**Противовірусний імунітет**

**1. Віруси як антигени**

Антигени - це речовини, які несуть ознаки генетичної чужорідності і при введенні в організм спричинюють розвиток специфічних імунних реакцій. Антигени мають такі властивості, як чужорідність, антигенність, імуногенність і специфічність. Чужорідність - невіддільне від антигену поняття; без чужорідності немає антигену стосовно даного організму. Антигенність - це здатність антигену спричинювати специфічну імунну відповідь і взаємодіяти з її продуктами (антитілами і сенсибілізованими лімфоцитами). Імуногенність - це здатність антигену індукувати формування імунітету. Специфічність - це здатність антигену вибірково взаємодіяти лише з гомологічними антитілами і сенсибілізованими лімфоцитами.

Віруси як антигени принципово не відрізняються від інших повноцінних антигенів (наприклад, бактерій і токсинів) і є добрими стимуляторами клітинних та гуморальних імунних реакцій.

Антигенна будова вірусів, незважаючи на відносну простоту їхньої організації, складна і визначається кількістю структурних білків. Кожний вірусний білок має кілька антигенних детермінант, або епітопів. Це ділянки, здатні взаємодіяти з антитілами та антигеннозв’язувальними рецепторами лімфоцитів. Епітопи складаються зазвичай із 10 - 20 амінокислот, залежать від третинної структури білка і можуть містити ділянки, розміщені в різних областях поліпептидного ланцюга. Антигенні детермінанти розміщені в тих місцях білкової молекули, що доступна для антитіл і сенсибілізованих лімфоцитів. Але можуть бути і приховані епітопи, які виходять на поверхню при зміні конформації або частковому розщепленні макромолекули. Антигенні детермінанти, що вносять найбільший вклад у стимуляцію імунної відповіді, називають імунодомінантною групою. Епітопи визначають специфічність антигену, а їхня кількість, що одночасно зв’язується з антитілами, зумовлює валентність антигену.

Вірусні антигени розрізняються за ступенем специфічності їхніх епітопів. Є штамо-, типо-, видо-, групо- і підгрупоспецифічні антигени.

У процесі інфекції або імунізації можуть вироблятися антитіла до всіх антигенів, які входять у структуру вібріона. Проте різні вірусні антигени відіграють неоднакову роль в імуногенезі. Першочергове значення для імунітету мають поверхневі антигени, розміщені в зовнішній оболонці вібріона (капсидній чи суперкапсидній залежно від складності його організації) й особливо прикріпні білки, через які відбувається адсорбція вірусу на клітині. Нейтралізація антитілами саме цих антигенів позбавляє вірус здатності приєднуватися до чутливої клітини та інфікувати її. Антигени, не зв’язані з прикріпними білками, й особливо внутрішні антигени, локалізовані в глибинних структурах вібріона, мають значення не стільки для імунітету, скільки для патогенезу вірусної інфекції, будучи чужорідними, токсигенними і нерідко алергенними речовинами. Антитіла до внутрішніх антигенів (наприклад, серцевинних білків), які можуть утворитися в процесі інфекції, мають діагностичне значення. Вірусні антигени, що спричинюють утворення захисних (вірусонейтралізувальних) антитіл, називають проективними.

Антигенна активність властива і численним ферментам, які виявлені в складі вібріонів, але тільки вірусоспецифічним. Ферменти клітинного походження не є чужорідними для організму і тому не викликають імунної відповіді.

Поверхневі антигени вірусів лабільніші, ніж внутрішні, що пов’язано з еволюційним пристосуванням вірусів долати дію імунних факторів. Яскравою ілюстрацією цього слугує унікальна мінливість поверхневих білків вірусів грипу А гемаглютиніни і нейрамінідази - антигенний дрейф і антигенний шифт.

У складно організованих вірусів виявляють у структурі суперкапсидної оболонки антигени клітини-хазяїна, де відбувалася їхня репродукція. При цьому клітинні антигени локалізуються в зовнішній ліпопротеїновій оболонці не хаотично, як би це було в разі механічної контамінації вібріонів, а в конкретному порядку. Так відбувається антигенна мімікрія, що призводить до зниження імунної відповіді. Крім того, в складі деяких вірусів (зокрема грипу і натуральної віспи) містяться так звані гетерогенні антигени, ідентичні певним тканинним білкам хазяїна. Так, у вірусів грипу виявлені антигени, що визначають А групу крові людини. Явища антигенної мімікрії та гетерогенності зумовлюють персистенцію вірусів у організмі, даючи їм змогу уникати дії захисних механізмів. Ці феномени пояснюють також слабкість імунної відповіді при деяких вірусних хворобах. За рахунок антигенів клітини-хазяїна, які знаходяться в складі вібріонів, можуть виникати перехресні імунологічні реакції, що створює труднощі в ідентифікації збудника і призводить до помилкових діагностичних висновків.

Вірус-індуковані антигени. Заражені клітини містять зазвичай, крім вібріонів, різні вірусні білки-антигени. Ці антигени виникають у результаті надлишкового синтезу вірусних компонентів, що не увійшли до складу вібріонів потомства, або внаслідок деструкції вібріонів, наприклад, у макрофагах. Антигенні властивості мають також не структурні вірусні білки, що утворилися в процесі інфекції.

Вірусні антигени локалізуються в різних частинах клітини (залежно від природи вірусів) - в ядрі, ядерці, цитоплазмі, плазмолемі, що доступно візуальному спостереженню завдяки використанню методів РІФ або ІФА. Вірусні антигени, розміщені на поверхні клітинної плазматичної мембрани, можуть стати об’єктом дії антитіл, сенсибілізованих лімфоцитів і макрофагів.

У заражених клітинах можуть з’явитися не структурні вірусні білки, які є ознакою клітинної трансформації під дією онкогенних вірусів, зокрема поліомавірусів (вірус поліоми людини, ЅV40), аденовірусів, ретровірусів (вірус саркоми Рауса). Серед антигенів, індукованих онкогенними вірусами, розрізняють Т- і трансплантаційні антигени.

Т-антигени (від лат.tumor - пухлина) з’являються на початкових стадіях репродукції вірусів. Їх виявляють за допомогою РІФ в ядрі або цитоплазмі інфікованої клітини залежно від того, який вірус - ДНК - чи РНК-геномний - спричинив їхній синтез. Специфічним реактивом для виявлення їх є не противірусна сироватка, а сироватка тварин із первинними або трансплантованими вірус-індукованими пухлинами. Клітини, що містять Т-антигени, можуть розмножуватися тривалий час, не втрачаючи їх. Поява Т-антигенів є ранньою ознакою процесу, що призводить до трансформації клітин.

Трансплантаційні антигени пізніше, коли вже настає трансформація клітин. Вони локалізуються на поверхні плазмолеми трансформованих клітин і зумовлюють у дорослих тварин специфічну резистентність до інокуляції пухлинних клітин, яка визначається видом вірусу.

Вірусні антигени - віріонні та вірус-індуковані - мають важливе значення для імунітету. Будучи чужорідними для організму, вони стимулюють виникнення клітинних і гуморальних захисних реакцій.

**2. Клітинні фактори противірусного імунітету**

Противірусний імунітет залежить передусім від функції імунокомпетентних клітин (або імуноцитів), які здійснюють імунні реакції. Імунокомпетентні клітини розпізнають вірусні антигени, утворюють стосовно них специфічні антитіла та інші речовини, що пригнічують активність вірусів, а також діють безпосередньо на віруси й уражені клітини, спричинюючи їхню деструкцію.

Імунною системою є лімфоїдна тканина, яка представлена лімфоїдними органами і скупченнями лімфоїдних клітин у різних тканинах організму. Основна функція лімфоїдної тканини - розпізнавання та елімінація (видалення) генетично чужорідних речовин і збереження внутрішньої постійності організму, тобто гомеостазу.

До імунної системи належать:

1. Центральні лімфоїдні органи, серед яких Тимур, кістковий мозок фабрицієва бурса у птахів;

2. Периферійні лімфоїдні органи, до яких належать селезінка, лімфатичні вузли, скупчення лімфоїдних клітин у різних тканинах, зокрема в травному каналі (лімфоїдні фолікули тонких кишок, ілеоцекального клапана, глоткове лімфоїдне кільце), лімфоцити крові.

Центральною фігурою імунної системи є лімфоцити. Вони походять із кісткового мозку від кровотворних стовбурових клітин, які генерують у лімфоїдні стовбурові клітини. Ці клітини надходять із кров’ю в тимус і фабрицієву бурсу в птахів або еквівалентні органи у ссавців - лімфоїдну тканину травного каналу, де відбувається їхнє диференціювання.

Розрізняють Т-лімфоцити (тимусозалежні) і В-лімфоцити (бурсазалежні). Т-лімфоцити імунологічно дозрівають у тимусі та мігрують у Т-зони лімфатичних вузлів і селезінки. В-лімфоцити проходять диференціацію у фабрицієвій бурсі в птахів або її аналогах у ссавців і потрапляють у В-зони лімфатичних вузлів і селезінки.

Т-лімфоцити забезпечують клітинний імунітет і одночасно здійснюють функцію регуляції імунної відповіді. Розрізняють шість типів Т-лімфоцитів: Т-гелпери (Т-помічники), цитотоксичні Т-лімфоцити (ЦТЛ), Т-супресори, Т-клітини гіперчутливості сповільненого типу (Тгст-клітини), Т-ампліфайєри (Т-посилювачі) і Т-клітини імунологічної пам’яті.

Клітинний імунітет обумовлюють також кілери (К-клітини, нульові клітини), природні кілери (NК-клітини) і дендритні клітини.

В-лімфоцити забезпечують синтез антитіл і відповідають таким чином за розвиток гуморального імунітету. Існує п’ять типів В-лімфоцитів, які є попередниками плазматичних клітин, що продукують антитіла класів IgM, IgG, IgA, IgD та IgE.

В імуногенезі бере участь ще одна клітинна популяція - макрофаги, які складають систему мононуклеарних фагоцитів. Макрофаги розвиваються з кровотворних стовбурових клітин, пройшовши такий шлях розвитку: монобласт - промоноцит - моноцит - макрофаг. До системи мононуклеарних фагоцитів належать моноцити крові й тканинні макрофаги (гістіоцити), які поширені в організмі: у печінці, селезінці, легенях, лімфатичних вузлах, кістковому мозку, нервовій системі та інших тканинах.

За функціональними властивостями всі імунокомпетентні клітини розділяють на ефекторні й регуляторні. Ефекторні клітини беруть активну участь в імуногенезі, індукуючи клітинну і гуморальну відповіді. Ефекторними можуть слугувати різні типи клітин: цитотоксичні Т-лімфоцити, Тгст-клітини, кілери, природні кілери, В-лімфоцити, макрофаги. Функції регуляторних клітин здійснюють в основному Т-лімфоцити і макрофаги. Усі взаємодії клітин імунної системи регулюють цитокіни, відомі як медіатори імунної відповіді.

Імунна система організму функціонує за принципом клональної селекції. Основне положення клонально-селекційної теорії імунітету (Ф.М. Берет, 1964) полягає в тому, що здатність індивіда розпізнавати антиген пов’язана з певними імунологічно реактивними лімфоцитами або генетично ідентичними лініями лімфоцитів (клонами). Лімфоїдна тканина характеризується постійним поділом клітин; тому вся популяція лімфоцитів складається із значної кількості клітинних клонів, кожен з яких походить від одного попередника. У ссавців в ембріональному періоді без будь-якого контакту з чужорідним антигеном виникає 107 - 109 клонів, які генетично детерміновані до взаємодії з відповідними антигенами. Кожен лімфоцит у ході індивідуального (клонального) розвитку набуває здатності реагувати з конкретним антигеном завдяки експресії на плазмолемі специфічних рецепторів. Зв’язування антигену з цими рецепторами стимулює лімфоцити пре адаптованого клону до проліферації й диференціації. Усі клітини клону мають однакову антигенну специфічність.

В-лімфоцити несуть на своїй поверхні вбудовані в плазматичну мембрану молекули імуноглобулінів, переважно класу ІgМ. Один В-лімфоцит містить від 200 тис. до 500 тис. імуноглобулінових молекул. Вони постійно синтезуються в лімфоцитах, секретуються на клітинну поверхню і відділяються разом із фрагментами плазмолеми. 50% рецепторних молекул оновлюється впродовж 4 - 6 год. При антигенній стимуляції й трансформації В-лімфоцитів у плазматичні клітини цей синтез стає в тисячі разів інтенсивнішим. Кожний лімфоцит має тільки один за специфічністю тип рецепторів, тобто може реагувати лише з однією антигенною детермінантою. Крім імуноглобулінових рецепторів, унікальних для кожного лімфоцита і його потомків (клонів), існують рецептори з єдиною для всіх В-лімфоцитів специфічністю. До них належать, зокрема, рецептори для Fс-фрагмента імуноглобуліну і СЗ-фрагмента комплементу. Завдяки цьому В-лімфоцити здатні приєднувати імунні комплекси (антиген-антитіло або антиген-антитіло-комплемент).

Т-лімфоцити містять на своїй поверхні значно менше рецепторів порівняно з В-лімфоцитами (10 - 20 тис.). Т-клітинні рецептори представлені імуноглобуліноподібними молекулами.

Крім антигенозв'язувальних рецепторів, лімфоцити мають значну кількість поверхневих антигенних структур, які називаються маркерами і визначають функціональні відмінності різних субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів.

В основі імуногенезу лежить кооперативна взаємодія різних популяцій імунокомпетентних клітин: Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів, макрофагів, кілерів, природних кілерів і дендритних клітин. Передумовою цієї взаємодії є ідентичність антигенів головного комплексу гістосумісності (МНС, від англ. Маjor histocompatibility complex). МНС - це ділянка ДНК вищих хребетних, що кодує антигени гістосумісності й відіграє важливу роль у відторгненні чужорідного трансплантата. МНС кодує також здатність до імунної відповіді на численні антигени, схильність до певних імунних захворювань, синтез компонентів комплементу. МНС-антигени знаходяться на поверхні клітин усіх вищих хребетних. Спектр молекул МНС унікальний для кожного організму і визначає його біологічну індивідуальність, що дає змогу відрізнити «своє» (гістосумісне) від «чужого» (несумісного).

У складний механізм імунної відповіді першими включаються макрофаги. Вони розпізнають антиген, який надходить в організм, поглинають його і розщеплюють на фрагменти під дією лізосомальних ферментів. Фрагменти антигену внаслідок екзоцитозу виставляються на поверхні макрофага і зв'язуються з молекулами МНС. Саме ці комплекси антиген-молекула МНС розпізнаються Т-гелперами і слугують сигналом для запуску подальших імунологічних реакцій. У відповідь на впізнавання Т-гелпером утворених комплексів макрофаги продукують медіатор інтерлейкін-1 (ІЛ-1), під впливом якого починають посилено розмножуватися і дозрівати Т-гелпери. Активовані Т-гелпери синтезують інтерлейкін-2 (ІЛ-2), що теж стимулює їхню проліферацію, а також слугує сигналом для В-лімфоцитів.

Відбір В-лімфоцитів відбувається при взаємодії антигену з імуноглобуліновим рецептором на поверхні цих клітин. В-лімфоцит переробляє антиген і представляє його фрагмент на плазмолемі в комплексі з молекулою МНС. Цей комплекс розпізнає рецептор Т-гелпера, який був відібраний за допомогою того самого антигену, що і В-лімфоцит. Унаслідок такого впізнавання Т-гелпер синтезує цитокіни (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-5, ІФН-α). Це стимулює проліферацію В-лімфоцитів та їхню диференціацію в плазматичні клітини, які синтезують антитіла до цього антигену. На відміну від В-лімфоцитів, плазматичні клітини мають добре розвинений секреторний апарат, що дає змогу синтезувати кілька тисяч молекул імуноглобулінів за 1 с. Секрецію антитіл стимулює ІЛ-6, який виділяється активованими Т-гелперами.

Отже, Т-гелпери включають В-лімфоцити в проліферацію й диференціацію, що забезпечує нагромадження клонів плазматичних клітин, які інтенсивно синтезують антитіла. У разі відсутності такого впливу В-система виявляється нездатною до повноцінної імунної відповіді, й можлива поява стану імунологічної толерантності, коли не виробляються антитіла до певного антигену.

Допомога Т-гелперів потрібна не тільки для активізації В-лімфоцитів, а й для індукції цитотоксичних Т-лімфоцитів (ЦТЛ), які з'являються під впливом ІЛ-2. ЦТЛ розпізнають і лізують клітини-мішені, які містять на своїй поверхні чужорідні антигени (вірусоспецифічні, пухлинні або чужорідні гістосумісності). Заражені вірусом клітини розпізнаються ЦТЛ завдяки епітопам вірусних антигенів, зв'язаних із молекулами МНС. ЦТЛ звільняють організм від клітин, що продукують вірусне потомство, лізуючи їх. ЦТЛ убивають також ракові клітини, відторгають трансплантати, забезпечуючи таким чином протипухлинний і трансплантаційний імунітет.

Прикріпившись до клітини-мішені, ЦТЛ виділяє шляхом екзоцитозу перфорін. Цей білок вбудовується в плазматичну мембрану клітини, створюючи в ній пори, що призводить до необоротного і летального вирівнювання йонного складу між цитоплазмою й зовнішнім середовищем. Після виділення перфоріну ЦТЛ відділяється від клітини і здатний до взаємодії з іншою мішенню.

Антиген активізує також Т-супресори, які обмежують проліферацію Т- і В-лімфоцитів на різних стадіях імуногенезу і запобігають таким чином прояву надмірних форм імунної відповіді, наприклад, алергії. Т-супресори блокують аутоімунні реакції, тобто вироблення антитіл до власних антигенів організму, отже, забезпечують розвиток природної імунологічної толерантності. Порушення функції Т-супресорів може призвести до аутоімунних захворювань та інших форм імунопатології. Т-супресори, як і Т-гелпери, виконують функції головних регуляторів імунної відповіді.

До імуногенезу можуть залучитися Тгст-клітини, що утворюються під впливом антигенної стимуляції та здійснюють алергічні реакції у вигляді гіперчутливості сповільненого типу. Отримавши інформацію про антиген від макрофагів, Тгст-клітини розпізнають його і виділяють різні медіатори, які активізують макрофаги. У результаті розвивається запальна реакція тканин, спрямована проти вірусних антигенів.

В імуногенезі істотну роль відіграють Т-ампліфайєри (Т-посилювачі), які активізують Т-клітинну імунну відповідь, а саме: стимулюють утворення Тгст-клітин, Т-супресорів, Т-гелперів, цитотоксичних Т-лімфоцитів.

Частина Т- і В-лімфоцитів, стимульованих антигеном, після 2 - 3 поділів переходить у стан спокою та слугує основою імунологічної пам'яті - здатності організму давати прискорені й посилені імунні реакції у відповідь на повторне введення антигену. Імунологічна пам'ять може зберігатися роками і властива як клітинному, так і гуморальному імунітету. Т-лімфоцити мають тривалішу імунологічну пам'ять.

Окрім Т- і В-лімфоцитів, в імуногенезі бере участь ще одна популяція лімфоцитів, яка виявляє цитотоксичні властивості. Це кілери (К-клітини, нульові клітини) і природні кілери (NK-клітини). Головна їхня ознака - відсутність основних поверхневих маркерів Т- і В-лімфоцитів.

Кілери виявляють антитілозалежну цитотоксичність. Вони лізують заражені вірусом клітини в присутності ІgG, бо мають рецептори для Fс-фрагмента антитіл.

Природні кілери здатні спонтанно знищувати пухлинні та заражені вірусом клітини без попередньої антигенної стимуляції. Це основні клітини організму, які здійснюють протипухлинний захист. Окрім спонтанної цитотоксичності, природні кілери беруть участь в антитілозалежному клітинно-опосередкованому цитолізі, експресуючи на своїй поверхні рецептори для Fс-фрагмента ІgG.

У противірусному імунітеті важливе значення мають макрофаги. Вони не тільки беруть участь у розпізнаванні, первинній обробці та представленні антигену Т-лімфоцитам. Макрофаги виконують самостійну важливу функцію звільнення організму від вірусних агентів. Вони здатні захоплювати цілі віріони, комплекси вірусів з антитілами, заражені клітини та перетравлювати їх за допомогою лізосомальних ферментів. Значно вища фагоцитарна активність відмічається в макрофагів, отриманих від імунних тварин. На відміну від Т- і В-лімфоцитів, дія макрофагів на віруси неспецифічна.

Макрофаги лімфатичних вузлів, селезінки, печінки, легень, кісткового мозку, внутрішньої стінки судин та інших органів здійснюють надзвичайно важливу бар'єрну функцію. Вони не пропускають вірус у кров і лімфу. Віремія виникає, якщо вірусу вдається подолати місцеві бар'єри макрофагів. Макрофаги забезпечують очищення крові, захоплюючи і перетравлюючи віріони. Особливо активні макрофаги в присутності специфічних антитіл, які опсонізують та аглютинують віруси і тим самим сприяють процесу їхнього фагоцитозу та дезінтеграції.

В імуногенезі важливу роль виконують антигенопрезентабельні клітини. Крім макрофагів, представляти антиген здатні В-лімфоцити і дендритні клітини, до яких належать фолікулярні відросткові клітини лімфатичних вузлів і селезінки, клітини Лангерганса шкіри, М-клітини лімфатичних фолікулів травного каналу й дендритні клітини тимусу.

Клітинний імунітет стосовно вірусів не обмежується участю лише імунокомпетентних клітин. Природою клітин, з якими взаємодіє вірус, визначається видовий (спадковий, вроджений) імунітет. В основі його лежить відсутність в організмі чутливих клітин, здатних забезпечити ранні стадії репродукції вірусу - адсорбцію, проникнення і депротеїнізацію. А сприйнятливіть клітин до вірусу у свою чергу зумовлюють два основні фактори: 1) наявність на поверхні клітин специфічних рецепторів; 2) присутність у клітинах ферментів, потрібних для депротеїнізації вірусу. Якщо якогось із цих чинників немає, клітини є нечутливими до вірусу.

Слід зазначити, що далеко не завжди спостерігається відповідність між вродженою несприйнятливістю до вірусів тварин іn vivo та резистентністю клітин їхніх тканин іn vitro. Наприклад, до вірусу кору чутливі клітини курячих фібробластів, нирки морської свинки і кроля, але спричинити експериментальну інфекцію кору у цих тварин не вдається. В організмі резистентних тварин складаються інакші взаємовідносини між вірусом і клітинами, ніж іn vitro, завдяки функції інших факторів видового імунітету (інгібітори, нормальна температура тіла тощо).

Видовий імунітет генетично детермінований і передається за спадковістю. Наприклад, тварини резистентні по вірусу вітряної віспи людини. До вірусу гепатиту В із тварин сприйнятливі лише шимпанзе. На африканську чуму свиней хворіють тільки свійські й дикі свині.

Існує різний ступінь напруженості видового імунітету - від абсолютної резистентності до відносної, яку можна подолати за допомогою різноманітних факторів: висока доза зараження, рентгеноопромінення, обробка кортизоном, зміна методу зараження при серійному пасажуванні, голодна дієта, охолодження тощо. Абсолютну резистентність кроля до вірусу грипу не вдається перебороти введенням високих доз вірулентних штамів. Вірус чуми свиней можна адаптувати до організму кроля тривалими серійними пасажами.

Видовий імунітет залежить від віку. Наприклад, до вірусу ящуру чутливі новонароджені білі миші та кролі, до вірусу кліщового енцефаліту - новонароджені морські свинки і білі щури, до вірусу саркоми Рауса - новонароджені кролі, морські свинки, білі щури, а дорослі тварини абсолютно резистентні до цих збудників.

На природну резистентність до вірусів істотний вплив мають, крім спадкових і вікових, гормональні фактори.

**3. Гуморальні фактори противірусного імунітету**

До гуморальних факторів противірусного імунітету належать антитіла, інгібітори, комплемент, інтерферон та інші медіатори імуногенезу, що знаходяться в сироватці крові, секретах слизових оболонок і тканинах організму.

**Антитіла**

Антитіла - це білки, що належать до імуноглобулінів, які синтезуються в організмі у відповідь на введення антигену і здатні специфічно взаємодіяти з ним. Антитіла виробляються В-лімфоцитами в тісній взаємодії з Т-лімфоцитами і макрофагами. Продукція антитіл підкоряється загальним закономірностям біосинтезу білків і відбувається на рибосомах плазматичних клітин під впливом антигенної стимуляції.

Розрізняють п'ять класів імуноглобулінів: ІgМ, ІgG, ІgА, ІgD та ІgЕ. У противірусному імунітеті головну роль відіграють імуноглобуліни класівIgM, IgG та IgА. їх виявляють у сироватці крові, секретах слизових оболонок, молозиві, молоці, слині, сльозах, спинномозковій рідині.

Імуноглобуліни сумарно становлять третину всіх білків сироватки крові людини і тварин. З них 70 - 85% припадає на ІgG, які мають важливе значення в гуморальному імунітеті, особливо в захисті від повторного зараження. Високий рівень ІgG є надійним показником стійкості організму до багатьох вірусних інфекцій і в першу чергу - до генералізованих (системних). ІgG - це єдині антитіла, що проходять через плаценту від матері до плоду і забезпечують пасивний імунітет новонародженої дитини.

ІgМ становлять 5 - 10% усіх сироваткових імуноглобулінів. Вони першими з'являються в організмі після антигенної стимуляції, отже, є антитілами первинної імунної відповіді. Виявлення ІgМ використовують для ранньої діагностики вірусних інфекцій.

ІgА становлять 10 - 15% сироваткових імуноглобулінів. Це основний клас антитіл, що знаходиться в секретах слизових оболонок респіраторного і травного каналів, молоці, слині, сльозах. Секреторні ІgА зумовлюють формування місцевого імунітету слизових оболонок і таким чином забезпечують захист від вірусів, які проникають в організм через дихальні шляхи або травний канал.

При введенні в організм тварини або людини антигену синтез специфічних антитіл розвивається в певному порядку. При первинному надходженні антигену першими з'являються ІgМ (на 3-тю - 5-ту добу від початку антигенної стимуляції), потім - ІgG (на 5 - 14-ту добу) і нарешті - ІgА (на 15-ту - 21-шу добу). У разі повторного введення антигену швидко й інтенсивно починають синтезуватися ІgG (пік синтезу припадає на 3-тю - 5-ту добу), а також ІgА. ІgМ з'являються так само, як при первинній імунній відповіді.

ІgD та ІgЕ знаходяться в сироватці в низькій концентрації (відповідно 0 - 1% і 0,002%). Їхнє значення в противірусному імунітеті ще не з'ясовано.

ІgD виявлені лише в людини. Вони зумовлюють розвиток аутоімунних процесів, тобто утворення антитіл до власних антигенів організму. Крім того, ІgD запобігають появі імунологічної толерантності - специфічної ареактивності організму щодо конкретного антигену.

ІgЕ (реагіни) синтезуються плазматичними клітинами слизових оболонок респіраторного й травного каналів і регіонарних лімфатичних вузлів людини, приматів та деяких видів лабораторних тварин. Вони відіграють важливу роль у виникненні алергії (гіперчутливості негайного типу). ІgЕ фіксуються на тучних клітинах і базофільних гранулоцитах. Під час взаємодії антигену з ІgЕ з тучних клітин виділяється гістамін та інші біологічно активні речовини, що зумовлює розвиток гострої запальної реакції, спрямованої на знешкодження інфекційного агента.

Будова антитіл. Імуноглобуліни різних класів мають свої структурні особливості. Вони можуть бути у вигляді мономерних або полімерних структур, що складаються з кількох субодиниць. Будову такої субодиниці (мономеру) наведено на рис. 1.

Молекула імуноглобуліну має форму літери Y. Вона складається з двох пар ідентичних симетрично розміщених поліпептидних ланцюгів, з'єднаних між собою дисульфідними зв'язками. За молекулярною масою ланцюги поділяються на важкі (Н-ланцюги, від англ.heavy - важкий) та легкі (L-ланцюги, від англ. 1іght - легкий). Важкі ланцюги мають п'ять класів - μ, γ, α, δ і ε, відповідно імуноглобуліни поділяються на п'ять класів: ІgМ, ІgG, ІgА, ІgD та ІgЕ. Крім того, в імуноглобулінів класів ІgМ, ІgG і ІgА виявлено підкласи важких ланцюгів, які визначають підкласи антитіл. Є чотири підкласи ІgG (ІgG1, ІgG2, ІgGЗ та ІgG4), два підкласи ІgМ (ІgМ1, ІgМ2) і два підкласи ІgА (ІgА1, ІgА2). Легкі ланцюги представлені двома типами - χ (капа) і λ (лямбда), які виявлені в імуноглобулінів усіх п'яти класів. У одній молекулі імуноглобуліну міститься лише один тип L-ланцюгів.

Кожний поліпептидний ланцюг складається з двох ділянок: С - константної (стабільної, постійної) та V - варіабельної (мінливої). Константна ділянка має однакові амінокислотні залишки в усіх антитіл даного класу (підкласу) і не бере участі у взаємодії з антигеном. Варіабельні ділянки L- і Н-ланцюгів утворюють два активні центри антитіла, що здатні специфічно зв'язуватися з антигенними детермінантами. Активний центр антитіла - це порожнина, утворена 10 - 20 амінокислотними залишками, в яку входить комплементарна за будовою антигенна детермінанта. Активний центр займає не більш як 2% поверхні антитіла і містить лише 1% усіх амінокислотних залишків молекули. Кількість активних центрів зумовлює валентність антитіла. Отже, різні за специфічністю антитіла, які належать до одного класу (підкласу), відрізняються лише за структурою варіабельної ділянки, що контактує з антигенними детермінантами.

Якщо молекулу імуноглобуліну обробити папаїном, то вона розпадеться на три фрагменти внаслідок руйнування пептидних зв'язків у шарнірній ділянці Н-ланцюгів: два Fаb-фрагменти (Fаb1, Fаb2) і один Fс-фрагмент. Fаb - фрагмент (від англ. Fragment antigen binding - антигенозв'язувальний фрагмент) складається з L-ланцюга та частини Н-ланцюга, містить один активний центр і здатний з'єднуватися з антигеном. Маючи вільну рухливість завдяки шарнірній ділянці Н-ланцюгів, Fаb - фрагменти можуть займати в просторі оптимальне положення для того, щоб зблизитися з антигенними детермінантами. Fс-фрагмент (від англ. Fragment crystalline - кристалічний фрагмент) складається з С-ділянок Н-ланцюгів. Він не має специфічної активності антитіл, а зв'язує комплемент і забезпечує фіксацію імуноглобуліну на клітинній плазматичній мембрані.

При обробці пепсином молекула імуноглобуліну ділиться на два фрагменти. Один із них - двовалентна ділянка F(аb) 2, що має властивість повного антитіла і здатна вступати у взаємодію з антигеном, а другий - Fс-фрагмент.

Як вже зазначалось, імуноглобуліни різних класів мають неоднакову структуру. ІgG представлені мономерами з двома активними центрами (див. рис. 1). ІgМ є пентамерами, утвореними п'ятьма субодиницями, що з'єднуються j-ланцюгом (від англ. joining chain - сполучний ланцюг; рис. 2). Отже, ІgМ мають 10 активних центрів і можуть зв'язувати 5-10 антигенних детермінант. Це залежить від величини антигену, що пояснюється стеричним обмеженням через недостатню гнучкість молекули ІgМ. Сироваткові ІgА можуть бути в різних формах: в основному у вигляді мономерів, а також димерів або полімерів (8- і 10-мерні форми). Відповідно ІgА мають 2, 4, 16 або 20 активних центрів. Субодиниці в полімерних молекулах ІgА з'єднує j - ланцюг. Секреторний ІgА існує в димерній формі й містить додатковий структурний компонент - SС (від англ. secretory component - секреторний компонент), який синтезується епітеліальними клітинами (рис. 3). Секреторний ІgА не піддається дії протеолітичних ферментів. ІgD та ІgЕ є мономерами.

При з'єднанні антигену з антитілом відбувається взаємодія між антигенною детермінантою та активним центром імуноглобуліну. В основі цієї специфічної взаємодії лежить просторова комплементарність. Антиген та антитіло досить міцно утримуються разом фізичними зв'язками - ван-дер-ваальсовими та водневими силами міжмолекулярного притягання.

Антитіла характеризуються високою специфічністю стосовно антигенів. Але вони не складають абсолютно однорідної популяції та в значній мірі відрізняються за міцністю зв'язування з одним і тим самим антигеном. Міцність сполучення антитіла з антигеном характеризується такими поняттями, як афінність та авидність. Афінність (афінітет) - це міцність зв'язування активного центра імуноглобуліну з антигенною детермінантою, що залежить передусім від їхньої стеричної комплементарності. Афінність антитіл зростає в процесі імунізації. Високоафінні антитіла виробляються при використанні оптимальних схем імунізації з інтервалами, достатніми для зниження рівня синтезованих раніше антитіл, які мають інгібувальний вплив на антигенну стимуляцію. Авидність - це міцність зв'язування цілої молекули імуноглобуліну з антигеном, що визначається афінністю, а також валентністю антитіла й антигену, тобто кількістю залучених у реакцію активних центрів імуноглобуліну та антигенних детермінант. Чим вища авидність, тим міцніші комплекси антиген-антитіло з меншою тенденцією до дисоціації. ІgМ хоч і мають низьку афінність, але завдяки полівалентності можуть ефективно зв'язувати антигени з численними епітопами на ранніх стадіях імунної відповіді. Разом з тим слід пам'ятати, що ІgМ властива менша нейтралізувальна активність порівняно з ІgG.

Специфічні антитіла нейтралізують інфекційну активність вірусу. Механізми вірусонейтралізувальної дії антитіл різноманітні. Антитіла сполучаються з вірусними прикріпними білками, що знаходяться на поверхні віріона, блокують їх, унаслідок чого вірус втрачає здатність адсорбуватися на чутливій клітині. Оскільки вірусні прикріпні білки представлені в множинних копіях, для їхньої просторової блокади потрібне приєднання до одного віріона кількох молекул антитіл. Наприклад, адсорбції одного віріона вірусу ньюкаслської хвороби запобігають не менше ніж 4-6 молекул антитіл, а адсорбцію фага на бактеріях - 2-4 молекули антитіл. Зв'язані з недостатньою кількістю молекул антитіл віруси можуть прикріпитися до клітини і спричинити інфекційний процес.

За останніми даними, антитіла здатні змінювати просторову організацію поверхневих вірусних білків. Одна молекула антитіла перехресно реагує з двома епітопами капсомера, зумовлюючи конформаційну перебудову всієї структури капсиду просто організованих вірусів. Це порушує взаємодію вірусу з клітинними рецепторами або блокує звільнення вірусного геному після проникнення віріона в цитоплазму. У складно організованих вірусів взаємодія антитіл із суперкапсидними білками (глікопротеїнами) інгібує не тільки адсорбцію, а й запобігає злиттю суперкапсидної оболонки з плазмолемою або мембраною рецептосоми і звільненню нуклеокапсиду в цитоплазму.

Антитіла здатні склеювати вібріони в конгломерати, що сприяє їхньому фагоцитозу. Опсонізація та аглютинація вірусів антитілами має фундаментальне значення для усунення вірусемії. Очищення крові від вірусів під дією антитіл значно прискорюється.

Вірусонейтралізувальна дія антитіл посилюється в присутності комплементу, який приєднується до Fс-фрагмента антитіла, зв’язаного з антигеном, і створює додаткові стеричні перешкоди для вірусних прикріпних білків. Це особливо важливо при низькому титрі антитіл, які можуть лише частково блокувати прикріпні білки. Комплекси вірус-антитіло або вірус-антитіло-комплемент затримуються в бар’єрних органах (лімфатичні вузли, печінка, селезінка та ін.) і підлягають деструктивній дії макрофагів і ферментів. У присутності комплементу антитіла можуть спричинити лізис складно організованих вірусів унаслідок необоротних конфірмаційних змін структури глікопротеїнів.

Нейтралізувальна дія антитіл спрямована не тільки на екстра целюлярний (позаклітинний) вірус. Антитіла здатні спричинити елюцію віріонів, які адсорбувалися на чутливій клітині, але лише на ранній стадії інфекції, поки ще не відбулася повна і необоротна адсорбція. У перші 15 - 30 хв після прикріплення вірусу до рецепторів клітини при +37оС антитіла можуть нейтралізуватися від 40 до 70% адсорбованого вірусу. У результаті такої дії відбувається десорбція віріона із плазмолеми, що запобігає проникненню вірусу всередину клітини та наступному розвитку інфекції.

Внутрішньоклітинний вірус є недоступним для антитіл. Вони не можуть вплинути на внутрішньоклітинні стадії репродукції вірусу. Однак антитіла разом із комплементом здатні здійснити лізис заражених клітин, якщо на поверхні інфікованих клітин локалізовані вірусні антигени. Це можуть бути синтезовані вірусні глікопротеїни або віріони потомства, які виходять із клітини (передусім брунькуванням). Взаємодіючи з вірусними антигенами, локалізованими на плазмолеми, антитіла спричинюють комплементозалежний лізис заражених клітин на стадіях, що передують появі віріонів потомства, і таким чином переривають процес репродукції вірусу. Крім того, антитіла залучаються в інші антитілозалежні цитотоксичні реакції за участю К-клітин і природних кілерів, які містять рецептори для Fс-фрагменту IgG.

Сполучення вірусу з антитілами має зворотний характер, і за впливу певних фізичних або хімічних факторів із нейтральної суміші можна виділити інфекційний вірус. У експериментальних умовах це досягається розбавлянням суміші значною кількістю 0,9%-го розчину NaCl, ультрацентрифугуванням, обробкою ультразвуком, ферментами, адсорбцією на каоліні, гельфільтрацією на сефадексі, зниженням рН середовища та ін. Така ре активація вірусу зумовлена низькою авидністю антитіл, особливо ранніх, які легко дисоціюють з імунних комплексів, зберігаючи інфекційну активність. Проте в зоні фізіологічних значень рН та йонних концентрацій імовірність ре активації вірусів незначна (менш як 0,1%).

Результати взаємодії вірусу з антитілами визначають за допомогою серологічних реакцій. Серед них еталонною є реакція нейтралізації на біологічних об’єктах (культурі клітин, курячих ембріонах або лабораторних тваринах), оскільки в ній беруть участь проективні антитіла, що нейтралізують інфекційну активність вірусу. Антитіла, які взаємодіють в інших серологічних реакціях (РЗГА, РЗК, РДП, ІФА тощо), мають передусім діагностичне значення. Їхній титр не завжди корелює з титром вірусонейтралізувальних антитіл.

Антитіла відіграють дуже важливу роль у противірусному імунітеті, як активному, так і пасивному. Активний імунітет розвивається внаслідок перенесеної інфекції або вакцинації. Пасивний імунітет створюється передаванням готових антитіл від імунних матерів потомству різними шляхами: через плаценту (у людини, мавп, кролів і морських свинок), молозивом (у жуйних тварин, свиней і коней) або обома зазначеними способами (у собак, котів, щурів і мишей). У птахів материнські антитіла передаються трансоваріально через жовток. Пасивний імунітет можна створити введенням в організм імунних сироваток або виділених із них чи молозива імуноглобулінів.

При багатьох вірусних хворобах встановлено пряму залежність між титрами гуморальних антитіл і резистентністю до зараження. Це стосується насамперед генералізованих інфекцій, які супроводжуються вірусемією (кір, кліщовий енцефаліт, поліомієліт, ньюкаслська хвороба, чума ВРХ, чума свиней та ін.). Збігання строків видужання з появою специфічних антитіл у високих титрах використовується для серологічної (ретроспективної) діагностики при дослідженні парних сироваток крові, взятих на початку і наприкінці хвороби. Зростання кількості гуморальних антитіл у результаті вакцинації об’єктивно відображує ефективність проведених щеплень. Титр антитіл, який є критерієм резистентності до епізоотичного штаму того чи іншого вірусу, залежить у кожному конкретному випадку від властивостей самого збудника і використовуваної серологічної реакції. Так, при грипі птиці показником імунітету є титри сироваткових антитіл 1:16 у РЗГА і 1:2…1:4 у РН, при інфекційному рино трахеїті ВРХ - 1:2…1:4 у РН і 1:236 у РНГА, при чумі ВРХ - 1:10 у РН і РЗК.

Гуморальний імунітет визначають за наявністю в сироватці крові антитіл переважно класу IgG. Але в противірусному імунітеті важливу роль відіграють секреторні антитіла класу IgA, які забезпечують місцевий імунітет слизових оболонок, дихальних шляхів й травного каналу і нейтралізують вірус у місці проникнення. Це особливо важливо при осередкових інфекціях (грип, пара грип-3 ВРХ, рота- і корона вірусний ентерити ВРХ), коли основна репродукція збудника відбувається біля вхідних воріт. Для індукування значної кількості секреторних антитіл потрібна місцева імунізація, оскільки вони продукуються плазматичними клітинами підслизового шару. Класичним прикладом є вакцинація проти поліомієліту. Парентеральне введення інактивованої вакцини Солка індукує продукцію гуморальних антитіл класів ІgG і ІgМ, які запобігають проникненню вірусу в ЦНС, але не перешкоджають його репродукції в клітинах слизової оболонки тонких кишок. Пероральне введення живої вакцини Сейбіна стимулює синтез не лише гуморальних, а й секреторних антитіл класу ІgА в слизовій оболонці травного каналу (особливо тонких кишок), які блокують репродукцію «диких» штамів вірусу поліомієліту. При вірусних інфекціях не завжди має місце кореляція між титрами гуморальних і секреторних антитіл.

Важливе значення антитіл у противірусному імунітеті переконливо підтверджують успіхи серопрофілактики і серотерапії вірусних інфекцій. Розвитку багатьох із них (наприклад, кір, кліщовий енцефаліт, поліомієліт, чума м'ясоїдних) можна запобігти введенням специфічних імуноглобулінових препаратів, здатних створити в організмі достатню концентрацію антитіл. Лікувально-профілактичний ефект відмічається лише за умови їхнього раннього застосування (в інкубаційному періоді). При появі перших симптомів захворювання введення навіть великих доз імуноглобуліну не в змозі перервати інфекційний процес. Ефективність дії імуноглобулінових препаратів залежить не лише від концентрації антитіл, дози, способу введення і часу застосування після зараження, а й від видової належності. Сироватки гомологічного походження дають кращий ефект, ніж гетерологічні, що пов'язане з імунною елімінацією чужорідних сироваткових білків. Лікувально-профілактичну дію імуноглобулінів поєднують із вакцинацією, зокрема при сказі. У ветеринарній практиці для профілактики пневмоентеритів телят успішно застосовують гіперімунні сироватки, сироватки реконвалесцентів або виділені з них імуноглобуліни проти парагрипу-3, інфекційного ринотрахеїту, вірусної діареї, респіраторно-синцитіальної та аденовірусної інфекцій ВРХ.

Антитіла, пасивно набуті або синтезовані у відповідь на вірусну інфекцію чи вакцинацію, мають певну тривалість життя. Період напіврозпаду антитіл в організмі, коли їхня кількість знижується вдвічі, залежить від виду та віку тварини і класу імуноглобулінів. Так, у людини період напіврозпаду ІgG становить 21 добу, ІgM - 5 діб, ІgА - 6 діб, ІgD - 3 доби та ІgЕ - 2 доби. У великої рогатої худоби період напіврозпаду ІgG - 21 доба, у собак - 8 діб, у кролів - 7 діб, у мишей - 3 доби.

Пасивний імунітет короткочасний - 10-15 діб. При використанні молозива імунних матерів він може відповідати строку підсосного періоду. Це залежить від титру антитіл і кількості молозива, спожитого новонародженими в перші дні життя. Тривалість активного імунітету зумовлена багатьма факторами, зокрема імуногенністю вірусу та імунологічною реактивністю організму. Після припинення антигенної стимуляції титр антитіл поступово знижується. Коли він досягне низького рівня, організм стає сприйнятливим до зараження.

Тривалість і напруженість противірусного імунітету після перехворювання бувають різними. При багатьох генералізованих інфекціях створюється надійний захист від повторного зараження на багато років і навіть довічно (наприклад, при натуральній віспі, кору, чумі м'ясоїдних). При осередкових інфекціях (парагрип-3 і РС-інфекція ВРХ) імунітет короткочасний, утрачається через кілька місяців, у зв'язку з чим можливі повторні захворювання. При багатьох інфекціях імунітет нестерильний: не запобігає персистенції вірусів у організмі (наприклад, герпесвірусна інфекція людини, вірусна діарея ВРХ, інфекційний ринотрахеїт ВРХ, хвороба Ауєскі).

Моноклональні антитіла. В організмі ссавців функціонує значна кількість клонів лімфоцитів (107 - 109), кожен з яких виробляє антитіла одного класу з вузькою специфічністю. Антитіла, що синтезуються одним клоном, однорідні за властивостями, мають однакову спорідненість до антигену і зв'язуються лише з однією антигенною детермінантою. Такі антитіла називають моноклональними. Виняткова специфічність моноклональних антитіл визначає високу чутливість тих біохімічних процесів, у яких вони беруть участь.

Отримання моноклональних антитіл відкриває широкі можливості й перспективи не тільки в діагностичній практиці при ідентифікації збудників, а й при аналізі структури епітопів вірусів, очищенні антигенів, складанні антигенних карт поверхневих білків і встановленні локусів антигенних детермінант, створенні антиідіотипових і субодиничних вакцин, які отримують молекулярним клонуванням або хімічним синтезом, при лікуванні деяких вірусних хвороб і дослідженні імунної системи організму.

Для отримання моноклональних антитіл проти певної антигенної детермінанти потрібно від імунізованої тварини ізолювати відповідну антитілотвірну плазматичну клітину, а потім розмножити її іn vitro. Проте плазматичні клітини не здатні до проліферації й тривалого життя іn vitro. Подолати цей бар'єр вдалося створенням гібридних клітин (гібридом), які продукують антитіла певної специфічності.

В основу гібридомної технології покладено здатність нормальних плазматичних клітин імунного організму зберігати продукцію антитіл після злиття з перещеплюваними клітинами мієломи (злоякісної пухлини мишей або щурів, що складається з плазматичних клітин у стадії проліферації). Внаслідок злиття утворюються клітини з двома або більшою кількістю ядер - гетерокаріони. Після першого поділу ядра зливаються і формується одне з набором хромосом від усіх партнерів.

Першу гібридому створено в 1975 р. Дж. Келером (Німеччина) і Ц. Мільштейном (Велика Британія) злиттям плазматичних клітин селезінки мишей, попередньо імунізованих еритроцитами барана, з клітинами мієломи мишей. Отримана таким чином гібридна лінія клітин успадкувала батьківські властивості: здатність до утворення специфічних антитіл (проти еритроцитів барана), безкінечного розмноження іn vitro та пухлинного росту іn vivo.

Для отримання гібридом проводять злиття близько 108 спленоцитів імунізованої тварини з (1…5) х 107 перещеплюваними клітинами мієломи. Клітини асоціюються випадково, тому за відсутності допоміжних факторів (поліетиленгліколь, ліпіди і ліпоподібні речовини) тільки один із 107 спленоцитів утворює гібрид із мієломною клітиною.

Біотехнологія отримання моноклональних антитіл передбачає, з одного боку, гарантовану елімінацію мієломних клітин, які не злилися, а також гібридів, що утворилися внаслідок злиття пухлинних клітин. З другого боку, серед отриманих гібридом ідентифікують ті клони, які продукують антитіла певної специфічності.

**Література**

вірус антиген імунітет клітина

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибицький В.Г. Ветеринарна вірусологія: Підручник. - К.: «Вища освіта», 2004. - 432 с.

. Сюрин В.Н. и др. Ветеринарная вирусология. - М.: «Колос», 1984.

3. Сюрин В.Н. и др. Діагностика вирусных болезней животных. - М.: «Агропромиздат», 1991.