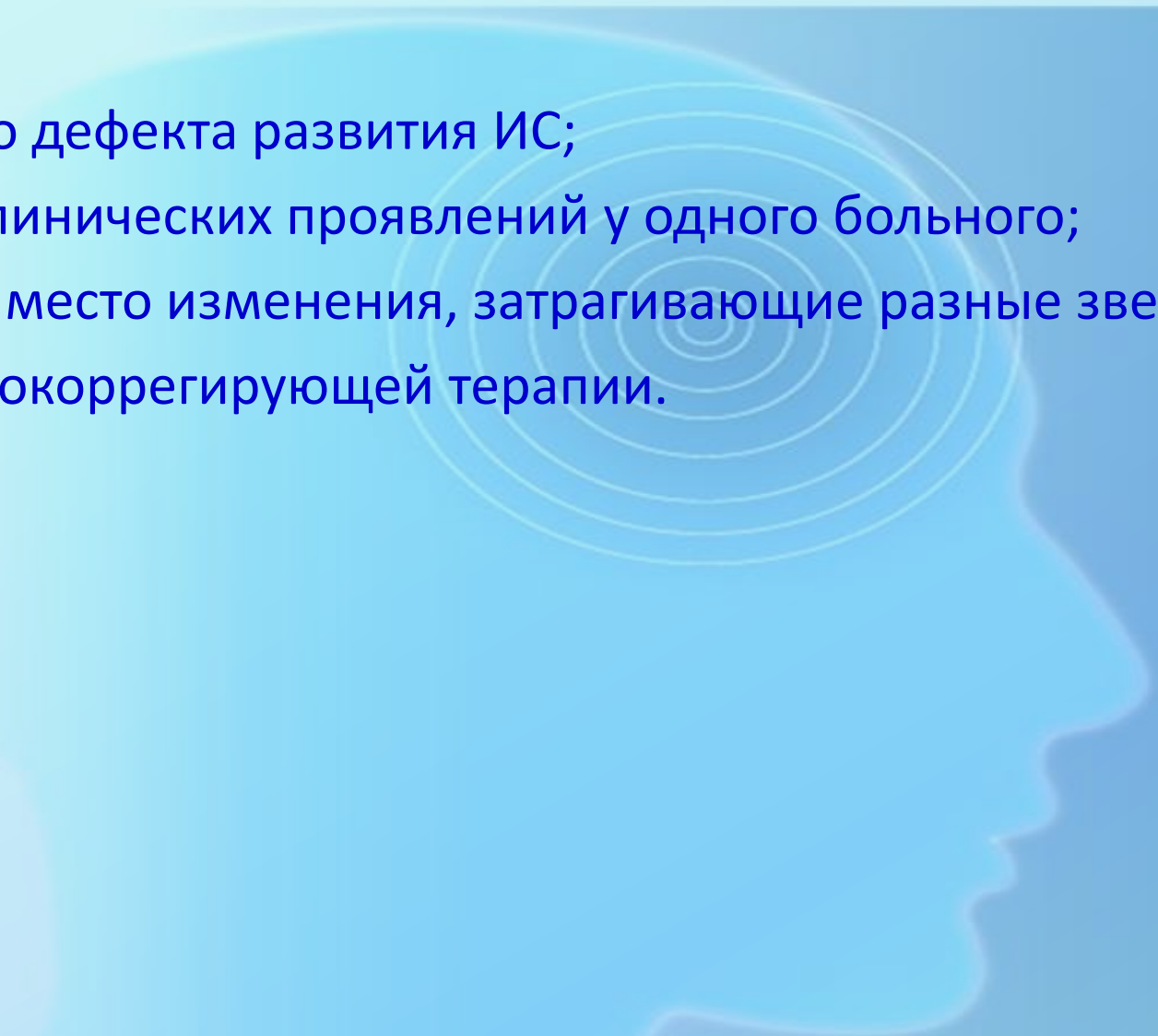
- 
- Общей чертой всех ИДС является наличие рецидивирующих, хронических инфекций, вызываемых, в основном, УПМ.
 - Врожденные ИДС бывают ассоциированы с анатомическими и функциональными нарушениями других систем организма и имеют некоторые характерные черты, позволяющие поставить диагноз у новорожденного.

Проявления	Предварительный диагноз
Врожденные пороки сердца, гипопаратиреоидизм, типичное лицо	Синдром Ди Джорджи
Холодные абсцессы, типичное лицо, воздушная киста легкого	Гипер-IgE-синдром
Медленное заживление пупочной ранки	Дефект адгезии лейкоцитов (LAD-синдром)
Экзема с тромбоцитопенией	Синдром Вискотта-Олдрича
Атаксия с телеангиоэктазией	Синдром Луи-Бара
Частичный альбинизм глаз и кожи, гигантские гранулы в фагоцитах	Синдром Чедиак-Хигачи
Отсутствие тени тимуса на R-грамме, аномалии развития ребер	Дефект аденозиндезаминазы

Вторичные ИДС

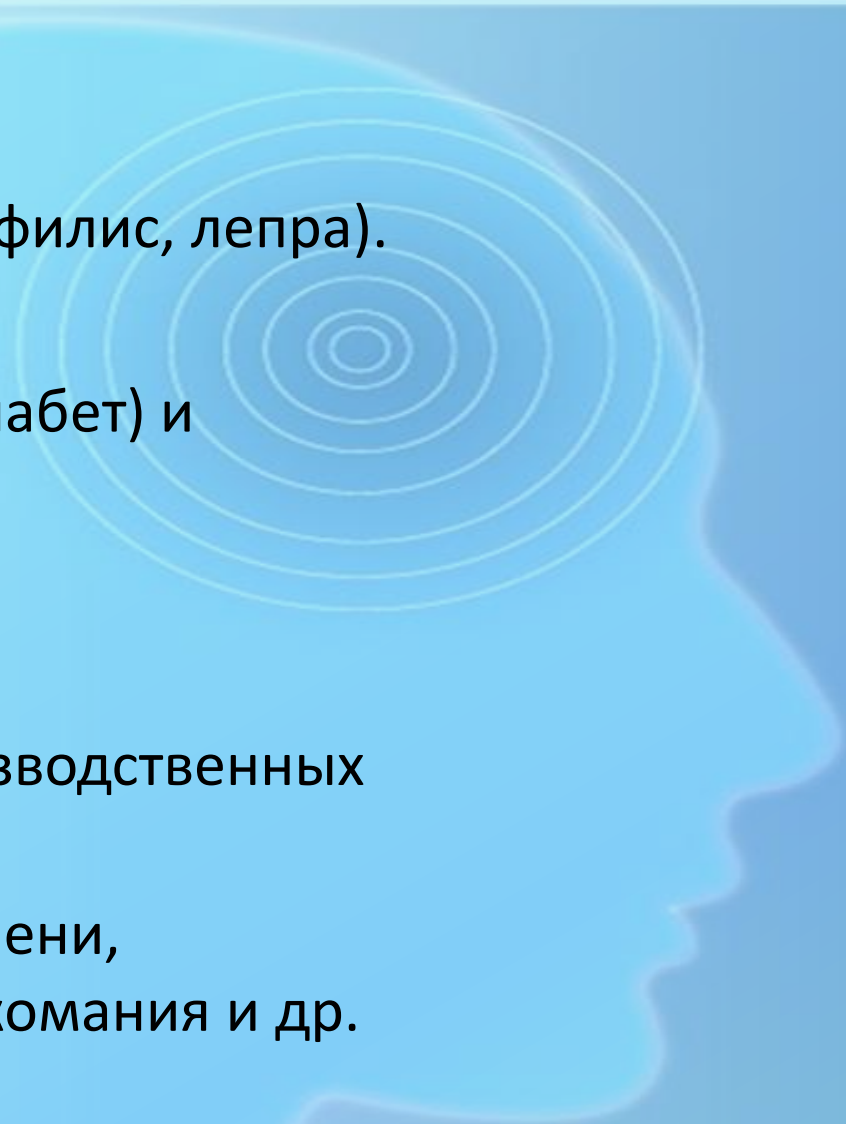
- Характеризуются нарушениями функционирования ИС, которые развиваются в постнатальном периоде, но не являются результатом генетических дефектов.
- Это выражается изменениями процессов дифференцировки, пролиферации и адаптации клеток ИС и, как следствие, снижением ИО на микроорганизмы и атипичные клетки.

Для вторичных ИДС характерно:

- Отсутствие генетического дефекта развития ИС;
 - Сочетание нескольких клинических проявлений у одного больного;
 - В иммунограмме имеют место изменения, затрагивающие разные звенья ИС;
 - Наличие эффекта иммунокорректирующей терапии.
- 

К основным причинам возникновения вторичных иммунодефицитов можно отнести следующие:

- 1. Паразитарные и протозойные болезни
- 2. Вирусные инфекции (грипп, ВИЧ и др)
- 3. Бактериальные инфекции (туберкулез, сифилис, лепра).
- 4. Хирургические вмешательства, травмы.
- 5. Нарушения обмена веществ (сахарный диабет) и истощение (голодание).
- 6. Опухоли.
- 7. Хронические соматические заболевания.
- 8. Действие лекарств, экологических и производственных факторов, радиации.
- 9. «Истощающие заболевания» - цирроз печени, обширные ожоги, анемия, алкоголизм, наркомания и др.



«Физиологические» ИДС

- Состояния, возникающие в периоды физиологических изменений в ИС: ранний детский и старческий возраст, беременность.
- Как правило, транзиторные (проходящие), протекают не более 6 мес, могут исчезать спонтанно, а также при адекватной коррекции.

Реакции гиперчувствительности (аллергические реакции)

- Аллергия – иммунологический способ повышенного реагирования, который сопровождается повреждением тканей и воспалением
- Аллергия = повышенная чувствительность = гиперчувствительность = сенсibilизация

Аллергены

- Низкомолекулярные белки (гаптены)
- Малый размер молекулы (проникают через слизистые оболочки в подслизистый слой, где сосредоточены тучные клетки и плазмоциты, продуцирующие IgE)
- Низкая доза (индукция Th2, которые способствуют образованию IgE)

Классификация аллергенов по происхождению и пути поступления в организм

- Ингаляционные (растительные, животные, бытовые)
- Пищевые (компоненты молока и яиц, рыба, морепродукты, пищевые добавки)
- Лекарственные (антибиотики, аспирин и др.)
- Промышленные (полимеры, пестициды, металлы)
- Инфекционные (бактериальные, паразитарные, грибковые)

ALLERGIC REACTIONS

Skin Contact



poison
plants



animal
dander



pollen



latex

Injection



bee
sting



medication

Ingestion



medication



nuts &
shellfish

Inhalation



pollen



dust



mold &
mildew



animal
dander



Типы аллергических реакций (Джелл и Кумбс, 1963)

- 1 тип – анафилактические (реагиновые)
- 2 тип – цитотоксические
- 3 тип – иммунореактивные
- 4 тип – клеточные

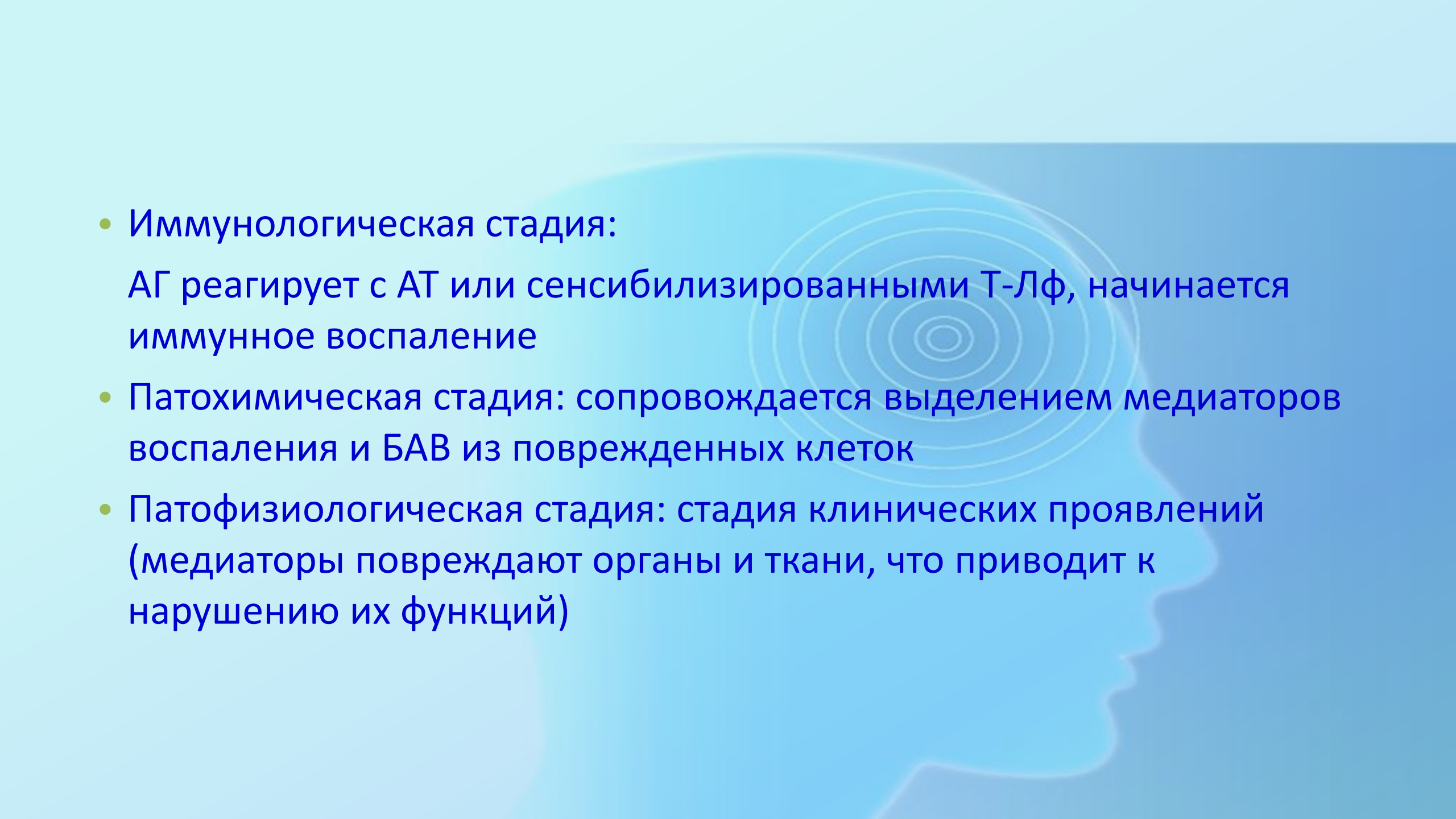
1 – 3 типы – Реакции гиперчувствительности немедленного типа
(гуморальные)

4 тип - Реакции гиперчувствительности замедленного типа
(клеточные)

Стадии аллергических реакций

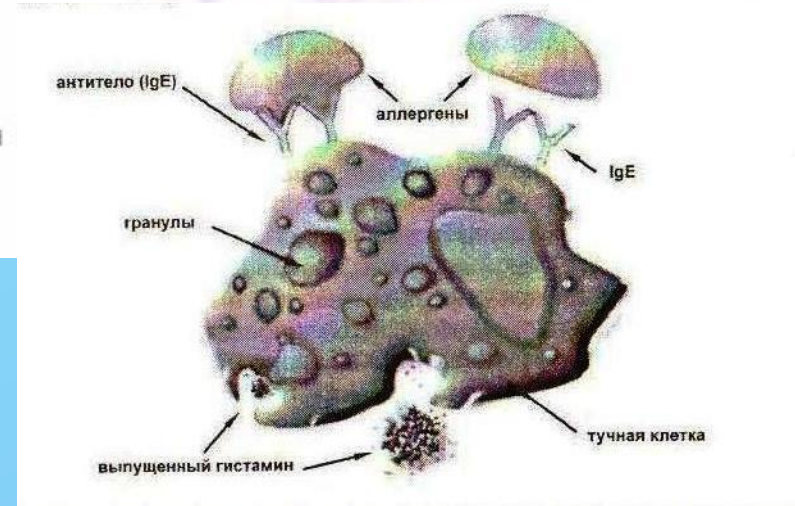
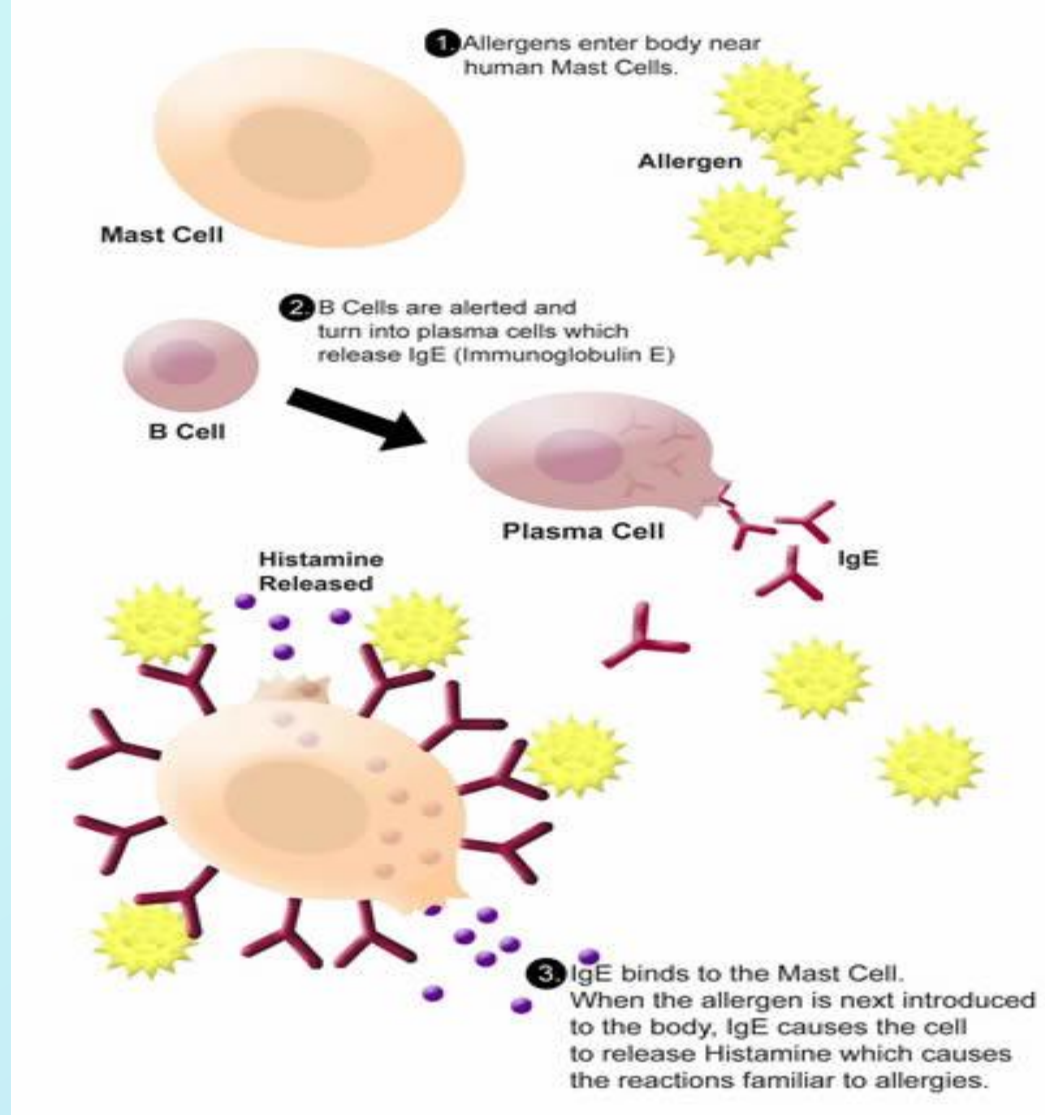
- При первичном контакте с аллергеном наступает *период сенсibilизации* (латентный период, длительность которого зависит от дозы и вида аллергена). Доза антигена, вызвавшая образование в организме Т-Лф и АТ, называется *сенсibilизирующая*.

Видимые проявления аллергической реакции развиваются при повторном контакте с аллергеном и проходит по стадиям. Доза антигена, вызвавшая реакцию, называется *разрешающая*

- 
- Иммунологическая стадия:
АГ реагирует с АТ или сенсibilизированными Т-Лф, начинается иммунное воспаление
 - Патохимическая стадия: сопровождается выделением медиаторов воспаления и БАВ из поврежденных клеток
 - Патофизиологическая стадия: стадия клинических проявлений (медиаторы повреждают органы и ткани, что приводит к нарушению их функций)

Аллергические реакции 1 типа

- Иммунологическая стадия: соединение АГ с IgE на мембране тучной клетки или базофила
- Патохимическая: дегрануляция тучных клеток и базофилов, освобождаются гистамин, серотонин, простагландины, лейкотриены и др.
- Патофизиологическая: спазм гладких мышц сосудов, бронхов, повышение проницаемости сосудов, увеличение секреции слизи и т.д.



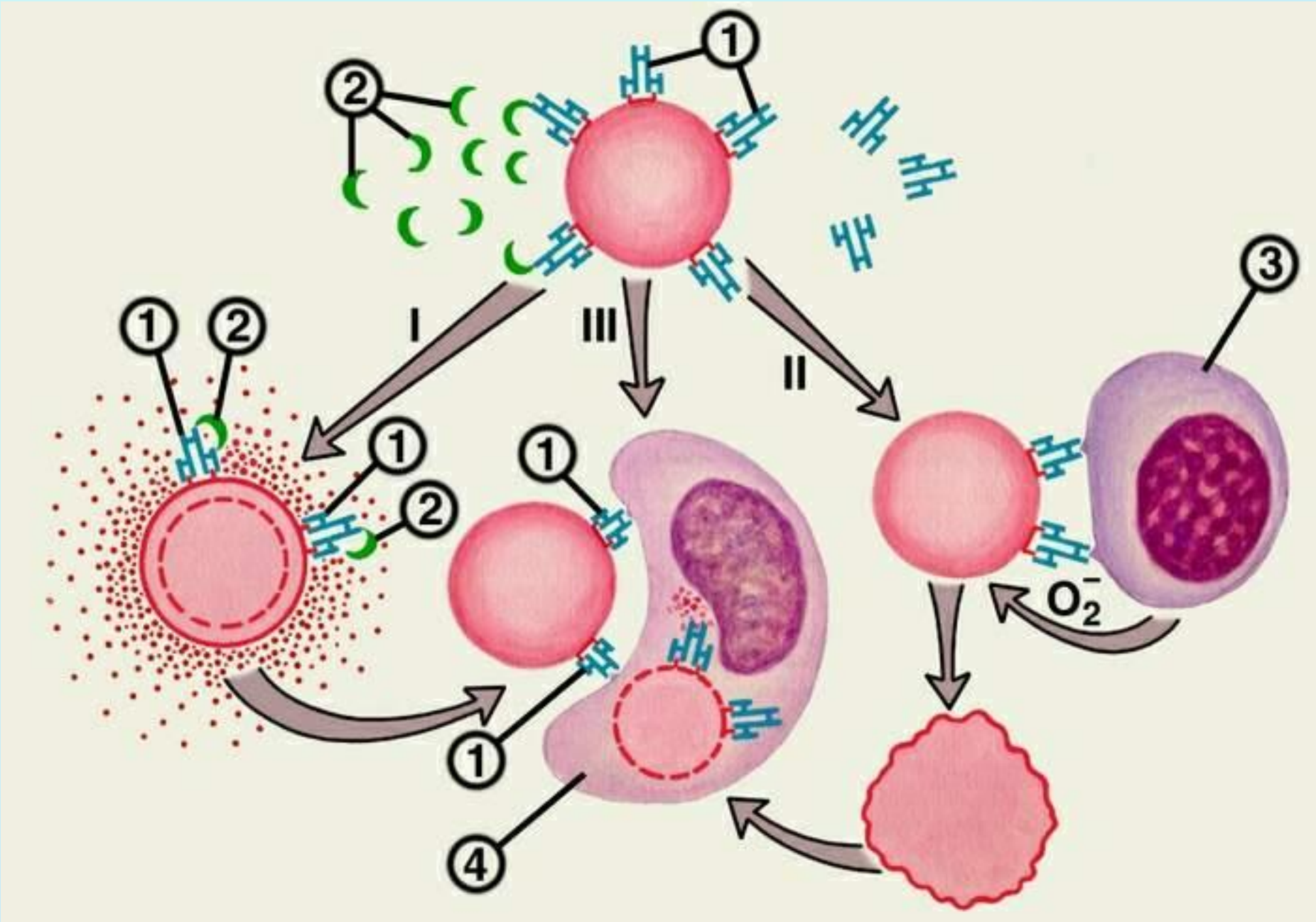
Клинические проявления:

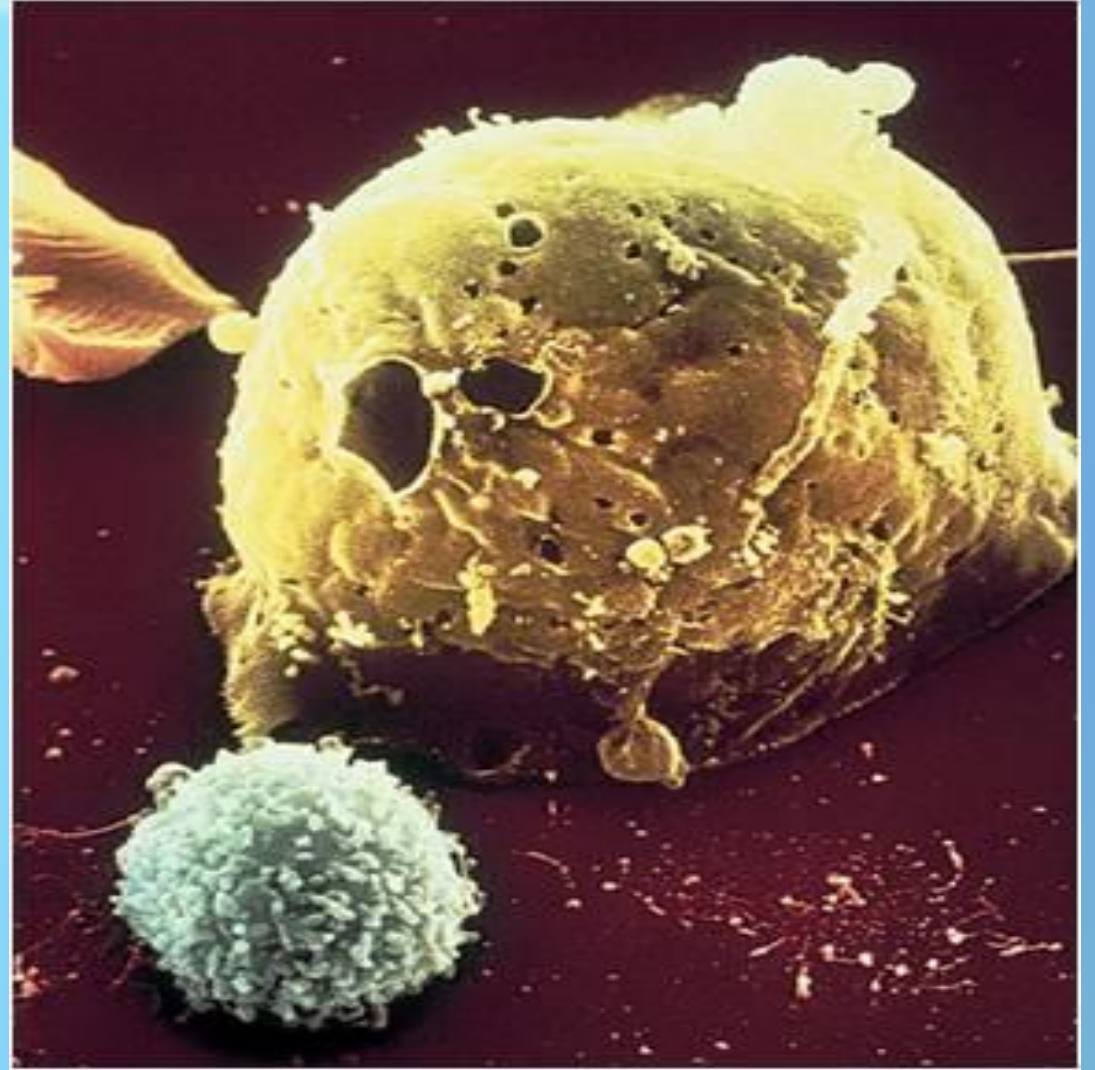
- Крапивница
- Отек Квинке
- Аллергический ринит
- Бронхиальная астма
- Анафилактический шок



Аллергические реакции 2 типа

- Иммунологическая стадия: соединение АТ с поверхностными АГ на мембране клеток-мишеней, что приводит к активации системы комплемента (СК), фагоцитов и NK-клеток. Разрушение клетки идет по трем направлениям:
 - комплементзависимый цитолиз;
 - фагоцитоз;
 - антителозависимая цитотоксичность
- Патохимическая: освобождаются продукты лизиса клеток-мишеней и компоненты СК
- Патофизиологическая: анемия, тромбоцито- и лейкопения (лекарственная аллергия), реакция на переливание крови, аутоиммунные реакции





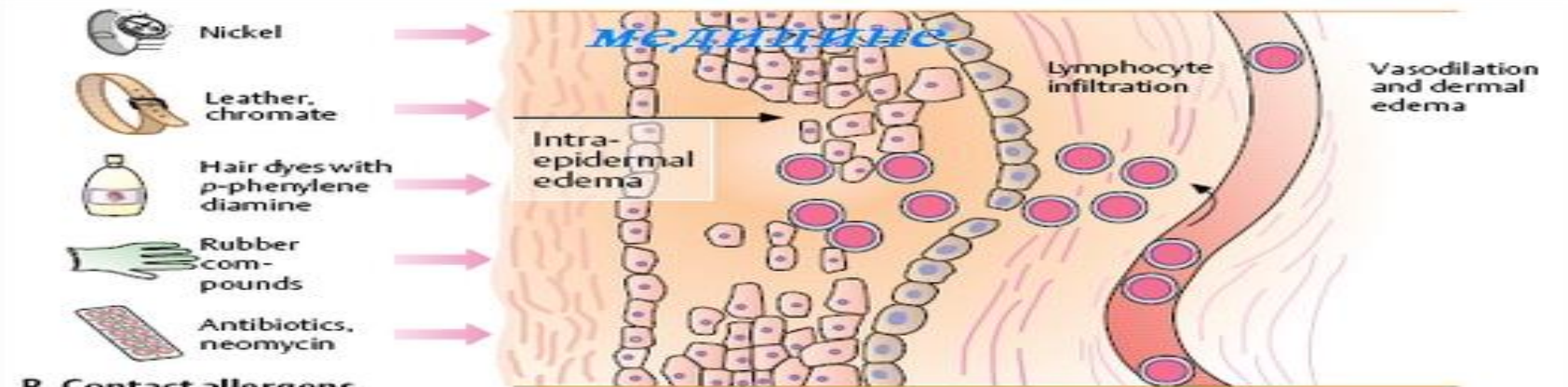
Аллергические реакции 3 типа

- Иммунологическая стадия: образование иммунных комплексов (ИК) и нарушение их элиминации, активация СК.
- Патохимическая: При избытке АГ и недостатке комплемента - повреждение клеток эндотелия сосудов, клубочков почек, клапанов сердца, суставов и т.д.
- Патофизиологическая: васкулит, отек, хемотаксис иммунных клеток (сывороточная болезнь, поствакцинальные аллергические реакции, реакции на бактериальные аллергены)

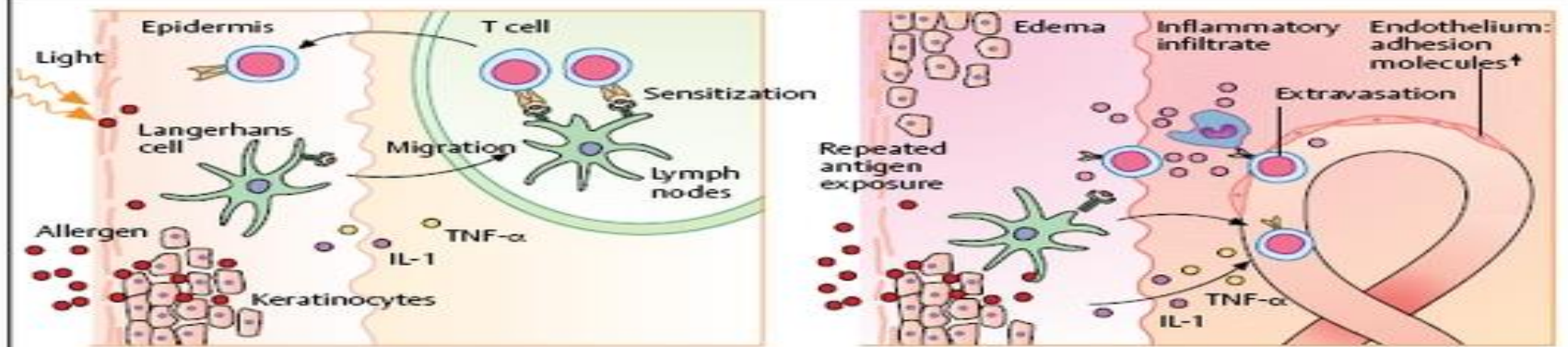


A. Causes of dermatitis

MedUniver.com - BCE 110



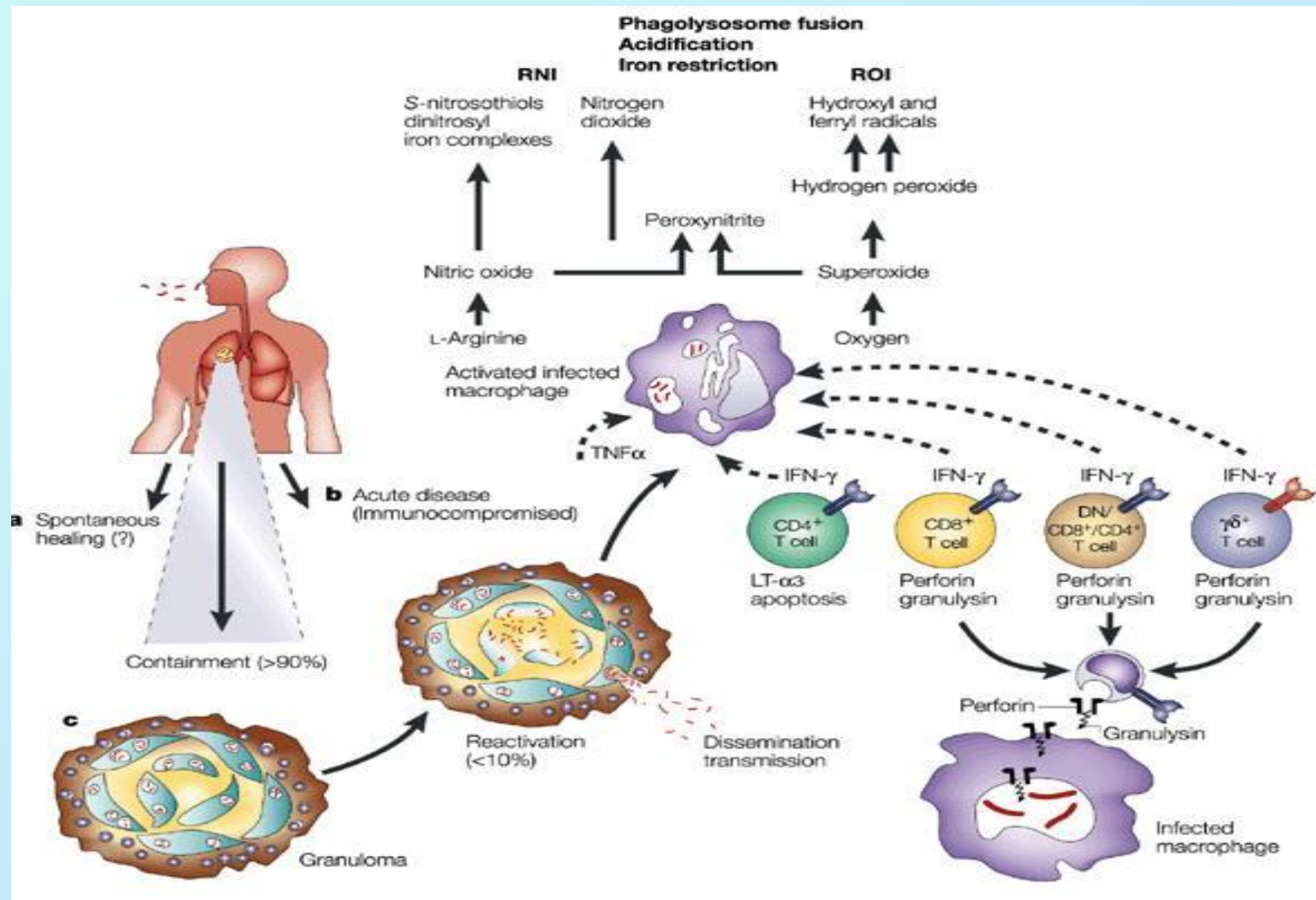
B. Contact allergens



C. Pathogenesis

Аллергические реакции 4 типа

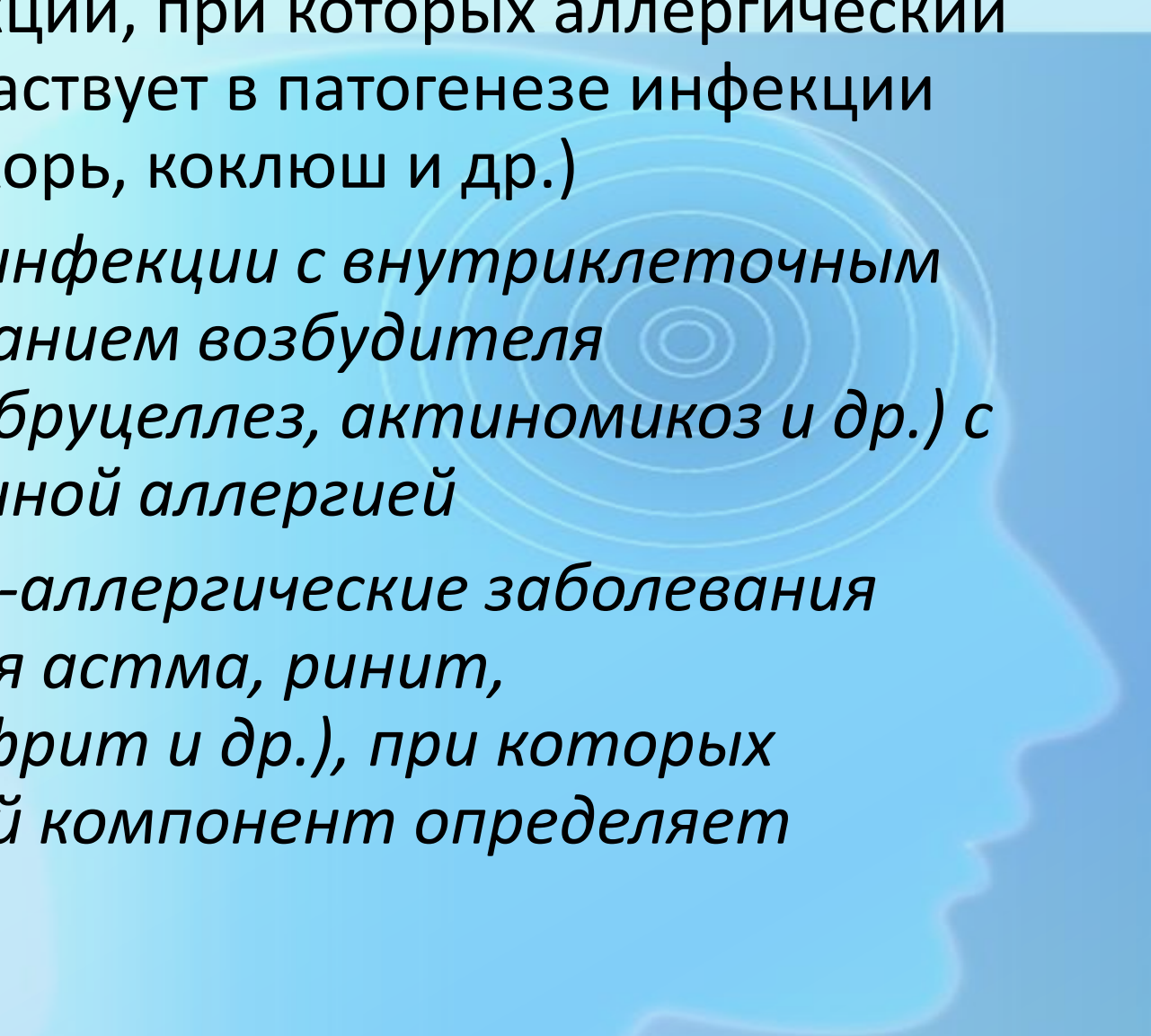
- Иммунологическая стадия: соединение АГ с рецептором Т-Лф, что вызывает пролиферацию соответствующего клона
- Патохимическая: выделение лимфокинов, которые повреждают ткани
- Патофизиологическая: индукция воспаления, активация фагоцитоза, хемотаксиса макрофагов, накопление лейкоцитов в очаге воспаления (образование гранулем) – контактные дерматиты, лекарственная и инфекционная аллергия



Инфекционная аллергия

Классификация инфекционных заболеваний в зависимости от доли участия аллергии в патогенезе

- Заболевания токсико-инфекционного характера, в патогенезе которых аллергические реакции не участвуют (столбняк, ботулизм, холера и др.)
- Острые инфекционные заболевания, которые сопровождаются аллергией, но она не играет существенной роли в патогенезе (большинство острых инфекций)

- 
- Острые инфекции, при которых аллергический компонент участвует в патогенезе инфекции (скарлатина, корь, коклюш и др.)
 - *Хронические инфекции с внутриклеточным паразитированием возбудителя (туберкулез, бруцеллез, актиномикоз и др.) с ярко выраженной аллергией*
 - *Инфекционно-аллергические заболевания (бронхиальная астма, ринит, гломерулонефрит и др.), при которых аллергический компонент определяет патогенез*

Аллергический метод диагностики

- Для диагностики аллергии *in vivo* (кожно-аллергические пробы) или *in vitro* применяют аллергены, сырьем которых являются одноклеточные и многоклеточные организмы и продукты их метаболизма. К группе инфекционных аллергенов относятся препараты, приготовленные из возбудителей инфекционных заболеваний.

