

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ФОРМИРОВАНИЯ АУТОИММУННОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ

¹ НИ Институт клинической иммунологии СО РАМН, ² Учреждение РАН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Резюме

Индукция хронической реакции «трансплантат против хозяина» в полуаллогенной модели DBA/2→(C57BL/6хDBA/2) приводит к развитию аутоиммунного гломерулонефрита у части реципиентов обоего пола. Патоморфологическая картина почек у реципиентов-самцов характеризуется менее выраженным поражением клубочков, канальцев и стенок сосудов и отсутствием лейкоцитарных инфильтратов. Обнаружено повышение уровня тестостерона в периферической крови реципиентов-самок.

Как известно, существует выраженный половой диморфизм в частоте возникновения многих аутоиммунных патологий человека, в частности системной красной волчанки (СКВ), причины которого недостаточно ясны [10]. Экспериментальной моделью СКВ является иммунокомплексный гломерулонефрит, индуцированный хронической реакцией «трансплантат против хозяина» (РТПХ) в системе DBA/2→(C57BL/6хDBA/2) [1, 6]. Представляло интерес изучить особенности формирования аутоиммунной патологии в зависимости от пола реципиентов.

Материалы и методы исследования

В работе использовали 2-месячных мышей линии DBA/2, самок, и гибридов (C57BL/6 × DBA/2)F1 обоего пола, полученных из экспериментально-биологической клиники лабораторных животных СО РАМН (Новосибирск). Животных содержали в соответствии с правилами Европейской конвенции 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 [1, 6].

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 [2]. Количество белка в моче определяли колориметрически с красителем Кумасси бриллиантовый синий (Kum Sai brilliant blue, Loba Feinchemie) при $\lambda = 570$ нм. Калибровочную кривую строили по BSA (100 — 1000 мкг/мл), результаты выражали в мг/мл [3].

Концентрацию тестостерона в сыворотке крови определяли с

помощью тест-системы «Тестостерон — ИФА — Бест» (Вектор-Бест, X-3972). Концентрацию гормона рассчитывали по калибровочной кривой и выражали в нмоль/л.

Почки животных фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в фосфатном буфере, обезвоживали в градиенте этанола возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, изучали на световом микроскопе при увеличении до 1200 раз. Для морфометрии применяли квадратную тестовую систему, совмещаемую на экране компьютера с изображением, полученным при помощи цифровой видеокамеры микроскопа.

Для статистического анализа полученных результатов использовали методы непараметрической статистики.

Результаты и обсуждение

Показано, что индукция хронической РТПХ в системе DBA/2 → (C57BL/10 х DBA/2)F1 вызывает формирование аутоиммунной патологии только у реципиентов-самок при наблюдении в течение 6 недель [9]. Однако в нашей модели — DBA/2 → (C57BL/6 х DBA/2)F1 — хроническая РТПХ приводит к развитию аутоиммунного гломерулонефрита при сроке наблюдения 3 месяца у части реципиентов обоего пола (lupus-реципиенты). Морфологическое исследование почек показало, что формирование гломерулонефрита у самок lupus-мышей сопровождается развитием в паренхиме почек воспалительной реакции с лейкоцитарной инфильтрацией, представленной лимфоцитами (49,9%), макрофагами (24,8%) и плазматическими клетками (17,7%), изменениями гемомикроциркуляции (нарушением проницаемости, блокадой венозного отдела капилляров) и лимфостазом. У самцов патоморфологическая картина характеризуется менее выраженным поражением клубочков и канальцев по сравнению с самками, отсутствием лейкоцитарных инфильтратов, которые обнаруживаются в корковом веществе у самок в 100% случаев, и повреждения стенок сосудов (табл.).

Определение уровня тестостерона в периферической крови самок lupus-мышей выявило увеличение его концентрации (6,1 нмоль/л по сравнению с 4,8 нмоль/л у интактных самок того же возраста, $p < 0,05$), что могло быть объяснено компенсаторной реакцией организма на поражение почек, учитывая ренотропный эффект тестостерона. Однако уровень тестостерона у реципиентов-самок без формирования аутоиммунного гломе-

Таблица 1

Относительная площадь структур на срезе коркового и мозгового вещества почки (в % от площади среза) (M; min-max)

Параметр	Самцы		Самки	
	контроль	lupus	контроль	lupus
Корковое вещество почки				
Канальцы	90,2 (88 — 91)	66,3*# (50 — 81)	90,8 (89 — 93)	88,1# (79 — 96)
Клубочки	3,4 (3 — 5)	1,5* (1 — 3)	3,9 (3 — 5)	2,0* (1 — 4)
Кровеносные сосуды	5,9 (5 — 7)	2,1*# (1 — 3)	5,3 (3 — 7)	3,4*# (2 — 5)
Лейкоцитарные инфильтраты	0,2 (0 — 2)	13,2*# (5 — 19)	0	0#
Цилиндры	0	7,4* (2 — 15)	0	3,6* (0 — 9)
Кисты и полости с жидкостью	0	9,5* (3 — 21)	0	2,9* (0 — 7)
Мозговое вещество почки				
Канальцы и трубочки	95,8 (95 — 96)	94,9 (93 — 97)	97,5 (97 — 99)	97,3 (95 — 99)
Кровеносные сосуды	4,0 (3 — 5)	1,3*# (1 — 2)	2,5 (1 — 4)	2,2# (1 — 4)
Цилиндры	0	3,8*# (3 — 5)	0	0,5*# (0 — 1)

Достоверные различия ($p < 0,05$): * — между контрольной и опытной группой; # — между опытными группами.

рулонефрита (nonlupus) также оказывается увеличенным (7.7 нмоль/л, $p < 0,05$).

В настоящее время большое внимание уделяется половым гормонам в качестве регуляторов иммунных реакций. Более высокая частота аутоиммунных патологий у женщин, изменение их течения при беременности, половые различия при иммунном ответе, влияние половых гормонов на Th1/Th2-баланс и иммунные реакции *in vitro* обосновали роль половых гормонов, в основном эстрогена, прогестерона и тестостерона, в качестве медиаторов полового диморфизма иммунной системы [4, 5, 7, 8]. Менее выраженное поражение почек у самцов и возрастание уровня тестостерона у реципиентов-самок позволяют рассматривать тестостерон как фактор регуляции, супрессирующий аутоиммунные процессы при хронической РТПХ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов В.А., Кудаева О.Т., Колесникова О.П. и др. // Иммунология. — 2002. — 23. — № 3. — С. 143 — 146.
2. Колесникова О.П., Кудаева О.Т., Логинов М.В. и др. // Вестник АМН. — 1991. — № 12. — С. 13 — 16.
3. Bradford M.M. // Anal. Biochem. — 1976. — V. 72. — P. 248 — 254.
4. Cutolo M., Sulli A., Capellino S. et al. // Lupus. — 2004. — V. 13. — P. 635 — 638.
5. Erlandsson M.C., Jonsson C.A., Islander U. et al. // Immunology. — 2003. — V.108. — P. 346 — 351.

6. Kimura M., Ida, Shimada K., Kanai Y. // Clin. and Exp. Immunol. — 1987. — Vol. 69. — № 2. — P. 385 — 393.

7. Matejuk A., Bakke A.C., Hopke C. et al. // J. Neurosci. Res. — 2004. — Vol. 77. — P. 119 — 126.

8. Soldan S.S., Retuerto A.I.A., Sicotte N.L. et al. // J.Immunol. — 2003. — V. 171. — P. 6267 — 6274.

9. Van Griensven M., Bergijk E.C., Baelde J.J. et al. // Clin.Exp. Immunol. — 1997. — Vol. 107. — P. 254 — 260.

10. Whitacre C. C. // Nat. Immunol. — 2001. — Vol. 2. — P. 777 — 780.

*Kudaeva O.T., Goiman E.V., Gavrilova E.D.,
Maiborodin I.V., Kolesnikova O.P.*
**SEX DIFFERENCE OF AUTOIMMUNE
GLOMERULONEPHRITIS FORMATION
IN THE EXPERIMENTAL MODEL**

Induction of chronic graft-versus-host reaction in semiallogenic transfer system DBA/2→F1(DBA/2xC57Bl/6) leads to development of autoimmune glomerulonephritis in some mice of both sexes. The kidney pathomorphology is characterized by less expressed damage of glomerules, tubules and vessels walls and absence of leucocyte infiltrations in male recipients. It has been found the increase of testosterone blood level in female recipients.