

РОЗДІЛ 3. АНТИГЕНИ. МОЛЕКУЛЯРНА СТРУКТУРА І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

Функціональні елементи імунної системи здатні розпізнати будь-який чужорідний матеріал (чужі клітини і тканини, бактерії, найпростіші, віруси, окремі біополімери) та розгорнути ланцюг відповідних реакцій, що приведуть до його знищення або елімінації. Для цього вони проникають у будь-яку ділянку організму, де за допомогою спеціальних рецепторних структур розпізнають, аналізують кожну клітину та реагують не тільки на чужі клітини та їх скупчення, а й на чужі молекули і невеликі хімічні угруповання, якщо вони не є звичайною складовою клітин свого організму.

Чужорідні або змінені "свої" структури, проти яких розвивається реакція імунної системи, є антигенами. **Антигени** – це біополімери, що знаходяться в складі структурних елементів клітин або відділені від них, які здатні викликати імунні реакції: синтез антитіл, активацію клітинного імунітету, підвищену чутливість, імунну пам'ять або імунологічну толерантність.

Антигенами є органічні речовини мікробного, рослинного і тваринного походження. Хімічні елементи, прості та складні неорганічні сполуки антигенність не проявляють. Антигенами можуть бути як шкідливі, так і нешкідливі для організму речовини. Антигенами є віруси, бактерії, гриби, найпростіші, клітини і тканини, що потрапили в організм внаслідок інфекції, ін'єкції або трансплантації, а також клітинні стінки, цитоплазматичні мембрани, рибосоми, мітохондрії, окремі біополімери, що входять до їх складу, мікробні токсини, екстракти гельмінтів, отрути змій і комах, природні білкові речовини, деякі полісахариди мікробного походження, рослинні токсини. Вірусні частинки, бактеріальні та тваринні клітини містять у своєму складі велику кількість різноманітних за хімічною природою біополімерів, а тому є складними, комплексними антигенами. Різноманітність антигенів у природі зростає за рахунок того, що багато субстанцій набувають антигенних властивостей у суміші або при з'єднанні з іншими речовинами.

Оскільки природні антигени, як правило, досить складні за хімічною структурою, вони викликають одночасно не один, а кілька видів специфічної імунної відповіді, хоча зазвичай у нормальних тварин домінує один із них. Відповідь залежить від цілого ряду факторів: видових та індивідуальних (стать, вік, генетичний статус) особливостей тварин, а в разі інфекції – і від біологічних властивостей збудника.

Існує функціональна відмінність між поняттями "антиген" та "імуноген". Антигеном є будь-який агент, що специфічно зв'язується із функціональними елементами імунної відповіді, наприклад рецепторами лімфоцитів та антитілами. Імуногеном є будь-який агент, здатний індукувати імунну відповідь. Відмінності між цими поняттями

важливі, оскільки багато субстанцій не здатні самостійно індукувати імунну відповідь, але можуть зв'язуватися з антитілами чи рецепторами лімфоцитів, які були специфічно індуковані. Таким чином, усі імуногени є антигенами, але не всі антигени можуть бути імуногенами. Ця різниця є особливо значущою для низькомолекулярних субстанцій, таких як антибіотики, деякі лікарські препарати, наркотики, токсичні речовини, окремі хімічні радикали. Вони не здатні самостійно викликати імунну відповідь, але набувають цієї здатності після кон'югації з високомолекулярними, наприклад білковими молекулами, або в суміші з деякими речовинами. Такі субстанції називають **гаптенами**. Структура, з якою кон'югують гаптен, називають *носієм*, а антигени в цьому разі називають *кон'югованими*. Гаптенами також можуть бути речовини складної хімічної природи з великими молекулярними масами: деякі бактеріальні полісахариди, регулярні поліпептиди, нуклеїнові кислоти, ліпіди.

Існує поділ антигенів на *повні антигени* – ті, що здатні самостійно індукувати синтез специфічних антитіл і взаємодіяти з ними *in vitro* та *in vivo*, та *неповні антигени* (гаптени) (рис. 24). Гаптени є частиною повного або кон'югованого антигену. Антитіла, що утворюються до кон'югату білка з гаптенем, можуть також реагувати і з вільними гаптенами. Імунну відповідь індукують лише повні антигени. Гаптени імунної відповіді не викликають, але вони взаємодіють із сироватками, які містять специфічні до них антитіла.

Деякі бактеріальні субстанції, в тому числі і макромолекулярні, в ізольованому вигляді не антигенні, але антигенні у складі бактеріальної корпускули, де вони включені в полімерні структури (капсульна речовина палички – збудника сибірської виразки, яка складається з полі-D-глутамінової кислоти, не антигенна в очищеному вигляді, але антитіла до неї утворюються при імунізації кролів суспензією бактерій сибірки).

Ефектори імунної відповіді (антигенрозпізнавальні рецептори лімфоцитів, антитіла) взаємодіють не з усією площею молекули біополімеру, а лише з її невеликими ділянками, утвореними кількома залишками амінокислот або вуглеводів. Тому повні антигени у складі своєї молекули містять, як правило, не одну, а кілька таких однотипних груп – *антигенних детермінант* або *epitopes*. Такі антигени є полівалентними. Неповні антигени (гаптени) зазвичай мають лише одну детермінантну групу, тому вони моновалентні (рис. 25).

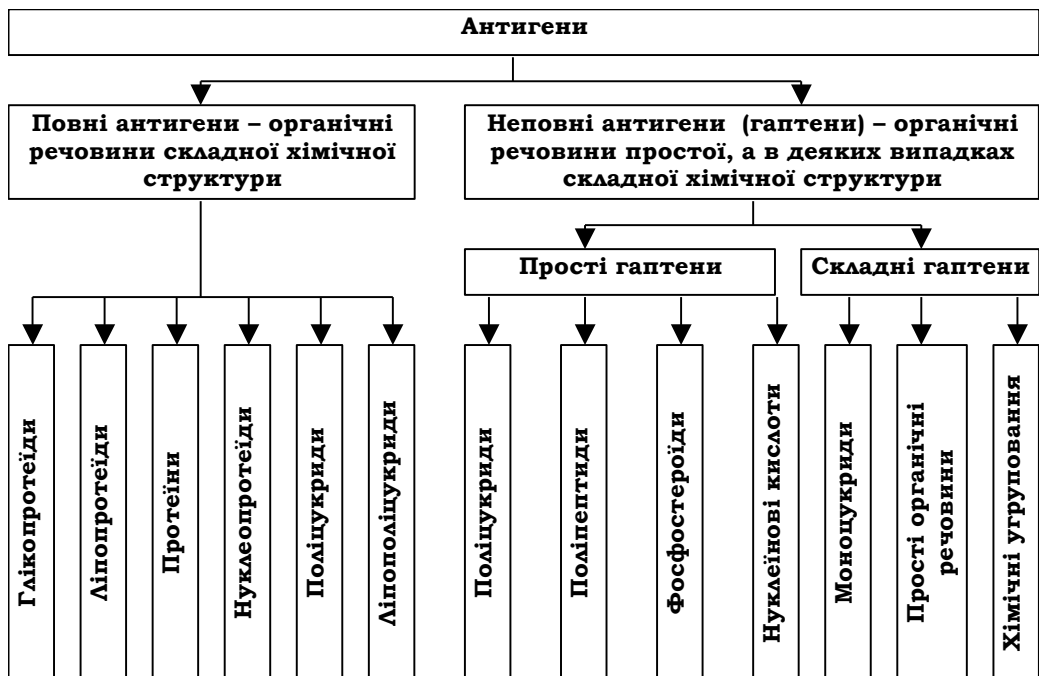


Рис. 24. Класифікація антигенів

Антигенність визначається переважно хімічним складом і структурою антигену, а імуногенність, крім того, зумовлена індивідуальною імунологічною реактивністю організму і його видовою належністю.

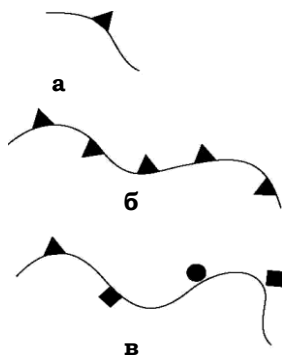


Рис. 25. Уявлення про деякі можливі антигенні структури, що містять один або багато епітопів: а – один епітоп; б – багато епітопів однієї специфічності; в – багато епітопів різних специфічностей

3.1. АНТИГЕННІСТЬ РЕЧОВИН І ВИДОВІ ОСОБЛИВОСТІ РЕЦИПІЄНТА

Антигенність речовин, крім їх фізико-хімічних властивостей, зумовлюється й іншими факторами, зокрема вона залежить від видових та індивідуальних особливостей реципієнта.

1. Сила антигену пропорційна частці імунокомпетентних клітин у лімфоїдній тканині реципієнта, здатних реагувати на цей антиген. Чим менше клітин, реактивних до цього антигену, тим він слабкіший. Контроль за імунологічною реактивністю кожної окремої особини здійснюють гени імунної відповіді (IR-гени), що локалізуються в головному комплексі гістосумісності – МНС.

2. Антигенність речовин залежить від виду тварин: чим далі у філогенетичному відношенні перебувають види тварин, тим більш взаємочужорідними є їх тканини і тим вони більш антигенні. Наприклад, кролі утворюють у високих титрах преципітуючі антитіла до сироваток котів. Преципітини до сироватки курей значно легше отримати імунізацією кролів, ніж качок. Різні види тварин і окремі особини одного виду розпізнають різні детермінанти на молекулі одного антигену. Так, гвінейські свинки однієї генетичної лінії синтезують антитіла на детермінанти N-кінцевої, а другої лінії – на детермінанти C-кінцевої частини молекули інсуліну. Для одних видів тварин одна й та сама субстанція може бути високоантигенною і зовсім не антигенною для інших. Стрептокок, збудник пневмонії, індукує синтез специфічних антитіл у мишей, котів, собак і людини, але не спричинює утворення антитіл у щурів, гвінейських свинок і кролів. Декстрини є антигенними для людини, але не для кролів.

3. Білки, що виконують однакові функції в організмі різних тварин, мають відносно низький ступінь антигенності через подібність їхніх хімічних структур. Так, гемоглобін ссавців зазвичай не викликає утворення антитіл у людини, проте антисироватки до нього можна отримати імунізацією птахів.

3.2. ХІМІЧНА ПРИРОДА АНТИГЕНІВ

Антигенами є чужорідні для реципієнта речовини, насамперед білки, полісахариди, меншою мірою – нуклеїнові кислоти та ліпіди, їх комплекси, а також синтетичні аналоги цих біополімерів (табл. 11).

Речовини зі складною хімічною структурою, зокрема **білки**, мають більш високу антигенність. Антигенні властивості білків у 1897 р. відкрив Р. Краус. Більшість білків тваринного походження, мікробні екзотоксини, які є білками, а також деякі рослинні білки мають виражені антигенні властивості.

Таблиця 11. Походження і хімічна природа антигенів

Хімічні сполуки	Походження
-----------------	------------

Білки	Білки сироватки крові, ферменти, структурні білки рослин, бактерій, вірусів, найпростіших, мікробні екзотоксини
Поліпептиди	Гормони, структурні поліпептиди бактерій, вірусів, найпростіших, синтетичні поліпептиди
Ліпопротеїни	Ліпопротеїни клітинних мембран
Глікопротеїни	Групові антигени крові <i>H, A, B</i>
Полісахариди	Структурні елементи клітинних стінок і капсул бактерій
Ліпополісахариди	Структурний елемент зовнішньої мембрани клітинної стінки грамнегативних бактерій – ендотоксин бактерій
Нуклеїнові кислоти	Одноланцюгові ДНК, денатуровані ДНК та РНК, нуклеопротеїни, синтетичні олігонуклеотиди

Такі білки тваринного походження, як сироватковий альбумін, глобуліни, ферменти, є добрими антигенами. Одночасно деякі тваринні білки, наприклад кератин, желатин, казеїн, фібриноген, є слабкими антигенами. Для багатьох видів ссавців сильними антигенами є білки рослинного походження, наприклад глютеніни. Мікробні екзотоксини (дифтерійний, правцевий, ботуліністичний, гангренозний) характеризуються дуже високою антигенністю. Під впливом формаліну вони перетворюються на анатоксини, тобто втрачають токсичність, зберігаючи при цьому антигенність. Це дає змогу отримати специфічні до них імунні сироватки з високими титрами антитіла імунізацією тварин високими дозами анатоксину. Такі сироватки повністю нейтралізують токсини, тому їх використовують для лікування дифтерії, правця, ботулізму, газової гангрені. Крім зазначених, використовуються сироватки, що нейтралізують токсини змій, павуків, отруйних грибів.

Антигенність властива не лише продуктам природного синтезу, а й деяким синтетичним полімерам. Для поліпептидів, побудованих із *D*-ізомерів амінокислот характерна низька антигенність, а у великих дозах вона зовсім відсутня. Відсутність антигенності в пептидів, що складаються з *D*-амінокислот, можливо зумовлюється тим, що в макрофагах немає претеолітичних ферментів для розщеплення таких білків. Однак *D*-тирозин за антигенністю не відрізняється від *L*-тироzinу. Імунну відповідь у кролів отримано щодо поліпептиду, який складається з *D*-тироzinу, *D*-лізину і *D*-глутамінової кислоти. Поліпептид, основний ланцюг якого складається з *L*-амінокислот, а бічні – з *D*-амінокислот, має слабку імуногенність.

Порівняно з білками **полісахаридам** у чистому вигляді рідко притаманні антигенні властивості. Ці властивості полісахариди проявляють у складних сполуках із білками та ліпідами, а очищені полісахариди поводять себе як гаптени. Антигени полісахаридної природи

мають велике значення, оскільки вони входять до складу капсули і клітинної стінки бактерій, визначаючи їх антигенну специфічність. Виражені антигенні властивості мають полісахариди рослинного походження. Крім того, полісахариди є складовою частиною цитоплазматичної мембрани тваринних клітин і значною мірою впливають на формування їх антигенної структури. Вуглеводні компоненти складних білків також мають суттєвий вплив на їх антигенність. Більшість полісахаридів стійкі до розщеплення ферментами, а це є одним із суттєвих факторів прояву антигенних властивостей усіх біополімерів.

Капсульні полісахариди мають суттєвий вплив на прояв антигенних властивостей бактерій. Для мишей, великої рогатої худоби і людини капсульні полісахариди пневмококів мають властивості повноцінних антигенів. Вони стимулюють синтез антитіл, що зумовляють виражений протективний ефект. На основі антигенних властивостей капсульних полісахаридів ідентифіковано понад 70 сероваріантів пневмококів.

Антигенні властивості притаманні і *полісахаридам тваринного походження*, наприклад глікогену, речовинам, що визначають групи крові людини. Для людини, гвінейських свинок і кролів антигенними й алергенними є також полісахариди аскарид і трихітел.

Ліпіди в очищеному вигляді, очевидно, не антигенні, але деякі білково-ліпідно-ліпополісахаридні комплекси втрачають антигенність при відщепленні ліпідів. При імунізації кролів клітинами кишкової палички, обробленими спочатку кислотою, а потім ліпідом А, вдається отримати антитіла до ліпиду.

Деякі стероїди й фосфоліпіди можуть бути гаптенами. У комплексі з білками як гаптенні субстанції, що індукують синтез специфічних антитіл, можуть функціонувати такі ліпіди, як кардіоліпін, холестерин, лецитин, кефалін. Антитіла до кардіоліпіну дають перехресні реакції з антигенами збудника сифілісу, що дає змогу застосувати їх для діагностики цієї хвороби. Імунні сироватки, що реагують із лецитином і холестерином, отримано при імунізації тварин цими ліпідами в суміші із сироваткою свині.

Нуклеїнові кислоти, як правило, не імуногенні, але антигенні в комплексі з метильованим альбуміном, який, очевидно, захищає їхню молекулу від розщеплення ферментами. Антитіла до нуклеїнових кислот можна одержати при імунізації тварин нуклеопротеїнами або нуклеїновими кислотами, ковалентно зшитими з білком-носієм. Такі антитіла реагують із нетиповими формами: дволанцюговою РНК, денатурованою або одностанцюговою ДНК. Синтетичні дволанцюгові дезоксирибонуклеотиди є добрими імуногенами. При деяких захворюваннях (вірусних, системній червоній вовчанці, множинній мієломі) в сироватці крові людини з'являються антитіла проти РНК та нативної дволанцюгової ДНК.

3.3. ГЕНЕТИЧНА ЧУЖОРІДНІСТЬ

Кожному індивідууму властива генетично детермінована специфічність і стабільність фізико-хімічної будови макромолекул речовини, а отже, і набору антигенів. Імунна система є своєрідним "відділом технічного контролю", який стежить за тим, щоб в організмі зберігалися лише макромолекули і клітини, що відповідають заданій генетичній програмі. Традиційно антигени визначають як речовини, які несуть ознаки генетично чужорідної інформації і при введенні в організм зумовляють імунологічні реакції, а імунітет – як спосіб захисту організму від живих тіл і речовин, що несуть на собі ознаки чужорідної генетичної інформації. Механізм такого захисту полягає в тому, що імунна система організму толерантна до власних структур, а екзогенні речовини, що потрапили в організм, так само, як і власні макромолекули, змінені внаслідок мутацій, генетичних помилок і пошкоджуючих впливів, є для неї чужорідними, а тому руйнуються і видаляються.

Отже, першою умовою антигенності речовини є її генетична чужорідність (табл. 12).

Таблиця 12. Класифікація антигенів

Тип антигенів	Приклади	Роль у розвитку патологічного процесу, фізіологічна функція
Аутоантигени	Органоспецифічні антигени (щитоподібна залоза, кришталик, сім'яники, клітини ЦНС)	Аутоімунні хвороби
Ідіотипічні антигени	Імуноглобулін-специфічні антигени антитіл, синтезованих одним клоном В-клітин	Регулювання синтезу антитіл, переключення класів
Алоантигени (ізоантигени)	Антигени гістосумісності, груп крові особин одного біологічного виду	Реакції трансплантаційного імунітету, гемолітична хвороба новонароджених
Ендогенні та ксеногенні антигени	Антиген Форсмана, ниркові та серцеві антигени, що реагують перехресно з антигенами бета-гемолітичного стрептокока	Роль у патогенезі гломерулонефриту, колагенозів
Антигени різного походження	Мікроби, їжа, пилок, ліки, тощо	Інфекційні та алергічні захворювання

Антигенні відмінності існують між видами та окремими особинами всередині виду, в тому числі між батьками та їх нащадками. Лише у

штучно виведених інбредних лініях тварин і при спеціальному кло-нуванні тканин, органів та організмів за найсучаснішими технологіями антигенні відмінності між окремими особинами виду зникають.

Речовина є антигенною для даної тварини тоді, коли вона генетично чужорідна для її лімфоїдної системи. Ступінь чужорідності – важливий фактор імуногенності антигену. За фізико-хімічною структурою антигени відрізняються від подібних речовин реципієнта. Якщо у складі чужорідних речовин є хімічні структури, спільні зі структурами тканин реципієнта, їхня антигенність знижується. Субстанції, хімічно подібні до власних, слабкоантигенні або ж не антигенні зовсім. Так, на ізоантигени імунна відповідь буває слабкою за винятком антигенів гістосумісності. Гемоглобін та інсулін різних видів тварин слабкоантигенні через подібність їхньої хімічної структури. Речовини не антигенні для власного організму та інших особин інбредної лінії. Однак таке ствердження справедливе лише щодо речовин, які циркулюють у крові і контактують із лімфоїдними клітинами. Казеїн, що синтезується в молочній залозі і в нормі не надходить у кров, антигенний для того організму, в якому він синтезувався. Тому антитіла до казеїну в сироватці крові виявляють у жінок, які раптово припинили годувати дитину грудним молоком, що зумовило надходження казеїну у кров. Речовини деяких тканин і органів, які за нормальних умов не контактують із клітинами лімфоїдного апарату (кришталік, щитоподібна залоза), у разі пошкодження бар'єрних механізмів стають антигенними для власного організму, тобто є аутоантигенами. Однак у нормі антитіла можуть синтезуватися проти власних "незабар'єрних" структур, наприклад проти ідіотипових детермінант молекул імуноглобулінів.

Антигенні речовини можуть з'являтися в організмі при зміні нормальної структури власних макромолекул під дією деяких фізичних факторів (холодові та опікові антигени), мікробних токсинів і внаслідок вікових змін і мутацій. Навіть незначні зміни структури речовини можуть трансформувати її в антиген для власного організму. Наприклад, ацетилювання сироваткового альбуміну кроля перетворює його на антиген для цього виду тварин.

3.4. МАКРОМОЛЕКУЛЯРНІСТЬ

Антигени – це, як правило, високомолекулярні речовини, молекулярна маса яких становить десятки і сотні тисяч дальтон. Для речовини одного класу між розмірами молекули та її антигенними властивостями існує пряма залежність. Декстрини, які мають молекулярну масу нижче 100 000, не антигенні. Антигенні властивості притаманні білкам із молекулярною масою, як правило, вище 10 000, і при її збільшенні антигенність підвищується. У прямій залежності від молекулярної маси антигенної речовини перебуває її валентність (табл. 13), але ця закономірність не абсолютна. Валентність антигену – це кіль-

кість детермінант на молекулі антигену або, точніше, кількість молекул антитіла, які можуть із нею з'єднатися.

Таблиця 13. Залежність валентності антигенів від молекулярної маси білків

Антиген	Мінімальна валентність	Молекулярна маса
Рибонуклеаза підшлункової залози бика	3	13 000
Гемоглобін	4	17 000
Ячний альбумін	5	43 000
Сироватковий альбумін коня	6	69 000
Гаммаглобулін людини	7	160 000
Тиреоглобулін	40	650 000
Гемоціанін молюсків	70	2 800 000
Гемоціанін галюки	231	6 500 000
Капсидні білки вірусу тютюнової мозаїки	650	40 000 000

Антигенність речовин залежить від складності їхніх молекул та кількості детермінантних груп. На тій самій молекулі одночасно може бути велика кількість детермінант, і антигенність речовин залежить не лише від нижнього, але й від верхнього рівня кількості детермінант. У разі перевищення оптимальної кількості детермінант, приєднаних до молекули носія, антигенність кон'югованих антигенів зменшується. Кон'югат ДНФ₃-БСА менш антигенний, ніж ДНФ₁₆-БСА. Однак у кон'югата ДНФ₂₈-БСА антигенність знижується. При зміні кількості детермінант у молекулі змінюються й інші властивості антигену.

Високозаміщені кон'югати, а також природні високомолекулярні антигенні речовини залежно від дози можуть індукувати не лише імунну відповідь, а й толерантність. У мишей високополімерний Vi-антиген у дозі 1 мкг індукує синтез антитіла, а в дозі 10 мкг – часткову толерантність. Полімерні білки сироватки з осаду, що утворюється під час ультрацентрифугування, також мають значно більшу антигенність, ніж їхні мономерні форми, які можуть впливати і толерогенно. Пептиди, що є фрагментами високоантигенної речовини флагеліну, з молекулярними масами 4 000 і менше, не стимулюють синтез антитіла.

На індукцію синтезу антитіла впливає також і агрегатний стан антигенів: розчинні антигени стимулюють менш інтенсивну імунну відповідь, ніж агреговані. Антигенність мономерних білків підвищується при їх агрегації нагріванням, під дією глютаральдегіду та при їх ковалентному з'єднанні хімічними містками. Гемоціанін, олігомерний білок крові молюсків, у слабколужному середовищі розпадається на мономери, які мають ту ж саму специфічність, що і вихідна форма, але значно меншу антигенність. Мономерний флагелін, що утворюється

внаслідок дисоціації молекули при низьких значеннях рН, менш антигенний порівняно з полімеризованим флагеліном. Однак ще більш антигенні нативні джгутіки, що складаються з великих полімерів флагеліну. Джгутіки, полімерний і мономерний флагеліни мають однакову специфічність, але їхня антигенність значно зменшується при зниженні полімерності молекул.

Пряма залежність між полімерністю молекул й антигенністю характерна як для білків, так і для полісахаридів. Незважаючи на те, що антигенність, як правило, залежить від молекулярної маси, відомі природні і синтетичні антигенні полімери з молекулярною масою всього 2000–4000. Гормон підшлункової залози глюкагон із молекулярною масою 3500 і гормон парієтальних клітин шлунка гастрин із молекулярною масою 1800 при імунізації з ад'ювантами індукують синтез антитіл. Гормон підшлункової залози інсулін із молекулярною масою 6000 при введенні з ад'ювантами набуває антигенності. Однак без ад'юванта він практично не антигенний, і хворим на діабет тваринний інсулін уводять протягом багатьох років, як правило, за повної відсутності імунних реакцій.

Нарешті, слід завжди пам'ятати, що зв'язок між молекулярною масою біополімерів та їх антигенною активністю існує. Але встановити такий зв'язок можна лише порівнюючи речовини одного класу, наприклад різні білки з однотипною вторинною та третинною структурами, глобулярними чи фібрілярними. Цей зв'язок не абсолютний і залежить від цілого ряду інших властивостей антигену – як біологічних, так і хімічних.

3.5. ЖОРСТКІСТЬ СТРУКТУРИ. ПОВЕРХНЕВІ УГРУПОВАННЯ

Антигенність білків залежить від наявності в їх молекулах ароматичних амінокислот, що визначають жорсткість структури, та від розташованих на поверхні молекули полярних груп.

Желатин – білок із високою молекулярною масою, має слабовиражені антигенні властивості. Очевидно, це пояснюється лабільністю внутрішньої структури молекули у зв'язку з її денатурацією при нагріванні в процесі одержання. До складу желатину входить значна кількість амінокислоти гліцину, яка не має фіксованої жорсткої структури. Молекули з лабільною структурою здатні обернутися навколо своєї вісі і, імовірно, не можуть індукувати синтез антитіл, активний центр яких є дзеркальним відображенням детермінантної групи антигену. Імовірність такого припущення підтверджується тим, що слабоантигенний білок – желатин набуває більш виражених антигенних властивостей при введенні до його складу амінокислот із жорсткою структурою – тирозину, триптофану, фенілаланіну.

Антигенність білків і пептидів визначається розташованими на поверхні їхніх молекул амінокислотами, що утворюють антигенні детер-

мінанти. Однак під дією протеолітичних ферментів на поверхні можуть виявлятися і прикриті детермінанти. Обов'язковою умовою наявності антигенних властивостей білків є доступність залишків амінокислот для рецепторів імункомпетентних клітин. Антигенність зникає при насиченні вільних аміногруп бічних ланцюгів полі-L-тироzinу неантигенними угрупованнями. Якщо до вільних бічних груп полі-L-тироzinу та полі-L-глутамінової кислоти приєднується полі-DL-аланін, то їхня антигенність втрачається.

Численні дослідження антигенності синтетичних полімерів дають змогу зробити висновок, що антигенність детермінантного угруповання залежить від наявності в його складі амінокислот із жорсткою структурою, за умови, що вони розташовані на поверхні молекули і доступні для клітин мікрооточення, які беруть участь в імунній відповіді.

Не всі угруповання макромолекул однаковою мірою відповідають за антигенні властивості. У формуванні антигенних властивостей молекул важливу роль відіграють полярні групи. Найактивнішими кінцевими угрупованнями є $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{NH}_2$ групи.

Одним із факторів, що впливає на антигенність, є жорсткість структури, що зумовлена електростатичним взаємним притяганням позитивних зарядів залишків лізину з негативними зарядами карбоксильних бічних груп залишків глутаміну.

Для прояву антигенності має значення не лише хімічний склад білків, а й їхній фізичний стан. Так, білки антигенні лише в колоїдному стані. Тому при розчиненні у воді білків утворюються колоїдні розчини і в такому стані вони антигенні.

3.6. ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ І ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ НА АНТИГЕННІСТЬ

Під дією різних фізичних і хімічних факторів змінюються властивості антигенів. Розщеплення білкових молекул протеазами чи денатурація знижують або повністю змінюють антигенні властивості білків. Білки повністю втрачають антигенність після тривалої обробки сильним лугом, а рибонуклеаза, пепсин і папаїн – після денатурації сечовиною. Втрачаючи нативну конформацію, вони не реагують з імунними сироватками, специфічними до відповідних природних молекул.

Антигенність білків змінюється під дією високої температури, хімічних реагентів: спиртів, ацетону, ефірів, солей важких металів, лугів і кислот, унаслідок зміни нативної конформаційної структури їх молекули. Так луги, кислоти, спирти, ацетон зумовлюють денатурацію білка, при якій у молекулі зберігаються лише пептидні зв'язки, а інші втрачаються. При цьому порушується природна конформація білкової молекули, що сформувалася завдяки вторинній та третинній структурі. Такі зміни призводять до зміни антигенності. Антигенність денатурованих білків відрізняються від антигенності нативних. Антигі-

ла до одного денатурованого білка часто взаємодіють з іншим денатурованим білком, навіть тоді, коли ці білки в нативному стані не мають антигенної спорідненості. При денатурації нагріванням білків тварин різних видів спостерігаються перехресні реакції. Це пояснюється тим, що під час денатурації молекули білків набувають конформаційної подібності (конформація типу хаотичного клубка), яка не залежить від їх первинної структури. Антисироватки до нативних білків можуть не реагувати з денатурованими білками, тоді як антисироватки, одержані до денатурованих білків, реагують, хоч і слабо, з нативними білками у зв'язку зі збереженням у денатурованому препараті частини детермінант у незміненому стані.

У практиці широко використовують здатність фізичних і хімічних факторів знижувати токсичні властивості розчинних мікробних антигенів і токсинів із збереженням їх імуногенної активності.

3.7. СПЕЦИФІЧНІСТЬ АНТИГЕНІВ

Специфічність антигенів визначається структурними особливостями їхніх молекул. Під специфічністю антигенів розуміють здатність їх індукувати синтез антитіл і виникнення сенсibilізованих лімфоцитів, комплементарних до цього антигену, які активніше взаємодіють із цим антигеном порівняно зі спорідненим.

У біополімерів, що мають подібний хімічний склад, спостерігаються перехресні серологічні реакції, тоді як у білків і полісахаридів, які відрізняються за хімічним складом, спостерігаються серологічні відмінності. Прикладом може бути серологічна різноманітність капсульних полісахаридів окремих типів стрептокока, збудника пневмонії, яка визначається хімічними відмінностями між ними: полісахаридний антиген стрептокока першого типу містить галактуронову кислоту, фруктозу і глюкозу, другого типу – глюкуронову кислоту, рамнозу і глюкозу.

Специфічність антитіл спрямована проти невеликих хімічних угруповань молекули антигену – детермінантних груп. Ще у дослідках Ф. Обермейєра та Е. Піка у 1905 р. було показано, що антитіла, одержані до білка, до молекули якого кон'юговано нітрогрупу, реагують із цим білком, але не реагують із нативним. Цими ж авторами було встановлено, що йодування білкових антигенів викликає зміну видової специфічності. Йодовані білки набувають здатності індукувати синтез антитіл, які взаємодіють із йодованими і навіть бромованими білками інших видів тварин. У таких білків антигенними детермінантами є йодовані залишки амінокислот (насамперед, тирозину та гістидину), що є спільними для білків різних видів тварин.

Специфічність антитіл було чітко продемонстровано на прикладі кон'югованих антигенів. Антитіла, одержані до азопротеїну, у складі якого є азобензоларсонат, реагують із цим білком та іншими білками, кон'югованими з азобензоларсонатом. Однак сам азобензоларсонат

синтезу антитіл не індукує, він є гаптенем. К. Ландштейнер у 1949 р. показав, що азобензоларсонат може гальмувати реакції з антитілами проти азобензоларсонату, тоді як інші ароматичні аміни цієї реакції не пригнічують. Навіть невеликі зміни поверхневих груп, такі як введення в молекулу білка деяких радикалів (хімічна модифікація молекул), наприклад нітрирування, галогенізація, етерифікація, метилювання, ацетилювання, що викликає блокування поверхневих карбоксильних та інших груп на поверхні білка, призводить до зміни антигенної специфічності. Хімічна модифікація бокових амінокислотних залишків у молекулі білка призводить, як правило, до зміни конформації молекули, а отже, до зміни деякої частини антигенних детермінант, так званих, конформаційних. Наявність внутрішньовидових і міжвидових відмінностей у хімічному складі окремих речовин, тканин і органів зумовляють існування видових, тканинних та органних антигенів.

Видова специфічність. Антигени, які виявляються лише у тварин одного виду, називаються *видовими*. Вони містяться в усіх тканинах і органах. Антигени з різко вираженою видовою специфічністю містяться в сироватці крові, печінці, селезінці. Гемоглобіни, протеолітичні ферменти пепсин і трипсин, білки яєць і молока та деякі інші характеризуються видовою специфічністю. М'язи, шкіра та головний мозок різних видів тварин містять антигени із відносно низькою антигенністю. Видова специфічність проявляється в антигенних відмінностях білків, навіть тих, що виконують ту саму функцію в різних видів. Ця специфічність зумовлюється особливостями структури білків, що виникли у процесі еволюції. Видова специфічність менше виражена серед білків організмів таксономічно близьких видів.

З'ясовано, що функціонально однотипні біополімери різних видів мають антигенну подібність і що різні білки однієї особини відрізняються за антигенністю. Однотипні білки різних особин одного й того самого виду вищих тварин відрізняються за антигенністю. Ці відмінності називаються алотиповими. Вони є генетично детермінованими і свідчать про популяційний поліморфізм. Більшість білків мають видові ознаки, але хімічний склад деяких із них у процесі еволюції змінився мало (гемоглобін) або ж практично не змінився (кристалін кришталика).

Гетероспецифічність. Хімічна подібність структур і їх антигенних властивостей виявляється іноді у віддалених видів, а отже, є випадковою. Так, паличка Фрідлендера типу *B* і пневмокок другого типу, які не мають близької філогенетичної спорідненості, дають перехресні серологічні реакції. Антигени, що мають однозначну антигенну специфічність і виявляються у представників філогенетично віддалених видів, називаються *гетерофільними*. Спільні антигени часто містять тканини тварин і мікробні клітини (табл. 14). Антиген Форсмана, на-

приклад, виявляється в еритроцитах барана, у нирці гвінейської свинки, у деяких сальмонел.

Органна специфічність. Органоспецифічні антигени виявлені в легенях, печінці, нирках, у щитоподібній і підшлунковій залозах, нервовій тканині і кришталику ока. Одночасно ті самі органи різних видів тварин мають антигени однакової специфічності. Тому імунні сироватки до тканин одного виду тварин реагують із тканинами того самого органа інших видів. Антисироватки до спиртових екстрактів мозку перехресно реагують з екстрактами мозку навіть у філогенетично віддалених тварин та з екстрактами сім'яників, що, очевидно, зумовлюється наявністю в мозку і сім'яниках спільних ліпідних субстанцій. Однак екстракти з органів містять переважно видоспецифічні, а не реагуючі перехресно органоспецифічні антигени.

Таблиця 17. Антигенні взаємозв'язки різних видів тварин і мікроорганізмів

Вид	Антигени, спільні з антигенами тканин		
	людини	мави макаки	кроля
Людина	+	+	+
Макака-резус	+	+	0
Бик	+	0	0
Свиня	+	+	+
Собака	+	0	0
Кріль	+	0	+
Шур	+	0	+
Гвінейська свинка	+	0	+
Стрептокок пневмонії	+	0	0
Бактерії чуми	+	0	0
Сальмонели	+	0	0
Дизентерійні бактерії Шига	+	0	0
Вірус натуральної віспи	+	0	0

Примітка: + – містять спільні антигени; 0 – даних немає.

Тканинна специфічність. Антигени, які виявляються лише в одному виді тканини, називаються *тканинноспецифічними*. Наприклад, гамаглобулін – специфічний антиген сироватки крові, а альбумін – специфічний антиген печінки. Однак обидва ці сильні антигени надходять у кров, і тому їх можна виявити в клітинах різних тканин. Це утруднює ідентифікацію специфічних антигенів конкретної тканини, у зв'язку з чим перший тканинноспецифічний антиген було виявлено лише на початку ХХ ст. у кришталику ока бика, в якому немає сироват-

кових антигенів. Антисироватка кролів до кришталика реагує не лише з гомологічним антигеном кришталика ока бика, а й з антигенами кришталика всіх хребетних. Це дало змогу визнати цей антиген тканиноспецифічним. У подальшому в кришталику було виявлено антигени двох видів: філогенетично старі, спільні для всіх видів, та сформовані на різних етапах еволюції, внаслідок чого вони набули видоспецифічних ознак. У 1920 р. Є. Вітебський виявив у мозку ліпідний тканиноспецифічний антиген галактоцереброзид, характерний для тварин усіх видів. Також доведено, що білок щитоподібної залози тиреоглобулін є як видоспецифічним, так і тканиноспецифічним антигеном.

Диференціювальні антигени. У процесі диференціювання на цитоплазматичній мембрані клітин з'являються нові антигени. За допомогою цих антигенів визначають напрям розвитку, функціональну специфіку або ступінь зрілості клітин. Отже, диференціювальні антигени є специфічними маркерами. За такими антигенами диференціюють зокрема субпопуляції лімфоцитів (*CD*-маркери). Існують стадіоспецифічні антигени – антигени, які з'являються на певній стадії ембріонального розвитку. Так, у людини альфа-фетопротейн синтезується в ембріональному періоді, а у зрілому віці в нормі його немає або виявляється в незначній кількості. Його наявність у крові свідчить про розвиток певних видів пухлин в організмі.

3.8. ДЕТЕРМІНАНТИ СПЕЦИФІЧНОСТІ

Специфічність антигену – це здатність вибірково реагувати з індукованими даним антигеном антитілами або сенсibiliзованими лімфоцитами. Вона визначається активною хімічною групою, яку називають *детермінантою специфічності* або *антигенною детермінантою*. Антигенні детермінанти – це ділянки молекули біополімеру (антигену), яка розпізнається рецепторною зоною антитіла (його активним центром) або імунокомпетентних клітин і зв'язується з ними. Їх ще називають *епітопами*.

З однією молекулою антигену одночасно може з'єднуватися кілька молекул антитіл. Кількість детермінантних груп на молекулі антигену може перевищувати кількість молекул антитіл, здатних з'єднатися з молекулою антигену. Частина епітопів може виявитися заблокованими молекулами антитіл внаслідок стеричних причин, оскільки розміри молекул антитіл перевищують відстань між детермінантними групами антигену. Результати вивчення валентності синтетичних антигенів свідчать, що білкова молекула в середньому має 5–15 детермінантних груп, але їх кількість може досягати кількох сотень. У деяких природних білкових молекулах одна детермінанта припадає в середньому на поліпептид із молекулярною масою 5000. Кількість епітопів у молекулі антигену залежить від багатьох причин. Якщо в молекулі біополімеру існує тільки одна детермінантна група певної будови, то утворення

антитіл проти такої детермінанти не відбувається. Із збільшенням в молекулі антигену кількості ідентичних детермінантних груп (*epitop-na густина*) імунна відповідь на неї зростає до певної межі, за якою вона знижується. Зниження імунної відповіді на антигени з високою епітопною густиною пов'язане з механізмами активації В-лімфоцитів.

Різні антигенні детермінанти білкових і полісахаридних антигенів мають неоднакове значення в індукції імунної відповіді та в реакції антиген – антитіло. Ті детермінанти, до яких найбільшою мірою утворюються і з якими найчастіше зв'язуються молекули антитіл та рецептори імунокомпетентних клітин, називають *імунодомінантними*. Як правило, вони локалізовані поверхнево і розташовані на кінцях амінокислотних та полісахаридних ланцюгів.

Білкові детермінанти. Антигенні детермінанти білків утворені комбінаціями амінокислотних залишків, що створюють певну просторову конфігурацію. Вони утворені кількома амінокислотними залишками в певному поєднанні і на певній відстані один від одного. Відповідно тип детермінанти визначається послідовністю амінокислот у поліпептидному ланцюзі, а також вторинною та третинною структурою молекули білка.

У білка вірусу тютюнової мозаїки, що складається з 158 залишків амінокислот, одна антигенна детермінанта визначається в послідовності 93–112. Не всі амінокислоти однаковою мірою впливають на формування цієї детермінанти. Якщо видалити 12 амінокислотних залишків із N-кінця, то детермінанта зберігається, але якщо видалити навіть 3 залишки з C-кінця, то вона втрачається.

У молекулах білків антигенні детермінанти можуть розташовуватися як на кінцях, так і посередині поліпептидного ланцюга. Розподіл епітопів уздовж білкової молекули може бути нерівномірним. Так, всі три антигенні детермінанти молекули флагеліну зосереджені на одному з чотирьох його фрагментів, що утворюються при розщепленні бромціаном і має молекулярну масу 17 000. Цей фрагмент на відміну від інших є відносно резистентним до дії протеолітичних ферментів. Це підтверджує той факт, що стійкість до протеолізу є фактором, що сприяє прояву антигенних властивостей біополімерів.

На глобулі білкової молекули епітопи розташовані поверхнево. У глобулярних білків із великим вмістом альфа-спіральних ділянок антигенні ділянки розташовані в місцях згинів скрученого у спіраль ланцюга. Ділянки бічних ланцюгів білкових молекул, що виступають за межі компактної структури, зазвичай містять велику кількість епітопів. У ділянках вгинання ланцюга епітопів мало, оскільки в них міститься молекул води, що ускладнює зв'язок із рецепторами.

В одній молекулі білка можуть міститися детермінанти різної специфічності. Наприклад, у молекулі БСА міститься п'ять різних детермінант, розташованих всередині молекули. П'ять різних антигенних

детермінант, розташованих поверхнево, виявлені в молекулі білка вірусу тютюнової мозаїки. Якщо молекула антигену має дві і більше неоднотипні антигенні детермінанти, то одні з них можуть зумовлювати імунітет, інші – толерантність або сенсибілізацію.

Для ідентифікації антигенних детермінант білків використовують методи обмеженого протеолізу білкових молекул та дослідження антигенних властивостей фрагментів, що утворилися, а також хімічної модифікації молекул та їх часткової денатурації з втратою вторинної та третинної структури нативної молекули. Такі дослідження, як правило, потребують використання наборів антисироваток, одержаних від різних тварин та в різні строки імунізації. Сукупність цих підходів та використання рентгеноструктурного аналізу, комп'ютерного моделювання дають змогу ідентифікувати епітопи білкових антигенів.

Полісахаридні детермінанти. Імунологічна специфічність полісахаридних антигенів визначається складом моносахаридів і типом зв'язку між ними у складі молекули. Детермінантами специфічності в полісахаридних антигенах можуть бути моно-, ди- і трисахариди або олігосахариди, що складаються з 5–6 моносахаридів. Так, специфічність декстранів визначається типом зв'язку між молекулами глюкози. Наприклад, декстрини *альфа* –1,6 - , *альфа* –1,4 - і *альфа* –1,3 - різняться між собою серологічною специфічністю.

Розміри детермінант. Детермінанти білкових антигенів містять від 7 до 15 (в середньому 8–10) залишків амінокислот. Розміри білкової антигенної детермінанти становить у середньому 1,5–4 нм (табл. 15).

Детермінанта полісахаридних антигенів складається з 3–6 залишків моносахаридів (олігосахаридна антигенна детермінанта).

Розмір антигенної детермінанти декстрану (як і інших антигенів) визначається в реакції гальмування преципітації декстрану олігосахаридами, до складу яких входить різна кількість моносахаридів. Оскільки гальмування реакції зумовлюється глюкозою, то це свідчить про те, що цей моносахарид може з'єднуватися з рецепторною групою антитіл. Максимальну зв'язувальну активність проявляє гексасахарид. Це найбільший з олігосахаридів, здатний вміститися в порожнині активного центру антидекстранових антитіл. Розрахунки показують, що розміри такої порожнини приблизно становлять 4 нм³. У деяких випадках антигенна детермінанта не повністю заповнює порожнину активного центру.

Таблиця 15. Розміри секвенціальних антигенних детермінант білків (А.Я. Кульберг)

Антиген	Детермінанта	Розміри епітопа, нм ³
---------	--------------	-------------------------------------

Поліаланін-БСА	Тетрааланін	2,5 x 1,1 x 0,65
Полілізин-БСА	Пенталізін	2,7 x 1,7 x 0,65
Поліглутамінова кислота-БСА	Гексаглутамін	3,6 x 1,0 x 0,6
Декстран	Ізомальтогексоза	3,4 x 1,2 x 0,7
Денатурована ДНК	Пентануклеотид	2,8 x 1,0 x 1,0

Чим більші за розмірами детермінанти, тим ефективніші вони в індукції імунної відповіді та в реакціях антиген – антитіло, оскільки можуть утворювати міцніші зв'язки в активному центрі антитіла та антигензв'язувальних рецепторів лімфоцитів.

Важливе значення для індукції імунної відповіді і прояву серологічної активності антигенів має відстань між окремими детермінантами групами в їх молекулах. Зв'язування антигену антитілами можливе при певній щільності детермінант, яка повинна бути достатньо високою. Мінімальна відстань між детермінантами, що дає змогу з'єднатися з антитілами повинна бути 9,2–10,2 нм. Встановлено, що синтетичний антиген, в якому кінцевими детермінантами є L-тирозин-азобензоларсонат, індукуює імунну відповідь при відстані між детермінантами не менше 3,1–3,2 нм і за наявності в його складі певної кількості залишків проліну, який зумовлює достатню ригідність ланцюга, а отже, і стійкість конформації молекули.

3.9. ПОСЛІДОВНІ І КОНФОРМАЦІЙНІ АНТИГЕННІ ДЕТЕРМІНАНТИ

Розрізняють конформаційні (секвенційні) і конформаційні антигенні детермінанти. Антигенні детермінанти, специфічність яких визначається послідовністю амінокислот або моносахаридів у поліпептидному чи полісахаридному ланцюгу, називаються **секвенційними**. Кінцева детермінанта може мати *імунодомінантну групу* – амінокислоту або моносахарид, що визначає серологічну активність усього антигену. Наприклад, серологічна активність пептидоглікану визначається кінцевим олігопептидом – пентагліцином. Імунодомінантність більш характерна для полісахаридних антигенів, зокрема детермінант у складі О-антигену (молекули ЛПС) грамнегативних бактерій. Представники цієї групи бактерій характеризуються наявністю імунодомінантного дидезоксисахариду: абеквози, тивелози (у *S. typhi*), паратози (у *S. paratyphi*), колітози (у *E. coli*).

Антигенні детермінанти, структура яких залежить від просторової конформації поліпептидного або полісахаридного ланцюга, називаються **конформаційними**. Конформаційні детермінанти – це структури, які утворюються при просторовому складанні молекул. Конформаційні детермінанти білків утворюються амінокислотами, які віддалені в пептидному ланцюгу але зближуються і розташовуються на поверхні молекули в результаті утворення вторинної та третинної структури або ж при згортанні ланцюга у глобулу. Конформаційні детермінанти

можуть утворюватися залишками амінокислот двох різних ланцюгів молекули білка з четвертинною структурою.

Послідовні антигенні детермінанти реагують з антитілами до тих же послідовностей, в тих самих або в інших молекулах, або проти подібних послідовностей. Антитіла до конформаційних детермінант не реагують із молекулами, що мають подібну амінокислотну послідовність, але іншу конформацію. Так, антитіла до ділянки молекули нативного лізоциму, утвореної амінокислотними залишками в позиціях з 64 по 80 і замкненої дисульфідними містками в петлю, реагує з ізольованими петлями та з цілою молекулою лізоциму. Проте вони не реагують із тими самими ділянками петлі після руйнування дисульфідного зв'язку та зміни її конформації внаслідок редукції та алкілування (рис. 26).

Існування конформаційних антигенних детермінант доведено після проведення досліджень із синтетичними поліпептидами. У молекулі міоглобіну є п'ять детермінант, що розташовані в ділянках згинів поліпептидного ланцюга і в С-кінцевій його ділянці. Вони утворені амінокислотними залишками, що знаходяться в послідовностях 16–23, 56–63, 94–100, 112–120, 146–153 і індукують синтез п'яти різних за специфічністю типів антитіл (рис. 27).

Конформаційні детермінанти можуть формуватися лише за умови, що ця послідовність у поліпептиді має певну довжину, яка забезпечує утворення третинної структури. Якщо зруйнувати ковалентні зв'язки, що стабілізують вторинну і третинну структури, або відновити внутрішньоланцюгові дисульфідні зв'язки, то в молекулі рибонуклеази також відбувається втрата цих антигенних детермінант, оскільки денатурована рибонуклеаза не реагує з антитілами проти нативної рибонуклеази. Деякі антигенні детермінанти зникають у гемоглобіні, колагені, імуноглобуліні класу G при дисоціації їхніх молекул на окремі поліпептидні ланцюги. Антигенні структури денатурованих білків відновлюються при відновленні їх нативної конформації. Отже, антигенність білків зумовлюється як первинною структурою, так і їх конформацією, що утворюється внаслідок просторового згортання молекули. Антигенні детермінанти білків є переважно конформаційними.


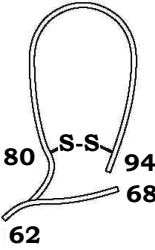

Лізоцим	Пептид, який утворює петлю	Пептид після відновлення S-S-зв'язку
		
Антитіла до лізоциму ++	++	-
Антитіла до пептиду ++	+	-

Рис. 26. Антигенна детермінанта лізоциму

З конформацією молекули пов'язана серологічна специфічність полісахаридів. У гетерополімерних полісахаридах (наприклад, в О-полісахаридах грамнегативних бактерій) другий в олігосахаридному ланцюгу моносахарид може визначати конформацію кінцевого імунодомінантного дидезоксисахариду, впливаючи тим самим на специфічність олігосахаридної детермінанти. Роль загальної конформації молекули особливо виражена у визначенні специфічності олігосахаридних детермінант гомополімерних полісахаридів, наприклад декстранів, які локалізовані в коротких відгалужених ланцюжках і відрізняються типом зв'язку між моносахаридними залишками від основного ланцюга полімеру.

Імунологічна специфічність антигенів змінюється зі зміною їхнього хімічного складу та будови. Так, досить замінити одну-дві амінокислоти у складі поліпептидного ланцюга молекули білка або кінцеві амінокислоти – і такі молекули відрізняються за антигенністю. Інсулін вівці відрізняється від інсуліну коня, свині й бика лише однією амінокислотою, однак у деяких випадках він зумовлює індукцію слабкої імунної відповіді в цих тварин.

При зміні амінокислотних залишків, введенні нової і заміні навіть однієї групи в радикалі специфічність молекули зникає або з'являється нова специфічність. Антитіла, що утворюються до

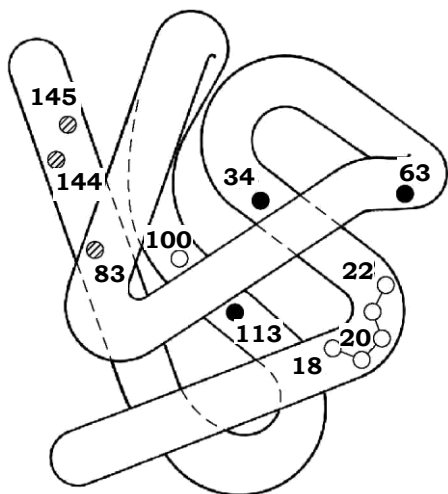


Рис. 27. Розміщення антигенних детермінант у молекулі міоглобіну

білка, модифікованого хімічно, реагують із ним інтенсивніше, ніж із нативним, або взагалі не реагують з останнім. У всіх випадках зміни імунологічної специфічності модифікованих білків є наслідком змін їхніх антигенних детермінант. Значення детермінантних груп для визначення імунологічної специфічності антигенів було доведено К. Ландштейнером при вивченні кон'югованих антигенів.

3.10. КОН'ЮГОВАНІ АНТИГЕНИ

Розвиток імунології як біологічної дисципліни бере початок від досліджень К. Ландштейнера, що відкрив групи крові, резус-фактор і розробив метод одержання **кон'югованих антигенів**, тобто модифікованих тими чи іншими хімічними групами природних високомолекулярних сполук. З використанням цього методу були закладені теоретичні і методичні основи *імунохімії* – розділу імунології, що досліджує хімічну, біохімічну та молекулярно-біологічну природу реакцій імунітету. Поряд із першою теорією імунітету – теорією утворення антитіл, сформульованою відомим хіміком П. Ерліхом у 1903 р. та першими спробами створення штучних антигенів на основі хімічно модифікованих білків, що здійснив Е. Пік у 1906 р., дослідження кон'югованих антигенів дало можливість вивчити імунну відповідь на низькомолекулярні речовини, встановити молекулярні основи антигенності біополімерів, оцінити надзвичайно широку "інформаційну ємність" імунної системи, виявити роль детермінантних груп і встановити специфічність активних центрів антитіл (їх розміри, характер зв'язків антиген – антитіло). Це сприяло переходу імунології з науки описової в категорію точних наук. Використовуючи метод кон'югованих антиге-

нів, К. Ландштейнер показав, що імунну відповідь індукує не складна білкова молекула в цілому, а окремі її угруповання або прості хімічні угруповання, кон'юговані з білком. К. Ландштейнер уперше запропонував *метод гальмування серологічних реакцій* простими хімічними сполуками, що полегшило вивчення серологічної специфічності таких сполук, оскільки їх можна було досліджувати без кон'югації з білками.

3.10.1. Положення і стереохімічні ознаки антигенних детермінант

Антигенність речовин змінюється зі зміною просторового розташування поверхневих груп. Специфічність антитіл проявляється щодо положення кислотної групи в кільці: сироватка, одержана до гаптену, який містить карбоксильну групу в мета-положенні, не реагує або ж реагує слабко з гаптеном, який містить ту саму групу в пара-положенні.

Антигенна специфічність залежить також від стереохімічних ознак і змінюється зі зміною просторового розташування детермінанти щодо атома вуглецю. Специфічні антитіла можна отримати до D- і L-ізомерів винної кислоти, які мають однаковий хімічний склад і різняться лише просторовим розташуванням Н- і ОН-груп. Кон'юговані з білком D-, L- та М-винні кислоти індукують синтез антитіл, специфічних лише до кожного з ізомерів. Ці сироватки реагують зі структурно близькою відповідно D-, L- та М-яблучною кислотою.

Дослідження кон'югованих антигенів показали, що роль антигенних детермінант виконують групи азобілкові і що серологічна специфічність значною мірою визначається ізомерною формою і жорсткістю детермінантних груп. При цьому антитіла з'єднуються не з усією молекулою антигену, а лише з її невеликою частиною, яка розташовується на поверхні і виконує роль антигенної детермінанти.

Дві різні детермінанти, приєднані до того самого носія, індукують синтез антитіл різної специфічності, тобто макромолекулярний антиген може мати кілька різних детермінант. Використовуючи азопротеїни, синтезовані з дипептидів, було доведено, що антигенна специфічність залежить від того, яка амінокислота знаходиться на кінці пептидного ланцюга. Однак на антигенну специфічність може впливати і передостання амінокислота пептиду. К. Ландштейнер у 1945 р. показав, що антигенність білкових речовин залежить від розташування амінокислот у поліпептидному ланцюгу, а специфічність – від кінцевої амінокислоти.

3.11. АНТИГЕННІСТЬ СИНТЕТИЧНИХ ПОЛІАМІНОКИСЛОТ

Синтетичні полімери одержують співполімеризацією N-карбоксил-L-ангідридів амінокислот або співполімеризацією олігопептидів. У першому випадку виникають послідовні, а в другому – конформацій-

ні антигени. Синтетичні полімери в дуже малих дозах в ад'юванті Фрейнда антигенні для мишей, щурів, гвінейських свинок, кролів, мавп і людини.

Гомополімери, лінійні синтетичні співполімери з випадковою послідовністю амінокислот, гаптени, приєднані до гомополімерного основного ланцюга (наприклад, динітрофенілполілізин, тринітрофенілполілізин), і розгалужені співполімери широко використовують в імунологічних дослідженнях.

Гомополімери не антигенні через відсутність у них стійкої просторової структури. Синтетичні монополіпептиди не антигенні, але політирозин набуває антигенності після сполучення з діазотованою арсеніловою кислотою. Прояв властивостей гаптену в гомополімерів залежить від кількості залишків амінокислот у поліпептидному ланцюгу.

На відміну від гомополімерів, гетерополімери характеризуються антигенністю. Деякі синтетичні полімери, до складу яких входять дві амінокислоти, антигенні для кроля, гвінейської свинки, але не для людини й миші. Полімери з трьох амінокислот антигенні для всіх перелічених видів тварин. Співполімеру глютамінової кислоти і лізину властива слабка антигенність. Вона різко зростає при введенні до складу цього співполімеру 2 % тирозину і при імунізації тварин цим співполімером з ад'ювантом.

Великий внесок у дослідження антигенності синтетичних полімерів зробили М.Села і його співробітники у 1966–1970 рр. При дослідженні синтетичних поліпептидів і інших аналогів природних антигенів ними було вивчено основні закономірності генетичного контролю антилітогенезу, ГСТ та відкрито перші гени контролю імунної відповіді.

Вивчення антигенності синтетичних поліамінокислот дало змогу поглибити дані К. Ландштейнера, одержані в дослідах із кон'югованими антигенами. Було встановлено нові закономірності, важливі для розуміння процесів формування антигенності білків: відсутність антигенності в гомополімерів, роль гетерогенності складу співполімерів у встановленні антигенності, здатність гомополімерів функціонувати як гаптен або як носій, здатність гетерополімерів формувати як послідовні, так і конформаційні детермінанти.

Важливим завданням прикладного характеру є використання синтетичних аналогів природних біополімерів із клітин збудників хвороб людини та тварин із метою їх використання для створення нових діагностичних препаратів і синтетичних вакцин. У зв'язку з цим в останні роки проводяться інтенсивні дослідження, спрямовані на вивчення фізико-хімічної структури природних антигенів і хімічний синтез їх аналогів, або одержання рекомбінантних білків методами генної інженерії.

3.12. ТИМУСЗАЛЕЖНІ ТА ТИМУСНЕЗАЛЕЖНІ АНТИГЕНИ

Традиційно вважалося, що тимусзалежними є антигени, для індукції гуморальної імунної відповіді на які потрібна участь клітин тимічного походження. Детермінанти таких антигенів взаємодіють із В-клітинами, а носій – із Т-клітинами, тобто тимусзалежні антигени можуть забезпечувати кооперативну взаємодію В- та Т-лімфоцитів. Тимусзалежними антигенами є більшість білкових антигенів: неполімеризовані білки сироватки, їхні комплекси з гаптенами, еритроцити барана, бактеріофаги, неполімеризований гемоціанін. Тимуснезалежними є антигени, гуморальна відповідь на які формується без безпосередньої участі Т-клітин і її можна отримати в безтимусних тварин. Тимуснезалежними антигенами є високополімеризовані білки і високополімерні полісахариди: полімеризований флагелін, феритин, пневмококовий полісахарид, декстран, леван, ЛПС, синтетичний полімер полівініліпіролідон (табл. 16).

Після більш глибоких досліджень механізмів антигілогенезу було доведено, що таке полярне розмежування антигенів на тимуснезалежні та тимусзалежні не зовсім вірне. Реакції на антигени, що вважалися тимуснезалежними, також потребують участі Т-клітин. У деяких випадках вони впливають лише на інтенсивність реакції В-лімфоцитів, а іноді навіть забезпечують запуск реакції антигілоутворення. Було встановлено, що існує дві великі субпопуляції В-лімфоцитів, що розрізняються як орієнтацією щодо різних типів антигенних молекул, так і механізмами взаємодії з Т-хелперами. Ці субпопуляції дискримінують за маркерним білком Lyb 5 на їх зовнішній мембрані. Одні В-лімфоцити мають цей білок і їх називають Lyb 5⁺, інші – позбавлені даного маркера – позначають Lyb 5⁻. Стало відомо, що субпопуляція (Lyb 5⁺) В-лімфоцитів реагують на розчинні полісахариди. При цьому вони одержують допомогу від Т-хелперів на віддалі у вигляді розчинних факторів – інтерлейкінів. Субпопуляція (Lyb 5⁻) В-лімфоцитів потребує контактної взаємодії з Т-хелперами і реагує на всі інші типи антигенів (білки, клітини, ЛПС тощо).

Таблиця 16. Біологічні властивості тимусзалежних та тимуснезалежних антигенів

Тимуснезалежні антигени	Тимусзалежні антигени
Велика молекулярна маса, багато однозначних епітопів на одну молекулу	Менша молекулярна маса, мало епітопів на одну молекулу
Персистують тривалий час Не індукують мітотичну активність Т-клітин	Персистують короткий період Індукують мітотичну активність Т-клітин
Не зумовляють ГСТ	Зумовляють ГСТ
Індукують синтез Ig M	Індукують синтез антитіл усіх класів

<p>Імунна відповідь найчастіше контролюється окремими аутосомними генами</p> <p>Індукують оптимальну імунну відповідь В-клітин без участі Т-хелперів і макрофагів</p>	<p>Імунна відповідь найчастіше контролюється генами, зчепленими з генами головного комплексу гістосумісності</p> <p>Індукують оптимальну імунну відповідь В-клітин за участю Т-хелперів</p> <p>Для імунної відповіді, крім допомоги Т-хелперів, потрібна кооперативна участь макрофагів</p>
---	---

3.13. ЛОКАЛІЗАЦІЯ І ЗМІНИ АНТИГЕНІВ У ТКАНИНАХ

Проникнення антигенів в організм. Віруси, бактерії, гриби, найпростіші мають змогу долати фактори природного захисту макроорганізмів. У процесі еволюції у вищих тварин виник специфічний імунітет, що забезпечує захист проти будь-якого виду мікроорганізмів. Цей механізм ґрунтується на принципі комплементарності макромолекулярних біополімерів мікробів і макроорганізму, які взаємодіють, забезпечуючи продукцію специфічних захисних субстанцій проти сотень тисяч, а можливо, і мільйонів чужорідних структур.

Чужорідні субстанції свої антигенні властивості проявляють, як правило, при потраплянні в організм парентеральним шляхом, оскільки речовина зберігає специфічну чужорідну хімічну структуру лише тоді, коли вона не зазнає ферментативного руйнування. Надходячи в організм через рот, білки та полісахариди зазвичай розщеплюються пепсином, трипсином, амілазою та іншими ферментами порожнини рота і травного каналу до простих не антигенних сполук. Однак антигенні властивості можуть зберігатися за умови швидкого всмоктування речовини до її розщеплення травними ферментами.

Крізь слизові оболонки травного каналу і верхніх дихальних шляхів у кров проникають бактерії та інші види мікроорганізмів. У внутрішнє середовище організму мікроби потрапляють, проникаючи в міжклітинники самостійно, разом із фагоцитами, що їх поглинули, крізь пошкоджений епітелій і ходи в епітелії. В експериментах на гвінейських свинках показано, що мікробні клітини живого вакцинного штаму бацили чуми через кілька годин після пероральної імунізації виявляються у власному шарі слизової оболонки травного каналу, а через чотири – в регіонарних лімфатичних вузлах. Проникність слизових оболонок для мікробів залежить від фізіологічного стану макроорганізму і біологічної активності певного виду або штаму мікробів. Крізь слизову оболонку кишок у деяких випадках у кров можуть також всмоктуватись, не втрачаючи антигенних властивостей, білки й полісахариди рослинного походження.

Антигени проникають у клітини завдяки фаго- або піноцитозу ретикулярними клітинами, макрофагами.

Персистенція антигенів. Застосування специфічних флуоресціюючих антитіл та антитіл, помічених радіоактивними мітками або феритином із наступною люмінесцентною та електронною мікроскопією і ауторадіографією, дає змогу зробити висновок про перебування в клітинах і тканинах антигенів. Білкові антигени, кількість яких поступово зменшується, зберігаються в крові протягом 2–3 тижнів, а в тканинах внутрішніх органів – від кількох місяців до двох років. За допомогою зазначених методів встановлено, що введений в організм антиген зазнає різних змін. Через п'ять місяців після ін'єкції кролям міченого ¹³⁵I бичачого сироваткового альбуміну у сироватці крові виявлялось п'ять молекулярних форм альбуміну: 1) інтактний із характерною специфічною електрорухливістю; 2) відмінний від інтактного за електрофоретичною рухливістю; 3) інтактний у комплексі з імуноглобуліном; 4) фрагментований із низькою молекулярною масою; 5) фрагментований у поєднанні з РНК або олігорибонуклеотидами. Можливо, всі ці форми альбуміну проявляють свої антигенні властивості на різних етапах проходження через систему фагоцитарних та імунокомпетентних клітин.

Збереження антигену в організмі залежить від його молекулярної маси, характеру діючих на нього ферментів, стану макроорганізму. Персистенція антигенів протягом тривалого часу, можливо, зумовлена з'єднанням їх у тканинах із речовинами, що мають період напіврозпаду кілька сотень днів. Такою речовиною може бути колаген сполучної тканини. Наприклад, капсульний полісахарид стрептокока пневмонії тривалий час зберігається в тканинах експериментальних тварин через відсутність у тканинах ферментів, що його розщеплюють. У зв'язку з цим імунна відповідь на полісахариди не формується і він проявляє толерогенний вплив. При введенні тваринам бактеріального ферменту, який розщеплює полісахариди, на нього спостерігається імунна відповідь.

Розчинні білки не поглинаються макрофагами, внаслідок чого вони циркулюють у крові до появи індукованих ними антитіл. Після появи антитіл між комплексами антиген – антитіло, що утворилися, відбувається фагоцитоз, результатом якого є елімінація розчинних білків. В імунізованому організмі антиген, завдяки дії специфічних антитіл, швидко руйнується і виводиться. Помічений радіоактивними мітками білковий антиген і антитіла видаляються повільніше, ніж комплекс антиген – антитіло.

Локалізація. Розподіл антигену в організмі залежить від місця чи способу його введення. При внутрішньовенному введенні антиген спочатку потрапляє в легені, де частина його затримується. Потім із током крові антиген надходить у серце й розноситься по всьому орга-

нізму. Найбільша кількість його накопичується в печінці, нирках, кістковому мозку, селезінці, оскільки в цих органах міститься найбільше макрофагів.

Після підшкірного введення антигени накопичуються в регіонарних лімфатичних вузлах. Фіксація парентерально введеного антигену спостерігається в макрофагах мозкової речовини лімфатичних вузлів, де він розщеплюється в лізосомах макрофагів. Антиген виявляється в цитоплазмі, мітохондріях, лізосомах, мікросомах макрофагів. У невеликій кількості антиген може зберігатися в організмі протягом тривалого часу в лімфоїдній системі в адсорбованому стані на мембранах допоміжних клітин. У цьому стані антиген може з'єднуватись із рецепторами на лімфоцитах та індукувати імунні реакції. Такий механізм може мати значення в регуляції інтенсивності імунної відповіді.

Специфічні антигіла сприяють локалізації антигену в лімфоїдних фолікулах, де він впорядковано розподіляється в лімфоїдній тканині. У зародкових центрах лімфатичних вузлів і селезінки локалізуються комплекси антиген – антитіло та агреговані молекули гамаглобуліну. Плазмоцити і лімфоцити, як правило, вільні від антигену, але його виявляють у цитоплазмі цих клітин при введенні у великих кількостях. Антиген накопичується в цитоплазматичних відростках ретикулярних клітин центрів розмноження там, де ці відростки контактують із лімфоцитами. Фіксація флагелярного антигену відбувається переважно на мембранах довгих відростків ретикулярних клітин. При введенні імунізованим щурам флагеліну разом із гомологічною сироваткою кількість фіксованого в лімфовузлах антигену збільшується в 10 разів за рахунок адсорбції на цитоплазматичних відростках ретикулярних клітин. Це створює умови для тісного контакту антигену з лімфоцитами.

При внутрішньошкірному введенні антиген надходить у дренуючі регіонарні лімфовузли. Антигени, що проникають через травний канал і верхні дихальні шляхи, потрапляють у лімфатичні тканини слизових оболонок, де індукують синтез IgE і IgA.

Процес елімінації антигену з організму поділяють на три фази.

Перша фаза. Після введення в організм розчинний антиген розподіляється між судинними і тканинними порожнинами лімфоїдної тканини внаслідок дифузії. Корпускулярні антигени в тканини не дифундують, а поглинаються фагоцитами.

Друга фаза. Катаболізм антигену триває протягом кількох днів і залежить від наявності в організмі хазяїна ферментативних систем для деструкції цього антигену. Полімери з D-амінокислот та деякі полісахаридні субстанції зберігаються в організмі протягом тривалого часу.

Третя фаза – імунна елімінація. Після появи антитіл до антигену у крові утворюються комплекси антиген – антитіло, які фагоцитуються і зазнають катаболізму. Залежно від особливостей антигену, анти-

тіл і метаболічної активності макроорганізму антиген може перебувати в організмі протягом тижнів, місяців і навіть років.

Процес дезінтеграції антигенів здійснюється ферментами клітинних лізосом, основною фізіологічною функцією яких є внутрішньоклітинне травлення часток, що потрапляють у клітини внаслідок фаго- або піноцитозу.

3.14. КОНКУРЕНЦІЯ АНТИГЕНІВ

Багато антигенів, уведених одночасно, індукують незалежну імунну відповідь, аналогічно тій, яка формується тоді, коли антигени вводять окремо. Однак при спільному введенні деяких антигенів, наприклад бичачого сироваткового альбуміну і глобуліну, синтез антитіл і реакції клітинного імунітету до альбуміну виражені менше, ніж тоді, коли їх вводять окремо, що пов'язано з конкуренцією антигенів.

Під конкуренцією антигенів розуміють зниження відповіді на певний антиген під впливом іншого, неспорідненого антигену. Деякі речовини проявляють конкурентний вплив лише тоді, коли їх вводять послідовно через певні проміжки часу. Таку конкуренцію називають послідовною. Якщо еритроцити барана і коня вводять послідовно, то імунна відповідь знижується на той антиген, який вводили другим.

На сьогодні встановлено, що: 1) ступінь конкуренції залежить від кількісного співвідношення введених антигенів. Чим більше антигени різняться за дозами, тим вище конкуренція; 2) для виникнення конкуренції потрібний інтервал між ін'єкціями розчинних або корпускулярних антигенів. Перевагу отримує той антиген, який вводили першим; 3) конкуренція виникає між антигенами, які вводять разом у повному ад'юванті Фрейнда, а також між антигенними детермінантами, розташованими на тій самій молекулі; 4) ступінь пригнічення збільшується тоді, коли конкуруючий антиген вводять до ін'єкції досліджуваного антигену.

Конкуренція антигенів спостерігається при імунізації тварин білковими антигенами, в одній молекулі якого містяться різні антигенні детермінанти. У разі використання кон'югованого антигену, в якому до тієї самої молекули білка приєднані динітрофенільна та азофеніларсенатна групи, антитіла утворюються лише до динітрофенільної групи. При імунізації сумішшю, що складається з білків, кон'югованих з азофеніларсенатною і динітрофенільною групою, утворюється однакова кількість антитіл, специфічних до кожного з детермінантних угруповань.

Проведено дослідження і про підсилення імунної відповіді у випадку, коли антигени вводяться сумісно. Преімунізація кролів деякими антигенами підвищує імунну відповідь до арсенілового гаптену, кон'югованого з сироватковим альбуміном людини. Однак результати залежать від доз антигенів, строків їх введення, інтервалів між

ін'єкціями та ін. На дуже великі дози антигенів після преімунізації відповідь не лише не підвищується, а навіть пригнічується.

ВИСНОВКИ

Антигени є органічними речовинами мікробного, рослинного і тваринного походження, що знаходяться у складі клітин чи вірусних частинок або відділені від них, а також штучно створені людиною кон'юговані й синтетичні сполуки. Антигенрозпізнавальні рецептори імунокомпетентних клітин та активні центри антитіл взаємодіють не з усією молекулою антигену, а з окремими детермінантними групами (епітопами) – конформаційними та секвенційними. Антигенність залежить від фізико-хімічних параметрів молекул біополімерів: молекулярної маси, жорсткості молекули, стійкості до протеолізу, агрегатного стану молекул, епітопної щільності. Імуногенність антигенів залежить від індивідуальної імунної реактивності організму реципієнта, його видової належності, віку, статі, ступеня генетичної чужорідності донора антигенів і реципієнта. Специфічність антигенів визначається структурними особливостями їхніх молекул, стереохімічних ознак і просторового розміщення епітопів. Антигени, потрапляючи в організм, персистують, зазнають змін та елімінації.

Контрольні запитання

1. Що таке антигени?
2. Як поділяють антигени за хімічною природою?
3. Якою мірою антигенність речовини залежить від фізико-хімічних параметрів молекули?
4. Що таке секвенційні та конформаційні антигенні детермінанти?
5. Які особливості антигенної структури вірусів і бактерій?