



Европейски съюз

*„Фундаментално и приложно обучение на докторанти, постдокторанти, специализанти и млади учени в интердисциплинарни биологични направления и иновационни биотехнологии”*



**BG051PO001-3.3.06.0059**

*ОП “Развитие на човешките ресурси” 2007-2013 съфинансиране чрез “Европейски социален фонд”*

# Оценка на имуногенността на нативни и модифицирани имуноглобулинови препарати за венозно приложение

Докторант: Шина Иванова Пашова

Научни ръководители: Доц. А. Пашов & Доц. М. Мурджева

## ЗНАЧИМОСТ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

- Човешките имуноглобулиновите препарати за венозно приложение (ИВИГ) представляват пречистен поликлонален имуноглобулин G, получен след обработка на пул от плазми на клинично здрави донори.
- ИВИГ намират приложение в терапията на хипо- и агамаглобулинемия.
- Освен като заместителна терапия, те са ефективни и при някои автоимунни и системни възпалителни заболявания.
- Механизмите, по които ИВИГ осъществяват своите имуномодулаторни ефекти са частично познати (взаимодействие с инхибиторни Fc рецептори и подтискане на възпалението) и допълнителни научни проучвания са необходими.
- Експерименталните подходи включват прилагане на човешки имуноглобулинови препарати при модели на човешки имунни заболявания в експериментални животни, най-често мишки.
- В тази връзка, възникват въпроси и проблеми свързани с транслирането на експерименталните резултати и изводи от мишия модел към човешкия модел на заболяването:

Третирането на експериментални животни с човешки имуноглобулинови препарати предизвиква ли имунна реакция в организма на животното реципиент?

## ЛИТЕРАТУРНА СПРАВКА

Сепсисът е остро инфекциозно заболяване, съпроводено от системно възпаление и полиорганно увреждане. Причинители на инфекцията са най-често грам-позитивни и по рядко грам-негативни бактерии. Характеризира се с висока степен на смъртност. Не съществува установена терапевтична интервенция на възпалението.

Alejandria, M. M., M. A. Lansang, et al. (2013). Cochrane Database Syst Rev 9:

“10 отделни клинични проучвания на поликлонално ИВИГ (n = 1430) и 7 проучвания на ИгМ-обогатено поликлонално ИВИГ (n = 528) показват значително редуциране на смъртността сред възрастни болни от сепсис в сравнение с контролните плацебо и без интервенция групи.”

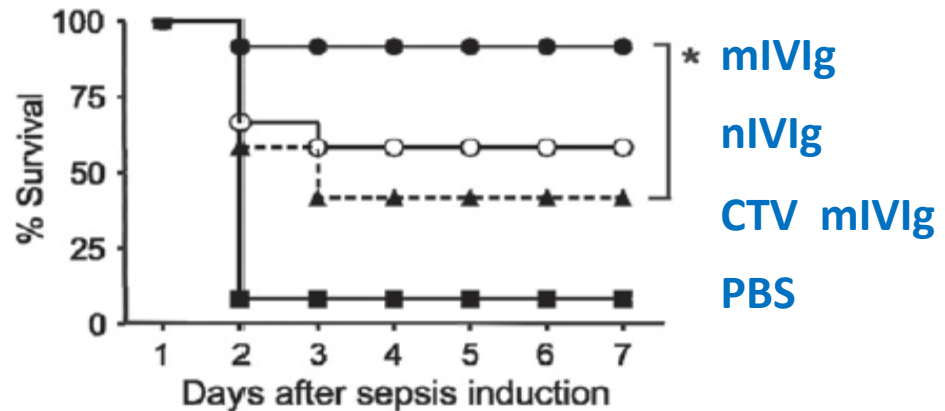
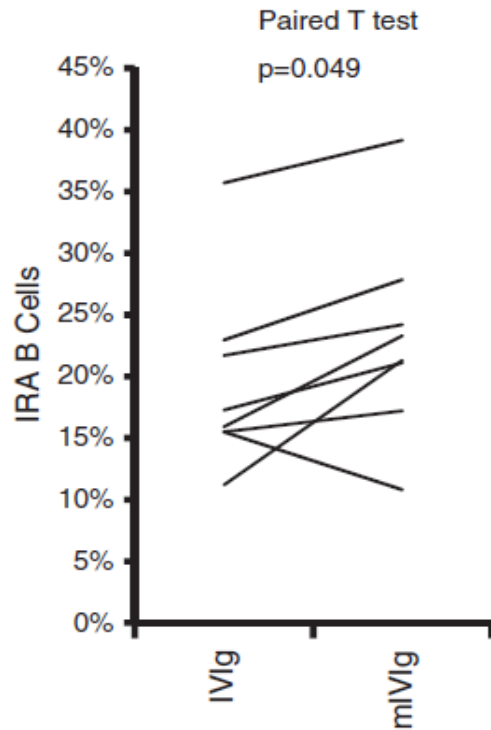
Djoumerska-Alexieva, I. K., J. D. Dimitrov, et al. (2009). Autoimmunity 42:

“Третирането на IVIG със желязни йони модифицира, без да денатурира, някои IgG молекули и увеличава протективната активност на препарата при експериментален септичен шок.”

Rauch, P. J., A. Chudnovskiy, et al. (2012). "Innate response activator B cells protect against microbial sepsis." Science 335:

“Популация от B1a лимфоцитите, която след стимулация с LPS , мигрира от перитонеалната кухина към слезката, пролиферира и секретира GM-SCF .”

## АВТОРСКИ РЕЗУЛТАТИ



Супресията на пролиферацията на перитонеалните клетки показва тяхната роля в клиничният ефект на модифицираните имуноглобулинови препарати.

Djoumerska-Alexieva, I., S. Pashova, et al. (2013). "The protective effect of modified intravenous immunoglobulin in LPS sepsis model is associated with an increased IRA B cells response." Autoimmun Rev **12**

## ХИПОТЕЗА И ЦЕЛ

Използването на модифициран ИВИГ поставя въпроса за имуногенността му.

Имуногенността на модифициран ИВИГ е модел, който може да приложим и при изследване причините за имуногенността на биофармацевтични препарати от моноклонални антитела .

**Повишава ли се имуногенността на човешките имуноглобулинови препарати, когато се прилагат на експериментални животни след третиране с протеин дестабилизиращи агенти?**

Поставяме си целта да изследваме сравнителната имуногенност на нетретиран и модифициран ИВИГ.

# ПРЕДЛОЖЕНИЕ ЗА НАУЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ

ELISPOT (?)

FACS антиген специфични Т клетки



Изолиране на Т лимфоцити от слезка 1 седмица след последна имунизация



PBS



natIVIg



Fe<sup>2+</sup>+IVIg



HemeIVIg



lowpHIVIg



i.p. 1X/2 седмици, 4x

+

ELISA за анти-човешки IgG/IgM антитела 1X/ 2 седмици

# НЕОБХОДИМИ КОНСУМАТИВИ ЗА ИЗПЪЛНЕНИЕТО НА ПРЕДЛОЖЕНОТО НАУЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ

Специфични консумативи	Общи консумативи	Материали
Анти-миши антитела (вторични) за ELISA	Среда ДМЕМ	syringe filter 0.22 $\mu\text{m}$
Beads + антитела за отр. селекция на миши Т лимфоцити	FCS серум	BD Mesh филтър 70 $\mu\text{m}$
Анти-мише CD3	Антибиотици P/S/L-глутамин	BD FACS епруветки
Анти-мише CD4	Фикол	BD Епруветки 50 мл
Анти-мише CD154	Плаки за ELISPOT (?)	BD Епруветки 15 мл
Анти-мише IFN $\gamma$	Кит за пермеабилзация	Епруветки 1.5 мл
Анти-мише IL-10	Голджистоп	Спринцовки 5 мл
Анти-мише IL-4		Спринцовки 2 мл
Анти-мише TNF- $\alpha$		Спринцовки 1 мл
Анти-мише IL-2		
Анти-мише IFN $\gamma$ HRP (?)		