

Экспериментальная дислипидемия, индуцированная плуронином F-127, как модель для выявления общего звена в регуляции иммунного ответа и метаболизма холестерина

Н. Н. Вольский, О. М. Перминова, О. П. Колесникова

ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск

Абстракт

Цель. Многочисленные клинические и экспериментальные данные указывают на то, что различные иммунопатологические состояния часто сочетаются с нарушениями метаболизма холестерина. Однако механизм, обуславливающий существование такой зависимости, еще не вполне понятен, и для его выяснения требуются дальнейшие исследования.

Результаты. В нескольких сериях выполненных на мышах экспериментов установлено, что дислипидемия, вызванная введением животным плуроника F-127 (полоксамера 407), сопровождается сдвигом Th1/Th2-баланса, который приводит к изменениям интенсивности иммунных реакций.

Заключение. Сделан вывод о том, что введение животным плуроника F-127 может быть использовано в качестве адекватной лабораторной модели для выявления звена, связывающего регуляцию иммунного ответа с метаболизмом холестерина. Обсуждается гипотетический механизм такой связи, в котором главную роль играют изменения степени активации ядерных рецепторов LXR (liver X receptors).

Ключевые слова: холестерин, иммунные реакции, плуроник F-127, полоксамер 407, реакция трансплантат против хозяина, РТПХ, Th1/Th2-баланс, ядерные рецепторы LXR.

Pluronic F-127-induced experimental dyslipidemia as a model for the revealing of a connecting link between immune response regulation and cholesterol metabolism

N. N. Volsky, O. M. Perminova, O. P. Kolesnikova

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia

Abstract

Aim. Abundant clinical and experimental evidences show that varied immunopathological processes are associated with disturbed cholesterol metabolism. The mechanism of this link is still understood incompletely and invites further investigation.

Results. It was demonstrated that pluronic F-127 (poloxamer 407)-induced dyslipidemia in mice is accompanied by the shift of Th1/Th2-balance which affects the intensity of immune reactions.

Conclusion. It was concluded that the administration of pluronic F-127 to animals is usable as an adequate laboratory model for the revealing of a connecting link between immune response regulation and cholesterol metabolism. The hypothetical mechanism of this connection involving the modulation of liver X receptors activity is discussed.

Keywords: cholesterol, immune reactions, pluronic F127, poloxamer 407, graft versus host reaction, GvHR, Th1/Th2-balance, nuclear receptors LXR.

Введение

Многочисленные клинические наблюдения и широкий спектр исследований на экспериментальных животных свидетельствуют о существова-

нии статистически выявляемой взаимосвязи между нарушениями обмена холестерина и изменениями функциональных свойств иммунной системы.

Одним из наиболее ярких примеров, обнаруживающих такую взаимосвязь, является



выраженная гиперхолестеринемия у больных с гломерулонефритами, возникающими как следствие аутоиммунного поражения почек. Наличие связи между нефритами и нарушениями липидного обмена было подмечено еще Р. Вирховым в 1858 году, однако до настоящего времени остаются еще неясными те патогенетические механизмы, которые связывают воспалительный процесс в почках с дисбалансом процессов, контролирующих метаболизм холестерина.

Аналогичный пример представляет клиническая картина системной красной волчанки – классического аутоиммунного заболевания, при котором аутоиммунные поражения тканей и органов часто сопровождаются нарушениями холестерина обмена, что проявляется в стойкой гиперхолестеринемии и существенно повышенном риске развития атеросклероза у таких больных [1, 2]. Изменения баланса липопротеинов и признаки нарушений метаболизма холестерина обнаруживаются также и при ревматоидном артрите – еще одном распространенном аутоиммунном заболевании [3].

Экспериментальные данные, полученные на различных моделях аутоиммунных заболеваний, также подтверждают наличие закономерной связи иммунных реакций с регуляцией холестерина метаболизма [4–7].

С этими свидетельствами хорошо согласуются и экспериментальные результаты, полученные нами ранее при исследовании хронической реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), развивающейся в полуаллогенной системе DBA → (C57Bl x DBA)F1 [8, 9]. Было обнаружено, что при развитии патологического процесса по Th2-зависимому клиническому варианту, приводящему к возникновению у подопытных мышей иммунокомплексного люпус-подобного гломерулонефрита, параллельно с признаками поражения почек у животных появляется стойкая выраженная гиперхолестеринемия.

Введение лабораторным животным плуроника F-127 (F-127) представляет собой давно разработанную и хорошо изученную модель экспериментальной дислипидемии, которая позволяет быстро и с минимальными затратами создать контролируемую гиперхолестеринемия желаемого уровня и успешно используется для изучения процессов, приводящих к атеросклеротическому поражению сосудов [10]. Некоторые параметры дислипидемии в использованном нами варианте этой модели описаны в работе [11]. Состояние иммунной системы животных при введении F-127 еще мало изучено, но можно предположить, что данная модель может быть использована для исследования взаимозависимости между метаболическими и иммунными расстройствами.

Целью настоящей работы было изучение баланса Т-хелперов первого и второго типов (Th1/Th2-баланса), представляющего собой один из важных параметров функционирования иммунной

системы, на фоне развития гиперхолестеринемии, индуцированной введением мышам F-127.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 760 мышах-самках линий DBA и C57Bl/6 и гибридах (DBA x C57Bl/6)F1. Животных получали из вивария СО РАМН в возрасте 2,5–3 месяца и в период проведения экспериментов содержали на стандартной диете и в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страссбург, 1986).

Гиперлипидемию индуцировали многократным внутрибрюшинным введением F-127 (Pluronic F-127; Sigma) в дозе 7,5 мг/мышь в 0,5 мл среды RPMI-1640 через сутки в течение двух недель. Контрольным животным в те же сроки вводили 0,5 мл растворителя. Более детально данная модель дислипидемии была описана нами ранее [11].

Выраженность дислипидемии оценивали по уровням общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови. Концентрацию холестерина в сыворотке определяли ферментативным методом с холестериноксидазой, используя наборы Analyticon CHOL, а содержание триглицеридов – методом с липопротеиновой липазой, глицерокиназой и глицерин-3-фосфатоксидазой, используя наборы Analyticon TG. Результаты измерений выражали в mM.

Хроническую реакцию трансплантат против хозяина (РТПХ) индуцировали внутривенным введением мышам-гибридам (C57Bl/6 x DBA/2)F1 спленоцитов, полученных от родительской линии DBA/2, как описано в работе [8]. Острую РТПХ вызывали переносом мышам-гибридам клеток селезенки мышей C57Bl/6 в дозе 100x10⁶ клеток/мышь, на следующий за последней инъекцией F-127 день.

Для оценки гуморального иммунного ответа мышей иммунизировали внутривенно вводимыми эритроцитами барана (ЭБ) после курса инъекций F-127. Величину гуморального иммунного ответа на ЭБ определяли путем подсчета количества IgM- и IgG-антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей на пике первичного и вторичного иммунного ответа методом локального гемолиза [12]. Первичный иммунный ответ оценивался на пятые (IgM-ответ) и девятые (IgG-ответ) сутки после иммунизации. Вторичный иммунный ответ оценивался через месяц после первой иммунизации. С этой целью мышам повторно вводились ЭБ, и на 4-е сутки после повторной иммунизации производился подсчет IgG-АОК в селезенке.

Для оценки клеточного иммунного ответа использовалась реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). После семикратного введения F-127 мышей иммунизировали ЭБ, и на пятый день после иммунизации мышам под апоневроз задней лапы вводилась разрешающая

доза антигена (5×10^9 ЭБ). Одновременно в контрлатеральную лапу вводилась среда RPMI-1640. Через 24 часа оценивали выраженность реакции ГЗТ, измеряя толщину контрольной и опытной лап и рассчитывая индекс реакции ГЗТ (разница между опытной и контрольной лапами, отнесенная к толщине контрольной лапы и выраженная в процентах) [13].

Полученные данные приводятся в виде средних величин параметров, измеренных в нескольких независимых экспериментах. Статистическую значимость различий между исследуемыми показателями оценивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и углового преобразования Фишера.

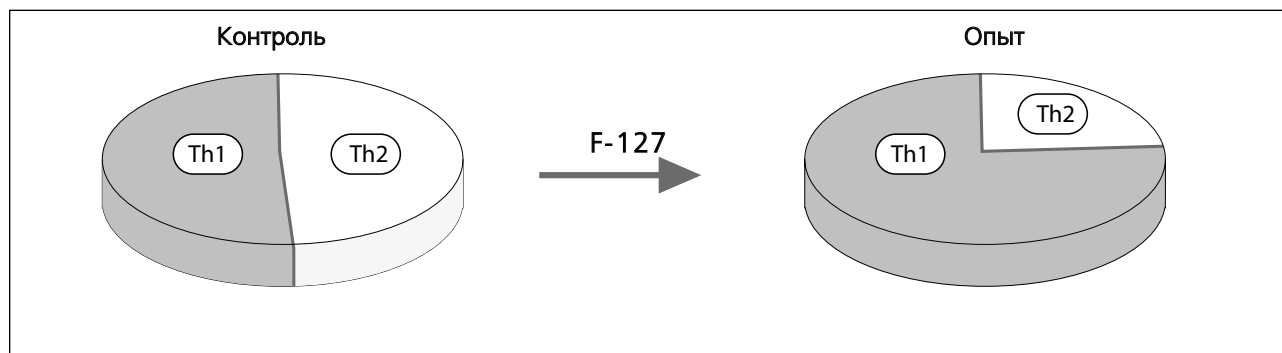
Результаты

Первая серия проведенных экспериментов была связана с исследованием возможного воздействия F-127 на баланс Т-хелперов при развитии хронической РТПХ. Как было показано работами нашей лаборатории, давно известная модель хронической РТПХ, развивающейся в полуаллогенной системе DBA $\rightarrow$ (C57Bl/6 $\times$ DBA)F1, может служить хоро-

шей тест-системой для изучения сдвигов Th1/Th2-соотношения при воздействии различных агентов. В зависимости от того, какой из типов Т-хелперов доминирует на раннем этапе развития этой патологии, течение хронической РТПХ в этой модели идет либо по Th1-зависимому варианту (без нефрита, но с развитием впоследствии выраженного иммунодефицита), либо по Th2-зависимому варианту (с развитием нефрита через 2,5–3 месяца после индукции РТПХ) [9, 14]. Таким образом, соотношение между количеством мышей с проявлениями нефрита и количеством тех животных, у которых нефрит при хронической РТПХ не развивается, а также сдвиги этого соотношения под влиянием экспериментальных воздействий (по сравнению с контрольной группой мышей) могут служить адекватной оценкой эффекта различных фармакологических препаратов на баланс Т-хелперов в эксперименте.

Как свидетельствуют данные, полученные в этой тест-системе и представленные на рис. 1, введение F-127 мышам-реципиентам помимо выраженной дислипидемии ведет к явному сдвигу Th1/Th2-соотношения в сторону доминирования Th1, что проявляется в изменении (по сравнению

Рис. 1. Рецептор к конечным продуктам гликирования



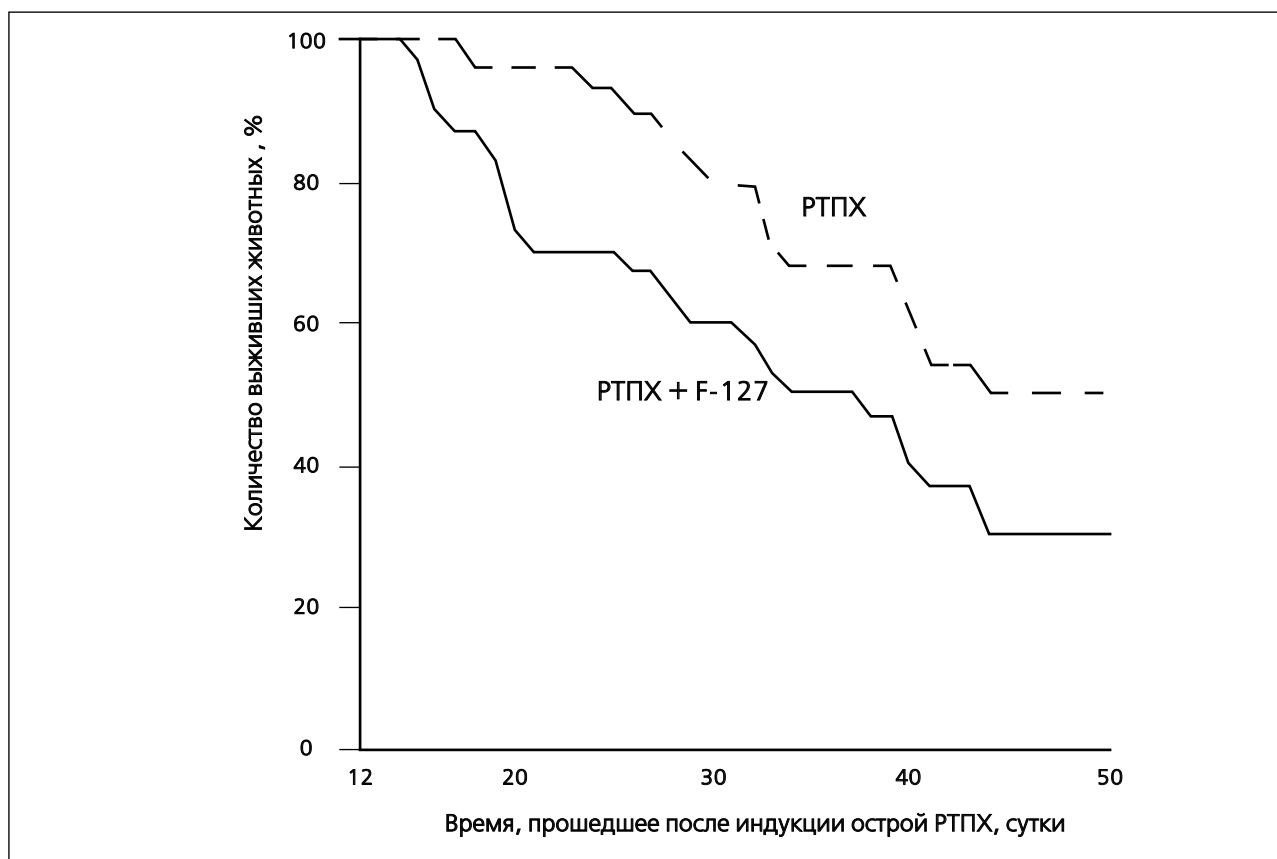
Примечание: Th1 – доля животных с Th1-зависимым вариантом развития хронической РТПХ; Th2 – доля животных с Th2-зависимым вариантом развития хронической РТПХ.

с контрольной группой) соотношения между Th1- и Th2-зависимыми исходами хронической РТПХ. По-видимому, здесь стоит специально отметить, что F-127 не может в данном случае непосредственно влиять на развитие воспалительного процесса в почках, так как к моменту его возникновения препарат уже несколько месяцев отсутствует в организме. Следовательно, наблюдаемый нами отсроченный эффект действия F-127 обусловлен теми изменениями в функционировании иммунной системы, которые он вызвал ранее – параллельно с развитием дислипидемии.

Еще одной моделью, в которой было изучено влияние F-127 на Th1/Th2-баланс, послужила сходная с выше описанной полуаллогенная система C57Bl/6 $\rightarrow$ (C57Bl/6 $\times$ DBA)F1. Как известно [15], использование в данной модели донорских клеток,

взятых от другой родительской линии (не DBA, а C57Bl) приводит к тому, что в этой ситуации развивается другой тип иммунопатологического процесса – острая РТПХ, определяющими моментами которой служат деструктивные изменения в различных тканях (включая тимус и костный мозг), инициируемые Th1-клетками донора, которые реагируют на чужие для них антигены реципиента, и вытекающая из этого высокая смертность животных на третьей – четвертой неделе после переноса донорских спленоцитов.

Из рисунка видно, что многократное введение F-127 перед индукцией острой РТПХ заметно увеличивает смертность подопытных животных, которая во все сроки наблюдения превышает этот же показатель в контрольной группе. Так как смертность при острой РТПХ является важнейшим

Рис. 2. Влияние плуроника F-127 на выживаемость мышей-реципиентов при острой РТПХ

Примечание: РТПХ – контрольная группа мышей с острой РТПХ; РТПХ + F-127 – группа мышей с индукцией острой РТПХ на фоне введения плуроника F-127.

Таблица 1. Динамика показателей концентрации липидов в сыворотке крови (ммоль/л) у пациентов на фоне 1 года терапии atorvastatinom (Me(-95%CI;95% CI))

Вес лимфоидных органов мышей-реципиентов, % от контроля	F-127	Срок после переноса донорских клеток, дни			
		0	5	12	20
Тимус Контроль Опыт	–				
	+	100 99	99 93	66 39*	24 13*
Селезенка Контроль Опыт	–	100	214		194
	+	117	197	237 180*	97*

Примечание: * – достоверное отличие от соответствующего значения в контрольной группе ($p < 0,05$).

объективным показателем степени активности основного патологического процесса – показателем, интегрирующим результаты тканевой деструкции в различных органах, можно сделать вывод, что предварительное введение мышам-реципиентам F-127 приводит к увеличению интенсивности патологического процесса, который инициируется Th1-лимфоцитами. Следовательно, F-127, через

некие опосредующие звенья, способствует функционированию Th1-лимфоцитов и их доминированию в организме.

Дополнительные аргументы в пользу такого взгляда на иммуномодулирующий эффект F-127 можно извлечь из данных, приведенных в таблице 1. Как видно из таблицы 1, F-127 ускоряет деструкцию тимуса и увеличивает выраженность этого

процесса, контролируемого активностью Th1. В то же время, выраженность спленомегалии, которая обусловлена идущей в раннюю фазу острой РТПХ поликлональной активацией В-клеток в селезенке (то есть процессом, зависящим от активности Th2), у мышей, получавших инъекции F-127, оказывается сниженной по сравнению с мышами контрольной группы. В более поздний срок, когда в селезенке начинает доминировать Th1-зависимый процесс деструкции лимфоидной ткани, снижение веса этого органа у мышей с F-127 обгоняет изменение соответствующего показателя в контрольной группе. Следовательно, и эти морфологические данные свидетельствуют в пользу того, что F-127 сдвигает Th1/Th2-баланс в сторону преобладания Th1-лимфоцитов.

В следующих сериях экспериментов мы оценивали влияние F-127 на интенсивность двух типов иммунного ответа на стандартный Т-зависимый антиген – эритроциты барана. Как было установлено, курс инъекций F-127 перед иммунизацией мышей практически не изменял интенсивность гуморального иммунного ответа. Количество специфических антителообразующих клеток в селезенке составляло в контрольной группе мышей: при первичном IgM-ответе – 30247, при первичном IgG-ответе – 1639, при вторичном (IgG) иммунном ответе – 2024288, а в группе мышей, иммунизация которых осуществлялась после введения F-127: 31194, 1880 и 2242114, соответственно. Был сделан вывод, что этот вызывающий гиперлипидемию агент не способен в данной ситуации существенно подавить (или стимулировать) активность Th2-лимфоцитов, которые необходимы для инициации гуморального иммунного ответа на экзогенно вводимый Т-зависимый антиген.

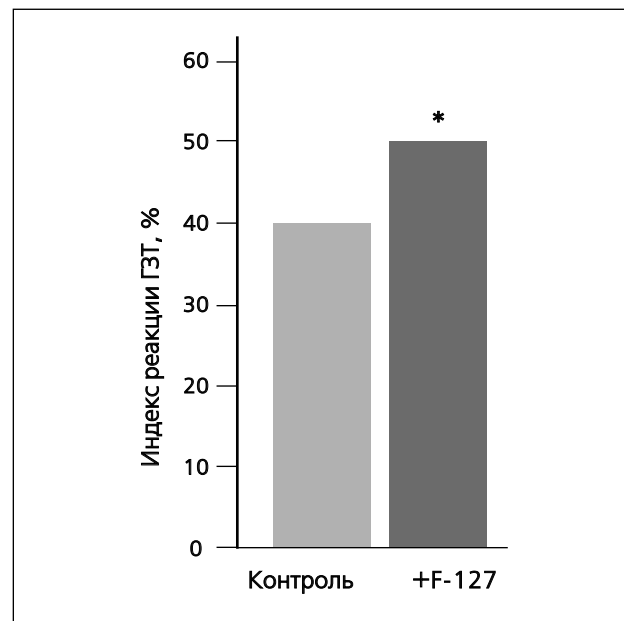
В то же время, введение F-127 перед иммунизацией животных заметно стимулировало клеточный иммунный ответ на этот же антиген, контролируемый хелперами первого типа (Th1). Как видно из рисунка 3, интенсивность реакции ГЗТ – классического варианта клеточного иммунного ответа – достоверно увеличивалась (по сравнению с контролем) после инъекций F-127.

Суммируя полученные нами результаты, можно сказать, что использованный нами гиперлипидемический агент – F-127 – не только изменяет метаболизм холестерина у подопытных животных, но и, параллельно с этим, сдвигает Th1/Th2-соотношение в пользу Th1, влияя на интенсивность исследованных нами иммунопатологических процессов и существенно изменяя в организме те условия, в которых функционирует его иммунная система в целом.

Обсуждение

Результаты проделанных экспериментов могут представлять определенный интерес для прикладной иммунологии, так как исследованный

Рис. 3. Влияние плуроника F-127 на интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа при иммунизации мышей эритроцитами барана



Примечание: *достоверное отличие от контроля ($p < 0,02$); ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа.

нами препарат широко применяется в настоящее время в фармации и косметологии. Исходя из того, что F-127 обладает, как выяснилось, иммуномодулирующими свойствами, вероятно, следует более тщательно изучить его влияние на иммунные реакции, протекающие в тканях, при различных его дозировках и способах применения.

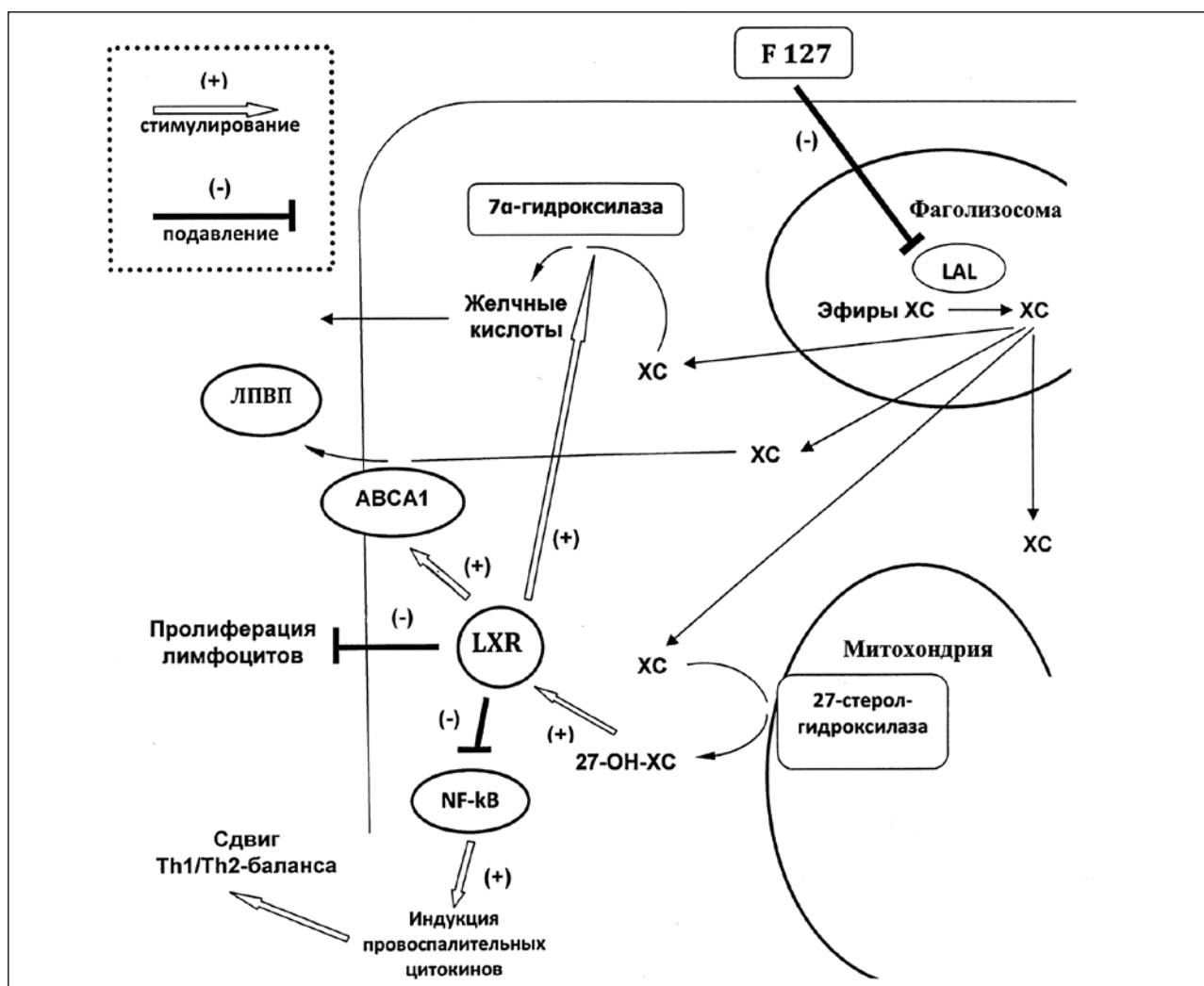
Однако, гораздо более важным кажется направление исследований этого препарата, связанное с его способностью одновременно воздействовать как на липидный обмен, так и на функциональные свойства иммунной системы. Можно надеяться, что использование инъекций F-127 экспериментальным животным в качестве модельной системы позволит расшифровать патогенетический механизм, обуславливающий взаимосвязь метаболизма холестерина с иммунопатологическими состояниями, и обнаружить в будущем их соединяющее общее звено. Сегодня же можно лишь констатировать: несмотря на тот факт, что воздействие F-127 на различные параметры липидного метаболизма довольно хорошо изучено (в основном, в работах группы исследователей под руководством Т.Р. Johnston [10, 16]), настоящий уровень наших знаний в этой области все же недостаточен, чтобы уверенно определить местоположение искомого общего звена и описать физиологический механизм, связывающий регуляцию обмена холестерина с регуляцией иммунных реакций. В настоящее время можно лишь строить более или менее убедительные гипотезы относительно сущности такого механизма.

Ранее мы предположили [8], что гиперхолестеринемия, возникающая у мышей параллельно с развитием нефрита при хронической РТПХ, может быть объяснена ингибирующим влиянием иммунных комплексов на активность холестерол-27-гидроксилазы. Суть этого предположения сводится к следующему. Как было показано Reiss et al. [17], воздействие *in vitro* иммунных комплексов на культуру человеческих макрофагов приводит к значительному снижению активности фермента, катализирующего окисление холестерина в 27-м положении с образованием 27-гидроксихолестерина (27-ОН-ХС). Возникающий окистерол является, по сегодняшним представлениям, основным эндогенным лигандом ядерных рецепторов LXR (liver X receptors), который, соединяясь с LXR, активирует их и вызывает их миграцию из цитоплазмы в ядро. Здесь они играют роль факторов транскрипции, связываясь с промоторными участками многочисленных генов и иницилируя их экспрессию или же репрессируя их. Подавление 27-гидроксилазы

должно приводить к уменьшению концентрации 27-ОН-ХС в клетках и, следовательно, к снижению степени активации LXR. Поэтому естественно предполагать, что на определенном этапе развития хронической РТПХ резко повышенная продукция иммунных комплексов и их отложение в тканях могут параллельно с возникновением иммунокомплексного гломерулонефрита приводить к снижению степени активности LXR в клетках, влияя на зависящие от LXR клеточные реакции, в том числе и на процессы холестерина метаболизма. Для наглядности основные аспекты влияния LXR на метаболизм холестерина схематически представлены на рисунке 4.

Исходя из предположения о том, что одним из общих элементов, связывающих иммунопатологические феномены и нарушения обмена холестерина являются ядерные рецепторы LXR, можно гипотетически объяснить и механизм связи между гиперхолестеринемией и сдвигом Th1/Th2-баланса, которая была обнаружена в экс-

Рис. 4. Предполагаемый механизм действия плуроника F-127 на регуляцию метаболизма холестерина и иммунных реакций (схема)



Примечание: ABCA1 – АТФ-связывающий кассетный транспортер А1; ЛПЛВП – липопротеины высокой плотности; ХС – холестерин; 27-ОН-ХС – 27-гидроксихолестерин; LXR – liver X receptors; ЛАЛ – кислая лизосомальная липаза; NF-κB – фактор транскрипции NF-κB; F127 – плуроник F-127.

периментах, описанных в настоящей работе. Как и в случае действия иммунных комплексов, речь здесь может идти о снижении степени активации LXR вследствие уменьшения клеточной продукции их лиганда – 27-ОН-ХС, возникающей вследствие уменьшения концентрации свободного холестерина в цитоплазме.

Пусковым моментом в таком течении событий является, по нашему предположению, проникновение F-127 в фаголизосомы и ингибирование кислой лизосомальной липазы (LAL) – фермента, катализирующего гидролиз эфиров холестерина, которые поступают в клетку в составе поглощаемых ею липопroteинов (рис. 4). Исследования действия F-127 на ферменты липидного обмена показали, что он ингибирует активности различных липаз: сывороточной липопroteиновой липазы [18], панкреатической липазы [19], эндотелиальной липазы [20], вероятно, за счет своих детергентных свойств. И поэтому, хотя прямые доказательства действия F-127 на активность LAL в настоящее время отсутствуют, есть все основания считать, что его влияние на этот фермент аналогично его действию на другие липазы. Как еще одно косвенное свидетельство в пользу такого вывода можно расценить и старые данные, полученные Goldstein et al. в классических исследованиях регуляции холестерина метаболизма в клетках [21]. Эти авторы обнаружили, что использованный ими в опытах Triton WR 1339 (другой детергент, способный индуцировать выраженную гиперхолестеринемию), накапливаясь в лизосомах, тормозил гидролиз эфиров холестерина и приводил к снижению концентрации свободного холестерина в цитоплазме клеток и, соответственно, к изменениям в регуляции его обмена. Кроме того, относительно недавно было обнаружено, что у пациентов с тяжелой формой болезни Вольмана, у которых вследствие генетического дефекта активность LAL была снижена на 90–95%, не только уменьшена концентрация свободного холестерина в клетках, но также подавлена продукция 27-ОН-ХС и снижена экспрессия транспортера ABCA1 [22]. Таким образом, постулируемый в нашей схеме механизм действия F-127 вполне работоспособен и может приводить к уменьшению количества лигандов LXR, а следовательно и к снижению степени их активации и к подавлению их транскрипционных эффектов.

Работы группы исследователей под руководством Т.Р. Johnston дают прямые указания на то, что степень активации LXR под действием F-127 действительно снижается. Так, после введения этого полксамера в клетках печени подавляется экспрессия мембранного транспортера ABCA1 [16] – белка, чьей функцией является перенос свободного холестерина на липопroteины высокой плотности (ЛПВП) и, таким образом, его удаление из клетки. Поскольку транскрипция гена ABCA1 находится под контролем LXR, его экспрессия служит широко применяемым в исследованиях показате-

лем для оценки степени активности этих ядерных рецепторов, и в данном случае свидетельствует о том, что F-127 уменьшает их активность, как это и должно следовать из предполагаемого механизма его действия, представленного на рисунке 4. Другим свидетельством снижения активности LXR под действием F-127 может служить подавление активности 7 α -гидроксилазы, обнаруженное после введения препарата и являющееся, по мнению Т.Р. Johnston, основной причиной развития гиперхолестеринемии при введении F-127 [10]. Но данный факт одновременно может указывать и на сниженную степень активации LXR, так как известно, что индукция 7 α -гидроксилазы требует связывания активного комплекса «LXR-лиганд» с промотором гена этого фермента [23, 24], и снижение концентрации таких активированных комплексов неизбежно должно приводить к подавлению экспрессии 7 α -гидроксилазы. Суммируя вышесказанное можно утверждать, что данные, полученные при исследовании действия F-127 на параметры липидного метаболизма, не только не противоречат выдвинутой гипотезе, но напротив хорошо согласуются с ней, совпадая с логическими выводами из гипотетического механизма действия полксамера.

Предположение, что в механизме действия F-127 передаточным звеном служат изменения степени активации ядерных рецепторов LXR, позволяет удовлетворительно объяснить и иммуномодулирующие свойства данного плуроника, проявившиеся в наших экспериментах. Результаты, полученные многими исследователями в различных экспериментальных системах, говорят о том, что степень активности LXR может оказывать существенное влияние на функционирование иммунокомпетентных клеток и что, по всей видимости, LXR могут играть роль одного из важных регуляторов деятельности иммунной системы. На сегодняшний день выявлено уже несколько путей воздействия этих рецепторов на протекание иммунных реакций.

В частности в обстоятельной работе Bensinger et al. [25] было показано, что пролиферация Т-лимфоцитов требует снижения степени активации LXR, так как только при этом условии в клетке накапливается в достаточных количествах холестерин, необходимый для построения новых мембранных структур. Было обнаружено, что лимфоциты (а, вероятно, и другие типы клеток) обладают специальным механизмом, с помощью которого они синхронизируют ответ на пролиферативный стимул с подавлением активности LXR и вытекающим отсюда уменьшением экспорта холестерина клетками. Экспериментально установлено, что воздействие митогенного стимула на Т-клеточный рецептор, инициирующее процесс деления клетки, одновременно ведет к увеличению активности оксистеролсульфотрансферазы SULT2B1 – фермента, который сульфатирует оксистеролы (в том числе, 27-ОН-ХС) и тем самым лишает их способности



быть лигандами LXR. Благодаря такому эффекту клетка уменьшает количество мембранных транспортеров ABCA1 и накапливает холестерин для последующего деления. Поскольку важнейшим этапом любого типа иммунных реакций является пролиферация специфических клонов иммунокомпетентных клеток, уже одного этого эффекта достаточно, чтобы LXR могли претендовать на роль значимого регуляторного элемента, с использованием которого осуществляется управление деятельностью иммунной системы.

Еще один путь воздействия LXR на иммунные реакции относительно хорошо изучен и его исследованию посвящено значительное количество работ, результаты подавляющего большинства которых позволяют сделать вывод, что активация LXR в различных экспериментальных условиях тормозит продукцию провоспалительных цитокинов, в том числе интерферона-гамма (IFN- γ), препятствуя их NF- κ B-зависимой экспрессии [26]. Опираясь на этот вывод, можно предсказать, что если F-127, как мы предполагаем, снижает степень активации LXR, то это должно создавать благоприятные условия для гиперпродукции IFN- γ и вследствие этого способствовать образованию Th1-лимфоцитов и тормозить пролиферацию Th2-клонов, приводя к сдвигу баланса между этими типами клеток в сторону Th1. Именно этот результат мы и получили во всех использованных нами экспериментальных моделях, с помощью которых оценивались изменения Th1/Th2-соотношения под влиянием F-127. Таким образом и эти данные хорошо согласуются с постулируемым механизмом действия F-127 на иммунную систему.

Здесь следует сказать, что сделанный нами вывод о сдвиге Th1/Th2-баланса в сторону относительного преобладания Th1 при введении мышам F-127, на первый взгляд, противоречит данным, полученным Johnston T.P. и Zhou X. [27]. Ими было показано, что трехмесячный курс введения мышам F-127 ведет к сдвигу Th1/Th2-баланса в сторону Th2. Однако имеющееся видимое противоречие этого результата с полученными нами данными можно объяснить существенными различиями между экспериментальными процедурами, использованными в рассматриваемых случаях. В опытах Johnston T.P. и Zhou X. Th1/Th2-соотношение оценивалось после длившегося 100 дней курса введения F-127. К этому времени состояние животных характеризовалось начинающимся атероматозом аорты и значительно повышенным содержанием в крови окисленных липопротеинов, типичным для развития атеросклероза артерий (такой дизайн экспериментов и был выбран авторами как модель для изучения атеросклеротического поражения сосудов). В проводимых нами опытах эти признаки отсутствовали ввиду краткости курса инъекций

F-127 и менее выраженной гиперхолестеринемии (в наших опытах уровень холестерина в сыворотке был 12–15 mM, а в экспериментах Johnston T.P. и Zhou X. – 20–40 mM). Вероятно, это различие и обусловило противоположность полученных результатов. Но и в том, и в другом случае эффекты F-127 вполне можно трактовать в рамках вышеизложенной гипотезы о ключевой роли LXR в механизме действия полуксимера на иммунные реакции. При наличии в крови большого количества окисленных липопротеинов, в составе которых обнаруживаются высокие концентрации оксистеролов (способных быть лигандами LXR), можно как раз ожидать, что продукция провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы будет заторможена, и это приведет к сдвигу Th1/Th2-соотношения в сторону Th2, как это и было обнаружено в обсуждаемой работе.

Заключение

Представленные в настоящей работе результаты нескольких серий экспериментов прямо указывают на то, что плуроник F-127 не только индуцирует выраженную дислипидемию, но и способен существенно влиять на направленность и интенсивность иммунных реакций, воздействуя на Th1/Th2-баланс – один из ключевых параметров, регулирующих развитие иммунного ответа на антиген. Такой «плейотропный» эффект введения полуксимера, проявляющийся в параллельно протекающих изменениях регуляции как метаболизма холестерина, так и иммунных реакций, дает возможность использовать данную экспериментальную систему в качестве простой и экономичной лабораторной модели для изучения тех общих звеньев регуляции, которые обуславливают взаимосвязь, существующую между различными типами иммунопатологических состояний и нарушениями холестеринового обмена. Предлагаемое в качестве рабочей гипотезы выделение ядерных рецепторов LXR как общего регуляторного элемента, связывающего иммунопатологические процессы с нарушениями липидного обмена, позволяет непротиворечиво согласовать имеющиеся в литературе и полученные нами данные об эффектах воздействия F-127 на организм и дает определенную перспективу для дальнейших исследований в этой области, нацеленных на расшифровку реального механизма рассматриваемой взаимосвязи, роль которой в патогенезе таких заболеваний, как системная красная волчанка или атеросклероз, вряд ли можно оспаривать.

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Список литературы

1. McMabon M, Habn BH. Atherosclerosis and systemic lupus erythematosus: mechanistic basis of the association. *Curr Opin Immunol*. 2007;19(6):633-9.
2. Gustafsson JT, Svenungsson E. Definitions of and contributions to cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2014;47(2):67-76.
3. Ozbalkan Z, Efe C, Cesur M, Ertek S, Nasiroglu N, Berneis K, Rizzo M. An update on the relationships between rheumatoid arthritis and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2010;212(2):377-82.
4. Itob J, Takabashi S, Ono M, Yamamoto T, Nose M, Kyogoku M. Nephritogenic antibodies in MRL/lpr lupus mice: molecular characteristics in pathological and genetic aspects. *Toboku J Exp Med*. 1994;173 (1):65-74.
5. Gu L, Johnson MW, Lusis AJ. Quantitative trait locus analysis of plasma lipoprotein levels in autoimmune mouse model: interactions between lipoprotein metabolism, autoimmune disease, and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(2):442-53.
6. Kono DH, Balomenos D, Park MS, Theofilopoulos AN. Development of lupus in BXSb mice is independent of IL-4. *J Immunol*. 2000;164(1):38-42.
7. Lawman S, Mauri C, Juri EC, Cook HT, Ebrein MR. Atorvastatin inhibits autoreactive B cell activation and delays lupus development in New Zealand black/white F1 mice. *J Immunol*. 2004;173(12):7641-6.
8. Perminova OM, Volsky NN, Kudaeva OT, Goiman EV, Kozlov VA. Dyslipidemia and Th1/Th2 relationship at different stages of chronic "graft-versus-host" reaction. *Immunology*. 2009;(6):341-5. Russian (Перминова ОМ, Вольский НН, Кудеева ОТ, Гойман ЕВ, Козлов ВА. Дислипидемия и ТН1/ТН2-соотношение на разных этапах развития хронической реакции «трансплантат против хозяина». Иммунология. 2009;(6):341-5).
9. Kudaeva OT, Kolesnikova OP, Goiman EV, Tkachev VO, Volsky NN, Perminova OM, Gavrilova ED, Kozlov VA. The experimental model of the autoimmune glomerulonephritis induced by the chronic graft versus host reaction. In: Prabhakar SS, ed. *An update on glomerulopathies - Etiology and pathogenesis*. Rijeka: InTech; 2011:49-86.
10. Johnston TP. The P-407-induced murine model of dose-controlled hyperlipidemia and atherosclerosis: a review of findings to date. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;43(4):595-606.
11. Perminova OM, Volsky NN. Laboratory model of hyperlipidemia. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2010;(3):82-4. Russian (Перминова ОМ, Вольский НН. Лабораторная модель дислипидемии. Журн Микробиол. 2010;(3):82-4).
12. Cunningham AJ, Szenberg A. Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells. *Immunology*. 1968;14(4):599-600.
13. Yoshikai Y, Miike S, Matsumoto T, Nomoto K, Takeya K. Effect of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed footpad reaction to SRBC in mice. *Immunology*. 1979;38(3):577-83.
14. Kozlov VA, Kudaeva OT, Kolesnikova OP, Safronova IV, Laktionov PP, Rykova EYu, Obukhova LA. Th1- and Th2-dependent variants of chronic graft-versus-host reaction. *Immunologiya*. 2002;(3):143-6. Russian (Козлов ВА, Кудеева ОТ, Колесникова ОП, Сафронова ИВ, Лактионов ПП, Рыкова ЕЮ, Обухова ЛА. Th1- и Th2-зависимые варианты хронической реакции трансплантат против хозяина. Иммунология. 2002;(3):143-6).
15. Rus V, Svetic A, Nguyen P, Gause WC, Via CS. Kinetics of Th1 and Th2 cytokine production during the early course of acute and chronic murine graft-versus-host disease. Regulatory role of donor CD8+ T cells. *J Immunol*. 1995;155(5):2396-406.
16. Johnston TP, Jaye M, Webb CL, Krawiec JA, Alom-Ruiz SP, Sachs-Barrable K, Wasan KM. Poloxamer 407 (P-407)-mediated reduction in the gene expression of ATP-binding-cassette transporter A1 may contribute to increased cholesterol in peripheral tissues of P-407-treated rats. *Eur J Pharmacol*. 2006;536 (3):232-40.
17. Reiss AB, Awadallah NW, Malhotra S, Montesinos MC, Chan ES, Javitt NB, Cronstein BN. Immune complexes and IFN-gamma decrease cholesterol 27-hydroxylase in human arterial endothelium and macrophages. *J Lipid Res*. 2001;42(11):1913-22.
18. Johnston TP, Palmer WK. Mechanism of poloxamer 407-induced hypertriglyceridemia in the rat. *Biochem Pharmacol*. 1993;46(6):1037-42.
19. Johnston TP, Goldberg IJ. Inhibition of pancreatic lipase by poloxamer 407 may provide an adjunct treatment strategy for weight loss. *J Pharm Pharmacol*. 2006;58(8):1099-105.
20. Johnston TP. Poloxamer 407 as a general lipase inhibitor: its implications in lipid metabolism and atheroma formation in C57BL/6 mice. *J Pharm Pharmacol*. 2010;62(12):1807-12.
21. Goldstein JL, Brunschede GY, Brown MS. Inhibition of the proteolytic degradation of low density lipoprotein in human fibroblasts by chloroquine, concanavalin A, and Triton WR 1339. *J Biol Chem*. 1975; 250(19):7854-62.
22. Bowden KL, Bilbey NJ, Bilawchuk LM, Boadu E, Sidbu R, Ory DS, Du H, Chan T, Francis GA. Lysosomal acid lipase deficiency impairs regulation of ABCA1 gene and formation of high density lipoproteins in cholesterol ester storage disease. *J Biol Chem*. 2011;286(35):30624-35.



23. Dushkin MI, Kudinova EN, Schwartz YaSh. Integration of regulatory pathways of lipid metabolism and inflammation. *Cytokines and Inflammation*. 2007; 6(2):18–25. Russian (Душкин МИ, Кудинова ЕН, Шварц ЯШ. Интеграция сигнальных путей регуляции липидного обмена и воспалительного ответа. *Цитокины и воспаление*. 2007; 6(2):18–25).
 24. Wojcicka G, Jamroz-Wisniewska A, Horoszewicz K, Bettowski J. Liver X receptors (LXRs). Part I: structure, function, regulation of activity, and role in lipid metabolism. *Postepy Hig Med Dosw*. 2007;61:736–59.
 25. Bensinger SJ, Bradley MN, Joseph SB, Zelcer N, Janssen EM, Hausner MA, Sibb R, Parks JS, Edwards PA, Jamieson BD, Tontonoz P. LXR signaling couples sterol metabolism to proliferation in the acquired immune response. *Cell*. 2008;134(1):97–111.
 26. Walcher D, Kummel A, Kehrle B, Bach H, Gröb M, Durst R, Hombach V, Marx N. LXR activation reduces proinflammatory cytokine expression in human CD4-positive lymphocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(5):1022–8.
 27. Johnston TP, Zhou X. Oxidation of low-density lipoprotein cholesterol following administration of poloxamer 407 to mice results from an indirect effect. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2007;49(4):246–52.
-