

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Российская академия медицинских наук  
Сибирское отделение  
НИИ медицинских проблем севера СО РАМН  
НИИ клинической иммунологии СО РАМН  
ГОУ ВПО «Хакасский государственный университет им. П. Ф. Катанова»  
Министерство здравоохранения Республики Хакасия

## **ДНИ ИММУНОЛОГИИ В СИБИРИ**

МАТЕРИАЛЫ ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ  
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ, ПОСВЯЩЕННОЙ 35-ЛЕТНЕМУ ЮБИЛЕЮ  
НИИ МЕДИЦИНСКИХ ПРОБЛЕМ СЕВЕРА СО РАМН  
И 30-ЛЕТНЕМУ ЮБИЛЕЮ НИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ СО РАМН

г. Абакан, 27–28 апреля 2011 г.

Абакан  
2011

## РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЯ ПРИ АНТИГЕННОЙ ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Е.Д. Гаврилова, О.Т. Кудасева, В.О. Ткачев, И.П. Гилёва, О.П. Колесникова  
НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

**Введение.** TNF $\alpha$  является полифункциональным цитокином, который продуцируется активированными моноцитами и макрофагами, а также многими другими типами клеток. Хотя наиболее выраженной является его роль в системном воспалении, TNF $\alpha$  участвует во многих иммунных процессах, в том числе, в регуляции В-клеточной активации.

**Целью исследования** было оценить участие TNF $\alpha$  в регуляции процессов антителообразования при стимуляции первичного гуморального иммунного ответа на Т-зависимый антиген.

**Материалы и методы.** В работе использовали мышей BDF $_1$ , самок, в возрасте 2-3 месяцев. Мышей иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ) внутривенно (в/в) субоптимальной ( $1 \times 10^7$ ) дозой ЭБ. Отдельной группе животных через месяц вводили в/в  $2 \times 10^8$  ЭБ для оценки величины вторичного ответа. В предварительных экспериментах определяли динамику иммунного ответа для мышей данного генотипа: максимальное количество IgM-АОК в селезёнке наблюдается через 5 суток, IgG-АОК –

через 9 суток при первичном ответе и IgG-AOK – через 4 суток при вторичном ответе. Величину гуморального иммунного ответа определяли путем подсчета количества IgM- и IgG-антителообразующих клеток (AOK) в селезенке мышей на пике иммунного ответа методом локального гемолиза. Для стимуляции ответа мышам дополнительно в конце лог-фазы первичного ответа (через 4 суток после первой иммунизации) вводили антиген под апоневроз задней лапки ( $5 \times 10^8$  ЭБ) или в/в в дозах ( $1 \times 10^7$  ЭБ) и ( $2 \times 10^8$  ЭБ). [Гаврилова Е.Д. с соавт., 2007]. На пике IgM- и IgG-ответа у животных определяли концентрацию TNF $\alpha$  в сыворотке иммуноферментным методом. TNF-связывающий белок вируса натуральной оспы [Gileva I.P. et al., 2006] вводили одновременно с дополнительным введением антигена на 4 сутки после иммунизации однократно в дозе 12 нг/мл. Контролем служили интактные мыши и иммунизированные мыши без дополнительного введения антигена. Статистическую обработку результатов проводили методами непараметрической статистики. Различия между группами считали достоверными при  $p < 0.05$ .

**Результаты и обсуждение.** Ранее нами было показано, что дополнительное введение антигена в конце лог-фазы первичного IgM-ответа вызывает многократное увеличение числа IgM- и IgG-AOK в селезенке при первичном ответе, при этом вторичный IgG-ответ у таких животных оказывается, напротив, подавленным [Гаврилова Е.Д. с соавт., 2006; 2010]. Определение содержания TNF $\alpha$  в периферической крови на пике первичного IgM- и IgG-ответа не выявило изменений его концентрации по сравнению с интактными мышами (соответственно, 3.9 пг/мл, 3.4 пг/мл и 4.7 пг/мл). Стимуляция ответа сопровождается возрастанием уровня TNF $\alpha$ , который достигает 7.8 пг/мл на пике IgM-ответа ( $p < 0.05$ ), но в дальнейшем снижается и на пике IgG-ответа составляет 4.5 пг/мл, не отличаясь от соответствующих значений иммунизированных мышей без стимуляции ответа и интактного контроля. Таким образом, подъем уровня TNF $\alpha$  приходится на период активного образования IgM-антителопродуцентов.

Известно, что TNF $\alpha$  является важным фактором физиологических процессов активации В-клеток в процессе иммунного ответа [Aringer M. et Smolen J.S., 2003] и сами В-лимфоциты (обе субпопуляции эффекторных В-клеток – Be1 и Be2) наряду с другими цитокинами синтезируют TNF $\alpha$  [Lund F.E., 2008]; более того, TNF $\alpha$ , необходимый для эффективного образования антител при ответе на гельминты, продуцируется именно В-клетками [Artis D. et al., 1999; Wojciechowski W. et al., 2009]. Можно предположить, что резкая стимуляция иммунного ответа дополнительным поступлением антигена обусловлена взаимосвязанными процессами активации В-клеток и продукции ими TNF $\alpha$ , которые начинают поддерживать друг друга по принципу положительной обратной связи.

Такая гиперстимуляция ответа может приводить к нарушению физиологического течения иммунного ответа - избыточному образованию IgM-антителопродуцентов при первичном ответе в ущерб формированию клеток памяти и, как следствие, к снижению в дальнейшем выраженности анамнестической реакции.

Для проверки этого предположения было изучено развитие первичного и вторичного гуморального иммунного ответа на фоне введения животным TNF-связывающего белка. Однократное введение TNF-связывающего белка в конце лог-фазы IgM-ответа вызывает двукратное уменьшение количества IgM-АОК как при стандартной иммунизации (10 972 и 5 591, соответственно, в контрольной и опытной группах), так и при стимулированном ответе (15 132 и 8 123), но не оказывает подобного эффекта на первичный IgG-ответ. Введение TNF-связывающего белка по такой схеме не влияет на выраженность вторичного IgG-ответа при стандартной иммунизации, но частично снимает эффект подавления анамнестической реакции у мышей со стимулированным первичным ответом и одновременно сниженным вторичным ответом: количество IgG-АОК возрастает с 333 166 до 574 612 при значении 1 153 020 у стандартно иммунизированных мышей. Таким образом, связывание TNF $\alpha$  ограничивает эффект дополнительного введения антигена в конце лог-фазы первичного IgM-ответа: ослабляет стимуляцию первичного и подавление вторичного ответа. Полученные результаты свидетельствуют о возможной роли TNF $\alpha$  в нарушении физиологического баланса процессов дифференцировки В-лимфоцитов в антителопродуценты и клетки памяти при стимуляции иммунного ответа.