

Стимуляция В-лимфоцитов *in vitro*: определение функциональных нарушений СVID.

Научный руководитель – Филатов Александр Васильевич

Спиридонова А.Б.¹, Бязрова М.Г.², Жеремян Э.А.³

1 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: anyuta.spiridonova@yandex.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: manhva@yandex.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: elyazheremyan@mail.ru*

Стимуляция В-лимфоцитов *in vitro*: определение функциональных нарушений СVID. (Спиридонова А.Б., Жеремян Э.А., Астахова Е.А., Бязрова М.Г.) Стимуляция В-лимфоцитов *in vitro* с использованием CD40L и IL-21 влияет на активацию, пролиферацию, переключение изотипов антител у В-лимфоцитов. ОВИН- наиболее частая форма первичного иммунодефицита, при которой у больных наблюдается значительное снижение секреции двух или трех изотипов антител (IgG, IgE, IgA). Частота встречаемости данного заболевания в популяции довольно низкая: 1:50000 - 1:70000, однако причины нарушения остаются невыясненными. Целью данной работы было определение функциональных особенностей В-лимфоцитов пациентов с ОВИН при *in vitro* стимуляции IL-21/CD40L. Мононуклеарные клетки выделяли из цельной крови, В-лимфоциты обогащали с помощью магнитной сепарации. После этого клетки стимулировали в системе CD40L/IL-21 и проводили рестимуляцию на 4 и 7 дни. В каждой контрольной точке (4, 7, 10 дни) определяли фенотип клеток по следующим поверхностным маркерам CD19, CD27, CD38, CD20, IgM, IgD и IgG. В супернатантах стимулированных клеток методом ELISA определяли секрецию иммуноглобулинов классов IgM и IgG. В исследовании приняли участие 8 здоровых добровольцев и 5 пациентов с ОВИН. При стимуляции общей популяции В-лимфоцитов было показано, что В-лимфоциты, полученные от больных с ОВИН отвечают на стимуляцию CD40L/IL-21, однако наблюдается более низкая пролиферация клеток и секреция IgG по сравнению с В-лимфоцитами, полученными от здоровых добровольцев. В параллельной серии экспериментов нами были выделены и простимулированы три субпопуляции В-лимфоцитов: переключенные клетки памяти (IgG+CD27+), непереключенные клетки памяти (IgM+CD27+) и наивные клетки (IgM+IgD+CD27-). Наиболее существенные отличия в сравнении со стимуляцией клеток здоровых добровольцев наблюдались в субпопуляциях переключенных и непереключенных клеток памяти. Данные субпопуляции сложнее подвергались активации и дифференцировке в плазмобласты у больных ОВИН. У нескольких пациентов увеличение количества непереключенных клеток памяти наблюдалось позже чем у здоровых добровольцев - только на 7 день. Активация и дифференцировка в плазмобласты наивных клеток по фенотипу и динамике пролиферации практически не отличалась от В-лимфоцитов здоровых доноров. Мы предполагаем, что изучение *in vitro* стимуляции В-лимфоцитов позволит расширить представление о факторах, определяющих патогенез ОВИН. В последующем мы планируем оценить изменение переключения изотипов антител *in vitro* в разных субпопуляциях В-лимфоцитов пациентов с ОВИН. Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 20-015-00318 А).

Источники и литература

- 1) Marasco, E., Farroni, C., Cascioli, S., Marcellini, V., Scarsella, M., Giorda, E., Piano Mortari, E., Leonardi, L., Scarselli, A., Valentini, D., et al. (2017). B-cell activation with CD40L or CpG measures the function of B-cell subsets and identifies specific defects in immunodeficient patients. *Eur J Immunol* 47, 131-143.