

Перминова О.М., Вольский Н.Н., Кудяева О.Т., Гаврилова Е.Д.
**МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ
 В УСЛОВИЯХ ДИСЛИПИДЕМИИ**

Институт клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

Резюме

На мышцах-гибридах (C57Bl/6 x DBA/2) F_1 проверена возможность создания стойкой контролируемой гиперлипидемии при многократном введении полоксамера 407. Обнаружено, что внутрибрюшинное введение этого препарата в дозе 7,5 мг/мышь через день вызывает у животных длительную гиперхолестеринемию. Уровень холестерина в сыворотке крови повышается при этом до 12 — 15 мМ (у контрольных мышей среднее значение равно 2,65 мМ). На модели хронической РТПХ показано, что дислипидемия значимо смещает Th1/Th2-соотношение в сторону преобладания Th1.

Имеющиеся на сегодняшний день экспериментальные данные, указывающие на взаимосвязь изменений липидного метаболизма и проявлений функциональной активности клеток иммунной системы, свидетельствуют об актуальности изучения механизмов синхронной регуляции липидного обмена и иммунных реакций [1, 3]. Однако экспериментальные возможности клинических исследований существенно сужены, а результаты, получаемые на клиническом материале, по необходимости фрагментарны, разрозненны и тесно связаны с особенностями изучаемых нозологий (ишемическая болезнь сердца, аутоиммунные заболевания, сахарный диабет и т.д.). В опытах *in vitro* используются отдельные популяции клеток и клеточные линии при воздействии экзогенных липидов, что искусственно упрощает изучаемую проблему, игнорируя существующие в целостном организме связи между изменениями параметров липидного метаболизма и активностью иммунных реакций. Таким образом, важным моментом в данной области исследований представляется расширение спектра адекватных экспериментальных моделей, позволяющих в условиях *in vivo* изучать взаимоотношения между различными нарушениями липидного метаболизма и патофизиологическими процессами в иммунной системе.

Данная работа была предпринята с целью оценить возможности создания стойкой гиперлипидемии у мышечных гибридов (C57Bl/6 x DBA/2) F_1 с помощью многократного введения полоксамера 407 и изучить на этой модели особенности Th1/Th2-поляризации в условиях дислипидемии.

Материалы и методы

В работе использовались мыши-самки линии DBA/2 и гибриды (C57Bl/6 x DBA/2) F_1 в возрасте 2 месяцев, полученные из питомника СО РАМН и содержащиеся в стандартных условиях вивария.

Гиперлипидемию индуцировали многократным введением полоксамера 407, основываясь на методе, примененном в работе [5]. Препарат вводили внутрибрюшинно в различных дозах в 0,5 мл среды RPMI-1640. Животным контрольной группы в те же сроки вводили растворитель.

Выраженность гиперлипидемии оценивали по уровню холестерина в сыворотке крови, который определяли фотометрически по методу с холестериноксидазой, используя наборы фирмы Bioson Diagnostic (Германия), и выражали в миллимолях на 1 литр (мМ).

Хроническую РТПХ у мышечных гибридов (C57Bl/6 x DBA/2) F_1 индуцировали двукратным (с интервалом 6 дней) переносом спленцитов мышечной линии DBA/2 в суммарной дозе 130×10^6 клеток. Критерием развития заболевания по Th2-зависимому (или, соответственно, Th1-зависимому) варианту служило формирование (или отсутствие) у экспериментальных животных люпус-подобного аутоиммунного гломерулонефрита, характеризующегося стойкой протеинурией (не менее 3 мг/мл в двух последовательных измерениях). Как было установлено ранее, возникновение клинически

выраженного поражения почек коррелирует с преобладанием активности Th2-лимфоцитов [2]. За момент начала индукции хронической РТПХ принималась дата первой трансплантации лимфоидных клеток.

Статистическая обработка проводилась с использованием ф-критерия для сравнения выборочных долей варианта.

Результаты и обсуждение. Гиперлипидемия, возникающая у мышечных гибридов при введении полоксамера 407 (P407; другое его название — Pluronic F-127), описана Джонстоном и соавторами около 10 лет назад. За прошедшие с тех пор годы влияние этого широко применяемого в косметологии и фармации препарата на липидный обмен у мышечной линии C57Bl/6 было всесторонне исследовано, и его введение предложено как простой, экономичный и удобный экспериментальный метод для моделирования гиперлипидемии и изучения атерогенеза артерий [4]. Быстро развивающиеся в этой модели гипертриглицеридемия и гиперхолестеринемия являются следствием ингибирования активностей сывороточной липопротеинлипазы (расщепляющей триглицериды) и холестерин 7 α -гидроксилазы (фермента гепатоцитов, окисляющего холестерин до желчных кислот), соответственно.

В наших экспериментах было обнаружено, что и у мышечных гибридов (C57Bl/6 x DBA/2) F_1 однократное введение P407 в различных дозах ведет к резкому повышению уровня холестерина в сыворотке крови, которое достигает своего максимума через 12 — 24 часа после введения препарата, медленно снижаясь до контрольных значений в течение последующих двух суток. В результате исследований была подобрана доза и сроки введения препарата, приводящие к созданию длительной гиперлипидемии. При дозе 7,5 мг/мышь многократное введение P407 через день вызывает стойкое повышение уровня холестерина в крови в среднем до 12 — 15 мМ (пределы суточных колебаний от 7 до 22 мМ), что в несколько раз превышает величину этого показателя у животных контрольной группы (2,65 мМ).

В последующих опытах было изучено влияние P407-индуцированной гиперлипидемии на Th1/Th2-поляризацию при развитии хронической РТПХ у мышечных гибридов (C57Bl/6 x DBA/2) F_1 . В первой серии опытов P407 вводили мышам-реципиентам в течение двух недель, заканчивая инъекции препарата за день до первого введения донорских лимфоидных клеток, во второй серии введение препарата продолжалось три недели: две недели до начала индукции хронической РТПХ и еще неделю после первого переноса лимфоидных клеток реципиентам. И в том, и в другом случае эффект воздействия был одинаковым. Обнаружено, что на фоне P407-индуцированной гиперлипидемии достоверно ($p < 0,05$) возрастает относительное количество животных, у которых развивается Th1-зависимый вариант хронической РТПХ (с 50% в контроле до 75% в группе мышечных гибридов с дислипидемией).

Полученные результаты говорят о перспективности использованной нами экспериментальной модели для изучения патофизиологических взаимосвязей между параметрами липидного метаболизма и иммунных реакций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Душкин М.И., Кудинова Е.Н., Шварц Я.Ш. // Цитокины и воспаление. — 2007. — Т. 6, № 2. — С. 18 — 25.
2. Кудяева О.Т., Гойман Е.В., Лыков А.П. и др. // Бюлл. эксп. биол. мед. — 2005. — № 9. — С. 325 — 327.
3. Bensinger S.J., Tontonoz P. // Nature. — 2008. V. 454, № 7203. — P. 470 — 477.
4. Johnston T.P. // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 2004. V. 43, № 4. P. 595 — 606.

5. Palmer W.K., Emeson E.E., Johnston T.P. // Atherosclerosis. — 1998. — V. 136, № 1. — P. 115 — 123.

*Perminova O.M., Volsky N.N., Kudaeva O.T.,
Gavrilova E.D.*

**MODEL FOR THE STUDY OF IMMUNE
SYSTEM FUNCTIONS UNDER
DISLIPIDEMIA CONDITIONS**

It was examined a possibility for realizing of stable controlled hyperlipidemia by repeated injections of poloxamer 407 into hybrid mice (C57Bl/6 x DBA/2)_{F₁}. It has been found the prolonged hypercholesterolemia under every 48 hours intraperitoneal injections of this substance in dose 7.5 mg per mouse. Cholesterol level in blood serum elevates to 12 — 15 mM in this case (the mean of control animals is 2.65 mM). It has been shown using the model of chronic GvH disease that such dislipidemia shifts the Th1/Th2-balance toward Th1 domination.