
Е.Д. Гаврилова, О.Т. Кудаева, О.П. Колесникова

**РЕГУЛЯТОРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ КЛЕТОЧНЫМ И ГУМОРАЛЬНЫМ
ОТВЕТОМ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОЙ ПАМЯТИ**

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

Как правило, иммунный ответ на конкретный антиген сопровождается преимущественной активацией клеточноопосредованного или гуморального звена. Выбор пути зависит от очень многих причин, таких, как генетическая предрасположенность, природа антигена, пути его поступления и доза, состояние иммунной системы в данный момент, многочисленные факторы микроокружения, в том числе гормональный фон и т. д. Так как в каждом конкретном случае налицо определенное смещение иммунного ответа в сторону образования клеток-эффекторов или продукции антител, его условно делят на клеточный или гуморальный, хотя в каждом случае требуются кооперативные взаимодействия многих типов клеток иммунной системы. Th-клетки, являющиеся обязательными участниками иммунного ответа на Т-зависимые антигены, продуцируют разные комплексы цитокинов и оказывают оппозитное влияние на формирование клеточного или гуморального звеньев иммунитета: Th1-клетки способны опосредовать реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), которая представляет собой проявление клеточного иммунного ответа, тогда как Th2-клетки направляют развитие иммунного ответа в сторону образования антител [3, 4]. Изучение спектра продуцируемых цитокинов и функций этих клеток, их фенотипических характеристик, особенностей дифференцировки и метаболизма позволило исследовать закономерности формирования иммунного ответа и его регуляцию на генетическом, молекулярном и клеточном уровнях и привело к представлению о поляризации иммунного ответа, базирующейся на соотношении активированных Th1/Th2 клеток, которое организуется при участии многих других клеток иммунной системы и многочисленных факторов организма [6].

В настоящее время становится очевидным, что при реакции организма на антиген между двумя типами иммунного ответа устанавливаются сложные взаимоотношения, неоднозначность которых особенно ярко проявляется при формировании иммунной памяти [2].

В связи с этим, в настоящей работе изучалась взаимосвязь между выраженностью клеточных и гуморальных реакций и формированием иммунной памяти при специфическом иммунном ответе на Т-зависимый антиген.

Материалы и методы

В работе использовали гибридов первого поколения (СВАхС57В1/6) F_1 , самцов, в возрасте 5—6 месяцев, полученных из питомника "Рассвет" г. Томска.

Мышей иммунизировали под апоневроз задней лапы (п/а), внутрибрюшинно (в/б) или внутривенно (в/в) эритроцитами барана (ЭБ) в разных дозах в зависимости от целей эксперимента.

Определение выраженности реакции ГЗТ проводили после сенсibilизации на пятый день по стандартной методике [7]. Мышам вводили разрешающую дозу АГ ($5 \cdot 10^9$ ЭБ/мышь) в объеме 50 мкл под апоневроз задней лапы. Одновременно в контралатеральную лапу под апоневроз вводили 50 мкл среды RPMI 1640 (ГНЦ "Вектор", НСО п. Кольцово). Через 24 часа измеряли штангенциркулем интенсивность отека контрольной и опытной лап, рассчитывали относительный (разница между опытной и контрольной лапами, отнесенная к значению контрольной лапы, в процентах) показатель реакции ГЗТ.

Величину гуморального иммунного ответа определяли путем подсчета количества IgG-АОК в селезенке мышей на пике вторичного иммунного ответа методом локального гемолиза [5]. Первичную иммунизацию проводили в дозах, вызывающих максимальный (внутривенно $2 \cdot 10^8$ ЭБ/мышь) и низкий (внутривенно $1 \cdot 10^7$ ЭБ/мышь и внутрибрюшинно $2,5 \cdot 10^7$ ЭБ/мышь) первичный ответ; через месяц животным всех групп вводили внутривенно $2 \cdot 10^8$ ЭБ/мышь для оценки вторичного ответа.

Статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона, Манна, Уитни [1].

Результаты и обсуждение

Динамика образования IgG-антителопродукторов значительно отличается у мышей разных линий, поэтому изначально необходимо было определить пик вторичного IgG-ответа у мышей исследуемого генотипа. Для этого через месяц после первичной иммунизации самцов СВ F_1 иммунизировали в/в в дозе $2 \cdot 10^8$ ЭБ ежедневно с 3-х по 9-е сутки (по 4 животных на каждую точку). Было выявлено, что пик вторичного гуморального IgG-ответа у данного генотипа приходится на 4-е сутки. В дальнейшем определение количества IgG-АОК в селезенке определяли на этот срок.

Результаты определения количества IgG-антителопродукторов при вторичном ответе, а также соответствующие значения ГЗТ при разных способах введения антигена и его разных дозах, использованных при первичной иммунизации, представлены в таблице. Изучение выраженности реакции ГЗТ при введении различных доз ЭБ в/в и в/б показало, что средний уровень ГЗТ выше у мышей, сенсibilизацию которых проводили в/в в дозе $1 \cdot 10^7$ ЭБ. Максимальный вторичный IgG-ответ у мышей исследуемого генотипа наблюдается при первичной иммунизации той же дозой антигена, которая вызывает максимальную реакцию ГЗТ. Количество IgG-АОК при первичной в/в иммунизации в дозе $1 \cdot 10^7$ ЭБ в два раза превышает таковое при в/б иммунизации и в/в иммунизации дозой, оптимальной для первичного IgM-гуморального ответа ($2 \cdot 10^8$ ЭБ ($p < 0,05$)).

Для изучения возможного влияния клеточноопосредованной реакции на формирование иммунной памяти гуморального ответа, мышей разделяли на 3 группы, учитывая способ введения антигена и его дозу при первичной иммунизации, и в каждой из этих групп половине мышей вводили под апоневроз задней лапы разрешающую дозу АГ ($5 \cdot 10^9$ ЭБ/мышь) для развития эффекторной фазы клеточного ответа (ГЗТ). Таким образом, было сформировано шесть групп: в/б иммунизация в дозе $2,5 \cdot 10^7$ ЭБ/мышь (группа 1), в/б иммунизация в дозе $2,5 \cdot 10^7$ ЭБ/мышь с последующим развитием локальной ГЗТ (группа 2), в/в иммунизация в дозе $1 \cdot 10^7$ ЭБ/мышь (группа 3), в/в иммунизация в дозе $1 \cdot 10^7$ ЭБ/мышь с последующим развитием локальной ГЗТ (группа 4), в/в иммунизация в дозе $2 \cdot 10^8$ ЭБ/мышь (группа 5), в/в иммунизация в дозе $2 \cdot 10^8$ ЭБ/мышь с последующим развитием локальной ГЗТ (группа 6).

Развивающаяся эффекторная фаза клеточноопосредованного ответа оказывает влияние на формирование вторичного IgG-гуморального ответа только при низкодозовой первичной иммунизации (рис.). Количество IgG-АОК в селезенке животных, получивших инъекцию антигена под апоневроз стопы при

Таблица

Уровень вторичного иммунного ответа и выраженность ГЗТ при разных дозах и способах первичной иммунизации

| | $2,5 \cdot 10^7$ в/б | $1 \cdot 10^7$ в/в | $2 \cdot 10^8$ в/в |
|-----------|----------------------|--------------------|--------------------|
| IgG-АОК | | 766 | 359 |
| на | 374 685,1 | 035,4* | 656,1 |
| селезенку | (n = 10) | (n = 9) | (n = 10) |
| ГЗТ (%) | 25 | 43* | 28 |
| | (n = 10) | (n = 10) | (n = 10) |

Примечание: * — $p < 0,05$.

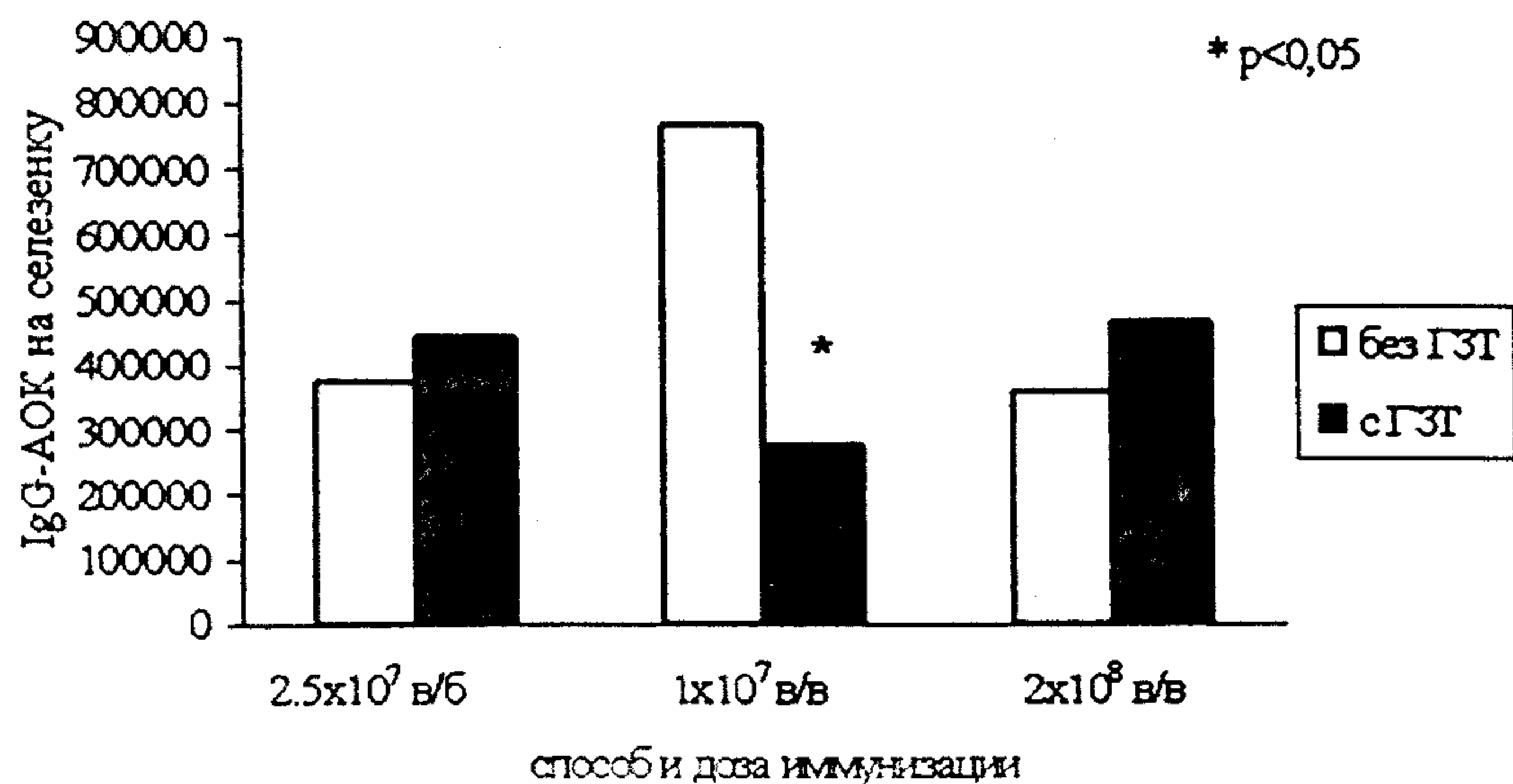


Рис. Количество IgG-AOK в селезенке мышей CBF при вторичном ответе (n = 10 в каждой группе)

первичном иммунном ответе, было значительно ниже, чем у животных без индукции ГЗТ (соответственно, группы 4 и 3; $p < 0,05$). В других случаях достоверных отличий не обнаружено (группы 1 и 2; 5 и 6).

Обсуждая полученные результаты, важно отметить следующее. Иммунизация низкой дозой, вызывающая образование значительно меньшего количества антителообразующих клеток при первичном ответе, приводит к более выраженной реакции ГЗТ (43,3 % и 28,4 %, соответственно, для дозы $1 \cdot 10^7$ и $2 \cdot 10^8$ ЭБ при одинаковом — внутривенном — способе иммунизации), что соответствует общепринятым представлениям, но также и более сильному гуморальному иммунному ответу при повторной иммунизации по сравнению с дозой, оптимальной для развития первичного гуморального ответа (766 035 и 359 656 IgG-AOK на селезенку, соответственно, для дозы $1 \cdot 10^7$ и $2 \cdot 10^8$ ЭБ). Введение разрешающей дозы для формирования эффекторной фазы реакции ГЗТ после первичного введения антигена влияет на формирующийся в это же время системный гуморальный ответ: повторное введение антигена таким животным выявляет значительное угнетение вторичного гуморального иммунного ответа. Эффект выявляется, если при первичной иммунизации использовали в/в введение низких доз АГ, которые вызывают максимальный вторичный гуморальный ответ (соответственно, 766 035 и 277 812 в группах 3 и 4; различия достоверны, $p < 0,05$). Подобное влияние не наблюдается в группах мышей, при первичной в/в иммунизации получивших оптимальную для продукции антител дозу антигена (соответственно, группы 5 и 6; различия недостоверны, $p > 0,05$) и при внутрибрюшинном способе иммунизации (соответственно, в группах 1 и 2; различия недостоверны, $p > 0,05$).

Таким образом, развитие эффекторной фазы реакции ГЗТ при введении разрешающей дозы антигена, несмотря на локальное развертывание процесса, может сопровождаться выраженной супрессией идущих в это же время системных процессов формирования гуморальной иммунной памяти. Вероятно, вырабатываемые в это время цитокины и/или другие факторы, участвующие в развитии клеточного ответа, направляют процессы формирования иммунной памяти по клеточному пути, ингибируя формирование клеток памяти гуморального ответа, так что при повторном введении антигена наблюдается значительное снижение антителопродукции. В случае с оптимальной для гуморального ответа дозой эффект может быть не выражен в связи со слабым клеточным ответом, либо с большей стабильностью процессов формирования иммунной памяти в ситуации сильного первичного гуморального ответа.

Дальнейшее детальное изучение полученного феномена угнетения иммунной памяти может позволить направленно изменять соотношение между клеточным и гуморальным звеньями иммунитета при формировании вторичного ответа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. — М.: Медицина, 1978. — 296 с.
2. Гусев Е.Ю. Взаимоотношения клеточноопосредованного и гуморального иммунного ответа на уровне целостного организма // Автореф. дис. док. мед. наук. — Пермь, 1996.
3. Allen J.E., Maizels R.M. Th1—Th2: reliable paradigm or dangerous dogma? // Immunol. Today. — 1997. — V. 18. — P. 387—392.
4. Cher D.J., Mosmann T.R. Two types of murine helper T cell clone. II. Delayed-type hypersensitivity is mediated by TH1 clones // J Immunol. — 1987. — V. 138. — P. 3688—3694.
5. Cunningham A.J., Szenberg A. Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells // Immunol. — 1968. — V. 14. — P. 599—600.
6. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease // Altern. Med. Rev. — 2003. — V. 8. — P. 223—246.
7. Yoshikai Y., Miake S., Matsumoto T., Nomoto K., Takeya T. Effect of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed footpad reaction to SRBC in mice // Immunology. — 1979. — V. 8. — P. 577—583.

REGULATORY INTERACTIONS BETWEEN CELLULAR AND HUMORAL RESPONSE AT FORMATION OF IMMUNE MEMORY

E.D. Gavrilova, O.T. Kudaeva, O.P. Kolesnikova

The basic types of cellular and humoral immune response to antigen are the generation of T-effectors (Te) of delayed type hypersensitivity (DTH) and the formation of antibody producing cells (APC), respectively. In the present work the relation between the expressiveness of cellular reactions and the formation of immune memory was studied with specific immune response to the T-dependent antigen. The maximum level of the secondary IgG-response in mice of the genotype studied was observed when with primary immunization we used the same dose and the way of the antigen introduction (1×10^7 SRBS) which caused maximal DTH reaction at first introduction. The development of effector phase of DTH reaction influenced the formation of secondary IgG-humoral response. The effect was shown only with primary immunization with low dose of antigen.
