

## INFLUENCE OF INTESTINE MICROSymbionTS METABOLITES ON THE PRODUCTION OF NITRIC OXIDE BY PERITONEAL MACROPHAGES

Ivanova E. V., Bondarenko T. A., Chainikova I. N., Bukharin O. V.

*"Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis", Orenburg, Russia*

Metabolites of clinical cultures *Clostridium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacteroides spp.* significantly inhibited *in vitro* basal secretion by peritoneal macrophages (MF) of nitric oxide (NO) mice. In contrast, metabolites of *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* and *Propionibacterium spp.* moderately stimulated the NO secretion. The overall effect of the metabolites influence of intestinal microsymbionts on the functional activity of MF will be determined by their qualitative and quantitative composition in the human intestine eubiosis and dysbiosis.

*Key words:* metabolites of bacteria, nitric oxide, macrophages

## ИДИОТИПИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИНДУКЦИИ И РЕГУЛЯЦИИ АУТОИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АУТОИММУННОМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТЕ КРЫС

Иванов П. В., Меньшиков И. В., Бедулева Л. В.

*ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», Ижевск, Россия*

Целью работы являлась проверка гипотезы о том, что индукция и регуляция аутореактивных лимфоцитов в модели экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЭАЭ) крыс осуществляется опосредованно через идиотип-антиидиотипические (ИАИ) взаимодействия с участием лимфоцитов, продуцирующих антиидиотипические антитела со свойствами ревматоидного фактора (РФ). **Методы.** Крыс иммунизировали основным белком миелина морской свинки (ОБМмс). Исследовали кинетику образования антител и аутоантител в ходе иммунного ответа. Антитела к ОБМмс и аутоантитела к ОБМ крысы (ОБМк) определяли методом ИФА. РФ определяли в тесте агглютинации танализованных нагруженных IgG эритроцитов. Наличие ИАИ взаимодействий исследовали методом конкурентного ИФА. **Результаты.** Показано существование ИАИ взаимодействий между антителами к ОБМмс и РФ с одной стороны, и между антителами к ОБМк и РФ с другой. Обнаружена ассоциация между высоким уровнем РФ в крови и отсутствием клинических признаков ЭАЭ у иммунизированных животных. **Заключение.** Механизм индукции аутоантител к ОБМк при иммунизации ОБМмс опосредован ИАИ взаимодействиями с клонами лимфоцитов продуцирующими антиидиотипические антитела со свойствами РФ. Антиидиотипические антитела со свойствами РФ осуществляют специфическую негативную регуляцию гуморального иммунного ответа против гетерологичного антигена-индуктора ЭАЭ, ОБМмс через ИАИ взаимодействия.

*Ключевые слова:* рассеянный склероз, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, ревматоидный фактор, идиотип-антиидиотипические взаимодействия

**Введение.** Экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЭАЭ) является демиелинизирующим заболеванием ЦНС, которое обнаруживает множество сходных признаков с рассеянным склерозом. Несмотря на большое количество проведенных исследований, причины развития аутоиммунной реакции и механизмы ее регуляции, во многом, не выяснены. Чаще всего как причину активации аутореактивных лимфоцитов рассматривают

наличие иммунного перекреста между гетеро- и аутоантигенами. Однако, известно, что кроссреактивности между своими и чужими белками миелина недостаточно для запуска агрессивного аутоиммунного процесса [1].

Идиотип – антиидиотипические (ИАИ) взаимодействия рассматриваются как один из возможных механизмов активации и регуляции аутоантител. Аутореактивные лимфоциты в норме находятся под регуляторным контролем и, развитие аутоиммунных заболеваний ассоциировано с нарушением регуляторных функций антиидиотипических антител [2]. Поэтому активация аутореактивных лимфоцитов при ЭАЭ крыс может быть индуцирована нарушением в системе идиотипической регуляции.

Одним из факторов регуляции аутореактивности могут выступать антитела, направленные к (Fab)<sub>2</sub>, Fab, Fc фрагментам IgG. Антиидиотипические антитела, участвующие в негативной регуляции аутореактивных лимфоцитов, являются также антителами, специфичными к Fc-фрагментам IgG [3], т.е. обладают свойствами ревматоидного фактора (РФ). В связи с чем, представляется интересным определение РФ в ходе аутоиммунной реакции в модели ЭАЭ крыс.

**Целью работы** была проверка гипотезы о том, что индукция аутореактивных лимфоцитов в модели ЭАЭ крыс осуществляется опосредованно через ИАИ взаимодействия между аутореактивными лимфоцитами и лимфоцитами, специфичными к гетерологичному антигену. Регуляция аутореактивных лимфоцитов в данной экспериментальной модели может осуществляться антиидиотипическими антителами со свойствами РФ.

**Материалы и методы исследований.** Крыс Wistar иммунизировали основным белком миелина морской свинки (ОБМмс). Уровни антител к ОБМмс и аутоантител к основному белку миелина крысы (ОБМк) в плазме крови определяли методом ИФА. Уровень РФ определяли в реакции агглютинации фиксированных танизированных эритроцитов человека, нагруженных IgG крысы. Кровь забирала еженедельно кардиальной пункцией. Исследовали кинетику образования антител и аутоантител в ходе иммунного ответа. Для выяснения роли РФ в регуляции иммунного ответа проводили сравнительный анализ продукции РФ у устойчивых и чувствительных к развитию ЭАЭ крыс. ИАИ

взаимодействия между антителами к ОБМмс и РФ, аутоантителами к ОБМк и РФ определяли методом конкурентного ИФА.

**Результаты исследования.** Экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит. Крысы, иммунизированные ОБМмс были разделены на устойчивых и чувствительных к развитию ЭАЭ. Клинические признаки наблюдались в среднем у 35 % животных. Симптомы проявлялись на 12-14 день после иммунизации в виде потери тонуса хвоста и постепенно прогрессировали до частичного или полного паралича задних конечностей. На 21 день после иммунизации наблюдалась полная спонтанная ремиссия клинических проявлений.

**Кинетика антител к ОБМмс, аутоантител к ОБМк, в ходе иммунного ответа на гетерологичный ОБМмс.** У всех животных максимумы образования антител к антигену-индуктору, ОБМмс, и антител к аутологичному ОБМк не совпадают во времени. Независимый характер кинетик антител против гетеро- и аутоантигенов свидетельствует [4], что антитела к ОБМмс и аутоантитела к ОБМк являются продуктами разных клонов лимфоцитов, а не одними и теми же антителами, перекрестно-реагирующими на ауто- и гетерологичный ОБМ, как предполагает гипотеза иммунного перекреста.

У крыс без симптомов ЭАЭ иммунный ответ к антигену-индуктору имел выраженный латентный период, что является не типичным.

**Кинетика и сравнительный уровень РФ у крыс с симптомами и без симптомов ЭАЭ.** Кинетика РФ принципиально различается у разных групп крыс. У устойчивых животных, первый пик продукция РФ достигает максимума уже на 7 день после иммунизации и совпадает с латентным периодом в образовании антител к гетерологичному ОБМмс. У крыс с симптомами ЭАЭ РФ в период индукции иммунного ответа остается на очень низком уровне.

Выявлено, что уровень РФ у чувствительных к развитию ЭАЭ крыс в период индукции иммунного ответа, на 7 день после иммунизации, значительно ниже, чем у устойчивых к развитию ЭАЭ крыс.

**ИАИ взаимодействия между антителами к ОБМмс и РФ, аутоантителами к ОБМк и РФ.** Способность РФ-содержащей плазмы конкурировать с антигеном, при иммунизации, которым она получена, ОБМмс, и специ-

фически подавлять связывание ОБМк с антителами против ОБМк указывает на то, что РФ является антиидиотипическими антителами по отношению к лимфоцитам, специфичным к ОБМк и лимфоцитам, специфичным к ОБМк.

**Заключение.** Механизм индукции аутоантител к ОБМк при иммунизации ОБМк опосредован ИАИ взаимодействиями с клонами лимфоцитов, продуцирующими антиидиотипические антитела со свойствами РФ. Высокий уровень РФ в плазме крови крыс в период индукции иммунного ответа, на 7 день после иммунизации, ассоциирован с отсутствием клинических проявлений ЭАЭ. Результаты полученные в работе указывают на то, что антиидиотипические антитела со свойствами РФ осуществляют специфическую негативную

регуляцию гуморального иммунного ответа против антигена-индуктора ЭАЭ, ОБМк через ИАИ взаимодействия.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sospedra M., Martin R. Molecular mimicry in multiple sclerosis. *Autoimmunity*. 2006 Feb;39(1):3-8.
2. Stahl D. et al. Analysis of human self-reactive antibody repertoires by quantitative immunoblotting. *J Immunol Methods*. 2000 Jun 23;240(1-2):1-14.
3. Beduleva L., Menshikov I. Role of idiotype-anti-idiotype interactions in the induction of collagen-induced arthritis in rats. *Immunobiology*. 2010 Dec;215(12):963-70
4. Menshikov I., Beduleva L. Evidence in favor of a role of idiotypic network in autoimmune hemolytic anemia induction: theoretical and experimental studies. *Int Immunol*. 2008 Feb;20(2):193-8.

### IDIOTYPICAL MECHANISMS OF INDUCTION AND REGULATION OF AUTOIMMUNE REACTIONS IN EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS IN RATS

P.V. Ivanov, I.V. Menshikov, L.V. Beduleva

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Udmurt State University», Izhevsk, Russia.*

The aim of research was to confirm that induction and regulation of autoreactive lymphocytes in model of the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in rats is carried out indirectly through idiotip-antiidiotypic (IAI) interactions with participation of the lymphocytes producing antiidiotypic antibodies with rheumatoid factors (RF) properties. **Methods.** Rats were immunized by the main guinea pig myelin protein (MMPgp). The kinetics of antibodies and autoantibodies formation during the immune response was investigated. MMPgp antibodies and MMP rats autoantibodies were determined by ELISA. RF was determined during agglutination test of tannised loaded IgG erythrocytes. The presence of IAI interactions was studied by competitive ELISA method. **Results.** Existence of IAI interactions between MMPgp antibodies and RF on the one hand, and, between MMP rats antibodies and RF on another hand was demonstrated. Association between RF high level in a blood and lack of clinical signs of EAE was found in immunized animals. **Conclusion.** The mechanism of induction of MMP rats autoantibodies during MMPgp immunization is mediated by IAI interactions of that clones of lymphocytes, which producing antiidiotypic antibodies with RF properties. Antiidiotypic antibodies with RF properties is carry out a specific negative regulation of a humoral immune response against a heterological antigen inductor of EAE, MMPgp through IAI interactions.

**Key words:** multiple sclerosis, experimental autoimmune encephalomyelitis, rheumatoid factor, idiotip-antiidiotypic interactions