

РОЗДІЛ 4. АНТИТІЛА. МОЛЕКУЛЯРНА СТРУКТУРА І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

Білки сироватки крові за рухливістю в електричному полі поділяють на альбуміни і три глобулінові фракції: α -, β - і γ -глобуліни. γ -Глобуліни найменш рухливі – при електрофоретичному розділенні білків вони залишаються в місці нанесення сироватки (рис. 28, 29). У 1939 р. А. Тизеліус і Е. Кебот ідентифікували антитіла як γ -глобуліни. Було з'ясовано, що пік γ -глобулінів у гіперімунній сироватці зникає після її адсорбції специфічним антигеном. Антитіла – це γ -глобуліни, які здатні специфічно з'єднуватися з антигеном. Такі γ -глобуліни називаються імуноглобулінами.

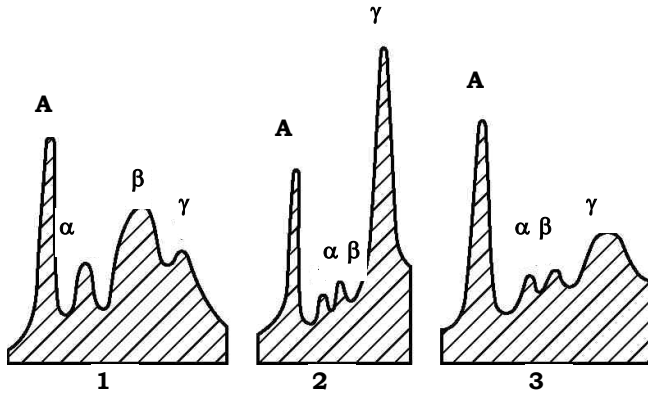


Рис. 28. Електрофореграми сироваток крові людини: 1 – нормальної; 2 – антибактеріальної; 3 – антитоксичної

До імуноглобулінів належать білки тваринного походження, які мають активність антитіл, а також імуноглобулінові рецептори лімфоцитів і білки, подібні до антитіл за хімічною структурою й антигенною специфічністю – міеломні білки, білки Бенс-Джонса і субдиниці імуноглобулінів. Остаточо ще не з'ясовано, чи містяться у фракції γ -глобулінів лише специфічні антитіла, чи до її складу входять і білки, які не мають специфічної імунологічної активності. Можливо, що всі γ -глобуліни є антитілами. Непрямим підтвердженням цього є низькі показники вмісту γ -глобулінів у тварин, вирощених у стерильних умовах (гнотобіонтів). Однак частина γ -глобулінів, що утворюються при імунізації, не здатна з'єднуватися зі специфічним антигеном. При повторних імунізаціях кількість таких γ -глобулінів зменшується.

Антитіла здійснюють багато біологічних функцій, спрямованих на елімінацію чужорідного антигену з організму: розпізнають і зв'язують антиген, допомагають у його презентації макрофагам і лімфоцитам, зумовляють пошкодження тканинних базофілів (тучних клітин), лізу-

ють клітини, які містять специфічні антигенні субстанції, зумовлюють опсонізуючу дію, активують систему

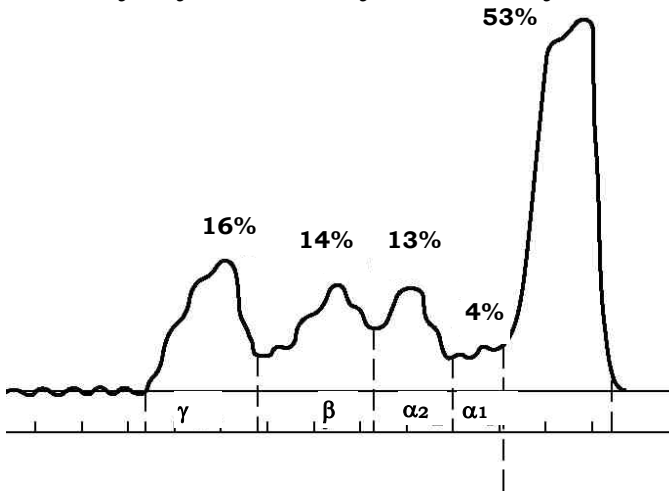


Рис. 29. Електрофореграма білкі сироватки крові здорової людини (відсотковий вміст окремих фракцій)

комплементу. Первинна функція антитіл – взаємодія з комплементарною структурою антигену – антигенною детермінантою, а вторинна – фіксація комплементу, опсонізація, індукція цитотоксичності, імунорегуляторна дія та ін. З'єднання антитіл з антигеном прискорює елімінацію чужорідної високомолекулярної речовини, сприяючи руйнуванню її ферментними системами організму. Таке з'єднання зумовлюється високою специфічністю, яка виявляється як здатність комплементарних у фізико-хімічному відношенні структур активного центру молекули антитіла та антигенної детермінанти антигену сполучатися між собою.

4.1. ОДЕРЖАННЯ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ АНТИТІЛ

Імуноглобуліни становлять 15–20 % білків плазми. До складу молекули γ -глобулінів входить 18 амінокислот, з яких найбільшу кількість становлять оксіамінокислоти, дикарбонові амінокислоти, глутамін та аспарагін, треонін, серин і валін. γ -Глобуліни тварин і людини, а також імуноглобуліни окремих класів різняться за вмістом амінокислот, що входять до їх складу. γ -Глобуліни, що розчиняються при низькій іонній силі, називаються *псевдоглобулінами*, а ті, що за цих умов не розчиняються і випадають в осад у процесі діалізу проти дистильованої води, – *еуглобілінами*.

Відмінності між γ -глобулінами нормальної та імунної сироваток полягають у здатності останніх з'єднуватися зі специфічним антигеном, а також у значеннях константи седиментації, більшій в'язкості та

стійкості до протеолізу. Антитіла виявляються в обох сироватках. Вони не руйнуються при короточасній дії слабких кислот і лугів, витримують нагрівання до 60 °С, не інактивуються трипсином протягом семи днів при температурі 37 °С.

Для відокремлення γ -глобулінів від інших сироваткових білків, крім електрофорезу, використовують метод висолювання 1,34 М розчином сульфату амонію, осадження 20 % розчином етанолу при температурі -5 °С з наступним розділенням методом препаративного електрофорезу або іонообмінної хроматографії на колонках із діетиламіноетилцелюлозою (DEAE-целюлоза) та іншими методами. При цьому γ -глобуліни очищаються і від баластних білків. Препарати γ -глобулінів із лікувальною метою отримують спиртовим осадженням на холоді.

4.2. СТРУКТУРА АНТИТІЛ

Розшифровування хімічної структури детермінантних груп антигену і рецепторних груп антитіл, з'ясування природи факторів, що забезпечують їхню комплементарність, є ключем до розуміння механізмів синтезу безмежної кількості видів антитіл і їх високої специфічності. Механізми розпізнавання в системі антиген – антитіло, як і в системах гормон – рецептор, фермент – субстрат ґрунтується на принципі структурної комплементарності, яка створює можливість зближення реагуючих структур на таку відстань, коли забезпечується встановлення міжмолекулярних взаємодій.

Для вивчення молекулярної структури антитіл використовують методи ферментативного розщеплення молекул імуноглобулінів на окремі фрагменти (рис. 30).

Фрагментація ензимами. У 1959 р. Р. Портер, під час розщеплення кролячого IgG (який містить лише один дисульфідний зв'язок між важкими ланцюгами) протеолітичним ферментом рослинного походження папаїном у присутності цистеїну, виявив зниження його молекулярної маси із 7S до 3,5S. При очистці цього матеріалу було отримано три піки – фрагменти I, II, III, що мали молекулярну масу по 50 000. З них 2/3 становили фрагменти I та II, а 1/3 – III. Фрагменти I та II мали активність моновалентних антитіл, тобто зв'язували антиген (Fab), а фрагмент III антиген не зв'язував (Fc). Пізніше, в 1960 р., А. Нісонов зі співробітниками розщепили кролячий IgG пепсином у відсутності цистеїну і довели, що молекулярна маса одержаного продукту знижується до 100 000. Цей продукт мав активність двовалентних антитіл і під впливом бромціану молекула IgG розщеплювалася на велику кількість пептидів.

Використовуючи для руйнування міжланцюгових дисульфідних містків цистеїн у присутності сечовини або гуанідину, Д. Едельман

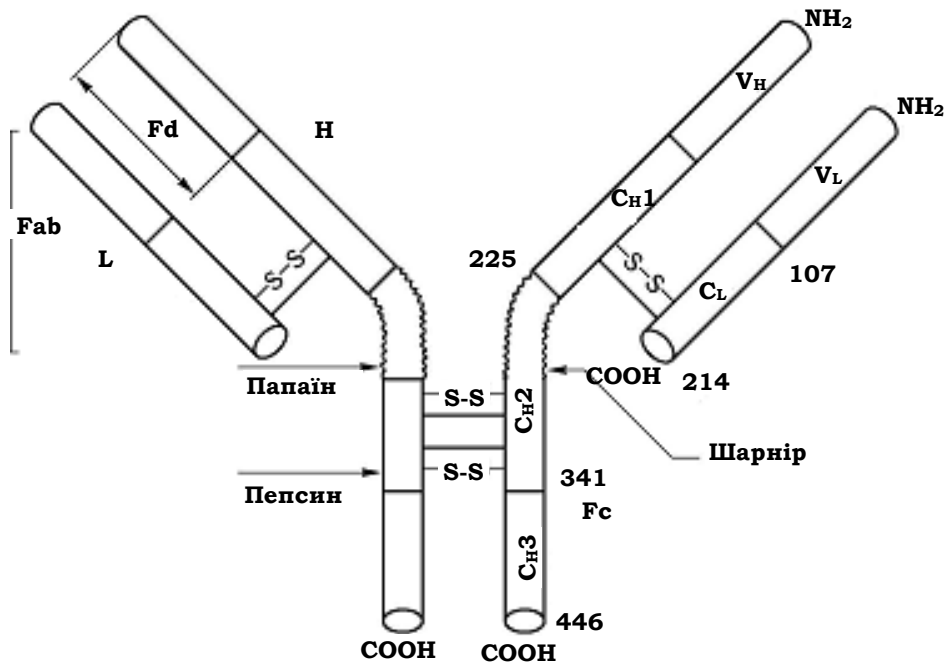


Рис. 30. Хроматографічне розділення фрагментів молекули кролячого IgG, що утворюються внаслідок розщеплення папаїном за наявності цистеїну

зі співробітниками в 1960 р. показали, що в разі руйнування S-S-зв'язків молекулярна маса γ -глобулінів знижується з 150 000 до 50 000, а при хроматографічному дослідженні матеріалу було виявлено компоненти з молекулярною масою 25 000. Це дало змогу стверджувати, що молекула кролячого IgG має складатися з чотирьох ланцюгів – два по 50 000 і два по 25 000. У 1962 р. Р. Портер на основі даних розщеплення кролячих імуноглобулінів меркаптоетанолом запропонував схему структури IgG, згідно з якою молекула імуноглобулінів складається з чотирьох ланцюгів – двох важких H (heavy) і двох легких L (light). Важкі ланцюги з'єднані між собою і з легкими ланцюгами дисульфідними зв'язками. Зв'язки між важкими ланцюгами локалізуються приблизно посередині в ділянці, що називають шарнірною. Вона відрізняється відносною лабільною структурою, зумовлює гнучкість молекули, можливість обертання окремих її субодиниць і характеризується високою чутливістю до протеолітичних ферментів. При розщепленні IgG папаїном у шарнірній ділянці молекула імуноглобуліну розпадається на три фрагменти: два однакових Fab-фрагменти, які складаються з легкого і приблизно половини важкого ланцюга, з'єднаних S-S-зв'язком та один Fc-фрагмент, що складається з двох половинок важких ланцюгів, з'єднаних S-S-зв'язком. За допомогою аналізу амінокислот у важких і

легких ланцюгах імуноглобулінів виявлені константні частини, що характеризуються сталістю амінокислотного складу, і варіабельні, яким притаманна значна мінливість амінокислот. За складом і послідовністю амінокислот у константній частині важких ланцюгів розрізняють імуноглобуліни п'яти класів: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD.

Варіабельні частини легких і важких ланцюгів локалізуються у Fab-фрагменті з NH₂-кінцевого боку. Вони беруть участь у формуванні активних центрів антитіл, що безпосередньо зв'язуються з детермінантами групами антигену. Поліпептидні ланцюги імуноглобулінів формують структурні ділянки, які називають доменами. Вони утворені внутрішньоланцюговими S-S-зв'язками і характеризуються значною гомологічністю щодо амінокислотного складу в межах константних і варіабельних частин як легких, так і важких ланцюгів. Домени відрізняються своїми біологічними функціями в цілій молекулі імуноглобуліну (рис. 31).

Fab- і F(ab)₂-фрагменти. При дії на імуноглобуліни алкіруючих і відновлюючих речовин, а також протеолітичних ферментів можна отримати окремі ланцюги, різні фрагменти молекул антитіл та їхніх ланцюгів. Протеолітичний фермент папаїн розщеплює важкий поліпептидний ланцюг молекули IgG із NH₂-кінцевого, а пепсин із COOH-кінцевого боків від дисульфідних зв'язків між важкими ланцюгами.

Папаїн розриває молекулу IgG на три фрагменти: два, що не кристалізуються, Fab-фрагменти I та II (fragments antigen binding), які містять рецепторні групи до антигену, і один, що кристалізується, Fc-фрагмент III (fragment crystallizable). Fab-фрагменти I та II подібні між собою за властивостями та амінокислотним складом, але значно відрізняються від Fc-фрагмента. До складу Fc-фрагмента входить легкий ланцюг та частина важкого ланцюга, яку називають Fd-фрагментом.

Fab-Фрагменти молекул очищеного γ -глобуліну людини одновалентні, здатні з'єднуватися з антигеном, але не приципітують його, не зв'язують комплемент, не проходять крізь плаценту, але можуть фіксуватися у шкірі. Якщо розщеплювати молекулу IgG пепсином, то утворюється F(ab)₂-фрагмент, що складається з двох Fab-фрагментів, які з'єднані дисульфідним зв'язком, і залишків важких ланцюгів, які утворилися після відщеплення F(ab)₂-фрагмента. F(ab)₂-Фрагмент має дві рецепторні групи, які входять до складу Fab-фрагментів. Маючи дві рецепторні групи, F(ab)₂-фрагмент може зв'язуватися з двома детермінантами, розташованими на двох різних ділянках антигену. Це можна забезпечити утворення крупних конгломератів, які випадають в осад. Тому F(ab)₂, на відміну від Fab-фрагмента, є двовалентним і здатний преципітувати антиген.

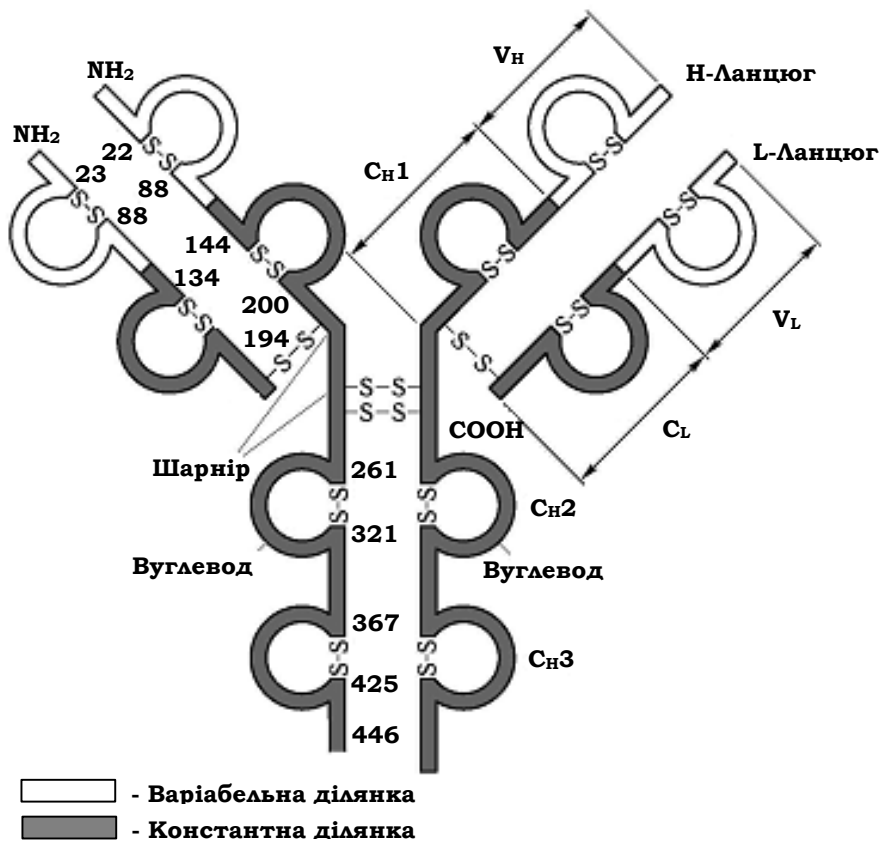


Рис. 31. Доменна будова молекули імуноглобуліну

Fc-Фрагмент. Фрагмент Fc – це з'єднані дисульфідними зв'язками залишки двох важких ланцюгів після відщеплення Fab-фрагментів папаїном. Fc-Фрагмент молекули IgG має молекулярну масу 50 000. При відщепленні фрагмента F(ab)₂ пепсином із залишків важких ланцюгів, що не ввійшли до його складу, утворюється Fc-фрагмент. Антигенні детермінанти, специфічні для кожного з класів і підкласів імуноглобулінів, які не дають перехресних реакцій з антисироватками проти інших класів, розташовані переважно у Fc-фрагменті. Антисироватка до Fc-фрагмента кролячого IgG в реакції преципітації реагує з важкими, але не реагує з легкими ланцюгами, тобто у складі Fc-фрагмента немає залишків легких ланцюгів.

Fc-Фрагмент не з'єднується з антигеном, оскільки не містить рецепторних груп. Відщеплення Fc-фрагмента на специфічну активність молекули антитіла не впливає. Fc-Фрагмент містить цитофільну частину, що забезпечує зв'язок цілої молекули антитіла з клітинами. Від Fc-фрагмента залежать неспецифічні або додаткові функції антитіла: здатність зв'язувати комплемент, забезпечувати фіксацію антитіла на

цитомембранах, індукувати виникнення анафілактичних реакцій, забезпечувати проникнення антитіл крізь плаценту. Здатність Fc-фрагмента фіксувати комплемент визначається його NH₂-кінцевою половиною, що прилягає до Fd-фрагмента. Від Fc-фрагмента залежить індекс катаболізму імуноглобулінів і рівень антитіл у крові. На ділянці Fc-фрагментів є структури, за допомогою яких антитіла з'єднуються з Fc-рецепторами клітин. Ці структури розташовані в C_H3-, C_H1-доменах, і якщо вони знаходяться в ізольованому вигляді, то зберігають здатність зв'язуватися з рецепторами – конкурують з антитілами за Fc-рецептори клітин. У Fc-фрагменті молекули антитіла може бути два або три центри для зв'язування з різними типами клітин. Це ділянки поліпептидного H-ланцюга, які складаються з 4–10 залишків амінокислот. Імуноглобуліни, як і інші білки сироватки крові, у клубочках нирок фільтруються в первинну сечу. У звивистих каналцях нирок вони реадсорбуються. Цей процес, можливо, зумовлюється наявністю на епітелії каналців рецепторів для Fc-фрагментів, оскільки ні Fab-, ні F(ab)₂-фрагменти не реадсорбуються.

Fab- і Fc-фрагменти – компактні утворення, між якими в молекулах IgG та IgA розташовані гідратовані ділянки важкого ланцюга, завдяки чому молекули цих імуноглобулінів складаються з трьох субодиниць, які незалежно обертаються навколо шарнірної ділянки, що розташована в центрі молекули, і мають гнучку структуру (табл. 17).

Легкі ланцюги. Якщо γ-глобуліни обробити меркаптоетанолом у концентрованому розчині сечовини, то дисульфідні зв'язки руйнуються і молекула антитіла розпадається на окремі два легкі L і два важкі H поліпептидні ланцюги. У легких і важких ланцюгах розрізняють NH₂- та COOH-кінцеві частини. L-ланцюги, які були отримані з ланцюгів різних класів, здатні рекомбінуватися як із гомологічними, так і з гетерологічними H-ланцюгами.

Легкі ланцюги бувають двох типів: κ (каппа) та λ (лямбда). Однак в одній молекулі антитіла обидва ланцюги можуть бути лише однозначними – або κ, або λ. Обидва ланцюги відрізняються між собою за амінокислотним складом у C-кінцевій області і за антигенними властивостями. Ланцюг λ складається з 213–216, а ланцюг κ – із 214–219 залишків амінокислот. Молекулярна маса легких ланцюгів становить 23 000–25 000.

Серед імуноглобулінів одного класу зазвичай виявляються молекули антитіла із легкими ланцюгами обох типів. Кожен тип легких ланцюгів має специфічну первинну поліпептидну структуру і їх синтез контролюється певним чином.

Таблиця 17. Фрагменти імуноглобулінів, які утворюються під дією ферментів

Фрагменти	Області	Ферменти
-----------	---------	----------

Fab	V_L-V_L, V_H-C_H1	Папаїн, трипсин
Fc	$(C_H2-C_H3)_2$	Папаїн, трипсин
Fd	V_H	Папаїн
Fab ^I	V_L-C_L, V_H-C_H1	Папаїн
Fab ^{II}	$[V_L-C_L, V_H-C_H1]_2$	CNBr
Fc ^I	C_H3	Папаїн, трипсин
Fabc	$[V_L, C_L, V_H, C_H1,$	Плазмін
Fb(s)	$C_H2]_2$	Субтилізін
Fv	C_H1-C_L	Пепсин
	V_L-V_H	

У легкому ланцюзі міститься відносно велика кількість гліцину, що має інваріантне положення в антитілах різних видів тварин і різної специфічності. Гнучкість поліпептидного ланцюга в області, де міститься багато гліцину, сприяє формуванню антигензв'язувального центру.

Важкі ланцюги. У людини відповідно до кожного класу імуноглобулінів (M, G, A, D, E) розрізняють п'ять типів важких ланцюгів, які позначаються грецькими літерами μ (мю), γ (гама), α (альфа), δ (дельта) та ϵ (епсилон). Важкі ланцюги ковалентно з'єднані між собою і з одним легким ланцюгом – дисульфідними містками. Кожен тип H-ланцюгів у молекулі антитіла відповідного класу з'єднується з одним із типів L-ланцюгів. Отже, структуру молекули імуноглобуліну класу G можна зобразити так: κ - γ - γ - κ або λ - γ - γ - λ . Важкі ланцюги імуноглобулінів людини мають молекулярну масу в межах 50 000–70 000. Вони відрізняються між собою за амінокислотним складом та антигенними властивостями. Важкі ланцюги IgG складаються з 446, IgA – з 460–470, а IgM, IgD та IgE – з 550–570 амінокислотних залишків.

Ізольовані важкі ланцюги антитіла і навіть Fd-ділянки зберігають здатність з'єднуватися з гомологічним антигеном, хоча порівняно з інтактними молекулами їх активність нижча. Здатність важких ланцюгів взаємодіяти з антигеном підвищується в тому випадку, коли вони з'єднані з легкими ланцюгами. Це дає змогу вважати, що активний центр антитіла утворений як легким, так і важким ланцюгами. Вважають, що легкий ланцюг стабілізує рецепторні структури важкого ланцюга в положенні, яке доступне для детермінанти антигену.

Варіабельні і постійні ділянки. Як в легких, так і у важких ланцюгах існують: V-ділянка, в якій послідовність амінокислот є змінною (variable), і C-ділянка (constant), в якій у всіх ланцюгах цього класу або типу певного виду тварин постійно знаходяться ті самі амінокислоти. Початок сталої частини називають точкою перемикування. Варіабельність у послідовності амінокислот ланцюгів імуноглобулінів забезпечує можливість існування антитіла різної специфічності. Постійні частини ланцюгів, спільні для одного класу антитіла, зумовлюють спі-

льні властивості: здатність зв'язувати комплемент, фіксуватися на клітинних рецепторах, проходити крізь плаценту. Варіабельні ділянки важких і легких ланцюгів мають приблизно однакову довжину і за структурою більше подібні між собою, ніж із постійними ділянками своїх ланцюгів. V-Ділянка легких ланцюгів містить 107–112, а V-ділянка важких – 114–124 залишків амінокислот.

Незважаючи на варіабельність NH₂-кінцевих половин легких ланцюгів, κ-ланцюги поділяють на 4, а λ-ланцюги – на 5 підгруп. У кожній із підгруп подібність послідовностей за складом амінокислот досягає 80 %, а між підгрупами вона дорівнює 50 %. У межах варіабельних половин легких ланцюгів за стабільністю їхнього складу виявлено три типи ділянок: консервативні з постійним складом амінокислот; варіабельні, в яких розташовані ділянки, характерні для цієї групи; і гіперваріабельні, в яких заміни відбуваються досить часто. Різноманітність антитіл забезпечується насамперед за рахунок різноманітності послідовностей у гіперваріабельній ділянці. Активний центр антитіла формується залишками амінокислот гіперваріабельних ділянок. Основу його складають гіперваріабельні ділянки H-ланцюгів, а легкі ланцюги забезпечують "тонке настроювання". Це дає змогу активному центру зв'язувати, але з різним ступенем афінності не лише специфічні, а й структурно подібні епітопи.

При вивченні мієломних білків людини в різних лабораторіях було з'ясовано, що відносно постійними ділянками V-області важких ланцюгів є такі положення, які виконують роль каркасних структур: 1–30, 38–50, 69–83, 92–100, 111–124. Всі вивчені білки за характером амінокислотних послідовностей поділили на три підгрупи: V_{H1}, V_{H2} та V_{H3}.

Виявилось, що в V-ділянці близько 65 % амінокислот важких ланцюгів мають обмежену мінливість, а 20 % амінокислотних послідовностей абсолютно постійні, незалежно від того, до якої з підгруп вони належать. Постійними були залишки амінокислот у таких положеннях: 2, 4, 8, 14, 22, 25, 26, 38, 40, 43, 47, 48, 49, 69, 79, 92, 93, 94, 96, 98, 117, 120, 122, 123. Положення 3, 9, 17, 19, 21, 23, 28, 29, 39, 42, 46, 50, 80, 81, 82 були специфічними для підгруп. Відмінності ступеня варіабельності є також і всередині підгруп. Так, друга гіпермутабельна ділянка більш варіабельна в положеннях 51–60 для підгрупи V_{H2}, тоді як підгрупа V_{H1} – більш варіабельна в положеннях 61–65. Найбільше варіабельність виявляється всередині гіперваріабельних ділянок у підгрупі V_{H3}. Із 28 залишків амінокислот цієї підгрупи 21 відрізнявся своїм положенням. У відносно мало варіабельній частині V-ділянки V_{H3}-підгрупи ідентичними були 91 із 95 положень, тоді як у гіперваріабельній – лише 7 із 28. V_H-Підгрупи можуть перебувати в асоціації з C_H-ділянками важкого ланцюга будь-якого класу імуноглобулінів.

Константні положення як у V_H -, так і у V_L -ділянках пов'язані із забезпеченням функціональної взаємодії субодиниць молекули, наприклад жорсткості упаковки або взаємодії між ланцюгами. Гліцин у положенні 3 у Fab-фрагменті IgG до білка New забезпечує обертання фрагмента між V_L - V_H . Фенілаланін у положенні 99 і триптофан у положенні 107 V_H беруть участь у міжланцюговому контакті.

У κ -ланцюгах людського і мишачого білка Бенс-Джонса виявлено 44 однакових залишки амінокислот, що свідчить про достатньо високу консервативність цих структур у процесі еволюції. Заміни амінокислотних послідовностей є і в постійних частинах легких і важких ланцюгів, але на відміну від замін у варіабельних ділянках вони поодинокі і постійні.

У V -ділянці κ -ланцюгів близько 70 % положень варіабельні, тоді як у C -ділянці κ -ланцюгів варіації є лише в положенні 191, де може знаходитись валін або лейцин. Аналогічно C -діянка λ -ланцюгів має дві заміни в положенні 190 – Ліз-Арг. Лише на відміну від положення 191 у κ -ланцюгах ця заміна не успадковується, а той самий організм може синтезувати λ -ланцюги, які містять як Ліз, так і Арг, тобто C -діянка λ -ланцюгів кодується двома структурними генами. Гомологія варіабельних і константних ділянок легких ланцюгів становить 15 %, а гомологія константних ділянок ланцюгів κ і λ – 40 %.

Гарячі точки. Точки, в яких заміна амінокислот відбувається частіше ніж в інших положеннях, називають гіпермутабельними, або гарячими точками. У легких ланцюгах мишей і людини гіперваріабельними є 26–32, 48–55, 90–95, а у важких 31–37, 51–68, 84–91 і 101–110 амінокислотні залишки. Аналіз причин варіабельності свідчить про те, що близько 70 % замін зумовлюються зміною одного нуклеотиду триплету, близько 25 % – двох нуклеотидів і незначна кількість – змінами всього триплету, тобто мінливість послідовності амінокислот у легких ланцюгах є наслідком точкових мутацій.

У гарячих точках заміни часто відбуваються тією самою амінокислотою, з чого можна зробити висновок, що вони не випадкові, а закодовані у структурних генах. Отже, легкий ланцюг кодується великою кількістю генів. Стимуляція певного клону лімфоїдних клітин антигеном зумовлює "виникнення" всіх C -генів, крім одного, який, з'єднуючись з одним із багатьох V -генів, утворює VC -ген, що регулює синтез специфічного поліпептиду. Система з великої кількості генів забезпечує високу пластичність адаптації залежно від змін умов існування організму.

У варіабельних ділянках як важких, так і легких ланцюгів були виявлені каркасні детермінанти. Каркасними називають відносно інваріантні ділянки V -області, які не включені в гіперваріабельні структури і займають близько 80–85 % усієї області. Каркасні ділянки ство-

рюють стабільну просторову структуру, яка забезпечує певне розташування залишків амінокислот, від яких залежить комплементарність до антигену. Мінливість каркасних ділянок становить менше 5 %. Вони мають однакові розміри і розташовані в легких і важких ланцюгах різних імуноглобулінів і різних видів тварин у тих самих місцях. Вони також ідентичні в антитілах будь-якої специфічності у тварин одного виду.

Шарнірна ділянка. Показано, що важкі ланцюги молекул під впливом протеолітичних ферментів розриваються в певному місці (посередині важкого ланцюга), що з'єднує C_{H1} - та C_{H2} -домени або Fab- і Fc-фрагменти. Ця частина молекули, яку називають талією, не має вторинної і третинної структури. Це надає їй можливість виконувати роль шарніра і дозволяє обертатися субодиницям молекули. Талія забезпечує гнучкість молекули між Fab- і Fc-фрагментами. Завдяки наявності шарнірної області кут між Fab-фрагментами IgG може змінюватися від 0 до 180°. Кожний клас імуноглобулінів має своєрідну будову шарнірної області. Район талії складається з 15–60 амінокислот. Ділянка з 15 амінокислотних залишків може повторюватися. У молекулі IgG3 вона дуплікована чотири рази. Шарнірна область характеризується високим вмістом залишків цистеїну, що забезпечує зв'язок між H-ланцюгами через дисульфідні містки. Крім того, тут міститься велика кількість залишків проліну. В області талії відбувається розщеплення поліпептидного ланцюга папаїном, пепсином, трипсином, плазміном, катепсином. Шарнірна область впливає на конформацію і функціональну специфіку Fc-фрагментів підкласів IgG та на властивості доменів C_{H2} і C_{H3} . Вона також бере участь в утворенні низькомолекулярних імуностимулюючих факторів. Останні відділяються протеазами фагоцитів із ділянок талії при взаємодії молекули антитіла з антигеном і є "сигналом тривоги". Вони підсилюють фагоцитоз, антитілозалежну цитотоксичність, активують комплемент. Однак гомології району талії з доменами варіабельних і константних ділянок не виявлено. Тому зроблено припущення про незалежну еволюцію гена, який кодує цей район.

Дисульфідні зв'язки. У молекулах імуноглобулінів є три типи дисульфідних зв'язків: 1) міжланцюгові дисульфідні зв'язки між H-ланцюгами та між H- і L-ланцюгами; 2) міжланцюгові дисульфідні зв'язки, які зумовлені полімеризацією молекул IgM і IgA; 3) дисульфідні містки всередині ланцюгів – два в легкому і чотири-п'ять у важкому (рис. 31). Дисульфідні зв'язки, які з'єднують H-ланцюги між собою, розташовані в шарній області. Кількість і положення дисульфідних зв'язків між важкими ланцюгами різних класів і підкласів антитіла неоднакові. У першому і четвертому підкласах IgG між важкими ланцюгами є по два дисульфідні зв'язки, але положення їх різне. Так, IgG2 містить чотири, а IgG3 – шість-десять таких

зв'язків. У СООН-кінцевих положеннях важких ланцюгів імуноглобулінів різних класів дисульфідних зв'язків немає. Ланцюги тут з'єднані за допомогою нековалентних зв'язків двох типів. Дисульфідні зв'язки утворюються і між Н- і L-ланцюгами. Легкі ланцюги з'єднуються із залишками цистеїну важких ланцюгів у положенні 214 або поруч із залишком амінокислоти в положенні 131. Важкі і легкі ланцюги другого підкласу IgA дисульфідними зв'язками між собою не з'єднані, але контактування між ними забезпечується за рахунок нековалентних взаємодій.

Розщеплення при низькому рН дисульфідних зв'язків між двома важкими ланцюгами супроводжується утворенням двох симетричних фрагментів, що складаються з Н- і L-ланцюгів, які можуть реасоціювати в нейтральному середовищі. Якщо важкі і легкі ланцюги розділити на дві групи, а S-S-зв'язки заблокувати йодацетатамідом, то при змішуванні вони можуть реасоціювати за рахунок нековалентних зв'язків, утворюючи спонтанно чотириланцюгові молекули, які за фізико-хімічними та антигенними властивостями подібні до нативної молекули.

Полімеризацію мономерів у пентамер у молекулі IgM забезпечують дисульфідні зв'язки завдяки з'єднанню напівцистеїнових залишків Н-ланцюгів двох сусідніх мономерів або, можливо, через зв'язок із J-ланцюгом. Стабілізуючі дисульфідні зв'язки є також між С_μ3 доменами.

Дисульфідні зв'язки всередині ланцюгів "замикають" петлі з 60 по 70 амінокислотних залишків, утворюючи домени, які стабілізують структуру молекули та надають їй компактності. Проміжки між петлями приблизно однакові (за винятком шарнірної області), але у варіабельних ділянках у петлях міститься більша кількість залишків амінокислот.

Домени. Молекули імуноглобулінів складаються з компактних щільно з'єднаних глобулярних ділянок – доменів, що містять від 100 до 110 залишків амінокислот, які стабілізовані дисульфідними зв'язками. У легких ланцюгах як κ-, так і λ-типів є по два домени із 110 залишків амінокислот з одним внутрішньоланцюговим дисульфідним зв'язком, що утворює петлю завдовжки близько 60–70 амінокислотних залишків (по одній петлі у варіабельних і постійних ділянках ланцюга). Важкий ланцюг IgG і IgA можна поділити на чотири домени – лінійно пов'язані контактні ділянки, які містять по 100–110 залишків амінокислот та один дисульфідний зв'язок, що утворює петлю. Глобули С-доменів мають форму циліндрів, утворені сімома складками ланцюга і є компактними структурами. У кожному V-доміні є дев'ять подовжніх (S)-ділянок і вісім вигинів, пов'язаних із поворотом ланцюга. Домени з'єднані між собою поліпептидною ниткою подібно до намистин, таким чином, що вони можуть бути розташовані під кутом одна до одної.

V-Доменні упаковуються так, що їх гіперваріабельні ділянки, які містяться в різних місцях поліпептидного ланцюга, розташовані один біля одного. Це дає їм змогу утворювати ("вистилати") стінки порожнини активного центру. Відмінності, що спостерігаються у структурі доменів, визначають специфіку їхньої функції. У μ -ланцюгу один домен відповідає за розпізнавання антигену, другий – утворює структуру, яка комплементарна C-ділянці L-ланцюга, третій – забезпечує фіксацію комплементу, четвертий – зв'язується з клітинною поверхнею і зумовлює розпізнавання рецепторів клітин, п'ятий – забезпечує зв'язки мономерів молекули у складні агрегати. Гомологічні V_H - і V_L -домени беруть участь в утворенні активних центрів антитіл. Домени важкого ланцюга C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} подібні між собою за первинною структурою і з C-доменом L-ланцюга.

Структурна подібність ділянок доменів легких і важких ланцюгів, можливо, зумовлена походженням їх від спільного предкового гена внаслідок дуплікацій – подвійної у локусі, що контролює легкий ланцюг, і чотирикратної у локусі, що контролює важкий ланцюг. Продукт вихідного гена, очевидно, мав молекулярну масу 10 000–12 000. Можливо, що цим геном був ген *бета*₂-мікроглобуліну. Після його первинної дуплікації виник ген легкого ланцюга, а після вторинної – ген важкого ланцюга, що складається з чотирьох локусів. У процесі подальшої дивергентної еволюції виникли гени μ -, γ -, α -, δ -, ϵ - важких ланцюгів та κ -, λ -гени легких ланцюгів.

Характер укладання V-доменів важких і легких ланцюгів такий, що при цьому утворюються дві групи петель, з яких дистальні контактують із C-доменом, а проксимальні залишаються вільними, отже, є доступними для розчинника. Вільні петлі приблизно відповідають гіперваріабельним ділянкам легкого і важкого ланцюга. Ці ділянки розташовані в активному центрі антитіла, залишки амінокислот, що їх утворюють, контактують з антигеном. Однак антиген може контактувати і з залишками амінокислот, які не входять у гіперваріабельні ділянки.

Міждоменні ділянки ланцюгів більше, ніж домени чутливі до дії протеаз. При дії пепсину на Fab-фрагменти мишачого IgA відщеплюються C_L - і C_H -домени, але зв'язок між V_L - і V_H -доменами зберігається. Утворений фрагмент називають F_V , причому в нього повністю зберігається гаптензв'язувальна активність. C_H - і C_L - домени з'єднані між собою олігосахаридними ланцюгами, що містяться між ними, утворюючи тандем.

Між доменами одного ланцюга, як і між доменами сусідніх ланцюгів, що прилягають один до одного, відбувається певна взаємодія. Так, подібні домени H- і L-ланцюгів утворюють тандемні структури: V_L - V_H , C_L - C_{H1} , C_{H2} - C_{H2} , C_{H3} - C_{H3} , а ізольовані V_H - і V_L -

домени гомологічних моноклональних антитіл спонтанно об'єднуються в тандем V_L-V_H . Домени C_L і C_H забезпечують взаємодію L- і H- ланцюгів (табл. 18).

Таблиця 18. Біологічні властивості доменів

Домен	Функція
V_L+V_H	Зв'язування антигенів
C_{H1} C_L	Нековалентне зв'язування важких і легких ланцюгів
Шарнір на ділян-ка	Забезпечення рухливості Fab-фрагментів, вплив на функціональний стан Fc-фрагмента, зв'язок H-ланцюгів
C_{H2}	Фіксація C1q-фрагмента комплементу. Контроль катаболізму
C_{H3}	Цитотропна активність. Фіксація на макрофагах, нейтрофілах, тканинних базофілах, K- та B-клітинах

У молекулі IgG є 12 доменів, а в IgM і IgE – по 14. В α -ланцюгах за C_{H3} -доменом і в μ -ланцюгах за C_{H4} -доменом розташовані додаткові "хвостові" ділянки. Вони гомологічні за амінокислотним складом. У μ -ланцюгах до цієї ділянки приєднані J-ланцюги. Однак полімеризуються лише ланцюги, які мають "хвостову" ділянку.

Дані рентгеноструктурного аналізу. З'ясуванню структури антитіл значною мірою сприяли дані досліджень імуноглобулінів методом кристалографії із застосуванням γ -променів. Дифракційний аналіз кристалів Fab-фрагментів IgG виявив наявність двох доменів у легкому ланцюгу (V_L і C_L) і чотири у важкому (V_H , C_{H1} , C_{H2} , C_{H3}). Інтактна молекула IgG є структурою, яка має 7(12) доменів, складених у вигляді стопки ланцюгів, з яких три розташовані на першому плані та чотири – на другому.

Розчинні комплекси, які утворюються кролячими антитілами до динітрофенолу, під електронним мікроскопом мають вигляд трикутників із відростками, що виступають по кутах. Довжина бічних сторін трикутників дорівнює довжині Fab-фрагментів. Латеральні виступи є Fc-фрагментами. У комплексах, оброблених пепсином, їх немає. Комплекси бувають у вигляді тримерів чи пентамерів. Молекула IgM під мікроскопом має вигляд зірки з центральним кругом діаметром 100 нм і п'ятьма латеральними ніжками – відростками розміром 12,5 нм.

За даними електронно-мікроскопічних досліджень визначено розміри структурних частин молекули антитіл: довжина Fab-фрагментів – 6 нм, Fc-фрагментів – 4,5 нм, ширина відповідно 3,5 і 4,0 нм.

Рецепторна зона (активний центр антитіла) розташована у верхній частині Fab-фрагмента, розміри і форма якої дуже коливаються. Наприклад, довжина, ширина і глибина в різних молекулах мали відпо-

відно розміри прямокутника і заглиблення 2,0 x 1,5 x 1,2; 1,6 x 1,7 x 0,6 нм. Іноді ці заглиблення мали форму конуса завглибшки 0,7 нм та діаметром 1,0 нм біля основи і 1,5 нм на поверхні. Кут між V_H - C_{H1} і C_{H2} -доменами становить 135° у кристалах Fab-фрагментів і 170° у кристалах IgG, тобто між V_H - C_{H1} є лабільна ділянка ланцюга.

Вуглеводи. До поліпептидної молекулі імуноглобулінів приєднуються олігосахариди, які становлять 2,5–18 %. Вони ковалентно приєднані до різних фрагментів, тому імуноглобуліни є глікопротеїнами. У молекулі IgG олігосахариди, приєднані до важкого ланцюга, можуть бути в області Fc-фрагмента і в області NH_2 -кінцевої частини легкого ланцюга. Вони розташовані переважно в С-області Н-ланцюгів у доменах C_{H1} і C_{H2} . Вуглеводні компоненти, які переважно складаються з галактози, манози, N-ацетилглюкозаміну, фукози і сіалової кислоти, включаються ковалентно в пептидний ланцюг Fc-фрагмента через глікозидний зв'язок між аспарагіном і N-ацетилглюкозаміном. Згадані компоненти приєднуються до молекули імуноглобуліну у процесі біосинтезу ланцюгів і в момент проходження молекул через комплекс Гольджі. Глюкозамін і галактоза включаються в ланцюги на початкових етапах синтезу, а сіалова кислота – наприкінці, тобто в процесі секреції молекули з клітини. Вуглеводи можуть підтримувати функціональну конформацію доменів і захищати чутливі ділянки від пошкодження протеолітичними ферментами і, мабуть, брати участь у транспортуванні й секреції імуноглобулінів.

У молекулах IgG вуглеводи, очевидно, розташовані на поверхні C_{H2} -доменів. Вони прикріплені до аспарагіну в положенні 297 в обох важких ланцюгах. Є дані про те, що позбавлені вуглеводів моноклональні антитіла зберігають здатність зв'язуватися зі специфічним антигеном і білком А стафілокока, але втрачають здатність активувати комплемент, викликати антитілозалежну клітинну цитотоксичність і взаємодіяти з Fc-рецепторами клітин.

4.3. АНТИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ

У молекулах імуноглобулінів розрізняють три типи антигенних детермінант: ізотипові, алотипові та ідіотипові. *Ізотипові* детермінанти ідентичні для імуноглобулінів усіх особин цього виду. *Алотипові* детермінанти внутрішньовидові – вони є в імуноглобулінів одних особин цього виду і їх немає в інших. *Ідіотипові* детермінанти характерні лише для антитіл, синтезованих одним конкретним клоном плазматичних клітин.

Ізотипи. Класо- та типоспецифічні антигенні детермінанти, які є в імуноглобулінів усіх особин цього виду, називають ізотипами. Вони локалізовані на постійних ділянках поліпептидних ланцюгів і специфічні для Н-ланцюгів цього класу та для L-ланцюгів цього типу (табл. 19, 20).

Алотипи. Антигенні детермінанти, за якими молекули імуноглобулінів одних особин відрізняються від молекул антитіл інших особин одного або цього самого виду називаються алотипами. Ці детермінанти є в одних особин і відсутні в інших. Вони локалізовані в постійній ділянці поліпептидних Н- і L-ланцюгів, кодуються аельними генами і характеризують внутрішньовидовий поліморфізм імуноглобулінів.

Алотипи виявлені у тварин різних видів. Наприклад, є шість алотипів γ -глобулінів кроля. У людини відомо три алотипових маркери Gm, Am і Km, які відповідно кодуються локусами Gm (γ -маркер), Am (α -маркер) і Km (κ -маркер).

Таблиця 19. Домени поліпептидних ланцюгів імуноглобулінів

Ланцюги	Домени
Легкі	
λ	V_{λ} - C_{λ}
χ	V_{χ} - C_{χ}
Важкі	
γ	V_H - $C_{\gamma}1$ -шарнір- $C_{\gamma}2$ - $C_{\gamma}3$
μ	V_H - $C_{\mu}1$ - $C_{\mu}2$ - $C_{\mu}3$ - $C_{\mu}4$ + хвіст
α	V_H - $C_{\alpha}1$ -шарнір- $C_{\alpha}2$ - $C_{\alpha}3$ +хвіст
ϵ	V_H - $C_{\epsilon}1$ - $C_{\epsilon}2$ - $C_{\epsilon}3$ - $C_{\epsilon}4$
δ	V_H - $C_{\delta}1$ - $C_{\delta}3$ - $C_{\delta}4$

Таблиця 20. Амінокислотні заміни ізотипових маркерів

Маркер	Положення	Амінокислоти
Oz ⁺	193	Ліз
Oz ⁻	193	Арг
Mz ⁺	147-174	Вал – Асп
Mz ⁻	147-174	Ала – Ліз
Meg ⁺	116-118-167	Ала – Тре – Ліз
Meg ⁻	116-118-167	Ала – Сер – Тре

Фактори Gm, Am розташовані на важких ланцюгах, відповідно IgG і IgA, а Km – на легких ланцюгах типу χ . Виявлено 25 алотипів системи Gm, які у людини локалізовані переважно в Н-ланцюгах в області Fc-фрагмента. Наприклад, в особин $G_{1m(3)}$ в Н-ланцюгах у положенні 214 розташований аргінін, а в особин $G_{1m(17)}$ – лізин (табл. 21).

Розрізняють прості і складні алотипи. Алотипові варіанти γ -ланцюгів, які відрізняються 1-2 амінокислотами на 100 залишків амінокислот, є простими алотипами. Складні алотипи різняться між собою 15-20 амінокислотами на 100 залишків амінокислот. Прикладами складних алотипів є алотипи Km κ -ланцюга і Gm γ -ланцюга лю-

дини. Успадковуюються алотипи як прості ознаки і згідно із законами Менделя. У гетерозиготних особин гени, що кодують алотипи, є кододомінантними, але на рівні клітини експресується один алель.

Явище синтезу В-лімфоцитами імуноглобулінових ланцюгів лише одного типу з двох можливих алотипів називається алельним включенням. В особин, гетерозиготних за алотипами імуноглобулінів, у сироватці крові виявлено обидва алотипи, але кожна плазматична клітина синтезує імуноглобуліни лише одного класу, підкласу й алотипу, специфічні лише до одного антигену і лише до однієї антигенної детермінанти.

Ідіотипи. Антигенні детермінанти імуноглобулінів, які характерні для молекул імуноглобулінів певної специфічності, що синтезовані одним клоном плазматичних клітин, називаються ідіотипами. Ідіотипи розташовані в області Fab-фрагментів і локалізуються в рецепторній зоні антитіла у ділянці, що пов'язана з нею, оскільки гаптен блокує реакцію антигаптенних антитіл з антиідіотипами. Ідіотипи формуються за участю легкого і важкого ланцюга, оскільки антиідіотипові сироватки не реагують з ізольованими ланцюгами імуноглобулінів, але взаємодіють із реасоційованими антитілами.

Таблиця 21. Алотипи імуноглобулінів людини

Лан- цюг	До- мен	Алотип, назва		Амінокис- лота	Поло- ження
		стара	нова		

IgG 1	C _H 1	G _{1m(f)}	(3)	Арг	214	
	C _H 1	G _{1m(z)}	(17)	Ліз	214	
	C _H 3	G _{1m(a)}	(1)	Арг – Асп	355	-
IgG 2	C _H 2	G _{2m(n)}	(23)	Тир	358	
IgG 3	C _H 2	G _{3m(g)}	(21)	Тир	-	
	C _H 2	G _{3m(b)}	(5)	-	296	
	C _H 2	G _{3m(n)}	(26)	-	-	
	C _H 3	G _{3m(bo)}	(1)	Фен	-	
	C _H 3	G _{3m(b3)}	(3)	-	436	
	C _H 3	G _{3m(c3)}	(6)	-	-	
	C _H 3	G _{3m(3)}	(15)	-	-	
	C _H 3	G _{3m(t)}	(16)	-	-	
	C _H 3	G _{3m(v)}	(27)	-	-	
	IgA 2	C _H 2	A _{2m}	(1)	Про	-
Лан- цюг κ	C _κ	A _{2m}	(2)	Сер – Арг	212,	
		K _{m1}	-	Ала, Лей	221	
		K _{m2}	Вал,	Вал, Лей	212	-
		K _{m3}	Лей	Ала, Вал	221	
		-	-	-	153,	
				191		
				153,		
				191		
				153,		
				191		

Ідіоти́пи (idios – індивідуальний) – це антигенні відмінності у структурі активних центрів антитіл антитілосинтезуючих клонів в організмі різних особин (табл. 22). Ідіотипові детермінанти можуть виникати в активному центрі антитіл як у гіперваріабельних ділянках, так і в каркасній структурі. Вони можуть бути спільними для різних варіабельних ділянок та унікальними, які реагують з антиідіотиповими антитілами суворої специфічності. Оскільки та сама V-ділянка може комбінуватися з константними ділянками H-ланцюгів усіх класів, той самий ідіотип може зустрічатися в антитілах різних класів. Однозначні ідіоти́пи можуть зустрічатися у тварин різних видів. Очевидно, що в цих випадках виявляються подібні, але не повністю ідентичні антигенні детермінанти.

Синтез антитіл з антиідіотиповими специфічностями можна пояснити тим, що клон або група клонів, які виникли в результаті селекції мутантів або соматичного диференціювання, синтезують унікальні за структурою V_L-V_H-ланцюги. Найпростіший спосіб виявлення ідіотипів – імунізація мієломними білками, які містять гомогенні антитіла. Антисироватки до мієломних антитіл реагують із V-ділянкою імуноглобулінів одних і не реагують із V-ділянками інших особин.

Таблиця 22. Гетерогенність імуноглобулінів

Тип варіабельності	Групи структур	Локалізація	Варіанти
Ізотипи	Клас	H-ланцюг	$\gamma, \mu, \alpha, \delta, \varepsilon$
	Підклас	C_H	$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4, \alpha_1, \alpha_2$
	Тип	L-ланцюг	κ, λ
	Підтип	C_λ	Oz^+, Oz^-, Ke^+, Ke^-
	Підгрупа	V_L, V_H	V_κ, V_λ, V_H
			$V_{\kappa 1}, V_{\kappa 2}, V_{\kappa 3}, V_{\kappa 4}$
			$V_{\lambda 1}, V_{\lambda 2}, V_{\lambda 3}, V_{\lambda 4}, V_{\lambda 5}$
		$V_{H 1}, V_{H 2}, V_{H 3}, V_{H 4}$	
Алотипи	K_m	C_κ	$K_{m 1}: 1, 2, 3$
	G_m	$C_{\gamma 1}, C_{\gamma 2}, C_{\gamma 3}$	$G_m 1-27$
	A_m	$C_{\alpha 2}$	$A_m 1, 2$
Ідіотипи	V_L-V_H -тандеми, які характеризуються антигенною специфічністю, – амінокислотні послідовності гіперваріабельних ділянок, що індуковані цим антигеном		

В експерименті на тваринах показано, що антиідіотипові антитіла утворюються при нормальній імунній відповіді на багато антигенів: ксеногенні еритроцити, сироваткові білки, багато видів бактерій. Антиідіотипові антитіла в організмі можуть синтезуватися спонтанно. Феномен супресії ідіотипів має біологічне значення, оскільки антиідіотипові антитіла можуть виконувати роль регуляторів імунної відповіді.

Ідіотипи, по-суті, є антигенними субстанціями, або аутоантигенами молекул антитіл, які розпізнаються імунною системою організму, що синтезує ці антитіла. Вони виконують функцію імунорегуляторних структур унаслідок зворотного зв'язку ідіотип – антиідіотип за теорією імунорегуляторної сітки. Наявність такого механізму саморегуляції забезпечує автономність функціонування імунної системи.

4.4. АКТИВНИЙ ЦЕНТР АНТИТІЛА

Специфічність антитіла зумовлюється відповідністю конфігурації рецепторної групи антитіла детермінантній групі антигену, яка створюється певною послідовністю амінокислот у варіабельних ділянках важких і легких ланцюгів. Реакція антигену з антитілом значно змінюється при заміні в антигенній детермінанті тих залишків амінокислот, від яких залежить просторова конфігурація пептиду.

Активним центром, або паратопом, антидетермінантою, а також рецепторною зоною називають ділянку молекули антитіла, що є структурою, яка комплементарна детермінантній групі антигену. Активний центр розташований у щілині, утвореній варіабельними ділянками легкого і важкого ланцюгів (рис. 32) У формуванні активного центру антитіла, крім гіперваріабельних

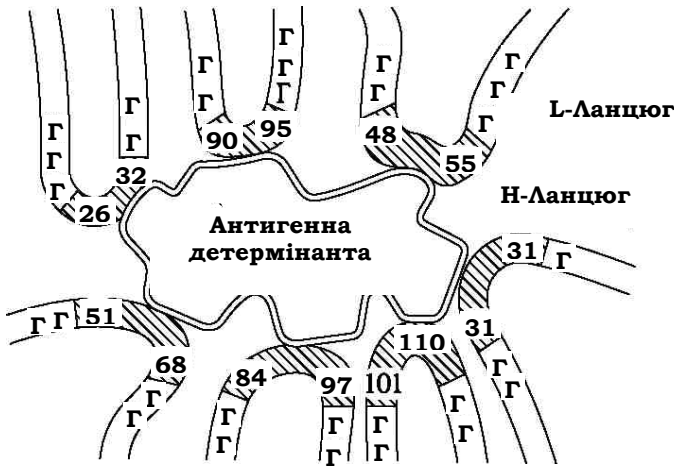


Рис. 32. Схематичне зображення, що ілюструє з'єднання антигенних детермінант із гіперваріабельними ділянками важкого і легкого ланцюгів молекули імуноглобуліну

ділянок, беруть участь інші структури, що стабілізують конфігурацію і представлені інваріантними ділянками поліпептидних ланцюгів. Активний центр антитіла характеризується функціональною автономією, тобто здатний зв'язувати антигенну детермінанту (ліганд) в ізольованому вигляді. Крім того, для нього характерна здатність спонтанної реконструкції з важких і легких ланцюгів. Після з'єднання V_H - і V_L -доменів утворюються структури сферичної форми. Вільна поверхня таких глобул оточена гіперваріабельними петлями важких і легких ланцюгів. Глибина, розміри і форма порожнини, що утворюються між V_H - і V_L -ланцюгами, залежно від виду антитіла бувають різними.

Активний центр антитіла має форму щілини завглибшки 1,2 нм, яка розташована між варіабельними доменами легкого і важкого ланцюга та в яку входить антигенна детермінанта. У будові активного центру антитіла беруть участь до 20 залишків амінокислот, які становлять близько 2 % поверхні антитіла. Ці розрахунки впливають із спостережень, в яких антисироватки до олігосахаридів із залишків глюкози пригнічували преципітацію декстрану. Оскільки найактивнішою була сироватка до гексамеру, припустили, що розмір гекса-

хариду 2–4 нм відповідає розміру активного центру. Ця структура варіює за розмірами й об'ємом, що впливає на афінність антитіл до конкретного антигену (табл. 23).

Таблиця 23. Розміри активних центрів антитіл

Антиген	Детермінанта	Активний центр, нм³
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	Гексаглутамінова кислота	3,6 x 1,0 x 0,6
Декстран	Ізомальтоза	3,4 x 1,2 x 0,7
Денатурована ДНК	Пентануклеотид	2,8 x 1,0 x 1,0

У побудові порожнини активного центру беруть участь гіперваріабельні ділянки як важкого, так і легкого ланцюга, однак більше значення відіграє важкий ланцюг. Так, у створенні стінок порожнини активного центру мієломного білка МОРС 603, що зв'язує фосфорилхолін, беруть участь дві гіперваріабельні ділянки легкого ланцюга і три – важкого. Утворена ними порожнина активного центру клиноподібної форми має розміри 1,5 x 2,0 нм та завглибшки 1,2 нм (рис. 33). Максимальна поверхня рецепторної групи IgG становить близько 100 нм² при загальній поверхні всієї молекули приблизно 70 000 нм².

Величина активного центру антитіла трохи перевищує розміри антигенної детермінанти. Проте через неоднорідність антитіл щодо структури детермінанти розміри ці відхиляються в обидва боки. Розміри активних центрів визначаються, очевидно, величиною детермінант. Так, активний центр IgG до білка New має розміри 0,6 x 0,6 x 1,5 нм. Ліганд зв'язується як із важким, так і з легким ланцюгом рецепторної зони антитіла. Площа контакту відносно невелика для малих лігандів (фосфорилхолін), але вона більша для великих лігандів. Внаслідок рентгеноструктурних досліджень було встановлено, що ліганд малих розмірів (фосфорилхолін), з'єднуючись з активним центром, займає середину щілини, якщо він сполучений із 91–94 залишками амінокислот легкого ланцюга та з 33, 52 і 102,103 залишками амінокислот важкого ланцюга.

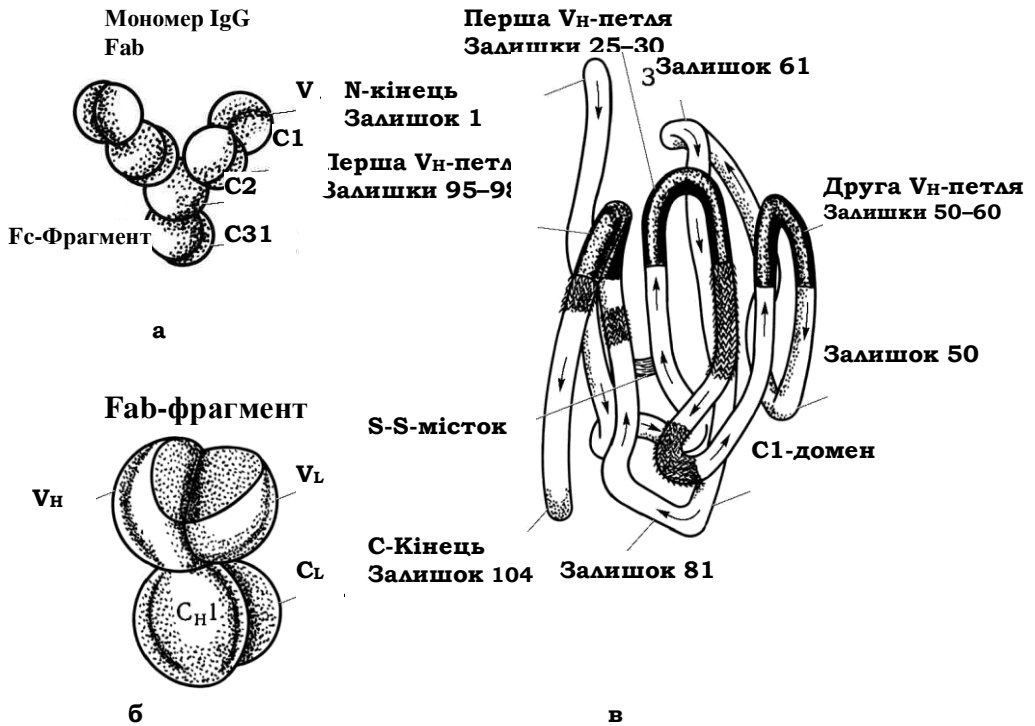


Рис. 33. Схема рентгеноструктурного зображення молекули IgG людини: а – взаємне розміщення шести доменів молекули антитіла; б – схематичне зображення варіабельного домену; в – укладання H-ланцюга

Ліганд, зв'язуючись з активним центром, стабілізує його структуру, що приводить до підвищення стійкості ліганда до протеолізу, який настає при цьому. Антитіла разом з антигенною детермінантою розпізнають також залишок амінокислот, яким детермінанта кон'югована. При заміні останнього афінність антитіла (константа зв'язування) знижується.

Активні центри антитіла можуть зв'язувати ліганди, не подібні за структурою (рис. 34). Навіть мієломні білки зв'язують кілька різних гаптенів. Оскільки при цьому гаптени проявляють конкурентні властивості, вони з'єднуються з тією самою гіперваріабельною зоною антитіла. Так, моноклональний мишачий IgG до ДНФ, що синтезується плазмоцитомою, крім динітрофенолу, зв'язує також динітронафтол і менадіон. Детермінанта зазвичай займає лише частину порожнини активного центру. Саме цим зумовлюється здатність активних центрів зв'язувати не лише специфічні, а й структурно споріднені детермінанти.

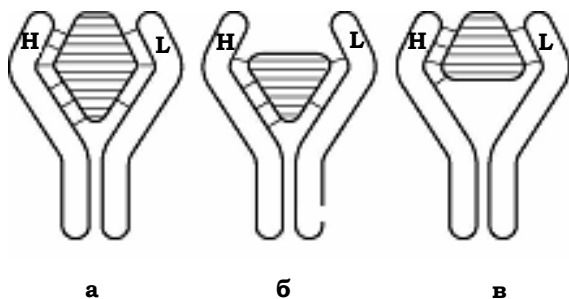


Рис. 34. Схематичне зображення поліспецифічності активного центру антитіл (а, б, в – ліганди різної конфігурації)

Однак досить високу стеричну відповідність рецепторної зони антитіл до антигенної детермінанти можна проілюструвати тим, що між орто-, мета- і пара-амінобензойними кислотами та D- і L-ізомерами винної кислоти не відбувається перехресних реакцій.

Популяція антитіл, що утворюється в процесі імунізації, гетерогенна за антигензв'язувальними центрами та афінністю навіть до окремого епітопу, що зумовлено гетерогенністю антитілосинтезуючих клонів. У той же час, окремий клон плазмоцитів синтезує високоомогенні антитіла. Антигензв'язувальні центри молекул антитіл можуть зв'язувати кілька структурно подібних антигенів. Їх називають *перехреснореагуючими антигенами*. У деяких випадках молекули гомогенних антитіл можуть зв'язувати і структурно неподібні антигени, що пояснюється утворенням зв'язків із різними ділянками антигензв'язувального центру. Гетерогенність антитіл навіть до окремого епітопу пояснюється тим, що специфічні до цього гаптену різні клони В-лімфоцитів синтезують не абсолютно гомогенні антитіла.

4.5. СИНТЕЗ МОЛЕКУЛ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ

Легкі і важкі ланцюги в плазмобластах розташовані переважно на цитоплазматичних полірибосомах. Легкі та важкі ланцюги синтезуються окремо і з'єднуються в молекулу γ -глобуліну перед виділенням із клітини. Молекула кролячого IgG утворюється внаслідок зв'язування готових ланцюгів, а не комбінацією легких ланцюгів із важкими в момент їх синтезу. Легкі ланцюги IgG синтезуються на полірибосомах плазмоцитів, які складаються з 5–7 рибосом (120–200 S), а важкі ланцюги – на полірибосомах, що складаються з 16–18 рибосом (280–300 S). Полірибосоми, які синтезують як важкі, так і легкі ланцюги IgG, розташовані на ендоплазматичному ретикулумі. Ланцюги переміщуються у щілини між цистернами шорсткого ендоплазматичного ретикулуму і під час проходження крізь них у комплекс Гольджі збираються в молекули. За допомогою гексотрансфераз до них у комплексі Гольджі прикріплюються вуглеводневі компоненти. У

дослідженнях із радіоактивними вуглеводами було показано, що спочатку до ланцюга приєднуються глюкозамін, а потім маноза, галактоза і сіалова кислота. У момент виділення із клітин до молекул приєднується ще фукоза.

Секреція антитіл відбувається шорсткими мембранами в пухирці, після чого вони виділяються крізь гладенькі мембрани. З цитоплазми антитіла вивільняються внаслідок секреції або клазматозу. Дрібні пухирці виділяються з мішечків ергастоплазми і рухаються до комплексу Гольджі. У подальшому молекула прикріплюється до клітинної мембрани, де остаточно формується (рис. 35). Крізь отвір, що утворився в мембрані, відбувається секреція пухирців назовні та їх лізис. При клазматозі без'ядерні частини цитоплазми, які містять секретований γ -глобулін, відокремлюються брунькуванням і вивільнюють антитіла з ергастоплазматичних мішечків після їх лізису. L-ланцюг синтезується протягом 30–45 с, а H-ланцюг протягом 60–90 с. Утворення H- і L-ланцюгів відбувається в ендоплазматичному ретикулумі. Приєднання вуглеводів та їх транспорт у цитомембрані і секреція здійснюється приблизно протягом 30 хв. J-ланцюги також синтезуються плазматичними клітинами і об'єднують мономерні молекули IgM і IgA безпосередньо перед початком секреції.

Молекули імуноглобулінів утворюються внаслідок приєднання легких ланцюгів до димера H-H або димеризації H-L-структур. Вважають, що механізм секреції імуноглобулінів зумовлюється наявністю специфічних послідовностей або вуглеводною міткою. Однак зазначену послідовність не виявлено, а в частині молекул антитіл вуглеводи відсутні. Полімерні молекули містяться в цитоплазмі лише у вигляді слідів, із чого можна зробити висновок, що вони з'єднуються безпосередньо перед виділенням із клітини. Імуноглобуліни становлять близько 40 % білків, які продукуються плазматичними клітинами.

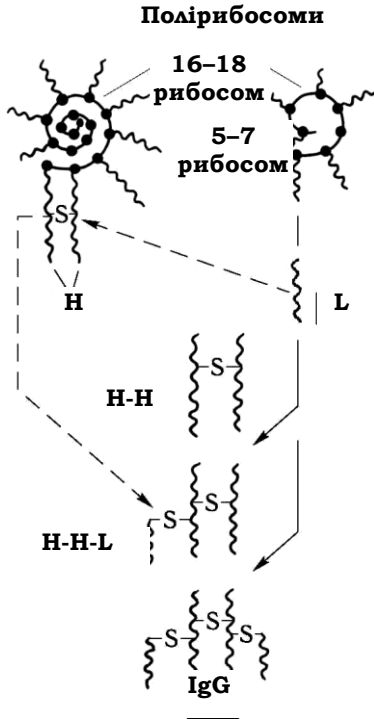


Рис. 35. Синтез ланцюгів імуноглобулінів

При імунізації не завжди виявляється паралелізм динаміки вмісту в сироватці крові γ -глобулінів і специфічних антитіл. У клітині одночасно синтезуються імунні та неімунні γ -глобуліни. Появі антитіла передує збільшення концентрації неспецифічних γ -глобулінів.

Плазмоцит синтезує до 2000 молекул антитіла за секунду. Антитіла, які виділяються з клітин, потрапляють у кров, лімфу і тканинну рідину. Вважають, що надходження імуноглобулінів у тканини залежить від коефіцієнта дифузії. IgM, що має низький коефіцієнт проникності, у великих кількостях виявляється в сироватці крові, а IgG, в якого цей коефіцієнт високий, – екстрацелюлярно. Рівень IgD відносно вищий у судинах, що, очевидно, пояснюється його низькою здатністю до дифузії. IgA у більшій концентрації міститься в лімфі, ніж у сироватці крові, оскільки, синтезуючись у значній кількості в кишках, він дифундує в лімфу і грудну протоку.

Антитіла різної специфічності можуть бути представлені будь-яким із класів імуноглобулінів. Щоб з'ясувати можливість утворення в одній клітині імуноглобулінів двох класів, вивчали синтез антитіла *in vitro* в лімфоїдних клітинах мишей різних ліній. Методом імуофлуоресценції було доведено, що незначна частина клітин містить важкі лан-

цюги двох різних класів. Більшість антитілоутворювальних клітин одночасно синтезують один клас важких та один тип легких ланцюгів імуноглобулінів. Одночасно в лімфоїдній тканині синтезуються поліпептидні ланцюги різних класів і типів на той самий антиген.

Синтез імуноглобулінів того або іншого класу залежить від дози антигену та інтенсивності антигенного стимулу. При однократній імунізації малими дозами баранячих еритроцитів у кроля утворюється IgM, а при гіперімунізації – IgG.

Антитіла всіх класів можуть існувати у вигляді мембранних рецепторів. Ці два види антитіл відрізняються структурою кінцевих ділянок. Мембранні антитіла мають гідрофобний фрагмент, що вбудований у мембрану, і коротку ділянку в цитоплазмі. Половина всіх імуноглобулінів знаходиться всередині судинного русла, а друга половина – у міжклітинній рідині та в сполучній тканині. За добу четверта частина імуноглобулінів, що циркулюють у крові, внаслідок дифузії крізь капіляри переходить у тканини, а на її місце надходить у кровотоку із лімфою така сама кількість імуноглобулінів.

У 1944 р. незалежно один від одного вчені А.Вінер і Р. Рейс у сироватці крові осіб, які були сенсibilізовані Rh-антигеном, виявили антитіла, здатні фіксуватися на Rh-позитивних еритроцитах. Оскільки аглютинація еритроцитів, які адсорбували ці антитіла, не спостерігалася А. Вінер назвав такі антитіла неповними. Тепер неповними називають антитіла, які здатні утворювати комплекс антиген – антитіло без появи *in vitro* видимого феномену аглютинації, преципітації або лізису.

Неповні антитіла утворюються в людини при захворюваннях, перебіг яких викликає підвищене руйнування клітин крові, інфекційних захворюваннях та алергічному стані. На відміну від повних антитіл вони характеризуються такими особливостями: 1) вищою термостабільністю; 2) здатністю утворювати феномен прозони, що зумовлено їх блокуючими властивостями; 3) ранішою появою і пізнішим зникненням; 4) кращим проходженням крізь плаценту.

Мієломні білки. Мієлома (плазмоцитома) – це лімфоїдна пухлина кісткового мозку, яка утворюється із плазматичної клітини. Така пухлина у великій кількості продукує антитіла однієї специфічності.

Особливістю мієломних антитіл є їх висока гомогенність, що зумовлюється наявністю в молекулі лише одного типу важких і легких ланцюгів.

Мієломні білки в мишей належать переважно до імуноглобуліну класу А і синтезуються плазмоцитомами, розташованими вздовж травного каналу. Мієломні білки мали велике значення для виявлення антитіл класів D, E і субкласів G, A. До розробки методу моноклональних антитіл вони були єдиним джерелом отримання значної кількості імуноглобулінів мінорних класів. Висока гомогенність мієломних іму-

ноглобулінів дає змогу використовувати їх для отримання високоспецифічних сироваток до імуноглобулінів певних класів. Відомості про хімічну структуру імуноглобулінів отримано при вивченні білків Бенс-Джонса і мієломних глобулінів. Завдяки їх гомогенності вдалося отримати достатню кількість матеріалу для аналізу хімічного складу легких і важких ланцюгів імуноглобулінів, визначення послідовності амінокислот та вивчення активного центру антитіл.

У 1848 р. Г. Бенс-Джонс у сечі хворих на плазмоцитому виявив специфічні білки, які і було названо його ім'ям. Пізніше було доведено, що білки Бенс-Джонса є димерами легких ланцюгів мієломних глобулінів, з'єднаних дисульфідними зв'язком.

Легкі ланцюги білків Бенс-Джонса і легкі ланцюги γ -глобулінів мають спільну хімічну структуру. Молекулярна маса білків, як і L-ланцюгів γ -глобулінів, становить 22 000–23 000. При температурі 60 °С білки Бенс-Джонса випадають в осад, але при температурі нижче або вище 80 °С вони не розчиняються – феномен Іррєніуса. Ці білки характеризуються багатьма властивостями, які мають L-ланцюги імуноглобулінів людини.

4.5.1. Динаміка утворення антитіл. Загальні закономірності

Здатність продукувати антитіла з'являється ще на ранніх етапах внутришньоутробного періоду. У лімфоїдній тканині 20-тижневого плода людини вже синтезуються антитіла класів IgM і IgG. Синтез антитіл класу IgG на третій-п'ятий рік становить 60–70 % середнього рівня дорослих. У деяких людей рівень IgG коливається в широких межах, однак у тієї самої особини він залишається постійним протягом усього життя. У людей похилого віку рівень IgG, і особливо IgA, у сироватці крові підвищується, але титри антитіл при цьому знижуються.

Динаміка продукції антитіл, як і хімічна структура їхніх молекул, детермінована генетично. Кожному виду тварин властива характерна динаміка утворення антитіл. Вона залежить також від особливостей і доз антигену, шляхів проникнення його в організм і стану реактивності. Специфіку динаміки наростання антитіл залежно від властивостей антигену, його доз і схем імунізації наведено в табл. 24. При первинному парентеральному введенні антигену кролям і гвінейським свинкам у сироватці антитіла виявляються через 3–4 дні. Титр антитіл наростає протягом 6–12 днів, стабілізується, а потім знижується і через 2–3 місяці майже досягає вихідного рівня. Період напіврозпаду різних класів імуноглобулінів у людини триває 10–30 днів, однак у сироватці крові вони можуть міститися протягом багатьох місяців і навіть років. Це свідчить про безперервність процесу їх утворення. Імунізація білками, вірусами, ліпополісахаридними антигенами ентеробактерій у людини і кроля стимулює утворення IgG, а у гвінейських свинок – IgM. Полімери при первинній імунізації

індукують переважно синтез IgM. На одну молекулу введеного антигену в організмі синтезується порівняно велика кількість антитіл. Так, на кожен молекулу введеного дифтерійного анатоксину протягом трьох тижнів синтезується понад мільйон молекул антитоксину. Титр антитіл може збільшуватися й після виведення антигену з організму, оскільки їх синтез продовжується новими генераціями стимульованих антигеном клітин. Для кожного виду антигенів існує оптимальна доза, яка має найбільшу інтенсивну стимулюючу дію. Малі дози антигену індукують слабку імунну відповідь або зовсім її не індукують. Дуже великі кількості антигену пригнічують імунну відповідь, виявляючи токсичну або толерогенну дію. В індукції імунної відповіді має значення філогенетична віддаленість донора від реципієнта. Для особин того самого виду (за винятком трансплантаційних антигенів) основна маса субстанцій не антигенна. Тому алогенні антигени індукують відповідно слабку імунну відповідь.

Більшість антигенів містять детермінанти, що індукують як Т-, так і В-імунну відповідь. Проте деякі антигени індукують лише Т- або лише В-імунну відповідь.

Після імунізації у сироватці крові знаходиться популяція антитіл, що містить антитіла проти різних детермінант, які мають різну афінність. Це зумовлено активацією клонів із різною афінністю рецепторів. При малій дозі антигену синтезується відносно гомогенна популяція антитіл високої афінності, але антитіл при цьому утворюється небагато.

Таблиця 24. Продукція антитіл різних класів після первинної імунізації мишей еритроцитами барана

Показники	Клас		
	IgM	IgG	IgA
Поява антитіл	3-й день	5-й день	9-й день
Досягнення максимального рівня	4-й день	7-й день	15-й день
Істотне зниження концентрації	на 6-й день	після 14 днів	після 21 дня

В утворенні антитіл виділяють чотири фази.

1. **Фаза спокою** (лаг-фаза, фаза індукції) – з моменту надходження антигену в організм до початку експоненціального приросту антитіл. Цей період залежно від характеру антигену може тривати від кількох днів до місяця. У фазі спокою здійснюється цикл перетворення антигену, відбувається проліферація і диференціювання клонів лімфоїдних клітин, загальна перебудова реактивності організму і розпочинається продукція антитіл. Найчастіше фаза спокою триває від 24 до 72–96 год.

2. **Фаза наростання титрів антитіл** – логорифмічна в часі (лог-фаза, продуктивна фаза) – від появи антитіл до моменту їх максимальної кількості. У цій фазі, яка триває 2–7 днів, антитіла вивільняються з плазмоцитів і надходять у кров'яне русло. Фазу наростання розподіляють на три етапи: експоненціальний, максимального синтезу та зниження утворення антитіл. Під час експоненціального росту титри подвоюються спочатку кожні 2–4, а потім 4–6 год. Однак швидкість антитілоутворення вже на кінець першої-другої доби сповільнюється, потім знижується до певного рівня, на якому зберігається протягом кількох днів, тижнів або місяців.

3. **Фаза стабілізації**, в якій рівень антитіл залишається незмінним переважно протягом кількох днів або тижня. Тривалість її залежить від виду тварин, характеру антигенів і класу антитіл, що продукуються.

4. **Фаза зниження продукції антитіл.** Тривалість цієї фази різна і залежить від збереження антигену у тканинах. При імунізації з ад'ювантом зниження антитіл розпочинається через кілька тижнів або місяців. Здатність до довгочасного утворення антитіл і у високих титрах можна підтримувати повторними введеннями антигену протягом тривалого часу. Антитіла до деяких мікробних антигенів продовжують синтезуватися через 500 днів після введення антигену, що підтверджується включенням радіоактивних міток у молекули антитіл. Такий тривалий синтез антитіл найлогічніше пояснити персистентністю антигенних субстанцій у тканинах, однак надійних доказів цього припущення немає. Антитіла до дифтерійного анатоксину також можуть виявлятися протягом кількох років після імунізації. Антитіла в сироватці крові людей, що перехворіли на кір, не знижуються протягом 8 років, а несприйнятність зберігається протягом 30 років. Антитіла до вірусу жовтої лихоманки виявляються через 60 років після перенесеного захворювання.

Повторні введення антигену. Повторна імунізація через кілька тижнів або місяців змінює динаміку імунної відповіді. Латентний період і період наростання титрів антитіл стають коротшими. Титри антитіл досягають максимуму швидше і зберігаються на високому рівні довше. Крім того, підвищується комплементарність антитіл до антигену (табл. 25).

Вторинна імунна відповідь зумовлюється значним збільшенням у лімфоїдній тканині кількості клітин імунологічної пам'яті до цього антигену, у зв'язку з чим титри антитіл значно зростають.

Таблиця 25. Відмінності між первинною і вторинною імунною відповіддю

Критерії оцінювання	Імунна відповідь	
	первинна	вторинна

Латентний період	Тривалий	Короткий
Швидкість синтезу антитіл	Низька	Висока
Пік титру антитіл	Низький	Високий
Персистенція високого титру антитіл	Коротка	Тривала
Афінність антитіл	Низька	Висока
Наявність клітин пам'яті	Мало	Багато
Домінуючий клас антитіл	IgM	IgG
Доза антигену, що індукує імунну відповідь	Висока	Низька

Збільшення дози антигену підвищує інтенсивність імунезу при вторинній відповіді, однак надмірно великі дози можуть пригнічувати імунологічні реакції. Підвищення дози антигену зумовлює збільшення антитілоутворювальних клітин, проте інтенсивність антитілогенезу кожної з клітин не зростає.

Введення нових доз антигену за наявності високих титрів антитіл у сироватці крові спричинює короткочасне зменшення титру антитіл унаслідок їх нейтралізації, а потім порівняно стійке його підвищення. Оптимальні дози антигену для кожного виду тварин індивідуальні. Перебудова, що настає після імунізації, зберігається тривалий час. Доказом цього є несприйнятливність проти деяких інфекцій за відсутності високих титрів антитіл у сироватці крові та швидкому збільшенні антитіл при реімунізації через великі проміжки часу – багато місяців і навіть років.

При вторинній імунній відповіді лімфоїдні клітини можуть реагувати на перехресні та на трохи змінені хімічно і фізично детермінанти. Тому вторинна відповідь може бути індукована не лише гомологічними, а й спорідненими антигенами. При повторній імунізації спорідненим, а не гомологічним антигеном синтезовані антитіла в деяких випадках інтенсивніше реагують з антигеном, що індукує первинну імунну відповідь, ніж із тим, який індукував вторинну відповідь. Цей феномен називається *вихідною антигенною помилкою*. Наприклад, така закономірність спостерігається щодо вірусних антигенів. Під час епідемій грипу в сироватках крові виявляються антитіла, здатні давати виражені реакції зі штамами, які були збудниками епідемій грипу в попередні роки.

Отримання високих титрів антитіл. Для інтенсивного синтезу антитіл в імунну відповідь слід залучати велику кількість клонів, які реагують на цей антиген, і стимулювати їх проліферацію з метою максимального збільшення в лімфоїдній тканині певної кількості антитілоутворювальних клітин і клітин пам'яті. Цього можна досягти поступовим збільшенням доз антигену, що вводиться в організм про-

тягом тривалого часу. Дози і кінцева маса антигену обмежуються його природою і реакцією лімфоїдної тканини.

4.6. ТЕОРІЇ УТВОРЕННЯ АНТИТІЛ

Теорія Ерліха. Однією з перших спроб пояснити утворення антитіл була теорія бічних ланцюгів, яку у 1898 висунув П. Ерліх. Він припустив, що антигени, як і харчові речовини, зв'язуються трофічними рецепторами клітини, але не засвоюються, а блокують їх. У результаті компенсаторної реакції клітини з'являється надлишок бічних ланцюгів, які відокремлюються від неї і потрапляють у кров'яне русло. Зберігаючи специфічну рецепторну функцію щодо антигену, рецептори є міцними антитілами (рис. 73, 74).

Матричні теорії. У 1930 р. Ф. Брейналь та Ф. Гауровиц припустили, що антиген безпосередньо впливає на синтез γ -глобулінів, завдяки чому формуються молекули γ -глобуліну, комплементарні щодо детермінантної групи антигену. Згідно з цією теорією молекула антигену відіграє роль прямої матриці для утворення негативних відбитків на молекулах γ -глобуліну, що знову утворюються. Оскільки конфігурація молекули антитіла геометрично доповнює конфігурацію детермінантних груп антигену, така взаємна комплементарність створює можливість з'єднання антигену зі специфічними антитілами.

Селекційні теорії. Теорія непрямиго відбору. У 50-ті роки ХХ ст. стало відомо, що генетична інформація про специфічні антитіла повинна зберігатися в геномі антитілосинтезуючих клітин незалежно від наявності цього антигену в лімфоїдній тканині. За гіпотезою, яку запропонував Н. Ерне, роль антигену зводиться до відбирання преадаптованих до нього клітин. Ця гіпотеза отримала дальший розвиток у запропонованій у 1959 р. Ф. Бернетом теорії селекції клонів. Теорія постулює чотири основні положення: 1) лімфоїдна тканина організму містить велику кількість клітин; 2) популяція лімфоїдних клітин гетерогенна і складається з великої кількості клонів, специфічних до одного антигену, що виникли в результаті мутацій; постійні процеси мутацій лімфоїдних клітин забезпечують достатню кількість окремих клонів лімфоїдних клітин, специфічних щодо можливої кількості антигенних детермінант; клонування зумовлене генетичним кодом; 3) мала кількість антигену стимулює специфічний клон лімфоїдних клітин до розмноження та диференціювання у плазмоцит, чим і забезпечується імунна відповідь – вироблення антитіл; 4) велика кількість антигену елімінує відповідний клон лімфоїдних клітин, чим зумовлюється загибель лімфоїдних клітин, що виникли в ембріональному періоді, і здатні реагувати проти власних антигенів, та формується природна толерантність до них.

Теорія Бернета постулює, що імунокомпетентна клітина (малий лімфоцит) містить у своєму геномі генетичну інформацію до імунної відповіді на один антиген ще до залучення її в імунну відповідь. У процесі імунної відповіді одна клітина проліферує, утворюючи клон, а друга — відповідає на другий антиген і т. д. Пул лімфоцитів окремої особини запрограмований для імунної відповіді на різні антигени. Гіпотеза передбачає, що при індукції імунної відповіді складними антигенами, такими як бактеріальна клітина, формується багато клонів до різних антигенних детермінант, а сироватка складається з популяції неоднакових антитіл, які синтезовані різними клонами, запрограмованими відповідати на окремі детермінанти комплексного бактеріального антигену.

Отже, лімфатична система організму має набір передіснуючих клонів, які запрограмовані відповідати на різні антигени. Доведено, що одна клітина може переключатися на синтез антитіл інших класів, тому введено правило "не одна клітина – один вид антитіл, а одна клітина – один ідіотип".

Загальна кількість клонів антитілоутворювальних клітин у людини знаходиться приблизно в межах 100 000. Частина клонів виникає ще в ембріональному періоді, а інші постнатально і в дорослих. Клони лімфоїдних клітин виникають як експресії різних генів, які містяться в геномі, і внаслідок соматичних мутацій.

Кожний В-лімфоцит генетично запрограмований синтезувати лише один вид антитіл і має один вид рецепторів для антигену. Цей рецептор знаходиться на поверхневій мембрані лімфоцитів. Приєднання антигену до рецепторів активує лімфоцит до проліферації і диференціювання, внаслідок чого виникає клон плазматичних клітин, що синтезують антитіла до цього антигену.

Нині селекційно-клональна теорія імунітету загально визнана. Вона є важливою теоретичною побудовою, яка дала імпульс і відкрила перспективу бурного розвитку імунології протягом останніх років.

4.7. ІМУНОГЛОБУЛІНИ РІЗНИХ КЛАСІВ. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА

За фізико-хімічною структурою, антигенністю і біологічною функцією імуноглобуліни тварин поділяють на 3–5, а в людини на 5 основних класів: IgM, IgG, IgA, IgD, IgE (табл. 26, 27). Антитіла однакової специфічності можуть належати до різних класів, у той же час антитіла, які належать до одного класу, можуть мати різну специфічність. У здорових людей кількість імуноглобулінів одного класу не залежить від кількості імуноглобулінів інших класів і залишається досить сталою (табл. 28).

Таблиця 26. Фізико-хімічні та біологічні властивості імуноглобулінів різних класів людини

Фізико-хімічна і біологічна характеристики	Класи імуноглобулінів				
	IgM	IgG	IgA	IgD	IgE
Концентрація в сироватці крові, %	12-14	70-80	6-8	0,5-1	0,00-2
Підкласи	-	G1, G2, G3, G4	A1, A2	-	-
Молекулярна маса	900 000	150 000	160 000	184 000	190 000
Молекулярна маса важких ланцюгів	70 000	53 000	55 000	70 000	71 000
Тип	μ	γ	α	δ	ε
Алотип	0	G _m	A _m	0	0
Молекулярна маса легких ланцюгів	23 000	23 000	23 000	23 000	23 000
Тип	κ, λ	κ, λ	κ, λ	κ, λ	κ, λ
Концентрація в сироватці, мг/мл	0,5-2	8-16	2-4	0,02-0,04	17-450
Вуглеводи, %	7-10	2-5	5-10	12-15	15-18
Коефіцієнт седиментації, S	19	7	7, 11, 13, 15	7	8
Валентність	5 або 10	2	2	2	2
Проникнення крізь плаценту	-	+	-	-	-
Наявність у секретах	+	+	+++	-	-
Вміст реагів	-	-	-	-	+
Блокуючі антитіла	-	+	-	-	+
Рецептори					
- макрофаги	-	+	-	-	-
- нейтрофілоцити	-	+	+	-	-
- лімфоцити	-	+	-	+	-
- тромбоцити	±	+	±	-	-
- тканинні базофілоцити	-	-	-	-	+
Ревматоїдний фактор	-	+	-	-	-
- антиген	+++				
- антитіло					

Противірусна активність	+	+	+++		
Опсонізація	++	+	-	-	-

Примітка. + – наявність ознаки; – – відсутність ознаки; 0 – даних немає.

Таблиця 27. Номенклатура імуноглобулінів людини

Імуноглобуліни	Важкі ланцюги	Легкі ланцюги	Молекулярна формула
IgG1	γ_a	κ, λ	$(\gamma_a \kappa)_2, (\gamma_a \lambda)_2$
IgG2	γ_b	κ, λ	$(\gamma_b \kappa)_2, (\gamma_b \lambda)_2$
IgG3	γ_c	κ, λ	$(\gamma_c \kappa)_2, (\gamma_c \lambda)_2$
IgG4	γ_d	κ, λ	$(\gamma_d \kappa)_2, (\gamma_d \lambda)_2$
IgM	μ	κ, λ	$[(\mu \kappa)_2]_5, [(\mu \lambda)_2]_5$
IgA	α	κ, λ	$(\alpha \kappa)_2, (\alpha \lambda)_2$
IgD	δ	κ, λ	$(\alpha \kappa)_2, (\delta \lambda)_2$
IgE	ϵ	κ, λ	$(\epsilon \kappa)_2, (\epsilon \lambda)_2$

Таблиця 28. Співвідношення імуноглобулінів окремих класів у сироватці крові і в слині, (%)

Імуноглобулін	Сироватка крові	Слина
IgG	70–80	15
IgA	6–8	85
IgM	6–12	2
IgD	0,5–1	>1
IgE	0,002	>0,1

4.7.1. Імуноглобуліни класу М

Система IgM найбільш рання як у філогенетичному, так і в онтогенетичному відношенні. У плода і новонародженого синтезуються переважно IgM. Імунна відповідь на введення багатьох антигенів розпочинається з продукції IgM (19 S), а до деяких антигенів утворюються переважно антитіла класу М. Корпускулярні антигени стимулюють синтез IgM. Імунна відповідь реалізується швидко, однак імунологічна пам'ять у клонів клітин, що синтезують IgM, зберігається слабо або її зовсім немає. Тому синтез IgM при повторному введенні того самого антигену здійснюється за первинним типом імунної відповіді. Молекулярна маса IgM 900 000, константа седиментації 19S. Через великі розміри молекули IgM не дифундують у тканини, а перебувають у кров'яному руслі. $C_{\mu}2$ -домен за структурою аналог шарнірної ділянки γ - і α -ланцюгів і, очевидно, є його попередником. До кожного μ -ланцюга прикріплено по п'ять залишків олігосахаридів: один $C_{\mu}1$, три в $C_{\mu}3$ ділянках і один у хвостовому залишку. Молекула IgM містить п'ять субодиниць, які з'єднані дисульфідними зв'язками між цистеїновими залишками важких ланцюгів. Кожна субодиниця

має молекулярну масу 180 000 і константу седиментації 7S. Полімеризація IgM відбувається у плазматичних клітинах до їх секреції під впливом полімеризуючого ферменту сульфгідрилоксидази, що продукується зрілими лімфоцитами. Мономери в молекулі IgM розташовані радіально: Fc-фрагменти до центру, Fab-фрагменти – назовні. Молекулярна маса важкого ланцюга μ – 70 000. Характер взаємодії IgM з антигеном залежить від величини і його концентрації. Якщо часточок мало, то всі п'ять "ніжок" антитіла, згинаючись, прикріплюються до однієї часточки антигену і молекула набуває форми круглого столу або краба. При з'єднанні кожної субодиниці антитіла з окремою часточкою антигену утворена структура набуває форми павука з п'ятьма гнучкими "ніжками" різної довжини. На поверхні еритроцита може адсорбуватися 90 000 молекул IgM і 600 000 молекул IgG.

Молекула IgM несе 10 активних центрів і здатна зв'язувати 10 детермінантних груп, тобто є десятивалентною. Так, IgM-антитіла до полісахариду черевнотифозної палички є десятивалентними. У деяких випадках молекула IgM зв'язує не 10, а лише 5 детермінантних груп, що, можливо, пояснюється стеричними перепонами, пов'язаними з великими розмірами приєднаних часточок антигену. Антитіла класу M мають більш виражені аглютинуючі і літичні властивості. 7S-Фрагменти, отримані в результаті м'якої дії ферментів на полімерну молекулу IgM, втрачають здатність аглютинувати антиген, хоча їх афінність до гаптенів не змінюється.

У складі IgM виявлено J-ланцюг, який бере участь у полімеризації IgM. J-ланцюг за антигенними властивостями відрізняється від інших ланцюгів. Вважають, що, зв'язуючи два 7S-мономери, J-ланцюг модифікує їхню конформацію так, що вони стають здатними з'єднуватися нековалентними зв'язками з іншими мономерами.

За здатністю Fc-фрагмента зв'язувати комплемент розрізняють два підкласи IgM: IgM1 – що зв'язують, і IgM2 – що незв'язують комплемент. Структурні відмінності субкласів IgM не встановлено.

Мембраноасоційовані IgM, які є рецепторами для антигену, мають коефіцієнт седиментації 8S і не об'єднуються в пентамерні комплекси, коефіцієнт седиментації яких 19S. Важкі ланцюги асоційованого з цитоплазматичною мембраною IgM на C-кінцевій ділянці мають додаткові структури: пептид із 12 амінокислотних залишків, який зв'язує гідрофобний поліпептидний ланцюг із 20 амінокислотних залишків, що асоційований із мембраною, і занурений у цитоплазму C-кінцевий трипептид. Ці структури кодуються додатковими генами. У μ -ланцюгах за $C_{\mu 4}$ -доменом і в α -ланцюгах за $C_{\alpha 3}$ -доменами розташовані додаткові хвостові ділянки. Вони гомологічні за амінокислотним складом. У μ -ланцюгах до цієї ділянки приєднаний J-ланцюг. Полімеризується лише молекули IgM та IgA, що у своєму

складі мають хвостові ділянки. У молекулі IgM J-ланцюг, можливо, з'єднає перший і п'ятий мономер у вигляді застібки.

Мономери IgM фіксують комплемент так само, як і IgG. Однак пентамер фіксує значно більші кількості комплементу. Пояснюється це тим, що наявність у молекулі IgM додаткового домена C_{H4} , який фіксує комплемент, сприяє швидкій стабілізації молекул комплементу відразу після прикріплення їх до полімерної молекули IgM.

Основним джерелом IgM у мишей, а можливо, і в усіх ссавців, є селезінка. Частина клітин, що синтезують IgM, переключається на експресію імуноглобулінів ізотипів G, A, E. Одна клітина може експресувати три ізотопи одночасно: IgM, D, A; M-D-G або M-D-E. Специфічність антигензв'язувальних ділянок при цьому не змінюється.

IgM не виявляється в тканинах і в закритих порожнинах, а лише в крові і секретах. Від вмісту IgM значною мірою залежить бактеріцидна активність сироватки крові людини.

4.7.2. Імуноглобуліни класу G

Наступний, більш високий, етап гуморальної імунологічної реактивності – утворення молекул IgG. Цей клас імуноглобулінів синтезується протягом більш тривалого часу після антигенного стимулу і зв'язує вже не лише корпускулярні, а й розчинні антигени. Афінітет IgG зростає в тисячі і десятки тисяч разів. Наявність імунної пам'яті щодо антитіл цього класу дає змогу організму в разі потреби різко збільшувати продукцію їх протягом короткого періоду часу, тобто вже є можливість зберігати імунітет протягом тривалого часу і забезпечувати вищий його рівень. IgG – основний клас антитіл, у людини він становить близько 70 % усіх імуноглобулінів. Основна маса антитоксинів і противірусних антитіл належить до IgG.

Значна кількість IgG синтезується у відповідь на вторинний антигенний стимул. У процесі імунної відповіді відбувається переключення синтезу IgM на IgG. Переключення з IgM на IgG потрібне і з метою регулювання рівня продукції специфічних антитіл, оскільки IgM, на відміну від IgG, не виявляє гальмівного впливу на синтез імуноглобулінів класу M. Молекулярна структура IgG подібна до будови мономерів IgM. Це найменший з усіх імуноглобулінів. Молекулярна маса IgG дорівнює 150 000, молекулярна формула $\kappa(\lambda)$ - γ - γ - $\kappa(\lambda)$. IgG термостабільні. Вони витримують нагрівання при температурі 75 °C протягом 30 хв, тоді як IgM при цьому повністю руйнується. У складі IgG міститься велика кількість дисульфідних зв'язків, що забезпечує високу стабільність структури. У сироватці крові IgG зберігає нативну структуру й активність при 0 °C протягом багатьох років.

Процес розщеплення молекули IgG на фрагменти відбувається *in vivo*; IgG може розщеплюватися на фрагменти в гранулах нейтрофілів під дією лізосомальних ферментів. Біологічна дія фрагментів при цьому

може зберігатися. Окремі Fab-фрагменти IgG, як і цілі молекули, здатні зв'язувати антиген. IgG – єдиний імуноглобулін, який проходить крізь плаценту. Це зумовлюється тим, що Fc-фрагмент молекули IgG містить угруповання, що забезпечують зв'язування молекули імуноглобуліну рецепторами плаценти, а також наявністю у плаценті Fc-рецепторів до IgG. Проникнення материнського IgG крізь бар'єр плаценти здійснюється внаслідок прикріплення молекули IgG до Fc-рецепторів трофобластів. Ділянка Fc-фрагмента, що фіксується на трофобластах, розташована в C_γ3-домені. Цим рецептором IgG прикріплюється також, очевидно, до рецепторів на епітелії звивистих каналців нирки, що забезпечує можливість реабсорбції IgG, який фільтрується в первинну сечу. Антитіла, що проходять крізь плаценту від матері, мають істотне значення для захисту організму дитини від деяких мікробів та їх токсинів: дифтерії, правцю, кашлюку, кору.

Перебуваючи у зв'язаному стані після з'єднання зі специфічним антигеном або після агрегування внаслідок неспецифічних дій, IgG фіксує комплемент. Однак літична, у тому числі й гемолітична, активність IgG виражена менше, ніж IgM.

Серед IgG виявлено чотири підкласи: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, які відрізняються за структурою важких ланцюгів (a, b, c, d) та за біологічними властивостями (табл. 29).

Таблиця 29. Підкласи IgG людини

Ознака	Підкласи IgG			
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Вміст у сироватці крові, %	65	23	8	4
Кількість доменів в Н-ланцюгах	4	4	5	4
Блокування зв'язування IgE	-	-	-	+
Пасивна шкірна анафілаксія	+	-	+	+
Реакція з ревматоїдним фактором	+	+	-	+
Дисульфідні зв'язки між Н-ланцюгами	2	4	6-10	2
Фіксація білка А стафілокока	+++	+++	-	+++
Проникнення крізь плаценту	++	±	++	++
Зв'язування з моноцитами	+++	++	++++	±
Активация комплементу класичним шляхом	++	++	++	±
Домінуючі антитіла	Анти-Rh	Анти-декстранові	Анти-Rh	До фактору VIII

У підкласах γ -ланцюгів більш як 90 % залишків амінокислот однакові. Це свідчить про те, що підкласи IgG походять від спільного ланцюга відносно недавно – 20–30 млн років тому. Антисироватка до важких γ -ланцюгів дає перехресні реакції з важкими ланцюгами всіх підкласів IgG, але не реагує з важкими ланцюгами всіх інших класів. Від загальної кількості IgG у сироватці крові людини IgG1 становить 70–77 %, IgG2 – 23 %, IgG3 – 8–9 %, IgG4 – 2–4 %.

4.7.3. Імуноглобуліни класу А

За структурою розрізняють три типи імуноглобулінів класу А: сироваткові IgA, що мають мономерну структуру молекули; сироваткові димерні IgA, у складі молекули яких є ще додатковий J-ланцюг, спільний для IgM та IgA як димерів, так і полімерів; секреторний IgA, молекули якого складаються із з'єднаних між собою за допомогою J-ланцюга і секреторного фрагмента (S-фрагмента) кількох (частіше двох) мономерних молекул IgA.

IgA становлять близько 10–20 % усіх сироваткових імуноглобулінів. Молекула IgA складається з двох легких ланцюгів λ - або κ -типу і двох важких ланцюгів. Молекулярна маса мономерного IgA – 160 000, а димерного – 380 000.

Гіпотетична структура секреторного IgA така. Дві молекули мономерного IgA обернені одна до одної COOH-фрагментами і з'єднані між собою за допомогою вставленого між ними J-ланцюга. S-фрагмент ніби охоплює кінцеві ділянки ланцюгів Fc-фрагментів, переходячи з однієї молекули на іншу. Секреторний IgA становить близько 1 % усього сироваткового IgA, але є основною масою імуноглобулінів, які виділяються на поверхню слизових оболонок і містяться у слині, кишковому соці та інших секретах.

Молекулярні формули мономерного, димерного сироваткового і димерного секреторного IgA відповідно такі: $\kappa(\lambda)\text{-}\alpha\text{-}\alpha(\lambda)\kappa$; $[\kappa(\lambda)\text{-}\alpha\text{-}\alpha(\lambda)\kappa]_2\text{+J}$; $[\kappa(\lambda)\text{-}\alpha\text{-}\alpha(\lambda)\kappa]_2\text{+J+S}$.

Молекулу IgA, як і молекули імуноглобулінів інших класів, а також J-ланцюг продукують плазмоцити, а S-компонент – епітеліальні клітини слизових оболонок. Секреторний компонент синтезується епітеліальними клітинами як рецепторний мембранний білок, специфічний щодо комплексу $(\text{IgA})_2$. Комплекси секреторного компонента та IgA, що утворилися на внутрішній поверхні епітеліальної клітини, внаслідок ендоцитозу надходять усередину клітини і рухаються до її поверхневої мембрани, де секреторний компонент частково руйнується протеолітичними ферментами. S-компонент – це глікопротеїн із молекулярною масою 71 000. Молекулярна маса J-ланцюга 15 000–18 000. Він приєднаний до передостаннього напівцистеїново-

го залишку важкого ланцюга за допомогою дисульфідних зв'язків. Однак, не з'ясовано, чи з'єднується він із важкими ланцюгами обох або лише одного мономерів. S-фрагмент, з'єднуючи два мономери у Fc-ділянці, стабілізує конформацію молекули і захищає її від руйнування протеолітичними ферментами слини і кишок. Резистентність до папаїну IgA молозива людини зменшується після вивільнення S-компонента. Сироватковий мономерний IgA синтезують плазмоцити кісткового мозку, лімфатичних вузлів і селезінки, димерний сироватковий IgA – плазмоцити секреторних залоз, а секреторний IgA – плазмоцити лімфоїдної тканини слизових оболонок верхніх дихальних шляхів, сечостатевого апарату і кишок.

Діти народжуються без IgA, оскільки цей імуноглобулін, як і IgM, не проходить крізь плаценту. Завдяки цьому імунологічні конфлікти, що зумовлюються несумісністю матері і плоду за еритроцитарними антигенами, трапляються рідше. Якби крізь плаценту проходили не лише IgG, а й IgM та IgA, то конфлікти при несумісності за АВО-антигенами спостерігалися б частіше і відбувалися б важче тому, що антиеритроцитарні IgM та IgA мають високу гемолітичну активність.

Серед IgA за структурними властивостями важких ланцюгів виділено два підкласи: IgA1 та IgA2. У молекулі IgA2 дисульфідних зв'язків між H- і L-ланцюгами немає, але вони є між L-ланцюгами.

Секреторний IgA. Автономність секреторної системи IgA. Секреторний IgA міститься у слизовій оболонці носа, рота, бронхів, кишок, піхви, каналців нирок, сечового міхура, слинних залоз як здорових, так і у хворих людей на різні захворювання. Співвідношення s IgA та імуноглобулінів інших класів у секретах становить 3 : 1–5 : 1, але воно може коливатися в значних межах. s IgA має антивірусну активність за відсутності комплементу і є першим противірусним і протибактеріальним бар'єром.

У 1932 році О. Безредка висунув ідею про існування локальної імунної системи, як пізніше була обґрунтована при вивченні місцевого імунітету слизових оболонок дихального, травного і сечостатевого апаратів. Доведено, що основним імуноглобуліном секретів є sIgA, який утворюється в разі місцевої імунізації, хоча в секретах містяться імуноглобуліни інших класів. Введений внутрішньовенно антиген синтез секреторних антитіл не стимулює. Якщо антиген вводити в порожнину носа, бронхи або кишки, продукція секреторного імуноглобуліну спостерігається відповідно лише в носі, бронхах або кишках. Локалізація імунної відповіді на тій ділянці, де був аплікований відповідний антиген, є специфічною реакцією секреторної системи імуноглобулінів. В експериментальних дослідженнях на кролях з ізольованими петлями кишок було доведено, що при введенні різноманітних мікробних антигенів у різні петлі синтезуються лише sIgA до того антигену, який було введено в цю петлю.

Важливою особливістю секреторної системи IgA є її незалежність від IgA сироваткової системи. IgA у сироватці крові може виявлятися за відсутності sIgA і, навпаки, за наявності IgA в секретах його може не бути в сироватці крові. Були випадки, коли у хворих в біопсованому матеріалі тонкої кишки зовсім не виявляли sIgA- та IgA-синтезуючих клітин, але виявляли IgA у сироватці крові, що також свідчить про незалежність систем секреторних і сироватковитх IgA.

Отже, існують дві відносно незалежні системи IgA – сироваткова і слизових оболонок. Такий висновок підтверджується клінічними даними. Так, Дж.Хереманс спостерігав випадки мієломоної хвороби, коли в сироватці крові виявляли велику кількість IgA, тоді як sIgA у кишках не виявляли. Однак IgA із слизових оболонок і секреторних залоз можуть надходити в кров. Зокрема, у собак вміст IgA в мезентеріальній лімфі у 20 разів вищий, ніж у крові. При опроміненні кишок мишей вміст IgA у крові кишок знижувався. Титри як сироваткових, так і sIgA збільшуються при інфекційних захворюваннях слизових оболонок. Властивості сироваткового і секреторного IgA та концентрацію IgA в секретах наведено в табл. 28.

Захист слизових оболонок. Резистентність до респіраторних вірусів залежить від титру секреторних антитіл, які утворюються локально в тій ділянці, крізь яку збудник проникає в організм, і практично не залежить від титрів сироваткових антитіл. При зараженні імунізованих добровольців риновірусом ступінь резистентності корелювала з кількістю секреторних, але не сироваткових антитіл. Аналогічні дані було отримано при імунізації інактивованими культурами або атенуйованою вакциною респіраторно-синтиціального вірусу, а також живою культурою мікоплазм пневмонії.

Вплив s IgA на мікроорганізми. Слизові оболонки можна захищати від патогенних мікробів, створюючи перешкоди для їх прикріплення до епітеліальних клітин. Саме такою системою є sIgA. Бактерії прикріплюються до слизових оболонок і використовують різноманітні пристосування, спрямовані проти змивання секретом і видалення з поверхні оболонки механічним шляхом. Від ефективності процесу адсорбції мікробів залежить їх здатність виживати в цій екологічній ніші. Для свого розвитку багато видів бактерій прикріплюються на слизових оболонках, зокрема стрептококи, ешерихії, шигели, нейсерії.

Біологічна доцільність місцевого імунітету, очевидно, полягає саме в тому, щоб створити швидкий захист від нових штамів, що постійно з'являються на слизових оболонках. У зв'язку з цим великий інтерес становить механізм швидкої елімінації клонів імунокомпетентних клітин, що створює можливість адаптації до нових штамів.

4.7.4. Імуноглобуліни класу E

Початком вивчення імуноглобуліну Е є класичні дослідження, проведені у 1921 К. Праузніца і Г. Кюстнера щодо перенесення негайної гіперчутливості введенням сироватки крові хворих на atopічне захворювання здоровим реципієнтам, що дало змогу достовірніше виявляти антиген, який сенсibiliзує організм. Цей метод протягом багатьох років застосовують як діагностичний тест при полінозах. Здоровому реципієнту внутрішньошкірно вводять сироватку хворого, а через добу в цю саму ділянку вводять алерген. У позитивних випадках на шкірі одразу видно специфічну реакцію, зумовлену наявністю в сироватці антитіл, які називають *реагінами*.

За деякими властивостями до IgE подібні блокуючі антитіла, що утворюються в сироватці крові хворих, яких лікували парентеральними ін'єкціями пилоквих алергенів. На відміну від реагінів блокуючі антитіла не зумовляють сенсibiliзації шкіри до гомологічного алергену. Блокуючі антитіла термостабільні, утворюють преципітати з алергеном, нейтралізують його активність, що виявляється при внутрішньошкірному введенні блокуючих антитіл у суміші з гомологічним алергеном. На відміну від реагінів блокуючі антитіла не фіксуються клітинами тканин того самого виду. Блокуючі антитіла можуть прикріплюватися до клітин інших видів, тому їх називають гетероцитотропними або гетероцитотропними. Гетероцитотропні антитіла людини сенсibiliзують гвінейську свинку, але не сенсibiliзують людину. Після десенсibiliзуючого лікування створюються блокуючі антитіла, а не реагіни.

Синтез IgE відбувається переважно в лімфоїдній тканині шкіри, дихальних шляхів, кишок і лімфатичних вузлах, які їх дренують.

IgE є глікопротеїном із молекулярною масою 190 000. Молекулярна маса важкого ланцюга – 71 000. Від імуноглобулінів інших класів він відрізняється більшим вмістом полісахаридів, спричинює реакцію Праузніца-Кюстнера в людини та реакцію анафілаксії шкіри в мавп, не фіксує комплементу. Fc-фрагмент IgE має вдвічі більшу молекулярну масу порівняно з Fc-фрагментом IgG – 100 000. Зумовлюється це тим, що Fc-фрагмент IgE приблизно на 100 амінокислотних залишків довший, тобто містить додатковий четвертий C_H-домен. Ця особливість є однією з причин своєрідності біологічних властивостей IgE, оскільки він фіксується на тканинних базофілах за допомогою Fc-фрагмента. Fc-фрагмент IgE блокує пасивну сенсibiliзацію реагінами. Однак ця властивість втрачається, якщо сироватку прогріти при температурі 56 °C. Проте активний центр антитіла при цьому не пошкоджується, і вони зберігають здатність реагувати зі специфічним антигеном.

IgE з'єднується з рецепторами тканинних базофілів. Наступне зв'язування адсорбованими антитілами антигену супроводжується відділенням тканинними базофілами гістаміну, який підвищує прони-

кність судин, що сприяє виникненню місцевої запальної реакції, видаленню з організму імунних комплексів та антигену.

IgE, з'єднуючись за допомогою Fc-фрагментів із рецепторами тучних клітин, зумовлюють фіксацію реагнів у тканинах. До Fab-фрагментів фіксованих реагнів приєднуються алергени, які проникають в організм, що зумовлює вивільнення тучними клітинами біологічно активних речовин, які запускають алергічні реакції. До рецепторів клітин для Fc-фрагментів IgE можуть приєднуватися IgE, агреговані антигеном. Зв'язування IgE із тканинними базофілами здійснюється структурою, що розташована в домені C_ε3, а саме в амінокислотній послідовності 320–324. Цей фрагмент в ізольованому стані блокує фіксацію IgE тканинними базофілоцитами. Він чутливий до термічних дій і денатурується при 56 °С. Ділянка зв'язування IgE тканинними базофілоцитами розташована в доменах C_ε2 і C_ε3. Кількість базофілоцитів і тучних клітин, які зв'язують IgE, збільшується при алергічних захворюваннях і при глистних інвазіях у тварин і людини.

При алергічній реакції тканинні базофілоцити пошкоджуються комплексом антиген – антитіло і виділяють гранули, які містять біологічно активні речовини. Пошкодження мембран обмежене ділянкою, де сформувалися комплекси антиген – антитіло. При цьому функція клітини зберігається і вона не гине, тобто під дією комплексу антиген – антитіло клітина не руйнується, а настає активація її функції. Розвиток алергічної реакції негайного типу можна перервати пригніченням функції тканинних базофілоцитів.

Рівень IgE у здорових людей коливається в значних межах: від повної відсутності до значного підвищення порівняно із середніми показниками. Концентрація IgE підвищується до періоду статевої зрілості, а потім поступово знижується. У сироватці здорової людини міститься 0,0002 г/л IgE. Підвищення рівня IgE у сироватці крові спостерігається при бронхіальній астмі, екземі, контактному дерматиті, полінозах, а також у сироватці хворих у початковий період десенсибілізуючої терапії.

Клітини, що синтезують IgE, у приматів у найбільшій кількості містяться в лімфоїдній тканині травного і дихального апаратів: піднебінних мигдаликах, аденоїдах, лімфатичних вузлах грудної і черевної порожнин, у слизовій оболонці носа, стравоходу і бронхів. Їх відносно мало в селезінці та підшкірних скупченнях лімфоїдних клітин.

Вважають, що основна роль IgE – захист слизових оболонок унаслідок індукції місцевої запальної реакції. Тканинні базофіли, фіксовані в тканинах, виділяють медіатори, які приваблюють фагоцити. Це зумовлює виникнення запальної реакції. IgE таким чином готують тканинні базофіли і базофілоцити до участі в алергічних реакціях. Можливо, IgE і тканинні базофіли захищають організм від

гельмінтів, оскільки медіатори, що вивільнюються при алергічних реакціях, приваблюють ацидофілоцити, навантажені IgG, які здатні уражувати паразитів. Генетичні лінії мишей відрізняються між собою за здатністю синтезувати реакіни, що свідчить про роль антитіл цього класу в адаптації ізолятів. Є дані про те, що IgE беруть участь у відторгненні пухлин.

4.7.5. Імуноглобуліни класу D

Концентрація IgD у сироватці крові не постійна, але зазвичай не перевищує 1 %. Молекулярна маса IgD становить 184 000, константа седиментації - 7S. Молекулярна маса важкого ланцюга – 70 000. Молекула IgD, як і молекули імуноглобулінів інших класів, складається з двох легких і двох важких поліпептидних ланцюгів, які зв'язані дисульфідними містками. Вуглеводи в молекулі IgD сягають 12–15 %. На відміну від імуноглобулінів інших класів вони містять N-ацетилгалактозамін. IgD комплементу не фіксує. Лише близько 9 % молекул IgD містять κ-ланцюги, тоді як у всіх інших класів імуноглобулінів у людини більший відсоток легких ланцюгів належить до κ-типу.

Рівень IgD підвищується при мієломній хворобі та хронічних запальних процесах. Швидкість синтезу IgD при мієломній хворобі може підвищуватися в сотні разів. Серед IgD виявляються й антинуклеарні антитіла проти тканин щитоподібної залози. З цього можна зробити висновок, що вони можуть спричинювати розвиток аутоімунних процесів. Імуноглобулінові рецептори для антигену на зрілих В-клітинах містять переважно IgD. На лімфоцитах IgD в онтогенезі з'являються значно пізніше інших імуноглобулінів. Це дало змогу припустити, що зв'язування антигену рецепторами IgD лімфоїдних клітин перешкоджає виникненню толерантності. Рецептори IgD для антигену не відрізняються від відповідних антитіл у сироватці крові. У 90 % клітин дорослих мишей виявлено одночасно імуноглобуліни класів M і D тієї самої специфічності. За наявності цих рецепторів клітина може переключатися на синтез антитіл інших ізотипів.

IgD поряд з IgM – основний рецептор. У людини в важких ланцюгах IgD дельта міститься шарнірна ділянка між C_δ1 та C_δ2, доменами. Вона має 64 залишки амінокислот. Сегмент шарніра багатий на вуглеводи, завдяки чому стійкий до перетравлювання протеолітичними ферментами. Локалізація вуглеводів не характерна, що може мати значення для проявлення біологічних функцій IgD.

У відносно великій кількості IgD міститься в судинах, ніж поза ними, що, очевидно, пояснюється низьким коефіцієнтом дифузії антитіл. У 100 % здорових людей IgD не виявляється, тоді як в окремих особин їх вміст може досягати 0,4 г/л при нормі 0,01–0,02 г/л. У спинномозковій рідині концентрація IgD підвищена і становить 17–

450 мг/мл, але IgM та IgA виявляють у слідових кількостях. Концентрація IgD зростає у вагітних та при прийомі оральних протизапальних препаратів. Клітини, що синтезують IgD у великій кількості, виявляються у слизовій оболонці товстої кишки при колітах. Однак роль IgD остаточно ще не з'ясована.

ВИСНОВКИ

Антитіла – глікозильовані білки – гаммаглобуліни, які здатні специфічно з'єднуватися з антигенами та виконувати ряд ефекторних функцій: фіксацію комплементу, опсонізувальний вплив та рецепторну і цитотоксичну дії тощо. Мономерні молекули імуноглобулінів складаються з 4 поліпептидних ланцюгів (2 важких та 2 легких), кожен з яких має варіабельну ділянку в N-кінцевій частині та константну – в C-кінцевій частині молекули. В організації доменної структури поліпептидних ланцюгів та їх взаємодії під час складання молекул імуноглобулінів вирішальну роль відіграють відповідно внутрішньоланцюгові та міжланцюгові дисульфідні зв'язки. Варіабельні домени, організовані варіабельними ділянками важких і легких ланцюгів, організують активний центр – рецепторну зону молекули антитіла, в якій відбувається зв'язування з антигенною детермінантою. Порожнина активного центру (паратоп) утворена гіперваріабельними ділянками важкого і легкого ланцюгів, в якій і відбувається специфічна взаємодія з антигенною детермінантою (епітопом) завдяки силам міжмолекулярного притягання. Антитіла, що утворюються у відповідь на проникнення антигенів, гетерогенні за антигензв'язувальними центрами, афінністю до окремого епітопу, що зумовлено гетерогенністю антигеносинтезуючих клонів В-лімфоцитів. Динаміка синтезу антитіл залежить від особливостей і доз антигенів, шляхів їх потрапляння в організм та генетичних особливостей і стану імунореактивності реципієнта. Проліферація і диференціювання лімфоїдних клітин, що спостерігається у відповідь на антигенний стимул, потрібні для збільшення клітин клону В-лімфоцитів, преадаптованого до цього антигену, перетворення їх на плазмоцити, які продукують специфічні антитіла, та на клітини імунної пам'яті. За фізико-хімічною структурою, антигенністю й біологічними функціями імуноглобуліни людини поділяють на п'ять класів: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. Антитіла однакової специфічності можуть належати до різних класів, а антитіла, що належать до одного класу, можуть мати різну специфічність.

Контрольні запитання

1. Які білки належать до імуноглобулінів?

2. Які основні методи використовують для дослідження структури антитіл?
3. Які основні фізико-хімічні параметри та біологічні властивості фрагментів молекули імуноглобулінів, отриманих під час розщеплення нативної молекули різними ферментами?
4. Яку будову мають константні та варіабельні фрагменти молекули антитіла?
5. Що стабілізує структуру молекули антитіла?
6. Що є основою антигенної різноманітності молекул антитіл?
7. Де і як синтезуються молекули антитіл?
8. Що таке афінність та авідність антитіл?
9. Які характерні особливості молекул антитіл різних класів?