

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ФОРМИРОВАНИЕ ФЕНОТИПА МАКРОФАГОВ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ И ФИБРОГЕННОМ ОТВЕТЕ: РОЛЬ МЕВАЛОНАТНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПУТИ И ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ LXR

Я.Ш. Шварц, М.И. Часовских, О.М. Долганова

ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

При хроническом воспалении и атерогенезе в макрофагах накапливаются свободный холестерин (ХС) и его окисленные производные, оксистеролы (ОС). Однако влияние этих стеролов на баланс про- и противовоспалительных цитокинов в макрофагах в воспалительном ответе изучено крайне слабо. И ХС, и ОС способны влиять на активность мевалонатного метаболического пути и ядерных гормональных рецепторов LXR. Тем не менее роль этого пути и рецепторов LXR в макрофаг-поляризующих эффектах ХС и ОС неизвестна. В данной работе исследовали эффекты ХС и ОС на про- и противовоспалительный/фиброгенный ответ макрофагов, а также роль мевалонат- и LXR-зависимых механизмов в этих эффектах. В культуре макрофагов изучали эффект ХС, ОС, аторвастатина и мевалоновой кислоты на ЛПС-индуцированную продукцию фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкина-10 (ИЛ-10) и трансформирующего фактора роста бета 1 (ТФР- β 1). Исследование проводилось на первичных мышинных макрофагах, предварительно инкубированных с ХС, 25-гидроксихолестеролом (25-ОН-ХС), 7-кето-ХС, фарнезолом или аторвастатином в присутствии или в отсутствие мевалоната. Далее клетки стимулировали бактериальным липополисахаридом (ЛПС) и определяли продукцию цитокинов. Преинкубация макрофагов с ХС, 25-ОН-ХС или аторвастатином снижала ЛПС-индуцированную продукцию ФНО- α , тогда как добавление в культуры мевалоновой кислоты отменяло эффекты аторвастатина и ХС. 25-ОН-ХС, 7-кето-ХС и аторвастатин (но не фарнезол) ингибировали продукцию ИЛ-10 в ЛПС-стимулированных макрофагах, а добавление мевалоната в инкубационную среду, содержащую ХС или аторвастатин, восстанавливало эту продукцию. Присутствие ХС или аторвастатина в среде преинкубации значительно усиливало продукцию ТФР- β 1, в то время как 25-ОН-ХС или фарнезол резко тормозили эту продукцию. Мевалонат отменял влияние ХС или аторвастатина, но не 25-ОН-ХС или фарнезола на продукцию ТФР- β 1. Сделан вывод, что при воспалении присутствие ХС в микроокружении макрофагов способствует формированию в них противовоспалительного и фиброгенного типа ответа, и этот ответ связан, по крайней мере частично, с дефицитом промежуточных продуктов мевалонатного пути, в частности с дефицитом фарнезилпирофосфата. В то же время гидроксистеролы подавляют и про-, и противовоспалительный ответ макрофагов независимо от влияния на мевалонатный путь. Очевидно, фармакологическое вмешательство в процесс фарнезилрования может быть новым подходом к контролю хронического воспалительного ответа, в том числе атерогенеза.

Ключевые слова: воспаление, фиброз, макрофаги, цитокины, холестерин, оксистеролы, мевалонатный путь.

ВВЕДЕНИЕ

Макрофаги (Мф) – ключевые клетки, участвующие в хронических воспалительных процессах, таких как атерогенез, фибропролифера-

тивные заболевания, длительные эндотоксинемия и иммунный ответ. Эти клетки способны приобретать функциональные фенотипы, динамически изменяющиеся в широком диапазоне:

Шварц Яков Шмульевич – д-р мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточных механизмов терапевтических заболеваний, e-mail: yshschwartz@mail.ru

Часовских Марина Ивановна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточных механизмов терапевтических заболеваний, e-mail: marion-@rambler.ru

Долганова Ольга Михайловна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточных механизмов терапевтических заболеваний, e-mail: ochoschenko@gmail.com

от преимущественно биоцидно-деструктивного до репаративно-фиброзного. Мф биоцидно-деструктивного типа (часто называемые М1) продуцируют провоспалительные цитокины, такие как ФНО- α и ИЛ-1 β , в то время как Мф опозитного фенотипа (так называемые М2) производят противовоспалительные и фиброгенные цитокины, такие как ИЛ-10 и ТФР- β . Течение и исход воспалительного процесса зависят от преобладания того или иного фенотипа Мф. Например, при атерогенезе продукция провоспалительных цитокинов индуцирует повышение активности металлопротеиназ и дестабилизацию атеросклеротических бляшек, что в итоге приводит к их разрыву и острым сосудистым катастрофам [1, 2]. С другой стороны, противовоспалительные и фиброгенные цитокины рассматриваются как факторы стабилизации бляшки, снижающие риск осложнений атеросклероза.

Хроническое воспаление и атерогенез, как правило, ассоциированы с гиперхолестеринемией. При этом холестерин и его окисленные производные, гидроксистеролы, накапливаются в хронически воспаленных тканях [3, 4] и в атеросклеротических бляшках [5]. Нами и другими авторами ранее было показано, что холестерин (ХС) и оксистеролы (ОС) подавляют продукцию провоспалительных цитокинов в Мф [6]. В то же время воздействие этих стеролов на противовоспалительные цитокины ИЛ-10 и ТФР- β 1 практически не изучалось. Соответственно, влияние ХС и ОС на поляризацию Мф, т.е. на баланс про- и противовоспалительных цитокинов, не было охарактеризовано.

Воздействие ХС на формирование фенотипа Мф может осуществляться непосредственно и/или через генерируемые в ходе воспаления ОС. Последние являются естественными агонистами ядерных X-рецепторов печени (LXR) и опосредуют свои эффекты как через LXR-зависимые, так и LXR-независимые механизмы. Как ХС, так и ОС способны ингибировать 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзимА-редуктазу (ГМГ-КоА-редуктазу) [7, 8], ключевой фермент мевалонатного метаболического пути. Нельзя исключать, что эти стеролы, аналогично статинам, меняют фенотип Мф путем ингибирования активности мевалонатного пути. При этом вклад ХС- или ОС-опосредованного механизма в ингибирование ГМГ-КоА-редуктазы может существенно различаться. Каков реальный вклад мевалонатного пути в ХС- и LXR-опосредованные механизмы поляризации Мф, до сих пор не ясно. Целью данной работы было определение влияния ХС и лигандов LXR на ЛПС-стимулированную продукцию ФНО- α , ИЛ-10 и ТФР- β 1, а также

оценка участия мевалонатного метаболического пути в данных эффектах стеролов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Реактивы. ХС и ОС были приобретены в SteraloidsInc., все остальные реагенты, если не указано дополнительно, в SigmaAldrichChemical. 25-гидроксихолестерин (25-ОН-ХС) и 7-кето-холестерин (7-кето-ХС) использовались в качестве типичных оксистеролов, полученных соответственно в результате ферментативного и неферментативного окисления холестерина, способных (25-ОН-ХС) или не способных (7-кето-ХС) связываться с LXR. Фарнезол, проницаемый для клеток аналог фарнезилпирофосфата, использовался в качестве промежуточного соединения мевалонатного пути, участвующего в фарнезилровании. В качестве лиганда FXR фарнезол не рассматривался, поскольку рецепторы FXR не экспрессируются перитонеальными Мф мышей [9], использованных в наших экспериментах. Лактон мевалоновой кислоты применяли в качестве непосредственного продукта активности ГМГ-КоА-редуктазы, способного отменять эффекты ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы и поддерживать нисходящие реакции мевалонатного пути.

Экспериментальные животные. Работа выполнена на мышах-самцах линии C57BL/6 в возрасте 6–8 мес. Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1985).

Клеточные культуры. Исследования проводились на первичных культурах элиситированных перитонеальных Мф, выделенных из лаважной жидкости мышей линии C57BL/6 методом адгезии к подложке. Мф вносили в 24-луночные планшеты в количестве $2,5 \times 10^5$ клеток на лунку и культивировали при 37 °С, 5 % CO₂ в среде RPMI 1640, содержащей 2мМ НЕРЕS, 10 % ФБС и смесь антибиотиков для культивирования клеток (MP Biomedicals) [10]. Полученные монослои Мф предварительно инкубировали в течение четырех часов с ХС (5 мкг/мл), 25-ОН-ХС (5 мкг/мл), 7-кето-ХС (5 мкг/мл), фарнезолом (10 мкМ) или аторвастатином (5 мкмоль/мл) (Pfizer) в присутствии или в отсутствие 1 мМ мевалоната. Все соединения в использованных концентрациях были нетоксичны. После преинкубации монослои отмывали, среду заменяли

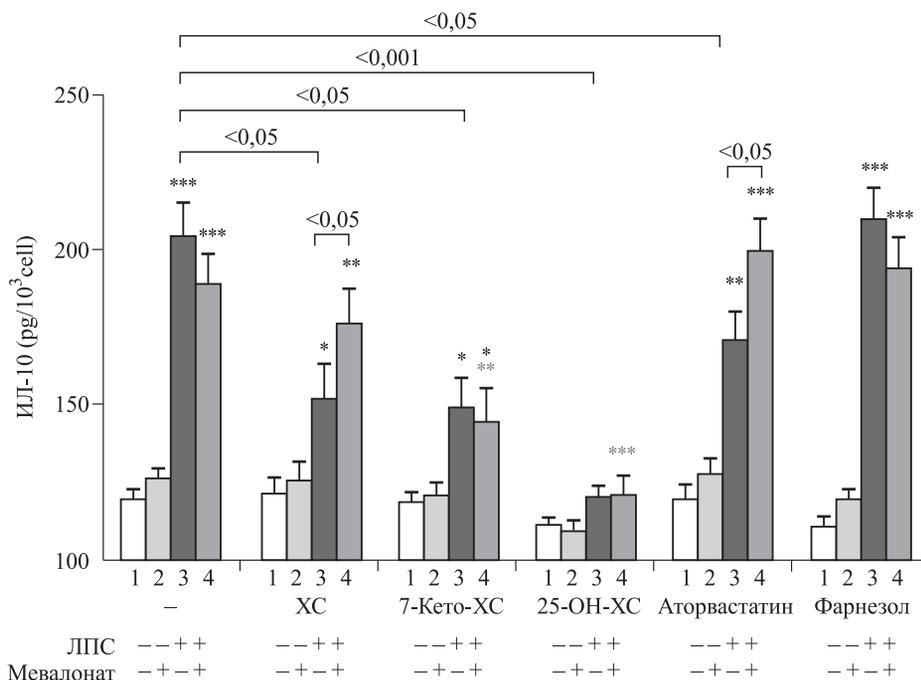


Рис. 2. Действие холестерина, 25-ОН-ХС, аторвастатина или фарнезола на ЛПС-индуцированную продукцию ИЛ-10 в культурах Мф, преинкубированных с мевалонатом или без него. Обозначения столбиков и значимостей различий те же, что на рис. 1.

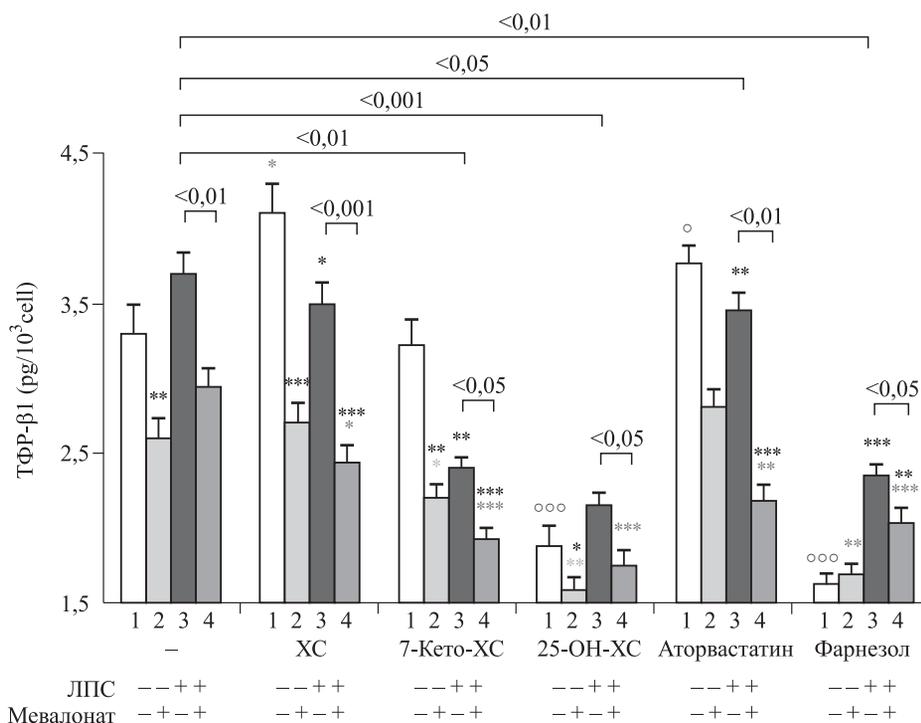


Рис. 3. Действие холестерина, 25-ОН-ХС, аторвастатина или фарнезола на ЛПС-индуцированную продукцию ИЛ-10 в культурах Мф, преинкубированных с мевалонатом или без него. Обозначения столбиков и значимостей различий те же, что на рис. 1.

○ – $p < 0,05$, ○○○ – $p < 0,001$ при сравнении с Мф, не обработанными мевалонатом, ЛПС и другими добавками (1, левая тетрада); * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ при сравнении с мевалонат-преинкубированными Мф, не обработанными другими добавками (2, левая тетрада)

вастатином существенно уменьшала продукцию цитокина. При этом добавление мевалоната к Мф, преинкубированным с ХС или аторвастатином, восстанавливало эту продукцию, причем в случае аторвастатина продукция восстанавливалась полностью, т. е. до нормального уровня, а в случае ХС – частично. В Мф, преинкубированных с ОС или фарнезолом, эффект мевалоната был минимален.

Продукция ТФР- β 1. Преинкубация элиситированных Мф с ХС или аторвастатином существенно повышала продукцию ТФР- β 1 (рис. 3). В то же время 25-ОН-ХС и фарнезол, наоборот, значительно снижали продукцию ТФР- β 1, а 7-кето-ХС не вызывал значимого эффекта. В условиях ЛПС-стимуляции уровень ТФР- β 1 в контрольных или 25-ОН-ХС-преобработанных Мф слабо увеличивался, а в Мф, преинкубированных с фарнезолом, его уровень значительно повышался. Наоборот, инкубация Мф с ХС, 7-кето-ХС или аторвастатином приводила к снижению ответа ТФР- β 1 на ЛПС. ЛПС-стимуляция Мф, преинкубированных с мевалонатом в сочетании с ХС, 7-кето-ХС или аторвастатином, снижала продукцию ТФР- β 1 по сравнению с нестимулированными Мф. ЛПС-стимуляция контрольных Мф или Мф, преинкубированных с мевалонатом в комбинации с 25-ОН-ХС или фарнезолом, вызывала слабое увеличение секреции ТФР- β 1.

ОБСУЖДЕНИЕ

Баланс между про- и противовоспалительными цитокинами, продуцируемыми Мф при воспалении, определяет течение и исход процесса. Хроническое воспаление часто ассоциировано с гиперхолестеринемией и накоплением ХС и ОС в Мф [3]. Весьма вероятно, что накопление этих стеролов в Мф при воспалительной стимуляции способно воздействовать на формирование функциональной поляризации клетки.

Наши эксперименты показали, что предварительная инкубация Мф с ХС, 25-ОН-ХС или аторвастатином снижает ЛПС-стимулированную продукцию ФНО- α . Эти результаты хорошо согласуются с литературными данными [11, 12] и могут объясняться ингибированием мевалонатного пути и/или влиянием ОС на ядерные рецепторы LXR. Отсутствие эффекта фарнезола или 7-кето-ХС, по-видимому, объясняется неспособностью этих соединений ингибировать активность ГМГ-КоА-редуктазы и, кроме того, неспособностью 7-кето-ХС связываться с LXR. Мы показали, что мевалонат восстанавливает уровень ответа Мф на ЛПС, ингибированный ХС или аторвастатином. При этом мевалонат

полностью отменяет ингибирующий эффект аторвастатина, восстанавливая продукцию ФНО- α до контрольного уровня. В то же время мевалонат лишь частично восстанавливает ответ Мф после предварительной инкубации с ХС. Это, очевидно, означает, что ХС-индуцированное торможение макрофагального ответа частично зависит от ингибирования мевалонатного пути. Схема влияния ХС и ОС показана на рис. 4.

Вместе с тем незначительное влияние мевалоната на гипореактивность Мф, индуцированную 25-ОН-ХС, свидетельствует о том, что промежуточные продукты мевалонатного пути минимально влияют на LXR-опосредованную down-регуляцию продукции ФНО- α . Отсутствие влияния мевалоната на ЛПС-стимулированный ответ Мф, преинкубированных с фарнезолом, свидетельствует, что фарнезол влияет на реактивность Мф аналогично мевалонату.

Несмотря на то что ИЛ-10 является противовоспалительным цитокином, характерным для Мф фенотипа М2, экспрессия гена *ИЛ-10* стимулируется интерфероном β и зависит от TLR4-TRIF-TRAM сигнального пути [13]. Соответственно, ЛПС-стимуляция Мф может эффективно индуцировать продукцию ИЛ-10. Наши результаты подтверждают эту зависимость, демонстрируя эффективное повышение продукции ИЛ-10 в ответ на ЛПС в контрольной культуре Мф и в культурах преинкубированных со стеролами, аторвастатином или фарнезолом. Единственным исключением был случай инкубации Мф с 25-ОН-ХС, который полностью подавлял ЛПС-стимулированную продукцию ИЛ-10 (подобно эффекту 25-ОН-ХС на продукцию ФНО- α). Можно заключить, что ОС-активированные LXR опосредуют гипореактивность Мф наиболее эффективно. Предварительная обработка Мф стеролами или аторвастатином также подавляла, хотя и не полностью, ЛПС-индуцированную продукцию ИЛ-10, тогда как фарнезол не оказывал никакого супрессивного эффекта. Причиной супрессивного эффекта ХС или аторвастатина можно, очевидно, считать ингибирование ГМГ-КоА-редуктазы, так как эти эффекты отменяются мевалонатом (в случае аторвастатина – полностью, а в случае ХС – частично). Неспособность мевалоната изменить ЛПС-стимулированную продукцию ИЛ-10 в клетках, предварительно обработанных фарнезолом, указывает на участие мевалонатного пути в ЛПС-индуцированной генерации ИЛ-10.

Наши эксперименты продемонстрировали относительно высокий уровень базальной продукции ТФР- β 1 в элиситированных Мф. Этот факт согласуется с данными литературы, по-

цированного фенотипа Мф зависит от дефицита интермедиатов мевалонатного пути. Принимая во внимание ингибирование скваленсинтазы в Мф при воспалительном ответе [16, 17], кандидатами на роль промежуточных продуктов являются, несомненно, нестерольные изопреноиды. Поскольку мевалонат не изменяет эффекты фарнезола на продукцию цитокинов, очевидно, что одним из таких промежуточных соединений является фарнезил-пирофосфат. В то же время из наших данных следует, что основные механизмы, лежащие в основе эффектов гидроксистеролов, не зависят от ингибирования ГМГ-КоА-редуктазы.

Молекулярные механизмы, ответственные за ХС-индуцированное формирование фенотипов Мф, не ясны. Одним из таких механизмов может быть гипопренилирование Rho, Ras, Raf и других малых G-белков, участвующих во внутриклеточной трансдукции провоспалительного сигнала. Имеется ряд работ, подтверждающих связь между гипопренилированием и увеличением экспрессии и секреции ТФР- β 1 в эндотелиальных клетках [18], эмбриональных клетках сердца [19] и некоторых других типах клеток [20–22]. Однако роль гипопренилирования в секреции ТФР- β 1 в Мф еще только предстоит подтвердить.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно нашим результатам, ХС индуцирует противовоспалительный и фиброгенный ответ Мф, который связан с дефицитом промежуточных продуктов мевалонатного пути, в частности с дефицитом фарнезилпирофосфата. В то же время агонисты LXR вызывают толерогенный, но не фиброгенный ответ независимо от ингибирования мевалонатного пути. Таким образом, можно сделать вывод, что гиперхолестеринемия, ассоциированная с воспалительными процессами, может участвовать в формировании М2 фенотипа Мф. Установленная связь между этим фенотипом Мф и дефицитом промежуточных продуктов мевалонатного пути позволяет искать новые подходы к фармакологической коррекции реактивности Мф при множестве воспалительных заболеваний, в том числе при атерогенезе.

ПРИЗНАТЕЛЬНОСТЬ

Настоящая работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований 12-04-01151-а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Siasos G., Tousoulis D., Kioufis S. et al. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis: the impact of matrix metalloproteinases // *Curr. Top. Med. Chem.* 2012. Vol. 12. P. 1132–1148.
2. Watanabe N., Ikeda U. Matrix metalloproteinases and atherosclerosis // *Curr. Atheroscler. Rep.* 2004. Vol. 6. P. 112–120.
3. Schwartz Y.Sh., Dushkin M.I., Komarova N.I. et al. Cholesterol-induced stimulation of postinflammatory liver fibrosis // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2008. Vol. 145. P. 692–695.
4. Poli G., Biasi F., Leonarduzzi G. Oxysterols in the pathogenesis of major chronic diseases // *Redox. Biol.* 2013. Vol. 1. P. 125–130.
5. Hansson G.K., Robertson A.K., Söderberg-Naucler C. Inflammation and atherosclerosis // *Annu. Rev. Pathol.* 2006. Vol. 1. P. 297–329.
6. Dushkin M.I., Vereshchagin E.I., Grebenshchikov A.Iu. et al. Effects of hydroxysterols on expression of inflammatory cytokine genes and their level in macrophages tolerant to endotoxin // *Bull. Exp. Biol. Med.* 1999. Vol. 127. P. 71–74.
7. Sadamatsu K., Shimokawa H., Tashiro H., Yamamoto K.D. et al. Different effects of simvastatin and losartan on cytokine levels in coronary artery disease // *Am. J. Cardiovasc. Drugs.* 2006. Vol. 6. P. 169–175.
8. Porreca E., Di Febbo C. Baccante G. et al. Increased transforming growth factor-beta(1) circulating levels and production in human monocytes after 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase inhibition with pravastatin // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002. Vol. 39. P. 1752–1757.
9. Lefebvre P., Cariou B., Lien F. et al. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation // *Physiol. Rev.* 2009. Vol. 89. P. 147–191.
10. Dushkin M.I., Perminova O.M., Safina A.F. et al. Influence of the activation of the immune system cells on the parameters of lipid metabolism in macrophages // *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2004. N 6. P. 52–56.
11. Englund M.C., Karlsson A.L., Wiklund O. et al. 25-hydroxycholesterol induces lipopolysaccharide-tolerance and decreases alipolysaccharide-induced TNF-alpha secretion in macrophages // *Atherosclerosis.* 2001. Vol. 158. P. 61–71.
12. Ohlsson B.G., Englund M.C., Karlsson A.L. et al. Oxidized low density lipoprotein inhibits lipopolysaccharide-induced binding of nuclear factor-kappa-B to DNA and the subsequent expression of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta in macrophages // *J. Clin. Invest.* 1996. Vol. 88. P. 78–89.
13. Siegemund S., Sauer K. Balancing pro- and anti-inflammatory TLR4 signaling // *Nat. Immunol.* 2012. Vol. 13. P. 1031–1033.
14. Huynh M.L., Fadok V.A., Henson P.M. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation // *J. Clin. Invest.* 2002. Vol. 109. P. 41–50.
15. Madenspacher J.H., Draper D.W., Smoak K.A. et al. Dyslipidemia induces opposing effects on intrapulmonary and extrapulmonary host defense

- through divergent TLR response phenotypes // *J. Immunol.* 2010. Vol. 185. P. 1660–1669.
16. **Khovidhunkit W., Kim M.S., Memon R.A. et al.** Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism // *J. Lipid Res.* 2004. Vol. 45. P. 1169–1196.
 17. **Memon R.A., Shechter I., Moser A.H. et al.** Endotoxin, tumor necrosis factor and interleukin-1 decrease hepatic squalene synthase activity, protein and mRNA levels in Syrian hamsters // *J. Lipid Res.* 1997. Vol. 38. P. 1620–1629.
 18. **Mather, Chen X.M., McGinn S. et al.** High glucose induced endothelial cell growth inhibition is associated with an increase in TGF-beta 1 secretion and inhibition of Rasprenylation via suppression of the mevalonate pathway // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2009. Vol. 41. P. 561–5919.
 19. **Park H.J., Galper J.B.** 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors up-regulate TGF- β signaling in cultured heart cells via inhibition of geranyl geranylation of RhoAGTPase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 11525–11530.
 20. **Bulus N.M., Sheng H.M., Sizemore N. et al.** Ras-mediated suppression of TGFbetaRII expression in intestinal epithelial cells in volves Raf-independent signaling // *Neoplasia.* 2000. Vol. 2. P. 357–364.
 21. **Adnane J., Bizouarn F.A., Chen Z. et al.** Inhibition of farnesyl transferase increases TGFbeta type II receptor expression and enhances responsiveness of human cancer cells to TGFbeta // *Oncogene.* 2000. Vol. 19. P. 5525–5533.
 22. **Adnane J., Seijo E., Chen Z. et al.** RhoB, not RhoA, represses the transcription of the transforming growth factor β Type II Receptor by a mechanism involving activatorprotein 1 // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 8500–8507.

FORMATION OF MACROPHAGE PHENOTUPE IN INFLAMMATORY AND FIBROGENIC RESPONSE: THE ROLE OF MEVALONATE PATHWAY AND NUCLEAR RECEPTORS LXR

Ya.Sh. Shvarts, M.I. Chasovskikh, O.M. Dolganova

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine of SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

Free cholesterol (Ch) and its oxidative derivatives, oxysterols (OS), are often accumulated in macrophages during chronic inflammation and atherogenesis. The effects of Ch and OS on the balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in inflammatory response and the role of mevalonate pathway in the effects of these sterols are studied poorly. Both Ch and OS are able to affect mevalonate pathway activity and activity of nuclear hormonal receptors LXR. However the roles of LXR and mevalonate pathway in Ch and OS effects on macrophage polarization are unknown. We studied the effects of Ch, OS, atorvastatin, and mevalonic acid on the LPS-induced TNF- α , IL-10 and TGF- β 1 production in macrophage cell culture. The study was carried out in murine peritoneal macrophages preincubated for 4 h with Ch (5 μ g/mL), 25-hydroxycholesterol (25-OH-Ch) (5 μ g/mL), 7-keto-Ch (5 μ g/mL), farnesol (10 μ M), or atorvastatin (5 μ mol/mL) in the presence or absence of 1 mM of mevalonate. The cells were further incubated in the presence or absence of *E. coli* 0111:B4 lipopolysaccharide (LPS) for 24 h, and cytokine concentrations in incubation media were determined. Macrophages preincubation with Ch, 25-OH-Ch, or atorvastatin decreased LPS-induced TNF- α production in cell cultures, while supplementation of preincubation medium with mevalonic acid abrogated the effects of atorvastatin and Ch. The Ch, 25-OH-Ch, 7-keto-Ch and atorvastatin significantly reduced IL-10 production by LPS-stimulated macrophages, while farnesol had no effect. Supplementation of Ch or atorvastatin-containing preincubation medium with mevalonate restored IL-10 production. The TGF- β 1 production was significantly enhanced by the presence of Ch or atorvastatin in preincubation medium as compared to the control level in non-treated macrophages, while 25-OH-Ch or farnesol decreased profoundly TGF- β 1 production. Mevalonate abrogated the effect of Ch or atorvastatin but not of 25-OH-Ch or farnesol. These results allow to conclude, that the presence of Ch in micro-environment of inflammatory macrophages promotes anti-inflammatory and fibrogenic macrophage response; the latter is connected, at least in part, with the deficiency of mevalonate pathway intermediates, particularly to the deficiency of farnesol. At the same time hydroxysterols suppress both pro- and anti-inflammatory macrophage response independently of the impact of these compounds on mevalonate pathway. Apparently, pharmacological interference in the process of farnesylation could be a new approach to the control of chronic inflammation, including atherogenesis.

Keywords: inflammation, fibrosis, macrophages, cytokines, cholesterol, oxysterols, mevalonate pathway.

Статья поступила 10 сентября 2014 г.