

## **TNFA И IL-6 В РАЗВИТИИ ОППОЗИТНЫХ ВАРИАНТОВ ХРОНИЧЕСКОЙ РТПХ У МЫШЕЙ**

Учреждение РАМН Институт клинической иммунологии СО РАМН, г.Новосибирск, Россия

**Резюме.** Исследовано содержание TNF $\alpha$  и IL-6 в сыворотке крови животных на разных этапах развития хронической РТПХ. Обнаружено, что их уровни в крови мышей с иммунокомплексным гломерулонефритом существенно превышает значения этого параметра у животных с Th1-зависимым вариантом хронической РТПХ. Обсуждается возможная роль продукции оксистеролов и уровня активации LXR в патогенезе Th2-зависимого варианта хронической РТПХ.

**Ключевые слова:** хроническая РТПХ, иммунокомплексный гломерулонефрит, TNF $\alpha$ , IL-6, гиперхолестеринемия, оксистеролы, LXR.

Ранее нами было обнаружено, что при индукции хронической РТПХ (хРТПХ) в полуаллогенной системе DBA/2 $\rightarrow$ (C57Bl/6хDBA/2) $F_1$  формирование иммунокомплексного гломерулонефрита у мышей с Th2-зависимым вариантом хРТПХ (оцениваемое по появлению стойкой протеинурии) совпадает по срокам с резким повышением у этих животных уровня холестерина в сыворотке крови [2]. Такая скоординированная по времени динамика двух показателей позволила нам предположить, что их связь обусловлена общим патогенетическим фактором, существенным для развития Th2-зависимого варианта хРТПХ, но отсутствующим при формировании Th1-зависимого варианта заболевания, для ко-

Таблица

Содержание TNF $\alpha$ , IL-6 и холестерина в сыворотке мышей при оппозитных вариантах развития хронической РТПХ

	TNF $\alpha$ , пг/мл		IL-6, пг/мл	Холестерин, мМ
	Метод ИФА	Метод СВА		
Интактные мыши	2,89	7,87	4,35	2,77
хРТПХ, 1 месяц	5,41	-	-	2,73
хРТПХ, 3 месяца:				
Th1-вариант	4,94	9,03	2,27	3,14
Th2-вариант	20,51*	19,06*	8,58*	8,55*

\* – достоверное отличие от соответствующего контроля ( $P < 0,05$ )

торого характерно развитие выраженного иммунодефицита без гломерулонефрита и гиперлипидемии [1]. Литературные данные дают основания выдвинуть на роль общего патогенетического звена массивное образование аутоантител и соответствующее увеличение количества циркулирующих иммунных комплексов, которые, с одной стороны, повреждают почки, вызывая стойкую протеинурию, а с другой изменяют функциональную активность макрофагов. Как было установлено Reiss et al. [4], иммунные комплексы ингибируют в макрофагах и других клетках активность стерол-27-гидроксилазы – цитохром P450-зависимого митохондриального фермента, обеспечивающего альтернативный путь окисления холестерина в тканях с образованием 27-гидроксихолестерина. Благодаря этому, развитие аутоиммунной реакции, характерной для Th2-варианта хРТПХ, может вести к снижению продукции этого биологически активного метаболита холестерина. Поскольку 27-гидроксихолестерин является важнейшим эндогенным лигандом ядерных рецепторов LXR, можно ожидать, что снижение уровня 27-гидроксихолестерина в организме сопровождается уменьшением степени активации LXR и, соответственно, изменением тех физиологических функций, которые находятся под контролем этих транскрипционных факторов. Одним из главных физиологических эффектов LXR считается поддержание холестеринового гомеостаза в клетках и организме в целом [5]. Кроме того известно, что продукция некоторых цитокинов (в частности, TNF $\alpha$  и IL-6) в ответ на введение липополисахарида существенно ингибируется при активации LXR [3]. Следовательно, развитию нефрита и появлению дислипидемии при Th2-зависимом варианте хРТПХ может сопутствовать увеличение концентрации этих цитокинов в тканях.

Основываясь на этих соображениях, в данной работе было исследовано содержание TNF $\alpha$  и IL-6 в сыворотке крови при развитии оппозитных вариантов хРТПХ.

#### 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.

Хроническую РТПХ у мышей-гибридов (C57Bl/6 x DBA/2) $F_1$  индуцировали двукратно (с интервалом 6 дней) переносом спленоцитов мышей линии DBA/2 в суммарной дозе  $130 \times 10^6$  клеток. Критерием развития заболевания по Th2-зависимому варианту служило развитие у экспериментальных животных люпус-подобного аутоиммунного гломерулонефрита, характеризующегося стойкой протеинурией (не менее 3 мг/мл в двух последовательных измерениях).

Концентрацию белка в моче измеряли колориметрическим методом с красителем Cumassi blue.

Содержание TNF $\alpha$  и IL-6 в сыворотке крови животных определяли на проточном цитофлюориметре «FACS Calibur» с помощью СВА-набора «Mouse Th1/Th2/Th17» (BD Pharmingen, США). Кроме того, уровень TNF $\alpha$  в сыворотке определяли стандартным иммуноферментным методом, используя наборы фирмы «eBioscience». Результаты исследований выражали в пг/мл.

Концентрацию холестерина в сыворотке крови определяли методом с холестериноксидазой, используя наборы «Analyticon CHOL» и выражая результаты в мМ.

Для статистической оценки достоверности различий между экспериментальными группами использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

#### Результаты.

Из данных, приведенных в Таблице, видно, что уровень TNF $\alpha$  (измеренный двумя методами: ИФА и СВА) в сыворотке мышей

с иммунокомплексным гломерулонефритом (Th2-зависимый вариант развития хРТПХ) существенно превышает величину этого показателя у мышей с Th1-зависимым вариантом хРТПХ и достоверно отличается от уровня данного цитокина в крови интактных мышей-гибридов. Важно отметить, что это увеличение уровня TNF $\alpha$  совпадает по времени с развитием люпус-подобного поражения почек и появлением гиперхолестеринемии, не обнаруживаясь на ранних этапах развития хРТПХ.

Аналогичным образом изменяется и содержание IL-6 в сыворотке крови мышей с иммунокомплексным гломерулонефритом. При этом содержание измеренных цитокинов в крови мышей с оппозитным вариантом развития хРТПХ остается на уровнях, достоверно не отличающихся от соответствующих значений этих показателей у интактных животных.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов говорят о наличии явной ассоциации между развитием поражения почек, возникновением гиперхолестеринемии и повышением уровня TNF $\alpha$  и IL-6 в сыворотке крови мышей с хРТПХ. Это хорошо согласуется с нашим исходным предположением о том, что существенную роль в патогенезе Th2-зависимого варианта хРТПХ может играть снижение степени активации LXR эндогенно образующимися окистеролами, чего не наблюдается у животных с Th1-зависимым вариантом. Однако увеличение продукции исследованных цитокинов у мышей с патологически избыточным образованием иммунных комплексов должно рассматриваться лишь как косвенное свидетельство в пользу вышеизложенной гипотезы, и для ее подтверждения необходимы прямые измерения уровня активации LXR в этой экспериментальной модели аутоиммунного процесса.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов В.А., Кудяева О.Т., Колесникова О.П. // Иммунология. – 2002. – № 3. – 143-146.
2. Перминова О.М., Вольский Н.Н., Кудяева О.Т. и др. // Иммунология, 2009. – № 6. – 341-345.
3. Myhre A.E., Agren J., Dahle M.K. et al. // Shock. – 2008. – 29, N 4. – 468-474.
4. Reiss A.B., Awadallah N.W., Malhotra S. et al. // J. Lipid Researh. – 2001. – 42, N 11. – 1913-1922.
5. Wang Y., Rogers P.M., Su C. et al. // J. Biol. Chem. – 2008. – V.283, N 39. – P. 26332-26339.

#### Perminova O.M., Tkachev V.O., Goyman E.V., Volsky N.N. TNFA AND IL-6 IN THE DEVELOPMENT OF OPPOSITE VARIANTS OF CHRONIC GVHD IN MICE

Scientific– Research Institute of Clinical Immunology SB RAMS,  
Novosibirsk

**Summary.** The concentrations of TNF $\alpha$  and IL-6 in the serum of animals at different stages of chronic GVHD has been studied. It has been found that the blood levels of these cytokines in mice with immune complex glomerulonephritis significantly exceed the values of these parameters in animals with Th1-dependent variant of chronic GVHD. The potential role of oxysterol production and the degree of LXR activation in the pathogenesis of Th2-dependent variant of chronic GVHD is discussed.

**Key words.** Chronic GVHD, immune complex glomerulonephritis, TNF $\alpha$ , IL-6, hypercholesterolemia, oxysterols, LXR.