

путем активации каталазы преимущественно в коре полушарий, что, вероятно, является одним из важных аспектов в механизме нейроиммунотулирующего действия препарата.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОПРОТЕИНОВ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ НА ПРОДУКЦИЮ ИНСУЛИНА ОСТРОВКАМИ ЛАНГЕРГАНСА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС И АКТИВНОСТЬ В НИХ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕАЗ

²Потеряева О.Н., ¹Русских Г.С.,
¹Панин Л.Е.

*2Новосибирский государственный
медицинский университет,
1Научно-исследовательский институт
биохимии СО РАМН, Новосибирск,
e-mail: olga_poteryaeva@mail.ru*

Введение. Липопротеины высокой плотности (ЛПВП) участвуют в транспорте биологически активных соединений, регулируют многие метаболические процессы, в том числе углеводный обмен.

Цель исследования

В работе изучено влияние ЛПВП и их основного белкового компонента – апопротеина А-I на продукцию инсулина и активность матриксных металлопротеаз (ММП) 2,7 β-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы крыс Wistar.

Материалы и методы

Островки выделяли седиментационным методом согласно Lacy P. et al. (1967 г.) Липопротеины высокой плотности получали методом препаративного ультрацентрифугирования в растворах КВг на центрифуге «Optima L-90K, Beckman-Coulter» (Австрия). Содержание инсулина измеряли радиоиммунным методом (DSL-1600, Франция). Концентрацию инсулина выражали в мкМЕ/мл. Активность ММП-2,7 в образцах определяли с использованием флуоресцентного субстрата (ICN, США) по методу Nagase et al. (1998 г.) Измерение проводилось на спектрофлуориметре (Shimadzu RF-5301 PC, Япония). Активность ММП измеряли в мкмоль МСА/л/час.

Результаты

Показано, что островки Лангерганса при добавлении к ним 20 мМ глюкозы секретируют в

среду (раствор Krebs-Рингера) $7,6 \pm 0,53$ мкМЕ/мл инсулина в течение часа инкубации. При этом нами впервые была обнаружена активность ММП в островках Лангерганса, она составляла $5,2 \pm 0,56$ мкмоль МСА/л/ час. При добавлении глюкозы и ЛПВП концентрация инсулина в среде увеличивалась в 3,4 раза и составила $26,0 \pm 1,61$ мкМЕ/мл ($P < 0,001$), а активность фермента выросла в четыре раза и составила $20,0 \pm 0,99$ мкмоль МСА/л/час ($P < 0,001$). Секреция инсулина повышалась почти в два раза при добавлении глюкозы и апоА-I ($15,3 \pm 1,21$ мкМЕ/мл, $P < 0,002$), а активность ММП возрастала до $54,8 \pm 5,1$ мкмоль МСА/л/ час ($P < 0,001$), что превышает базальный уровень более чем в 10 раз.

Выводы. Предполагают, что ММП участвуют в деградации пре-прогормона (м.м. = 12 кДа) и отщеплении С-пептида от прогормона (м.м. = 9 кДа) с образованием молекулы инсулина (м.м. = 6 кДа). Механизм влияния ЛПВП и апо А-I на продукцию инсулина и активность ММП обсуждается.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СТРЕССА НА ИММУНОМОРФОЛОГИЮ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ

Шефер Е.Г., Фокина Е.Н.,
Дегтярь Ю.В., Кузнецов А.С.,
Хлебников Ю.В.

*Волгоградский государственный
медицинский университет, Волгоград;
Первый Московский государственный
медицинский университет
им. И.М. Сеченова, Москва,
e-mail: marinakapitonova@mail.ru*

Влияние стресса на иммунную систему продолжает привлекать внимание исследователей, несмотря на уже имеющийся обширный материал по данной тематике, так как проблема постстрессового иммунодефицита остается не до конца раскрытой вследствие многогранности воздействия стрессорных агентов на лимфоидные органы, разнообразия ответных постстрессовых реакций организма, сложности характера нейроиммуноэндокринных взаимодействий, модулируемых различными видами стрессоров. Исследования последних лет открывают новые аспекты постстрессовых иммуноморфологических сдвигов в организме, определяющих его чувствительность к действию инфекций, канце-

рогенов, неблагоприятных факторов окружающей среды [C. Kiank e.a., 2009; J. Shen e.a., 2009; V.S. Nade e.a., 2010; A. Warner e.a., 2010]. Предпринята попытка исследовать влияние стресса на лимфоидные органы и роль симпатической нервной системы в нейроиммунных взаимодействиях, которая, в частности, показала, что вегетативная нервная система через бета-адренорецепторы модулирует действие повышенной при стрессе концентрации кортикостероидов на иммунциты лимфоидных органов [A. Warner e.a., 2010]. Известно, что секреторная активность коры надпочечников и профиль поддержания уровня глюкокортикоидов при хроническом стрессе различны при разных видах стрессорного воздействия, в частности при действии гомо- и гетеротипических стрессоров, которые провоцируют в нейроэндокринной системе различные паттерны респонсивности, фасилитации и десенситизации активируемой стрессом гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной оси [М.Ю. Капитонова и др., 2010]. В это связи именно сравнительное изучение воздействия этих двух видов стрессоров на иммунные органы позволит дифференцировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниково-зависимые и независимые иммуномодуляционные последствия хронического стресса, связанные с активацией других систем, в частности симпатической нервной системы. В возрастном аспекте данная проблема ранее не освещалась.

Целью настоящего исследования явилось изучение сравнительного влияния действия хронического гомо- и гетеротипического стресса на иммуноморфологию центральных и периферических органов иммуногенеза. Использовались модели хронического гомотипического (R. Kvetnansky, 1970) и гетеротипического стрессорного воздействия стрессора (B.K. Choudhary e.a., 2009 с некоторыми модификациями). Экспериментальные животные – крысы-самцы породы Sprague-Dawley в количестве 48, относящиеся к двум возрастным группам: периода грудного вскармливания и периода перехода на самостоятельное питание – подвергались экспериментальному воздействию на протяжении 7 дней по 5 часов ежедневно. В каждой экспериментальной группе/возрастной подгруппе было по 8 особей. Достаточность количества наблюдений определялась вычислением коэффициента вариации. По окончании эксперимента животные забивались под анесте-

зией, тимус и селезенка, а также надпочечники забирались, взвешивались, подготавливались для иммуногистохимического исследования. Парафиновые срезы органов окрашивались с применением стрептавидин-пероксидазного метода моноклональными антителами на маркеры лимфоидных клеток: CD90 – маркер тимоцитов коркового фенотипа и недавних тимусных иммигрантов, CD20 – маркер В-лимфоцитов, CD3 – маркер Т-клеточных рецепторов, CD8 – маркер цитотоксических лимфоцитов/Т-суппрессоров, каспазу-3 – маркер апоптоза, PCNA – ядерный антиген пролиферирующих клеток. Кроме того, слизистая оболочка оценивалась макроскопически для выявления признаков постстрессового повреждения. Удельная площадь и численная плотность иммунореактивных клеток оценивалась с помощью цифровых морфометрических технологий в программе Leica QWin.

Анализ полученных результатов показал, что иммуносупрессивные изменения в центральном (тимус) и периферическом (селезенка) звеньях иммунной системы различались в зависимости от вида примененного стрессора и исходного возраста экспериментальных животных. Хронический гетеротипический стресс вызывал высоко достоверное снижение удельной площади и численной плотности CD90- и PCNA-иммунореактивных клеток в тимусе и селезенке ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно), достоверное снижение доли CD8-позитивных клеток в тимусе и селезенке и CD20 + клеток в селезенке ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно) у животных обеих возрастных групп; достоверное повышение удельной площади клеток, экспрессирующих маркер апоптоза, в тимусе и селезенке у животных грудного возраста. При действии гомотипического стрессора эти изменения в тимусе были слабее, в то время как в селезенке – различия между двумя экспериментальными группами были менее выраженными. Данное исследование показало, что иммуносупрессивные изменения в центральном органе иммуногенеза – тимусе – отчетливо отражали тип примененного стрессорного воздействия, в то время как в периферическом лимфоидном органе – селезенке – они были менее дискриминатными, что позволяет охарактеризовать центральное звено иммунной системы как более зависимое от паттерна активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, чем периферическое, на ранних этапах постнатального онтогенеза.