

Гойман Е.В., Гаврилова Е.Д., Кудаева О.Т., Колесникова О.П.
**УРОВЕНЬ IGE В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ ХРОНИЧЕСКОЙ
РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА»**

НИ Институт клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

Резюме

Обнаружено резкое возрастание уровня IgE в динамике хронической РТПХ в системе DBA/2→F1(C57BL/6 × DBA/2) как при Th1-зависимом *nonlupus*-, так и при Th2-зависимом *lupus*-вариантах. Основываясь на многократно подтвержденной прямой корреляции между концентрацией IgE и уровнем IL-4, можно сделать заключение об активной продукции IL-4 при хронической РТПХ, которая продолжается в течение длительного периода и более выражена в случае развития *lupus*-варианта.

Показано, что хроническая реакция трансплантат против хозяина (РТПХ) сопровождается резким возрастанием концентрации IgE в периферической крови реципиентов [7, 11, 13, 14]. Индукция хронической РТПХ в системе DBA/2→(C57BL/6хDBA/2) приводит к двум разным клиническим исходам: на фоне развившегося иммунодефицитного состояния реципиентов у части мышей формируется аутоиммунный гломерулонефрит, по ряду признаков аналогичный аутоиммунному заболеванию человека — системной красной волчанке (СКВ) [2, 8]. Процессы, происходящие на ранних стадиях в иммунной системе реципиентов и приводящие к разным клиническим вариантам реакции, остаются во многом не ясными. Целью данного исследования было оценить продукцию IgE в динамике развития хронической РТПХ в системе DBA/2→F1(C57BL/6хDBA/2) у *lupus*— и *nonlupus*-реципиентов.

Материалы и методы исследования

В работе использовали мышей линии DBA/2 и гибридов (C57BL/6хDBA/2)F1, самок, в возрасте 2 месяцев, полученных из экспериментально-биологической клиники лабораторных животных СО РАМН (Новосибирск). Животных содержали в со-

ответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Хроническую РТПХ индуцировали путем переноса мышам B6D2F1 клеток лимфатических узлов и селезенки родительской линии DBA/2 внутривенно по 65×10^6 клеток двукратно с интервалом в пять дней [2, 8].

О развитии гломерулонефрита судили по стойкому появлению белка в моче (более 3 мг/мл не менее 3 раз подряд при еженедельном тестировании), что коррелирует с морфологическим подтверждением болезни [3]. Количество белка в моче определяли колориметрически с красителем Кумасси бриллиантовый синий (Kumsai brilliant blue, Loba Feinchemie), измеряли с помощью Titertec Multiskan при $\lambda = 570$ nm. Калибровочную кривую строили по BSA (100 — 1000 мкг/мл), результаты выражали в мг/мл [6].

Уровень IgE оценивали микрометодом в цельной периферической крови, что позволяет прижизненно многократно определять IgE, не травмируя животных (необходимый объем крови 3 мкл) [4]. 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 считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При индукции хронической РТПХ в системе DBA/2→(C57BL/6хDBA/2) реакция идет по двум направлениям: у части мышей развивается аутоиммунный люпус-подобный гломеру-

Таблица 1

Динамика изменения уровня IgE (мкг/мл) при хронической РТПХ (M, min-max)

	контроль n=6	nonlupus n=7	lupus n=14
10 сутки	6,95 2,2 — 10,6	20,04* 8,4 — 30,2	24,87* 8,2 — 41,9
24 сутки		132,48* 54,2 — 348,6	232,1* 63,0 — 396,2
3 месяца		24,31* # 15,0 — 36,6	69,2* # 22,5 — 166,4

Примечание: * — достоверные различия по сравнению с контролем; # — достоверные различия между nonlupus и lupus.

лонефрит, у остальных реципиентов отсутствуют выраженные поражения почек, но наблюдается глубокое подавление гуморального ответа на Т-зависимый антиген [2]. Окончательное формирование клинических исходов происходит через 3 месяца после индукции хронической РТПХ, при этом в настоящее время отсутствуют четкие критерии, позволяющие на ранних стадиях определить, по какому пути будет развиваться реакция. В связи с этим определение уровня IgE в периферической крови проводили через разные промежутки времени после трансплантации клеток у всех реципиентов и через 3 месяца ретроспективно оценивали средние значения концентрации IgE в группах мышей с аутоиммунным гломерулонефритом (lupus-реципиенты) или без поражения почек (nonlupus-реципиенты).

Данные, представленные в таблице, демонстрируют резкий подъем уровня IgE в периферической крови lupus- и nonlupus-реципиентов, который начинается на ранних сроках реакции и продолжает увеличиваться в течение достаточно продолжительного периода. К концу наблюдения (3 месяца после индукции РТПХ) концентрация IgE снижается, но остается значительно выше значений интактных животных, при этом уровень IgE у lupus-мышей в несколько раз превосходит таковой у nonlupus-реципиентов.

Показано, что даже такие резко отличающиеся формы РТПХ, как острая и хроническая начинаются сходным образом, если судить по спектру и уровню продуцируемых цитокинов. В частности, в обоих случаях на ранних стадиях происходит возрастание продукции IL-4, несмотря на ярко выраженную связь острой РТПХ с активацией Th1-клеток [9, 10]. Хотя развитие lupus- или nonlupus-вариантов в полуаллогенной модели DBA/2 → (C57Bl/6xDBA/2)F1 сопровождается преимущественной активацией соответственно Th2- или Th1-зависимых процессов [1, 2, 5], у всех реципиентов наблюдается резкая стимуляция продукции IgE. Через определенный промежуток времени начинает обнаруживаться разница в уровне IgE между lupus- и nonlupus-реципиентами, которая становится достоверной при окончательном формировании клинических исходов. Опираясь на многочисленные наблюдения об однозначной прямой корреляции

между концентрацией IgE и уровнем IL-4 [11, 12, 13, 14], можно сделать заключение о выраженной стимуляции продукции IL-4 при хронической РТПХ, которая продолжается на протяжении всего периода наблюдения, но только при достижении относительно более высоких значений сопровождается формированием аутоиммунной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Власов В.В., Рыкова Е.Ю., Сафронова И.В. и др. // ДАН. — 2002. — 32. — № 6. — С. 844 — 846.
2. Козлов В.А., Кудяева О.Т., Колесникова О.П. и др. // Иммунология. — 2002. — 23. — № 3. — С. 143 — 146.
3. Колесникова О.П., Кудяева О.Т., Логинов М.В. и др. // Вестник АМН. — 1991. — № 12. — С. 13 — 16.
4. Кудяева О.Т., Ненасева Е.В., Козлов В.А. // Иммунология. — 2005. — № 3. — С. 189 — 191.
5. Кудяева О.Т., Гойман Е.В., Лыков А.П. и др. // БЭБиМ. — 2005. — № 9 (140). — С. 325 — 327.
6. Bradford M.M. // Anal. Biochem. — 1976. — V. 72. — P. 248 — 254.
7. Doutrelepont J.M., Moser M., Leo O. et al. // Clin Exp Immunol. — 1991. — V. 83. — P. 133 — 136.
8. Kimura M., Ida, Shimada K., Kanai Y. // Clin. and Exp. Immunol. — 1987. — Vol. 69. — № 2. — P. 385 — 393.
9. Murphy W.J., Welniak L.A., Taub D.D. et al. // J. Clin. Invest. — 1998. — V. 102. — P. 1742 — 1748.
10. Rus V., Svetic A., Nguyen P. et al. // J Immunol. — 1995. — Vol. 155. — P. 2396 — 2406.
11. Schorlemmer H.U., Kurrle R., Bartlett R.R. // Drugs Exp Clin Res. — 1997. — V. 23. — P. 167 — 173.
12. Snapper C. M., Paul W. E. // Science. — 1987. — V. 236. — P. 944 — 947.
13. Umland S.P., Razac S., Nahrebne D.K. et al. // Immunol Immunopathol. — 1992. — V. 63. — P. 66 — 73.
14. Ushiyama C., Hirano T., Miyajima H. et al. // J. Immunol. — 1995. — V. 154. — P. 2687 — 2696.

Goiman E.V., Gavrilova E.D., Kudaeva O.T.,
Kolesnikova O.P.

THE IGE LEVEL DURING DEVELOPMENT OF DIFFERENT VARIANTS OF CHRONIC GRAFT-VERSUS-HOST REACTON

It has been found a sharp rise of IgE level during chronic graft-versus-host (GvH) reaction in transfer system DBA/2→F1(DBA/2xC57Bl/6) both Th1-dependent nonlupus- and Th2-dependent lupus-variants. Based on repeated confirmed right correlation between IgE concentration and IL-4 level one may conclude that active production of IL-4 caused by chronic GvH reaction is going on for a long time and is more pronounced with lupus-variant.