

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛЮПУС-ПОДОБНОГО НЕФРИТА, ИНДУЦИРОВАННОГО ХРОНИЧЕСКОЙ РТПХ

© 2011 г. О.Т. Кудяева, Н.Н. Вольский, Е.В. Гойман, Е.В. Скоробогатых,
О.М. Перминова, В.И. Борисов, В.А. Логинов, О.П. Колесникова

НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск, Россия

Поступила: 07.07.2011. **Принята:** 07.10.2011

В полуаллогенной системе DBA/2 → (C57Bl/6xDBA/2)F1 хроническая РТПХ развивается по двум клиническим вариантам: Th2-зависимому, приводящему к развитию люпус-подобного нефрита, и Th1-зависимому, протекающему без нефрита. Оценивалась роль различных патофизиологических процессов в патогенезе гломерулонефрита, возникающего у части животных с хронической РТПХ. Показано, что основные патогенетические механизмы развития нефрита связаны с поликлональной активацией В-клеток, протекающей на фоне сдвига Th1/Th2-соотношения в сторону Th2. Это приводит к резкому увеличению числа В-лимфоцитов и синтезу аутоантител с образованием иммунных комплексов, которые, накапливаясь в ткани почек, инициируют в них воспалительные процессы. Предполагается, что характерная для аутоиммунных заболеваний почек гиперлипидемия также может быть связана с накоплением в тканях иммунных комплексов. Их эффект объясняется ингибированием стерол-27-гидроксилазы и соответствующим снижением в тканях концентрации 27-оксихолестерина — одного из ключевых регуляторов липидного метаболизма.

Ключевые слова: хроническая реакция «трансплантат против хозяина», иммунокомплексный гломерулонефрит, аутоантитела, гиперхолестеринемия, оксистеролы

ВВЕДЕНИЕ

Реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) представляет большой интерес для исследователей, так как позволяет создавать модели иммунопатологических состояний человека, с помощью которых можно изучать механизмы их развития и разрабатывать методы коррекции. Кроме того, сходная реакция часто развивается как осложнение при трансплантации костного мозга у человека.

Особенно привлекательными для исследователей являются экспериментальные модели, основанные на индукции РТПХ у гибридных животных при переносе клеток костного мозга или селезенки родительских линий, так как в этом случае не требуется предварительных процедур, подавляющих иммунную систему реципиента и в какой-то степени обя-

зательно повреждающих его ткани и клетки. К одной из самых популярных, особенно в последние годы, систем относится перенос гибридам (C57Bl/6xDBA/2)F1 лимфоидных клеток мышей родительской линии DBA/2, что приводит к развитию аутоиммунной патологии, которая аналогична системной красной волчанке человека по клиническим и патоморфологическим признакам [1].

Индукция хроническую РТПХ по описанной методике, мы обнаружили, что развитие иммунокомплексного гломерулонефрита наблюдалось всегда только у части животных, тогда как характерные признаки хронической РТПХ определялись у всех реципиентов: спленомегалия, повышенный уровень иммуноглобулина IgG и наличие аутоантител в периферической крови на фоне отсутствия выраженной деструкции тимуса [2, 3]. Было показано, что формирование гломерулонефрита зависит от доминирования Th2-зависимых процессов в организме реципиентов, тогда как отсутствие аутоиммунного

поражения почек связано с преобладанием Th1-активности [2, 4, 5]. Таким образом, сравнительное течение хронической РТПХ у реципиентов с проявлениями нефрита или без него (в дальнейшем обозначаемых как *lupus* и *nonlupus*, соответственно) можно полнее понять механизмы формирования аутоиммунного гломерулонефрита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

В работе использовали мышей гибридов первого поколения (C57Bl/6хDВА/2)F1 (B6D2F1) и линии DВА/2, самок в возрасте 2 месяцев, полученных из лаборатории экспериментальных животных (моделей) Института клинической иммунологии СО РАМН (Новосибирск). Животных содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Индукция хронической РТПХ

РТПХ индуцировали у мышей путём переноса самкам B6D2F1 лимфоидных клеток родительской линии DВА/2. Спленоциты вводили реципиентам внутривенно в дозе $60 - 70 \times 10^6$ клеток двукратно с интервалом в 5 дней [2, 6]. В качестве контроля использовали интактных животных того же генотипа, пола, возраста, что и в опыте.

Морфологический анализ органов

Почки фиксировали в формалине, обезжировали и заливали в парафин. Серийные срезы почек толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, на неокрашенных депарафинизированных срезах почек иммуногистохимически определяли отложения IgG. Морфологический анализ органов проводили методом обзорной микроскопии и полуколичественными методами по стандартным методикам. Степень поражения почек оценивали по шкале 0–4 [7].

Определение содержания антител к гцДНК

Содержание антител к ДНК определяли методом иммуноферментного анализа в 96-луночных плоскодонных планшетах (E.I.A. «Linbro») с помощью меченого пероксида-

зой хрена конъюгата и о-фенилендиамина в качестве субстрата. Интенсивность реакции оценивали на многоканальном спектрофотометре «Multiskan» при $\lambda = 492 \text{ nm}$. Результаты выражали в единицах оптической плотности (OD опытного образца – OD контроля).

Для многократного прижизненного наблюдения за появлением антител к ДНК (в течение 3–9 недель после индукции реакции) использовали определение антител микрометодом в цельной периферической крови [3].

Определение белка в моче

Количество белка в моче определяли колориметрически с красителем Кумасси бриллиантовый синий [8] при длине волны $\lambda = 570 \text{ nm}$. Калибровочную кривую строили по BSA (100–1000 мкг/мл), результаты выражали в мг/мл.

Метод проточной цитофлуориметрии

Содержание субпопуляций лимфоцитов в клеточной суспензии селезёнки определяли, используя антитела к поверхностным маркерам мыши CD4, CD8, CD19 и CD45RB^{low/high}, конъюгированные с FITC, PE и allophycocyanin (Becton Dickinson, США), с помощью проточного цитометра FACSCalibur по программе CellQuest (Becton Dickinson, США).

Определение холестерина и триглицеридов

Содержание холестерина и триглицеридов в сыворотке крови оценивали энзиматическими методами, используя коммерческие наборы Analyticon CHOL и Analyticon TG (Analyticon Biotechnologies AG, Germany). Результаты измерений выражали в миллимолях на 1 л.

Определение TNF α

Содержание TNF α в сыворотке определяли иммуноферментным методом, используя наборы фирмы «eBioscience». Результаты исследований выражали в пг/мл.

Статистическая обработка

Обработку результатов проводили методами непараметрической статистики с использованием U критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Результаты на рисунках приведены в

виде средних величин; достоверные различия ($p < 0,05$) отмечены: * между контрольной и опытной группой; # между опытными группами.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Формирование гломерулонефрита происходит в данной модели DBA/2 → (C57Bl/6xDBA/2)F1 в течение 6–12 недель после переноса полуаллогенных клеток (рис. 1). Гломерулонефрит развивается у 50–60% реципиентов (группа *lupus*), тогда как у остальных реципиентов отсутствуют заметные признаки поражения почек (группа *nonlupus*). Формирование гломерулонефрита тестировали по уровню белка в моче (>3 мг/мл), который тесно коррелирует с отложением иммунных комплексов в почечной паренхиме и морфологическими проявлениями поражения почек, как было показано ранее [9].

Морфологическое исследование почек экспериментальных животных показало, что у мышей без протеинурии (группа *nonlupus*) фиксируются незначительные патоморфологические сдвиги в виде признаков пролиферации мезангия в отдельных клубочках, выражающиеся в увеличении количества мезангиальных клеток и увеличении размеров капиллярного клубочка. В некоторых случаях это сочетается с пылевидными отложениями IgG в почечных клубочках и незначительной белковой дистрофией канальцевого эпителия.

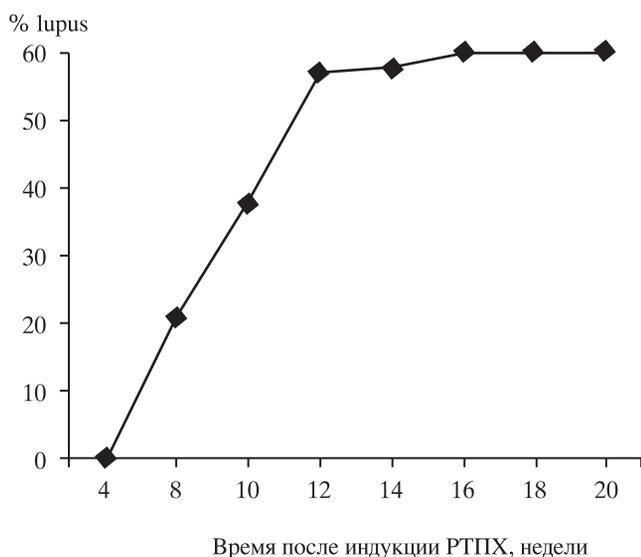


Рис. 1. Частота возникновения иммунокомплексного гломерулонефрита в динамике развития хронической РТПХ

Перигломерулярно наблюдаются небольшие лимфоидные инфильтраты. Структура органа сохранена, дистрофия канальцев отсутствует. В целом, морфологические признаки поражения почек у животных в группе *nonlupus* соответствуют значению шкалы 1.

В группе животных с протеинурией (группа *lupus*) обнаруживаются грубые изменения почечной ткани. Поражение клубочков имеет диффузный характер и выражается в увеличении количества мезангиальных клеток с депонированием мезангиального матрикса, диффузным утолщением стенки капиллярных петель вплоть до очагов гиалиноза. Клубочки приобретают «лапчатый» вид. Постоянно встречаются перигломерулярные лимфоидные инфильтраты. Резко выражена белковая дистрофия эпителия извитых канальцев. В некоторых случаях имеются явления склерозирования клубочков. Отложения IgG в почечных клубочках носят линейно-глыбчатый характер. Морфологические признаки поражения почек у животных в группе *lupus* протеинурией соответствуют значению шкалы 3,5. Позднее (на 6–7 месяце болезни) в почечной ткани преобладают грубые склеротические изменения: склероз и гиалиноз многих клубочков, пролиферация эпителия почечных капсул с образованием «полулунный», выражена атрофия канальцев с кистозным расширением просвета, наблюдаются лимфоидная инфильтрация интерстиция. В склерозированных клубочках обнаруживаются глыбчатые отложения IgG, содержимое кистозно-расширенных канальцев также положительно окрашивается на IgG.

Характерной особенностью хронической РТПХ является увеличение количества клеток селезенки не только на ранних стадиях, но и выраженная спленомегалия на всех сроках наблюдения, что является проявлением лимфопролиферативных процессов [1]. Увеличение клеточности селезенки было показано ранее для всех реципиентов: как для животных, попадающих в группу *lupus*, так и для *nonlupus* мышей [2, 10]. Это служит убедительным доказательством того, что характерные для хронической РТПХ патологические процессы развиваются и у животных *nonlupus* группы, несмотря на отсутствие у них гломерулонефрита, и что возникающее у них иммунопатологическое состояние следует рассматривать как один из клинических вариантов развития хронической РТПХ в данной модели.

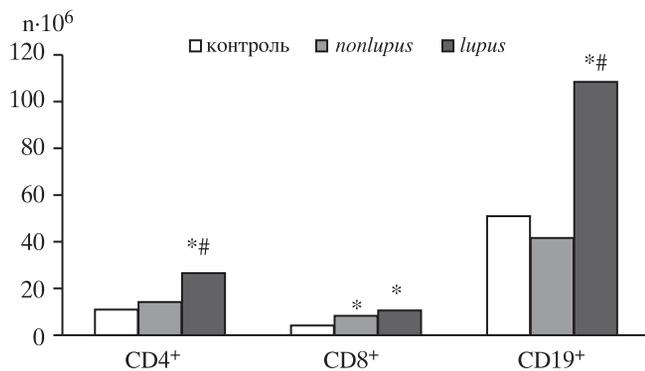


Рис. 2. Количество Т- и В-лимфоцитов в селезёнке реципиентов (n = 8 во всех группах)

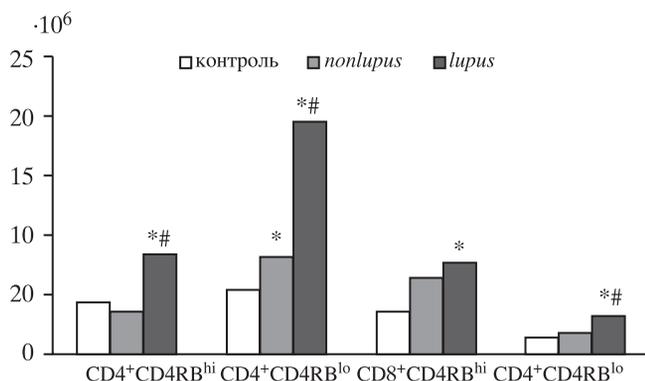


Рис. 3. Содержание субпопуляций наивных клеток и клеток памяти среди Т-лимфоцитов реципиентов. Белые столбики – контрольная группа (n = 8); серые столбики – nonlupus-реципиенты (n = 8); чёрные столбики – lupus-реципиенты (n = 8)

В настоящей работе мы определили субпопуляционный состав спленоцитов у реципиентов с хронической РТПХ и сравнили данные, полученные в *lupus* и *nonlupus* группах (рис. 2 и 3). У мышей с гломерулонефритом наблюдается значительное возрастание числа Т- и В-лимфоцитов. Определение фенотипа Т-клеток показало, что происходит увеличение количества наивных Т-клеток (CD45RB^{high}) и Т-клеток памяти (CD45RB^{low}); это относится как к CD4⁺, так и CD8⁺ клеткам. При этом возрастание клеток памяти среди CD4⁺ лимфоцитов более выражено, что приводит к достоверному увеличению их не только абсолютного, но и относительного количества. Число В-клеток в селезенке *nonlupus* реципиентов достоверно не отличается от контроля, в то же время содержание почти всех исследованных субпопуляций Т-клеток в селезенках *nonlupus* мышей имеет тенденцию к увеличению, достигая принятого уровня до-

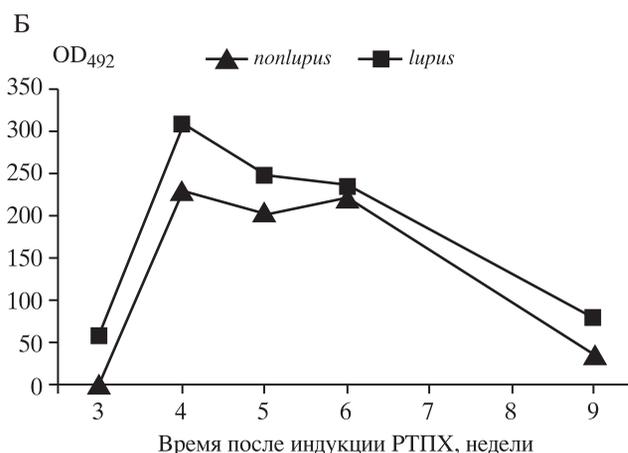
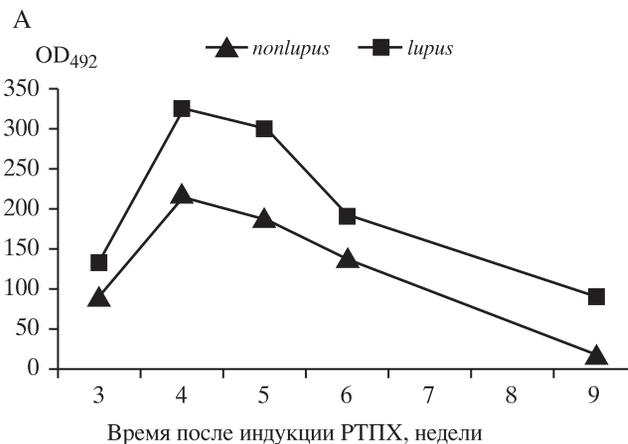


Рис. 4. Динамика содержания антител к ДНК разных подклассов IgG (А – IgG1; Б – IgG2a)

стоверности для CD8⁺ и CD4⁺CD45RB^{low} лимфоцитов.

Поликлональная активация В-лимфоцитов, характерная для хронической формы РТПХ, приводит к возрастанию уровня общего IgG и появлению аутоантител ко многим компонентам собственных тканей, в частности, к дцДНК в использованной нами модели [6, 11, 12]. Известно, что аутоантитела при хронической РТПХ представлены молекулами IgG в отличие от естественных аутоантител, относящихся к классу IgM и в незначительном количестве присутствующих в сыворотке крови интактных животных [11]. В настоящей работе мы определили принадлежность исследуемых аутоантител к Th1- и Th2-зависимым подклассам IgG (соответственно, IgG2a и IgG1). Данные, приведённые на рис. 4, показывают, что антитела к дцДНК, обнаруживаемые в крови животных обеих экспериментальных групп, представлены как IgG2a, так и IgG1 иммуноглобулинами.

При этом следует отметить, что содержание антител к дцДНК обоих подклассов в группе *lupus* существенно выше, чем в группе *nonlupus*, на протяжении всего периода наблюдения и что соотношение IgG1/IgG2a у *lupus* мышей заметно сдвинуто — как и следовало ожидать — в сторону преобладания Th2-зависимого подкласса аутоантител.

Оценивая эти результаты необходимо учитывать, что данные приведены в значениях оптической плотности (OD), так как определение в каждом случае точного значения титра антител (путём последовательного разведения) при регулярном тестировании большого количества животных требует значительных затрат. Параллельное определение количества антител против ДНК в единицах OD и при титровании периферической крови в отдельных образцах продемонстрировало тесную корреляцию и соответствие одного параметра другому, при этом график возрастания количества антител в единицах OD имеет менее выраженный наклон по сравнению с оценкой в титрах, так что выражение уровня антител в титрах, несомненно, представляло бы более наглядную картину межгрупповых различий по измеряемым параметрам. Так, например, значения OD 0,189 и 0,223 соответствуют титрам сыворотки 1:250 и 1:500, то есть двукратному различию в действительном уровне антител.

Известно, что поражение почек при системной красной волчанке сопровождается выраженными нарушениями липидного метаболизма и изменениями спектра сывороточных липопротеидов. В связи с этим мы исследовали содержание холестерина и триглицеридов в крови мышей с двумя развившимися клиническими вариантами хронической РТПХ.

Таблица. Содержание холестерина и триглицеридов в сыворотке мышей с оппозитными вариантами развития хронической РТПХ (M; min — max)

Исследуемый показатель	Интактные мыши n = 7	<i>nonlupus</i> группа n = 8	<i>lupus</i> группа n = 8
Холестерин, mM	2,77	3,14	8,55*
Триглицериды, mM	2,30 — 3,01	1,75 — 5,95	3,47 — 14,54
	1,72	1,84	5,25*
	0,98 — 2,74	1,24 — 2,69	1,95 — 10,48

Примечание: приведены средние величины; достоверные различия (p < 0,05) отмечены * между контрольной и опытной группой.

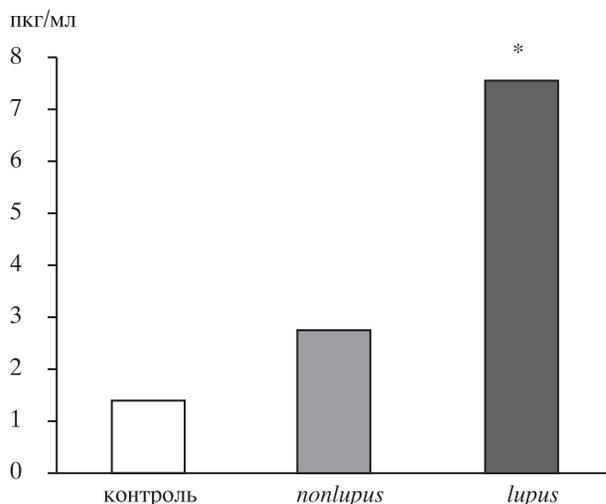


Рис. 5. Содержание TNFα в сыворотке реципиентов с хронической РТПХ

Результаты экспериментов представлены в **таблице**. Видно, что параллельно с развитием гломерулонефрита у животных *lupus* группы резко возрастает содержание общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови. Следует подчеркнуть, что такая гиперлипидемия развивается у всех животных в этой группе и может служить столь же явным клиническим признаком данного варианта течения хронической РТПХ, как и наблюдаемая у них протеинурия. В то же время в группе *nonlupus* значения исследованных параметров липидного метаболизма не отличаются от их величин, определяемых у контрольных животных.

Помимо этого в сыворотке крови мышей обеих экспериментальных групп было измерено содержание TNFα — цитокина, синтез которого, по нашему предположению, мог быть активирован при развитии иммунокомплексного гломерулонефрита. Как видно из данных, представленных на **рис. 5**, концентрация TNFα в сыворотке *lupus* животных достоверно повышена, в то время как мыши *nonlupus* группы не отличаются по этому параметру от интактных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке значимости полученных данных, нужно отметить, что ведущим фактором в патогенезе люпус-подобного нефрита, развивающегося в исследуемой модели хронической РТПХ, является сдвиг Th1/Th2-баланса в сторону преобладания хелперов второго типа.

Как было показано нами ранее [2, 5], именно индивидуальная величина этого соотношения представляет собой эпигенетический фактор, который определяет разделение генетически идентичных животных на две оппозиционно реагирующие группы и направляет развитие иммунных реакций при хронической РТПХ по тому или иному варианту ее течения, приводя в случае Th2-зависимого варианта к формированию иммунокомплексного гломерулонефрита. Такое понимание природы возникновения аутоиммунного поражения почек лишь у части животных, имеющих одинаковый генотип и подвергшихся одинаковому экспериментальному воздействию, было прямо подтверждено в опытах, в которых воздействие агентов, способных сдвигать Th1/Th2-баланс в ту или иную сторону (плазмидная ДНК, мурамилдипептид, дегидроэпиандростерон, пентоксифиллин, бисфенол А), приводило к заранее предсказуемому сдвигу в развитии хронической РТПХ преимущественно по Th1- или Th2-зависимому варианту [4, 5, 13].

Одним из факторов, способствующим развитию аутоиммунных реакций в исследуемой нами модели, может быть включение процесса гомеостатической пролиферации (ГП), которая в последние годы рассматривается в качестве одного из возможных механизмов срыва толерантности к компонентам собственных тканей [14]. ГП, понимаемая как компенсаторное устранение количественного дефицита лимфоцитов путём включения их пролиферации на периферии, приводит к снижению разнообразия распознающих антигены рецепторов и появлению в значимом количестве аутореактивных эффекторных клеток [15]. Известно, что острая РТПХ сопровождается резким снижением числа лимфоцитов. Напротив, хроническая РТПХ носит название «иммуностимуляторная», так как для неё характерна лимфопролиферативная реакция [1]. Однако нами ранее было установлено, что на начальном этапе развития хронической РТПХ происходит падение содержания лимфоцитов в периферической крови реципиентов, которое держится в течение первых двух недель и затем сменяется лимфоцитозом с последующей нормализацией числа лимфоцитов до значений, свойственных интактным животным [10]. Показано, что у реципиентов с гломерулонефритом имеется характерный признак ГП: повышенное содержание IL-7 в периферической крови [16]. При ГП также происходит возрастание CD4⁺- и

CD8⁺-субпопуляций Т-лимфоцитов с фенотипом клеток памяти, описанное в настоящей работе (рис. 3).

Обнаруженное нами у мышей *lupus* группы увеличение числа наивных CD4⁺- и CD8⁺-клеток в селезёнке может быть вызвано активацией процессов миграции из тимуса, который остаётся относительно сохранным при хронической форме РТПХ в отличие от острой РТПХ, характеризующейся деструктивными изменениями ткани тимуса. Исследование состояния тимуса в использованной модели DBA/2 → (C57Bl/6xDBA/2)F1 не обнаружило у реципиентов значительных его повреждений. В то же время в тимусе *lupus* реципиентов были выявлены некоторые морфологические изменения, характерные для аутоиммунных заболеваний, хотя и не являющиеся для них специфическими [2].

Продукция аутоантител при Th2-зависимом клиническом варианте хронической РТПХ показана прямыми измерениями антител к дцДНК в сыворотке реципиентов (рис. 4). Хотя такие антитела найдены в крови мышей как *lupus*, так и *nonlupus* групп, их содержание существенно выше в крови животных с Th2-зависимым вариантом развития хронической РТПХ. Наибольшие концентрации антител к ДНК обнаружены на ранних стадиях хронической РТПХ (4 – 6 недель), а затем происходит постепенное снижение их уровня, причем у *lupus*-реципиентов уменьшение количества антител начинается еще до появления протеинурии, что согласуется с данными, полученными нами ранее для IgG [12] и результатами других авторов [17]. Уменьшение содержания антител к ДНК в ходе развития РТПХ, вероятно, отражает динамику их отложения в тканях в составе иммунных комплексов.

Исследование почек мышей с хронической РТПХ свидетельствует об иммунокомплексной природе гломерулонефрита, развивающегося у части этих животных. Почечная ткань *lupus* мышей отличается не только степенью воспалительных повреждений коркового вещества (выраженное нарушение структуры клубочков и канальцев, наличие значительных лимфоидных инфильтратов), но и резко увеличенным количеством IgG, который откладывается в почках и специфически окрашивается иммуногистохимическим методом. Если в почках *nonlupus* реципиентов поражение органа, оцениваемое значением шкалы 1 (минимальная степень повреждения), сочетается с редкими пылевидными от-

ложениями IgG в клубочках, то у животных *lupus* группы, у которых повреждение почек оценивается значением шкалы 3,5 (при максимальном значении, равном 4), в клубочках определяются линейно-глыбчатые и глыбчатые скопления IgG; кроме того IgG обнаруживается и в содержимом канальцев. Все эти данные в сочетании с обнаруженным фактом повышенной продукции аутоантител в группе мышей-реципиентов с Th2-зависимым вариантом хронической РТПХ позволяют сделать заключение, что непосредственно действующим патогенетическим фактором являются в данном случае иммунные комплексы, накапливающиеся в ткани почек и инициирующие развитие люпус-подобного нефрита.

Еще одним эффектом накопления иммунных комплексов в тканях может быть, по нашему предположению, развитие выраженной гиперлипидемии, возникающей у мышей *lupus* группы параллельно с формированием гломерулонефрита.

Наличие гиперлипидемии при люпус-подобном нефрите в исследуемой модели хронической РТПХ было уже описано ранее [18]. Наши данные подтверждают этот факт и кроме того говорят о тесной временной связи между этими на первый взгляд независимыми характеристиками иммунопатологического процесса, протекающего по Th2-зависимому варианту хронической РТПХ. Необходимо подчеркнуть, что ни у одной мыши с Th1-зависимым вариантом РТПХ гиперлипидемия не развивается и что повышение уровня сывороточного холестерина у мышей с Th2-зависимым вариантом РТПХ совпадает по времени, как это было показано нами ранее в специальном эксперименте [19], с появлением у них протеинурии. В начальной стадии хронической РТПХ индивидуальные животные, попадающие затем в одну из оппозиционных групп (*lupus* или *nonlupus*) не отличаются друг от друга (и от интактных мышей) по уровням сывороточного холестерина и лишь в период, когда у части реципиентов формируется иммунокомплексный гломерулонефрит, именно у таких животных обнаруживается гиперхолестеринемия, во всех случаях сопровождающаяся появлением у них протеинурии, т.е. признаком поражения почек.

Взаимосвязь между заболеваниями почек и нарушениями липидного обмена была замечена уже давно (накопление липидов в почечном эпителии при болезни Брайта описал еще Вирхов в 1858 году). К настоящему времени

установлено, что нарушения липидного метаболизма при поражениях почек не ограничиваются повышением уровня сывороточных липидов, а выражаются также в изменениях активности многих ключевых ферментов и белков, участвующих в регуляции обмена холестерина и триглицеридов [20, 21, 22]. Несомненно, эти данные очень важны для более глубокого понимания патогенеза гиперлипидемии при нефротическом синдроме, однако они не дают ответа на кардинальный для этой проблемы вопрос: каковы механизмы, связывающие поражение почек с нарушениями метаболизма липидов. Первоначальная гипотеза о том, что повышение уровня сывороточных липопротеинов служит компенсаторным механизмом при снижении уровня сывороточного альбумина, теряющегося при протеинурии, сегодня окончательно отвергнута, как не соответствующая имеющимся экспериментальным данным [21, 23]. Таким образом, вопрос о первичной причине гиперлипидемии при заболеваниях почек еще не нашел своего окончательного разрешения.

Основываясь на описанных в литературе данных и на результатах наших исследований, мы предполагаем, что накопление в тканях иммунных комплексов может быть тем связующим звеном, которое лежит в основе наблюдаемой ассоциации между аутоиммунными поражениями почек и гиперхолестеринемией.

В экспериментах *in vitro* было показано [24], что добавление иммунных комплексов к макрофагам и эндотелиальным клеткам приводит к ингибированию в них активности стерол-27-гидроксилазы — фермента, окисляющего холестерин до 27-оксихолестерина, который известен как эндогенный лиганд ядерных рецепторов LXR (liver X receptors). Поскольку последние являются факторами транскрипции и одними из главных регуляторов холестерина обмена, а их активация приводит к торможению синтеза холестерина и к ускорению его катаболизма до желчных кислот [25], можно предположить, что накопление иммунных комплексов в условиях *in vivo* может сопровождаться нарушениями холестерина обмена и развитием гиперхолестеринемии за счет уменьшения концентрации 27-оксихолестерина в организме и соответствующего снижения уровня активации LXR (см. схему на **рис. 6**).

В настоящее время это предположение представляет собой чисто спекулятивную



Рис. 6. Схема возможного влияния иммунных комплексов на биосинтез и катаболизм холестерина

конструкцию и не имеет прямых экспериментальных доказательств. Однако имеется ряд данных, которые могут рассматриваться как косвенные свидетельства в пользу этой гипотезы. В частности, тесная связь между накоплением иммунных комплексов в организме и гиперхолестеринемией обнаружена не только в клинической картине некоторых аутоиммунных заболеваний (классический пример — системная красная волчанка), но характерна и для люпус-подобных синдромов, спонтанно развивающихся у мышей-гибридов (NZBxNZW)F1, у MRL/lpr, BXSB и других линий мышей с врожденной иммунопатологией [26–28]. Аналогичная ассоциация обнаруживается также при иммунокомплексных поражениях почек, индуцированных введением HgCl_2 , БСА и антител к антигенам почечной ткани.

Поскольку оксистеролы (связываясь с LXR) способны подавлять продукцию провоспалительных цитокинов [29, 30], обнаруженное в наших опытах увеличение концентрации TNF α в сыворотке *lupus* мышей также может быть объяснено снижением продукции 27-оксихолестерина после накопления иммунных комплексов в тканях и рассматриваться как еще одно косвенное свидетельство в пользу вышеизложенной гипотезы. Однако ее непосредственная проверка требует дальнейших экспериментальных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Via C.S., Shearer G.M. T cell interactions in autoimmunity: insights from a murine model of graft-versus-host disease. *Immunol. Today* 1988, 9(7–8), 207–213
2. Козлов В.А., Кугаева О.Т., Колесникова О.П., Сафронова И.В., Лактионов П.П. и др. Th1- и Th2-зависимые варианты хронической реакции трансплантат против хозяина. *Иммунология* 2002, 3, 143–146.
3. Кугаева О.Т., Ненашева Е.В., Козлов В.А. Определение содержания иммуноглобулинов в цельной крови. *Иммунология* 2005, 3, 189–191.
4. Власов В.В., Рыкова Е.Ю., Сафронова И.В., Лактионов П.П., Кугаева О.Т. и др. Модуляция течения хронической реакции трансплантат против хозяина под действием плазмидной ДНК. *Докл. АН* 2002, 32(3), 844–846.
5. Кугаева О.Т., Гойман Е.В., Лыков А.П., Колесникова О.П., Козлов В.А. Влияние препаратов, изменяющих соотношение Th1/Th2, на частоту развития клинических вариантов хронической реакции трансплантат против хозяина. *Бюл. Эксп. Биол. Мед.* 2005, 9, 325–327.
6. Kimura K., Ida S., Shimada K., Kanai Y. Specificity of anti-nuclear antibodies induced in F1 mice undergoing the graft versus host reaction: isotypes and cross-reactivities. *Clin. Exp. Immunol.* 1987, 69(2), 385–393.
7. Muracami M., Yoshioka H., Shirai T., Tsubata T., Honjo T. Prevention of autoimmune symptoms in autoimmune-prone mice by elimination of B-1 cells. *Int. Immunol.* 1995, 7(5), 877–882.
8. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976, 72(1), 248–254.
9. Колесникова О.П., Кугаева О.Т., Логинов В.А., Робинсон М.В., Колесникова С.М. и др. Показатели эритро- и иммунопозеза в развитии аутоиммунных заболеваний, индуцированных хронической реакцией трансплантат против хозяина. *Вестник АМН СССР* 1991, 12, 13–16.
10. Ткачев В.О., Гойман Е.В., Лыков А.П., Кугаева О.Т., Колесникова О.П. Показатели гемопоэза в динамике развития хронической реакции трансплантат против хозяина. *Иммунология* 2006, 3, 168–170.
11. Morris S.C., Cheek R.L., Cohen P.L., Eisenberg R.A. Autoantibodies in chronic graft versus host result from cognate T-B interactions. *J. Exp. Med.* 1990, 171(2), 503–517.
12. Ткачев В.О., Ненашева Е.В., Гойман Е.В., Вольский Н.Н., Кугаева О.Т. и др. Уровень аутоантител к ДНК и метаболическая активность полиморфноядерных лейкоцитов в динамике хронической реакции трансплантат против хозяина. *Иммунология* 2006, 2, 98–101.

13. Ткачев В.О., Вольский Н.Н., Кугаева О.Т., Козлов В.А. Продукция активных кислородных метаболитов при хронической реакции трансплантат против хозяина: связь с Th1/Th2-поляризацией. Иммунология 2008, 4, 209–212.
14. Khoruts A., Fraser J.M. A causal link between lymphopenia and autoimmunity. Immunol. Lett. 2005, 98(1), 23–31.
15. Vaccala R., Theofilopoulos A.N. The new paradigm of T-cell homeostatic proliferation-induced autoimmunity. Trends Immunol. 2005, 26(1), 5–8.
16. Гойман Е.В., Кугаева О.Т., Ильина Н.А., Борисов В.И., Кожевников В.С. и др. Процессы гомеостатической пролиферации в патогенезе аутоиммунного гломерулонефрита, индуцированного хронической реакцией трансплантат против хозяина. Бюл. Эксп. Биол. Мед. 2010, 1, 60–63.
17. Meziere C., Stockl F., Batsford J., Vogt A., Muller S. Antibodies to DNA, chromatin core particles and histones in mice with GvHD and their involvement in glomerular injury. Clin. Exp. Immunol. 1994, 98(2), 287–294.
18. Xiao Z.Y., Zhou W.X., Zhang Y.X. Cheng J.P., He J.F. et al. Roquinimex-mediated protection effect on the development of chronic graft-versus-host disease in mice is associated with induction of Th1 cytokine production and inhibition of proinflammatory cytokine production. Life Sci. 2007, 81(19–20), 1403–1410.
19. Перминова О.М., Вольский Н.Н., Кугаева О.Т., Гойман Е.В., Козлов В.А. Дислипидемия и Th1/Th2-соотношение на разных этапах развития хронической реакции трансплантат против хозяина. Иммунология 2009, 6, 341–345.
20. Deighan C.J., Caslake M.J., McConnell M., Boulton-Jones J.M., Packard C.J. Patients with nephrotic-range proteinuria have apolipoprotein C and E deficient VLDL₁. Kidney Int. 2000, 58(3), 1238–1246.
21. Vaziri N.D., Liang K. Up-regulation of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) in nephrotic syndrome. Kidney Int. 2002, 61(5), 1769–1775.
22. Shearer G.C., Newman J.W., Hammock B.D., Kaysen G.A. Graded effects of proteinuria on HDL structure in nephrotic rats. J. Am. Soc. Nephrol. 2005, 16(5), 1309–1319.
23. Hu P., Lu L., Hu B., Du P.F. Characteristics of lipid metabolism under different urinary protein excretion in children with primary nephrotic syndrome. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2009, 69(6), 680–686.
24. Reiss A.B., Awadallah N.W., Malhotra S., Montesinos M.C., Chan E.S.L. et al. Immune complexes and IFN- γ decrease cholesterol 27-hydroxylase in human arterial endothelium and macrophages. J. Lipid Res. 2001, 42(11), 1913–1922.
25. Wang Y., Rogers P.M., Su C., Varga G., Stayrok K.R. et al. Regulation of cholesterologenesis by the oxysterol receptor, LXRalpha. J. Biol. Chem. 2008, 283(39), 26332–26339.
26. Gu L., Johnson M.W., Lusis A.J. Quantitative trait locus analysis of plasma lipoprotein levels in an autoimmune mouse model: interactions between lipoprotein metabolism, autoimmune disease, and atherogenesis. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1999, 19(2), 442–453.
27. Kono D.H., Balomenos D., Park M.S., Theofilopoulos A.N. Development of lupus in BXSB mice is independent of IL-4. J. Immunol. 2000, 164(1), 38–42.
28. Lawman S., Mauri C., Jury E.C., Cook H.T., Ehrenstein M.R. Atorvastatin inhibits autoreactive B cell activation and delays lupus development in New Zealand black/white F1 mice. J. Immunol. 2004, 173(12), 7641–7646.
29. Dushkin M., Schwartz Y., Volsky N., Musatov M., Vereschagin E. et al. Effects of oxysterols upon macrophage and lymphocyte functions in vitro. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 1998, 55(4), 219–236.
30. Hong C., Walczak R., Dhamko H., Bradley M.N., Marathe C. et al. Constitutive activation of LXR in macrophages regulates metabolic and inflammatory gene expression: identification of ARL7 as a direct target. J. Lipid Res. 2011, 52(3), 531–539.

PATHOGENETIC MECHANISMS OF EXPERIMENTAL LUPUS-LIKE NEPHRITIS INDUCED BY CHRONIC GVHD

**O.T. Kudaeva, N.N. Volsky, E.V. Goiman, E.V. Skorobogatykh, O.M. Perminova,
V.I. Borisov, V.A. Loginov, O.P. Kolesnikova**

*Research Institute of Clinical Immunology, Siberian Division of Russian Academy of Medical
Sciences, Novosibirsk, Russia*

A chronic GVHD in semiallogenic system DBA/2 → (C57Bl/6xDBA/2)F1 develops in two clinical variants: Th2-dependent leading to the formation of lupus-like nephritis and Th1-dependent proceeding without nephritis. The role of various pathophysiological processes has been evaluated in the pathogenesis of glomerulonephritis occurring in some animals with chronic GVHD. It has been shown that the major pathogenetic mechanisms of nephritis development are associated with polyclonal activation of B cells that is occurred against the background of a shift of Th1/Th2-balance in the direction to Th2. This leads to a sharp increase in the number of B lymphocytes and the synthesis of autoantibodies forming immune complexes that accumulate in renal tissue and trigger inflammatory processes. It is suggested that the characteristic of autoimmune kidney disease hyperlipidemia may also be associated with the accumulation of immune complexes in the tissues. Their effect is due to inhibition of sterol-27-hydroxylase and a corresponding reduction in tissue concentration of 27-hydroxycholesterol – one of the key regulators of lipid metabolism.