

Гаврилова Е.Д., Кудашова О.Т., Перминова О.М., Колесникова О.П.

## ИЗУЧЕНИЕ ОБЩЕГО УРОВНЯ IGE ПРИ ПЕРВИЧНОМ И ВТОРИЧНОМ ИММУННОМ ОТВЕТЕ

НИ Институт клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

### Резюме

Определение уровня общего IgE в качестве показателя, отражающего продукцию И-4, не обнаружило тесной корреляции между высотой и аффинностью специфического ответа и концентрацией IgE в периферической крови мышей. Результаты исследования позволяют предположить, что в норме продукция И-4 достаточна и не лимитирует активацию и пролиферацию антигенспецифических В-лимфоцитов.

Как известно, И-4 является фактором дифференцировки Th2-клеток, оказывает эффект на активацию и пролиферацию В-лимфоцитов на ранних стадиях ответа, а также регулирует переключение изотипов иммуноглобулинов, однако динамика его продукции при иммунном ответе и роль в реализации феномена иммунной памяти остаются во многом неясными. Существуют многочисленные данные об односторонней прямой корреляции между

концентрацией IgE и продукцией И-4 в организме [5, 8, 9]. Целью настоящего исследования было определение общего уровня IgE в периферической крови мышей как показателя, отражающего продукцию И-4, при формировании первичного и вторичного иммунного ответа.

### Материалы и методы

В работе использовали мышей гибридов (C57BL/6 × DBA/2) F1, самок в возрасте 2 месяцев, полученных из экспериментально-биологической клиники лабораторных животных СО РАМН (Новосибирск). Животных содержали в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Первичную иммунизацию Т-зависимым антигеном — эритроцитами барана (ЭБ) проводили в дозах, вызывающих максимальный (внутривенно  $2 \times 10^8$  ЭБ/мышь) и субоптимальный (внутри-

Величина гуморального иммунного ответа на Т-зависимый антиген (М)

Доза антигена препаративной иммунизации	n	Концентрация антител (мкг/мл)			
		Первичный ответ		Вторичный ответ	
		IgM-АОК	IgG-АОК	IgE	общий IgE
Субоптимальная	9	5 552	10 1 187	15	651 304
Оптимальная	11	25 947*	9 27 741*	14	425 645

венно  $1 \times 10^7$  ЭБ/мышь) первичный ответ. Через месяц животных иммунизировали повторно внутривенно в дозе  $2 \times 10^8$  ЭБ/мышь для оценки вторичного ответа. Величину гуморального иммунного ответа определяли путем подсчета количества IgM-АОК и IgG-АОК в селезенке мышей методом локального гемолиза [1, 7]. Подсчет количества антителопродуцентов проводили на пике ответа, свойственного генотипу (C57BL/6  $\times$  DBA/2) F1, который был определен в предварительных опытах: число IgM-АОК — через 5 суток, IgG-АОК при первичном ответе — через 9 суток и IgG-АОК при вторичном ответе — через 4 суток после иммунизации.

Концентрацию IgE определяли твердофазным вариантом метода иммуноферментного анализа с помощью тест-системы BD OptEIA™. Калибровочную кривую строили по препарату IgE и выражали в мкг/мл.

Для статистического анализа полученных результатов использовали методы непараметрической статистики. Различия при сравнении соответствующих групп считали достоверными при  $p < 0,05$  и обозначали значком\*.

### Результаты и обсуждение

Для характеристики динамики изменения уровня IgE в ходе первичного и вторичного ответов определяли его концентрацию в сыворотке крови через каждые 2 суток после первичной иммунизации оптимальной и субоптимальной дозами антигена до 14 суток, затем через 1, 2 недели и в конце наблюдения — после повторного введения антигена на пике вторичного ответа.

Продукция общего IgE в динамике иммунного ответа в наших опытах не обнаруживает значительных изменений. Содержание общего IgE несколько возрастало после первого введения антигена и держалось на таком уровне в течение двух недель, затем снижалось и ко времени повторной иммунизации было на нижней границе нормы интактных животных или не отличалось от нее: 11,5 мкг/мл при иммунизации субоптимальной дозой, 16,6 мкг/мл при иммунизации оптимальной дозой и 16,7 мкг/мл у интактных неиммунизированных животных. Можно отметить подъем уровня IgE при сравнении двух использованных доз антигена: концентрация IgE в периферической крови была выше при введении оптимальной дозы; разница была небольшой, но фиксировалась практически в каждой исследованной временной точке. Повторная иммунизация обнаружила такую же закономерность в продукции общего IgE: наблюдается небольшой подъем после введения антигена и большее значение при использовании для первичной иммунизации оптимальной дозы (концентрация IgE до и после повторной иммунизации 11,5 мкг/мл и 13,9 мкг/мл; 16,6 мкг/мл и 20,8 мкг/мл, соответственно, для животных, доза антигена при первичной иммунизации которых была субоптимальной или оптимальной).

Однако при оценке высоты гуморального иммунного ответа на те же дозы антигена выявляется значительная разница в количестве образующихся антителопродуцентов (см. табл.).

Анализируя полученные результаты, мы основывались на следующих положениях и допущениях. Развитие гуморального иммунного ответа на определенный антиген осуществляется под регулирующим влиянием многих факторов, среди которых важную роль играют цитокины, в том числе IL-4. Хотя их секреция осуществляется в непосредственной близости к отвечающим В-клеткам, определенное количество может попадать в кровоток и оказывать системное влияние, что приводит к стимуляции синтеза не только специфических антител, но и к увеличению продукции неспецифических иммуноглобулинов в результате поликлональной активации В-лимфоцитов в качестве «побочной» реакции [4]. Так как IL-4 вызывает переключение синтеза иммуноглобулинов на образование IgG1 (у мыши) и IgE [2, 3, 6], возрастание его продукции должно приводить к увеличению общего IgE. Действительно, во многих работах показана прямая корреляционная связь между количеством общего IgE и уровнем IL-4 [5, 8, 9], что может позволить косвенно судить о закономерностях продукции этого цитокина в организме по концентрации

общего IgE в периферической крови при ответе на другие, не связанные с образованием специфического IgE, антигены.

Сопоставление величины специфического IgM- и IgG-ответа с уровнем общего IgE в наших опытах не обнаруживает тесной корреляции между этими параметрами. Переноса закономерности изменения содержания IgE на продукцию IL-4, можно высказать предположение, что хотя, как известно, IL-4 необходим для осуществления гуморального иммунного ответа, он, по-видимому, не является «узким местом», определяющим тонкую регуляцию силы иммунного реагирования на конкретный антигенный стимул как при первичном ответе, так и при формировании иммунной памяти. По-видимому, в норме его продукция достаточна и не лимитирует активацию и пролиферацию антигенспецифических В-лимфоцитов. Участие IL-4 в созревании аффинности антител и отсутствие в наших опытах значимого возрастания содержания IgE при ответе на низкодозовую иммунизацию, вызывающую более аффинный ответ, может служить подтверждением этого предположения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Cunningham A.J., Szenberg A. // Immunol. — 1968. — V. 14. — P. 599 — 600.
2. Fearon D.T., Locksley R.M. // Science. — 1996. — V. 272. — P. 50 — 53.
3. Hauser C., Snapper C.M., Ohara J. et al. // Eur. J. Immunol. — 1989. — V. 19. — P. 245 — 251.
4. Lewkowich I. P., Rempel J.D., Hayglass K.T. // Int. Arch. Allergy Immunol. — 2004. — Vol. 133. — P. 145 — 153.
5. Schorlemmer H.U., Kurrle R., Bartlett R.R. // Drugs Exp Clin Res. — 1997. — V. 23. — P. 167 — 173.
6. Snapper C. M., Paul W. E. // Science. — 1987. — V. 236. — P. 944 — 947.
7. Sterzl J., Riha I. // Nature. — 1965. — V. 208. — P. 858 — 859.
8. Umland S.P., Razac S., Nahrebne D.K. et al. // Immunol Immunopathol. — 1992. — V. 63. — P. 66 — 73.
9. Ushiyama C., Hirano T., Miyajima H. et al. // J. Immunol. — 1995. — V. 154. — P. 2687 — 2696.

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

## STUDY THE COMMON IGE LEVEL DURING THE FIRST AND SECOND IMMUNE RESPONSE

Determination of common IgE level as a characteristic of IL-4 production has not found a close correlation between strength and affinity of immune response and IgE concentration in peripheral blood of mice. The results allow to propose that IL-4 production is enough and not restricts the activation and proliferation of antigen-specific B-lymphocytes in normal.