جامعة حماه –كلية طب الأسنان

السنة الثالثة

الفصل الأول

علم المناعة

IMMUNOLOGY

المحاضرة السادسة

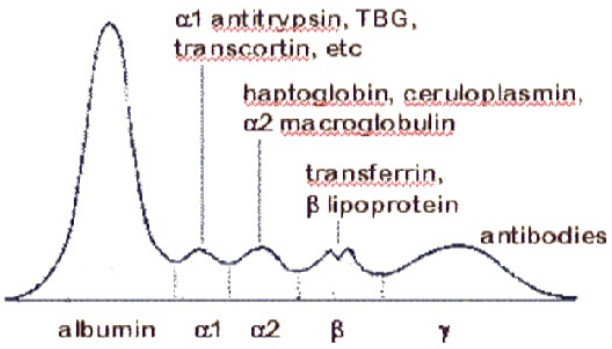
د. أسامة مخزوم

الأضداد Antibodies

الغلوبولينات المناعية Immunoglobulins

تعرّف الأضداد بأنها بروتينات سكرية لها خواص تسمح لها بالتعرف على المحددات المستضدية بشكل نوعي وتتفاعل معها، تنتجها الخلايا المصورية وتوجد في الدوران وسوائل البدن المختلفة.

تسمى غلوبولينات لأنها تنتمي إلى زمرة بروتينات الغلوبولين في الدم وعند اجراء الرحلان الكهربائي وفصل بروتينات الدم فإنها تتوضع ضمن المنطقتين غاما (بشكل أساسي) وبيتا.



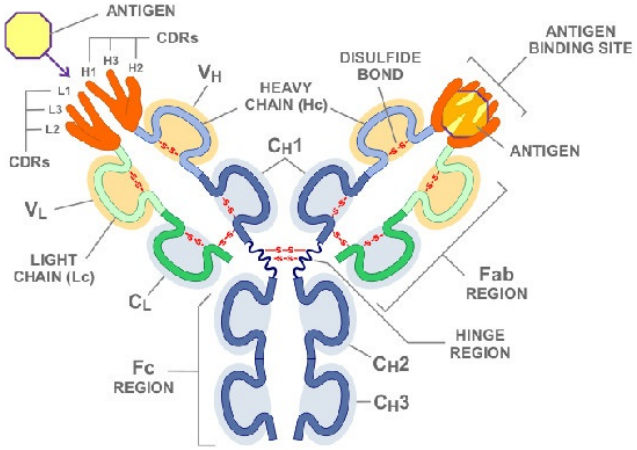
إن الوحدة الأساسية في تركيب الضد هي monomer (وحدة وحدوية) و التي تتألف من 4 سلاسل من عديدات الببتيد تشكّل حرف **Y:**

- **سلسلتين خفيفتين متماثلتين Light chains:** و ترمز (L) و لها نوعان (κ) kappa و Lamda. (λ) .يتألف الضد من نوع واحد فقط من هذه السلاسل إما κ أو λ. تتألف كل سلسلة خفيفة من 200 حمض أميني. كما أن كل سلسلة خفيفة تتألف من قطاعين:
  - قطاع ثابت Constant Light يرمز (CL) و يتألف من 100 حمض أميني.
  - قطاع متغير Variable Light يرمز (VL) و يتألف من 100 حمض أميني.

- **سلسلتين ثقيلتين متماثلتين Heavy chains:** و ترمز (H) و لها خمسة أنواع: غاما γ ، ألفا α، دلتا δ، ميو μ، ابسيلون ε. وبحسب هذه السلاسل الثقيلة توجد خمسة أصناف من الأضداد وهي بالترتيب: IgG، IgA، IgD، IgM ، IgE. تتألف كل سلسلة ثقيلة من 400 حمض أميني. كما أن كل سلسلة ثقيلة تتألف من 4 قطاعات:
  - 3 قطاعات ثابتة Constant Heavy ترمز CH1/ CH2 /CH3 و يتألف كل منها من 100 حمض أميني.
  - قطاع متغير Variable Heavy يرمز (VH) و يتألف من 100 حمض أميني.

ترتبط السلاسل الخفيفة مع السلاسل الثقيلة و الثقيلة مع بعضها بروابط مضاعفة الكبريت S-S، كذلك توجد هذه الروابط داخل السلسلة نفسها حيث تربط عرى السلسلة أو قطاعاتها ببعضها.

توجد منطقة مفصلية بين CH1- CH2 تسمى منطقة التمفصل Hing region تؤمن مرونة للجزيء الضدي وحركة للذراعين الحاملين لـ Paratope.



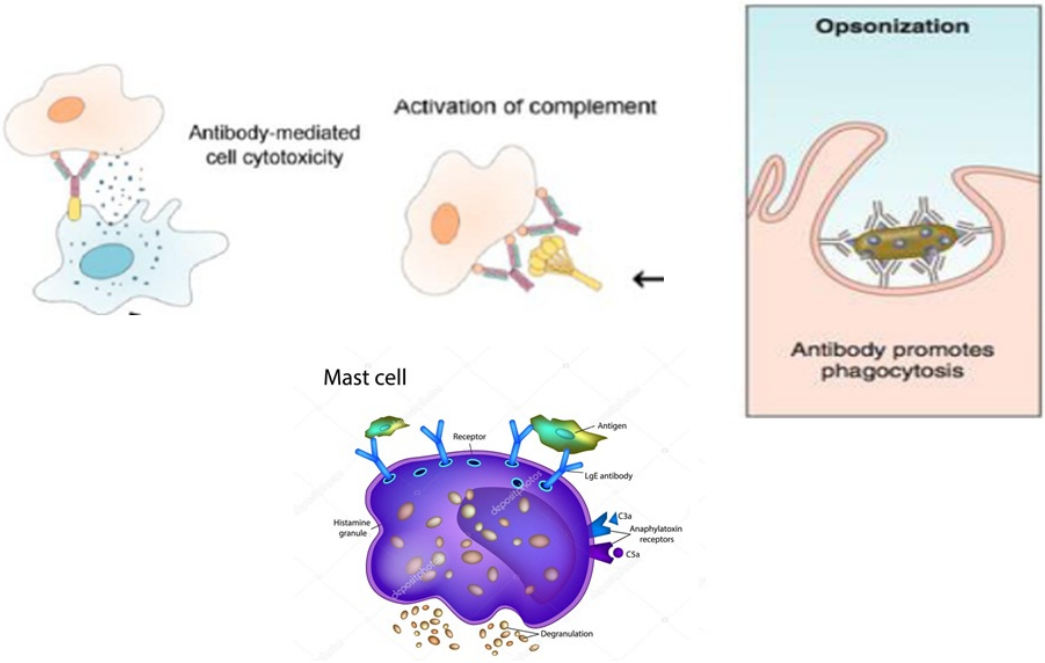
أنزيم البابائين Papain : يفصم جزيء الضد في منطقة التمفصل إلى:

1- شدفتين متماثلتين Fab (Antigen binding Fragment): وهي الشدفة التي تربط المستضد. تتألف Fab من CL+VL و CH1+VH. تمسكان المستضدين في آن واحد بالتالي يعتبر جزيء الضد ثنائي التكافؤ. إن النهاية الأمينية تحوي قطاع متغير (VH+VL) يكون ترتيب الحموض الأمينية متنوع بشكل كبير من ضد لآخر ليناسب الشكل الفراغي للإبيتوبات المختلفة.

2- الشدفة المتبلرة Fc (Fragment crystellizable) سميت بذلك لسهولة تبلرها و تتألف من CH2+CH3. إن وظيفتها هي توجيه الوظائف الحيوية لأصناف الغلوبولينات. يحدد هذه الوظائف وجود مستقبلات لـ Fc على مختلف الخلايا التي تتفاعل مع FC مؤدية لتأثيرات كثيرة.

من الفعاليات الحيوية لـ Fc:

1- ترتبط بالمتممة: فقط IgM،IgG1،IgG3 .
2- ترتبط بخلايا المشيمة فيتمكن الضد من العبور إلى الجنين: IgG.
3- ترتبط بالبالعات: IgG.
4- ترتبط بـ NK والبالعات كثيرة النوى بالتالي يقرب الضد الخلايا القاتلة من سطح الخلايا المحاطة بأضدادها فتقتل الخلايا الهدف عن طريق ADCC.
5- ترتبط بالخلايا البدينة مما يؤدي إلى إفراز محتوياتها: IgE.
6- ترتبط بالسلسة الإفرازية: IgA.
7- ترتبط بالسلسلة J: IgM, IgA.



بعض وظائف Fc

المناطق مفرطة التغير Hypervariable regions :

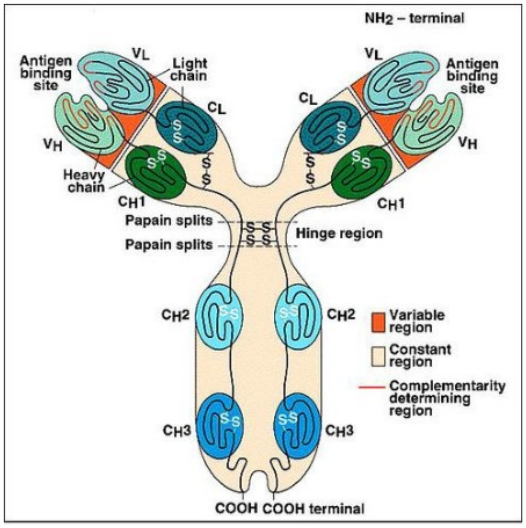
إن القطاعات VH و VL تحتوي 3 مناطق متغايرة بشكل كبير من حيث ترتيب الحموض الأمينية وتشكل مكان ارتباط المستضد في الضد، كما تعطي النوعية للأضداد.

إن تفاعل ضد- مستضد ناجم عن التكامل الدقيق بين المناطق الرابطة للمستضد من الضد والإيبيتوبات النوعية على المستضد. إن ارتباط ضد- مستضد عكوس لأنه لا يحدث تغيرات كيميائية للضد والمستضد نتيجة الارتباط.

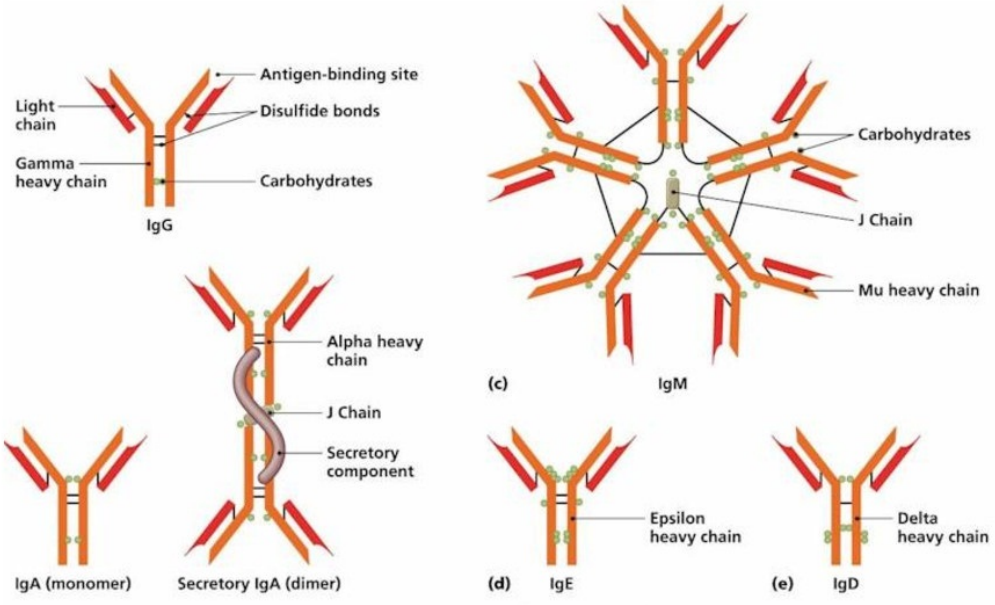
إن المناطق مفرطة التغير تشكل مناطق مكملة وموافقة بالتركيب للمحددات المستضدية (الإبيتوب) بالتالي تشترك هذه المناطق بتشكيل paratope وتسمى المناطق المحددة للتكامل (complementarity determining regions CDRs)

:Paratope

هو المنطقة من الغلوبولين المناعي الذي يتفاعل بشكل نوعي مع الإبيتوب من المستضد. ويتكون من تثني وانطواء سلاسل عديدات الببتيد بحيث يجلب المناطق مفرطة التغيير من القطاعات VH و VL (CDRs) بشكل قريب جداً مما يؤدي إلى تشكيل بنية ثلاثية الأبعاد مكملة للإبيتوب . ويتكون الباراتوب من (3CDRs) من كل من VH و VL.



أصناف الغلوبولينات المناعية Immunoglobulins (Ig) :



IgG:

يعتبرالغلوبولين المناعي الرئيسي في المصل حيث يشكل 75- 85% من اجمالي الغلوبولينات المناعية لدى الشخص السليم، Monomer ثنائي التكافؤ، وزنه الجزيئي 160000 دالتون، له أربعة أنواع (IgG1، IgG2، IgG3، IgG4) تختلف من حيث التركيز والوظيفة وتوضع الحموض الأمينية و عدد ومكان السلاسل الكبريتية. ينتشر IgG في الدوران، سوائل البدن، خارج الأوعية في الفراغات النسيجية.

عمره النصفي ٢١ يوم.

وظائفه:

1- يعتبر الضد الأساسي في الاستجابة المناعية الثانوية.

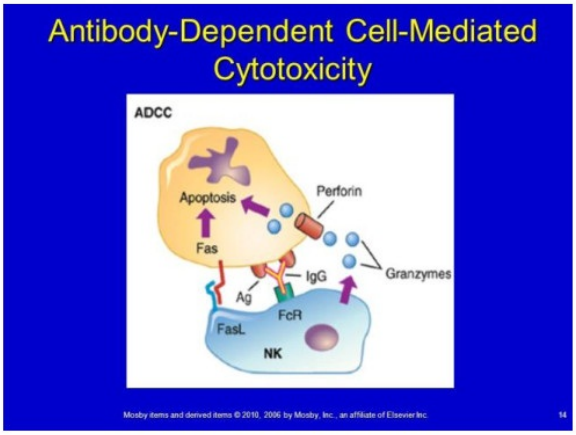
2- يعتبر الضد الوحيد الذي يعبر المشيمة فيزوده بالمناعة خلال حياته الجنينية و خلال أشهر حياته الأولى بعد الولادة وذلك بسبب وجود مستقبلات للحموض الأمينية في Fc في المشيمة لكن هذه الأضداد تتراجع بعد شهر من الولادة لتزول بعد 3- 6 أشهر بعد الولادة حيث تبدأ أضداد الطفل بالتكون.

3- ينتشر خارج الأوعية وبالتالي يؤدي لتعديل ذيفانات الجراثيم و تعديل الفيروسات والجراثيم خارج الخلايا.

4- يقوي عملية البلعمة لأنه يعتبر من الطاهيات Opsonin: ناجم عن إحاطته بالمستضد من جهة وارتباطه بمستقبلات Fc على سطح الخلايا البالعة.

5- يثبت و يفعل المتممة.

6- يتوجه IgG ضد مستضدات على سطح الخلايا يستطيع أن يحرض على قتل هذه الخلايا بواسطة NK أو بالبالعات أو المعتدلات و جميعها تملك مستقبلات لـ Fc وتدعى هذه العملية بالسمية الخلوية المعتمدة على الأضداد ADCC (Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity).



IgA:

يوجد في المصل ومفرزات الجسم ووظيفته حماية الأغشية المخاطية، تشكل حوالي 10% ، وزنه الجزيئي 170000 دالتون، وعمره النصفي 6 أيام. Monomer، وله نوعان (IgA1، IgA2).

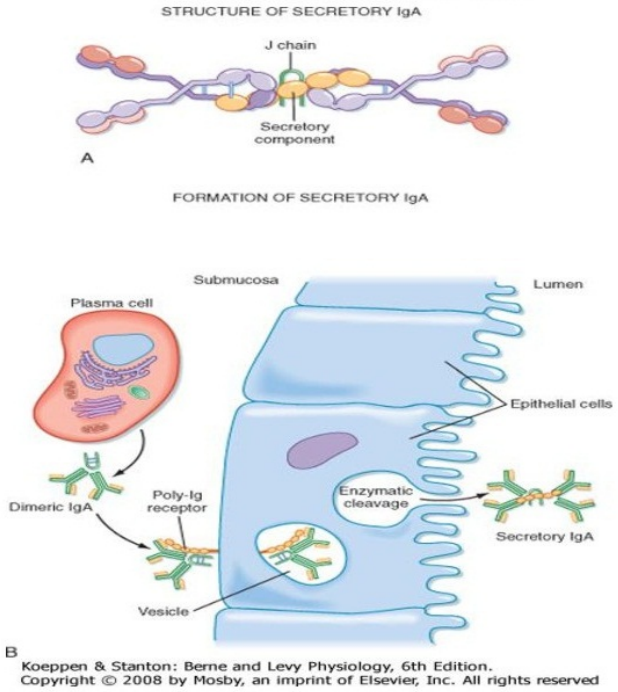
IgA الإفرازي: (S. IgA) Secretory IgA وهو السائد في الإفرازات المخاطية (التنفسية، الهضمية، المعدية المعوية، البولية التناسلية وخاصة عنق الرحم)، موجود أيضاً في الدمع، اللعاب، العرق، اللبأ، الحليب، الصفراء.

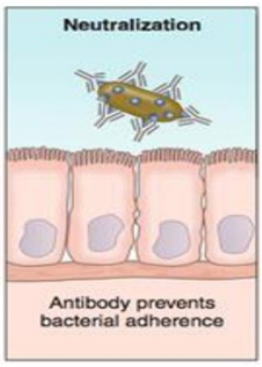
يوجد IgA الإفرازي بشكل dimere (مؤلف من وحدتين أحاديتين). ترتبط هذه الوحدات بسلسلة ببتيدية قصيرة تدعى السلسلة J تنتجها الخلايا المصورية.

يتم تصنيع IgA الإفرازي بشكل موضعي في الخلايا المصورية الموجودة في النسج الضامة في المنطقة تحت المخاطية. أثناء مرور الأضداد عبر الخلايا الظهارية إلى اللمعة تكتسب قطعة إفرازية (secretory piece) وهي عبارة عن عديد ببيتد يصنع في الخلايا الظهارية، و تقوم هذه القطعة بتسهيل انتقال S.IgA إلى الإفرازات و تحمي الضد الإفرازي من تأثير الأنزيمات الهاضمة للأنزيمات الحالة للبروتين بما فيها الجراثيم الممرضة.

الوظائف الأساسية لـ S.IgA:

1) تحقيق المناعة الموضعية على السطوح المخاطية عن طريق إحاطة الجراثيم/ فيروسات فتمنعها من الالتصاق على الخلايا المخاطية فتمنع دخولها.
2) IgA موجود في الحليب واللبأ مما يؤدي لحماية المولود من الإنتانات.





IgM:

أكبر الغلوبولينات المناعية، وزنه الجزيئي 10^6، عمره النصفي 5 أيام، تشكل حوالي 8% من اجمالي الغلوبولينات المناعية. يتألف من خمس وحدات وحدوية تتحد بشكل نجمي عبر السلسلة الببتيدية J. الشكل الأحادي monomer يشكل مستقبل هام للمستضد على سطح اللمفاويات B. يبقى في الدوران ولا يعبر الفراغات النسيجية.

وظائفه:

1- الضد الأساسي في الاستجابة المناعية الأولية، بما أن عمره قصير فوجوده دليل على إصابة أو عدوى حديثة.
2- يحتوي 5-10 أماكن للارتباط بالمستضدات فعالية في التراص وتثبيت المتممة وحل الخلايا والطهاية.
3- لا يعبر المشيمة، لذا يشير ارتفاع IgM عند المواليد الجدد إلى إنتان داخل الرحم حيث يقوم الجنين بتصنيع IgM نفسه.
4- IgM هو الصنف الوحيد الذي يتكون تجاه مستضدات سكرية مثل مستضدات الزمر الدموية A,B على سطح الكريات الحمر وعديدات السكاريد المحفظية للجراثيم.
5- أكبر من IgG بـ5 مرات (5 وحدات ترتبط بـ J، يحتوي كربوهيدرات أكثر، السلسلة H أطول).

IgD:

وزنه الجزيئي 180000 دالتون، العمر النصفي 3 أيام، monomer، يشكل 0,15% من اجمالي الغوبولينات المناعية في المصل، يتوضع على سطح اللمفاويات B الناضجة والقادرة مناعياً فتعمل كمستقبل خاص للمستضدات، ينظم تفعيل ونضج اللمفاويات B.

IgE:

Monomer، أكبر من IgG، تشكل 0,004 % من الغلوبولينات المناعية في المصل، عمره 2,5 يوم.

1. يرتفع عند المصابين بالنمط الأول من فرط الحساسية مثل الربو و حمى القش (دور إمراضي)
2. يرتبط بمستقبلات FC على سطح الخلايا البدينة وخلايا الأساسات.
3. شكله الحر قليل جداً، لا يعبر المشيمة ولا يثبت المتممة.
4. يتحد مع المستضد مشكلا معقد ضد- مستضد على سطح الخلايا بالتالي تتحرض الخلايا لإطلاق مواد التهابية Inflammatory mediators.

التحول من صنف إلى آخر في تصنيع Ig:

يعني أن الخلايا المصورية Plasma cells تستطيع أن تتحول من إنتاج IgM إلى IgG وغيرها لها نفس النوعية الخاصة بالمستضد ، يحكم هذه العملية سيتوكينات تفرزها Th2 وكذلك CD40.

يتضمن هذا التحول تبدلات في القطاعات الثابتة من السلسلة CH دون أي تبدل في القطاع V من السلسلة H أو السلسلة L، لذا لا يترافق التحول أو التبدل من صنف لآخر بالنوعية المتعلقة بالارتباط بالمستضد.

تنظيم إنتاج الأضداد:

عند انتهاء استجابة المناعة الخلطية تقوم الأضداد بتثبيط عمل اللمفاويات B المفرزة للأضداد بآليتين:

1- تقوم الأضداد بحصار المستضدات Ag blocking:

فالتركيز العالي للأضداد في الدوران يجعلها ترتبط بالمستضدات وتشكل معقدات مناعية تمنع وصول المستضدات لمستقبلاتها على سطح الخلايا B بالتالي لا تنبهها.

2- ارتباط بين المستقبلات على سطح الخلايا Receptor Cross killing B.

يرتبط معقد Ag-Ab على سطح اللمفاويات B بحيث ترتبط ابيتوب بالمستقبل Ig وبنفس الوقت يرتبط الضد من المعقد المناعي بمستقبل Fc على سطح اللمفاويات B فتنشأ إشارة تثبيط لإنتاج الأضداد.

الاستجابة الضدية الأولية والثانوية

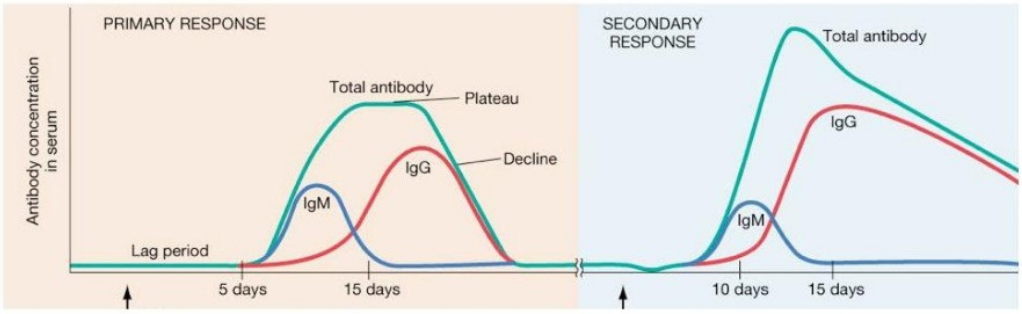
The Primary and Secondary immune response

حين يتعرض البدن لمستضد غريب فإن الأضداد تبدأ بالظهور بعد 7-10 أيام تدعى هذه الفترة فترة التحريض induction period ثم يبدأ تركيز الأضداد في المصل (وهي من صنف IGM) بالارتفاع حتى يصل إلى القمة خلال بضعة أسابيع (2-3)، بعدها يبدأ بالتناقص بسرعة، و يبدأ في هذا الوقت ظهور الأضداد من نوع IgG لها نفس النوعية المستضدية و هذا يدعى الاستجابة الضدية الأولية.

إن طول فترة الحضانة أو التحريض في الاستجابة المناعية الأولية سببه الوقت اللازم لهضم و معالجة المستضد بواسطة الخلايا البالعة ومن ثم عرض مستضداته على سطحها حيث يتم التعرف عليها من قبل اللمفاويات Th، ومن ثم تفعيل اللمفاويات B.

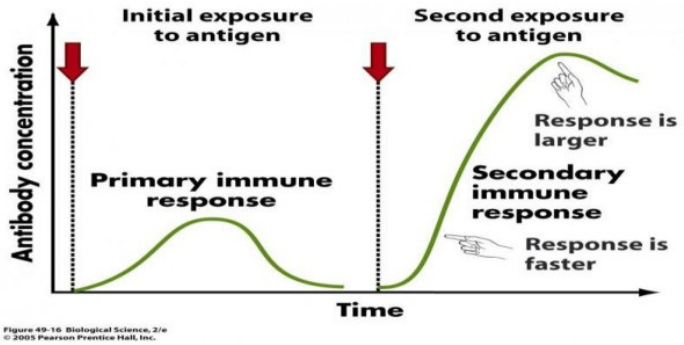
عند التعرض مرة ثانية للمستضد نفسه بعد أسابيع أو سنوات من التعرض الأول تحدث استجابة مناعية ضدية بشكل أسرع (لا توجد فترة تحريض أو أنها تستغرق فقط عدة ساعات) و يصل مستوى الأضداد إلى مستوى أعلى بكثير و تستمر هذه الأضداد في المصل فترة أطول قد تصل لعدة سنوات و تكون الأضداد من صنف IgG ، و هكذا تكون هذه الاستجابة الضدية الثانوية أسرع و أشد و تستمر فترة أطول، و ذلك بسبب وجود خلايا ذاكرة و تكون هذه الذاكرة سببا في المناعة طويلة الأمد التي تحدث بعد بعض الامراض مثل الدفتيريا و الحصبة و النكاف.

Primary *vs* secondary antibody responses



تختلف الاستجابة المناعية الثانوية عن الأولية في الآتي:

1. وقت التحريض في الاستجابة الثانوية أقل بكثير من وقت التحريض في الاستجابة الأولية وبالتالي تكون الاستجابة أسرع.
2. تمتاز الاستجابة المناعية الثانوية بسرعة إنتاج الأضداد وبمستويات عالية وتدوم لفترة أطول.
3. الجرعة اللازمة لإحداث الاستجابة الثانوية اقل بكثير من الجرعة اللازمة لإحداث الاستجابة الأولية.
4. تكون الأضداد المنتجة في الاستجابة الثانوية غالبا من نوع IgG .
5. تحدث الاستجابة الثانوية بشكل رئيسي للمستضدات البروتينية.
6. يمكن أن تحدث الاستجابة الثانوية بعد الاستجابة الأولية بشهور أو سنوات.



عمل الأضداد:

تعمل الأضداد بطرق مختلفة و ذلك بحسب طبيعة المستضد:

a. أضداد ذيفانات الجراثيم: ترتبط بها وتعدلها وتمنعها من الارتباط على سطح الخلايا الهدف.
b. الطهاية: تسهل بلعمة Ag المحاطة بأضدادها.

c. أضداد جراثيم وفيروسات: ترتبط بها وتمنع ارتباطها بالخلايا الهدف.

d. المعقد ضد- مستضد: ممكن أن يؤدي لتفعيل المتممة.

e. تتدخل الأضداد في عملية القتل الخلوي المعتمد على الأضداد ADCC.

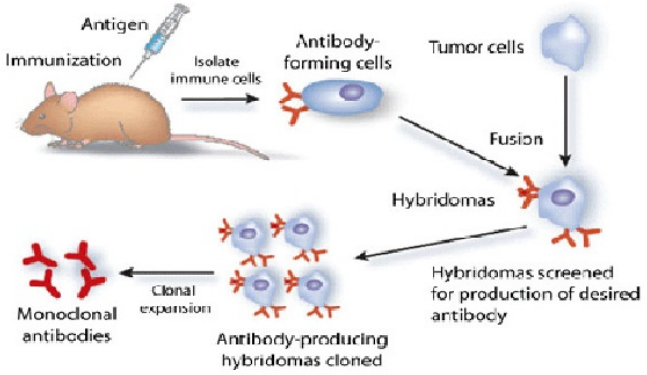
الأضداد وحيدة النسيلة Monoclonal antibodies MCA:

وهي أضداد عالية النوعية تنتج تجاه إيبيتوب واحد عن طريق خلايا مشتقة من نسيلة Clone واحدة من الخلايا الخالدة.

**حين يحقن مستضد داخل جسم يتكون عدد كبير من الأضداد النوعية لكل إيبيتوبات المستضد، ويعتبر فصل نوع ضدي واحد من هذا المزيج صعب جداً.

نحصل على الخلايا اللازمة لإنتاج أضداد وحيدة النسيلة عن طريق دمج خلية Myloma (خلية مصوريه خبيثة) مع خلية B قادرة على إنتاج الأضداد تجاه إيبيتوب واحد معلوم (الخلايا B مأخوذة من طحال فأر تم تمنيعه بذلك الإبيتوب).

إن الخلية الناتجة عن الدمج تدعى الخلايا الهجينة Hybridomas ، وتملك هذه الخلايا صفات كل من الخليتين الناتجة عن اندماجهما. فهي خالدة لا تموت (صفة خلية Myloma)، و تنتج نوعاً واحداً من الأضداد عالية النوعية جداً (صفة الخلية B المأخوذة من طحال فأر)، و يمكن لهذه الخلية الناتجة أن تنتج كميات لامحدودة من الأضداد وحيدة النسيلة عالية النوعية.



استعمالاتها:

. **استعمالات تشخيصية**: الكشف عن المستضدات الخلوية و النسيجية و الورمية و الميكروبية و غيرها في مختلف العينات.

. **استعمالات علاجية:**

علاج الأورام باستعمالها لمستضدات خاصة بالورم، تستعمل لوحدها أو بعد قرنها مع مواد سامة للخلايا.

التثبيط المناعي العلاجي: مثل استعمال أضداد CD3 لقتل الخلايا T لمنع رفض الأعضاء المزروعة.

أضداد Rh (anti-RhD) لمنع عدم توافق Rh.

المعالجة المناعية المنفعلة للمتحصنين ضد بعض الفيروسات مثل الفيروس المضخم للخلايا و الحماق.