

Summary. During the research the features of the ultrastructure of arohematic barrier in the lungs of rats, that were injected by solution of lactoprotein with sorbitol during the first 7 days after injury have been found. It has been revealed that in 14 days after thermal injury changes in the blood vessels of the microcirculating channel, disturbance of microcirculation and plasmorrhagia, diapedesis of erythrocytes and leukocytes through the vascular walls, destructive changes of all components of alveolar septum and arohematic barrier are less expressed than in rats, that after a burn injury were injected with 0.9% NaCl solution, in the same period of observation. The level of destructive and degenerative changes in the lung tissue, interstitial and alveolar edema of arohematic barrier, damage of the respiratory epithelium and endothelium, violations of the surfactant system of lungs are also less evident. In 21 days after burn injury of the skin in the respiratory epithelium and the endothelium there were found signs of reparative regeneration of cells, the existence of which is indicated by the proliferation of alveolitis type II, which confirms their role in the regeneration of respiratory epithelium, hypertrophy and hyperplasia of fibroblasts, as well as hypertrophy of the elastic and collagen fibers in interalveolar septa. In 30 days after the burn injury of the skin in some areas of arohematic barrier the signs of regeneration of respiratory epithelium, alternating with undamaged areas was found. In the basal plate excessive proliferation of collagen fibers was observed.

Key words: lungs of rats, skin burns, remote period, arohematic barrier, ultrastructure, lactoprotein with sorbitol.

Стаття надійшла до редакції 07.05.2014 р.

Чайковський Юрій Богданович - д. мед. н., професор, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця; +38 044 459-49-88

Король Анатолій Петрович - к. мед. н., доцент кафедри гістології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; anatoliy-korol@mail.ru

Макарова Ольга Ігорівна - аспірант кафедри гістології цитології та ембріології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 35-35-50; olga_sergeta@mail.ru

© Топол І.О., Камишний О.М.

УДК: 577.152.34: [579:611.34]: 159.944.4

Топол І.О., Камишний О.М.

Запорізький державний медичний університет, кафедра мікробіології, вірусології та імунології (пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, Україна, 69035)

ЕКСПРЕСІЯ ІМУННОЇ СУБОДИНИЦІ ПРОТЕАСОМИ LMP2 ЛІМФОЦИТАМИ КИШКОВО-АСОЦІЙОВАНОЇ ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИНИ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО СОЦІАЛЬНОГО СТРЕСУ І МОДУЛЯЦІЇ СКЛАДУ КИШКОВОЇ МІКРОФЛОРИ

Резюме. Досліджено вплив хронічного соціального стресу і модуляції складу кишкової мікрофлори на розподіл LMP2-клітин в лімфоїдних структурах клубової кишки щурів. Встановлено, що розвиток соціального стресу призводить до збільшення кількості LMP2⁺-лімфоцитів, а зміна концентрації LMP2 в імунних клітинах залежить від виду стресу. Введення антибіотику переважно збільшує, а пробіотику майже не впливає на загальну щільність популяції LMP2⁺-лімфоцитів при різноспрямованій зміні в них концентрації імунної субодиниці протеасоми.

Ключові слова: стрес, LMP2-клітини, пробіотики, антибіотики.

Вступ

Ситуація в українському суспільстві характеризується високим рівнем напруги, нестабільністю навколишнього оточення, при яких соціально-стресові умови набувають затяжного характеру, що не може не позначитися на стані імунної системи. Хронічний соціальний стрес (ХСС) здатен викликати значні порушення у функціонуванні вродженого та адаптивного імунітету та є одним з факторів ризику розвитку в подальшому аутоімунних та запальних захворювань (АІЗ) [Powell et al., 2013].

Разом з тим, основними регуляторами процесингу власних і мікробних антигенів є протеасоми, конститутивні каталітичні субодиниці Х (β5), Y (β1) і Z (β2), які у клітинах імунної системи можуть заміщуватися на імунні субодиниці (імунопротеасоми, ІМП) LMP7 (β5i), LMP2 (β1i) і MECL-1 (β2i). ІМП є більш ефективними генераторами імунодомінантних епітопів [Angeles et al., 2012;

Цимоха, 2010]. Заміна конститутивних субодиниць імунними потрібна не тільки для оптимізації презентації антигенів, але також для генерації LMP2/LMP7/MECL-1-залежних епітопів в місцях запалення, які не виробляються в "спокійних" тканинах [Basler et al., 2013]. Ця різниця в генерації антигенних детермінант може служити для того, щоб краще стимулювати Т-клітини в місцях тривалої імунної відповіді і уникнути аутоімунності в нейтральних тканинах [Groettrup et al., 2001]. Окрім добре відомих імунних функцій ІМП у регулюванні презентації антигенів молекулами МНС І класу, вони також беруть участь у продукції цитокінів, впливають на проліферацію і виживання Т-клітин, а їх дисрегуляція пов'язана з різними клінічними розладами, що включають онкологічні, аутоімунні, нейро-дегенеративні захворювання, хвороби серця, старіння та інфекції [Krliger, Kloetzel, 2012; Lee, Kim, 2011]. Більш того, протеасо-

ми, як виявилось, процесують антигени в антигенні олігопептиди для їх подання в комплексі з молекулами МНС II Т-хелперами [Tewari et al., 2005]. В АПК, таких як макрофаги і дендритні клітини, імунні протеасоми беруть участь в активації "наївних" Т-лімфоцитів в цитотоксичні Т-лімфоцити. Однак, про особливості експресії ІМП в самих лімфоцитах відомо вкрай мало.

Тому, метою дослідження було вивчення рівня розподілу LMP2-лімфоцитів у кишково-асоційованій лімфоїдній тканині щурів лінії Wistar в умовах ХСС і при модуляції складу кишкової мікрофлори.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 70 самках щурів лінії Wistar. Тварини отримані з розплідника Об'єднання ветеринарної медицини ПП "Біомодельсервіс" (Київ). Експериментальну частину роботи виконували відповідно до національних "Загальних етичних принципів досліджень на тваринах" (Україна, 2001) і положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей" (Страсбург, 1986). Досліджувані тварини були розділені на сім експериментальних груп: контрольні щурі, яким перорально внутрішньо-шлунково (в/ш) впродовж 3-х тижнів вводили по 0,5 мл фізіологічного розчину (група 1); щурі, яким моделювали ХСС 1 шляхом трьохтижневої соціальної ізоляції і тривалого психоемоційного впливу (ПЕВ), що припускав перманентне проживання самок в "агресивному середовищі", а саме через перфоровану перегородку в клітці з агресивним самцем, який щодня вступав в конфронтації з підсадженим до нього іншим самцем (група 2); щурі, яким моделювали ХСС2 шляхом утримання тварин у перенаселених клітках (20 щурів на клітку) впродовж 3 тижнів із щоденною зміною угруповання, при якому піддослідну самку кожний день поміщали до нової збалансованої та перенаселеної колонії (група 3); щурі з ХСС1 та ХСС2, яким здійснювали модуляцію складу кишкової мікрофлори шляхом в/ш введення аміноглікозидного антибіотику *канаміцину* (*Can*) впродовж 7 днів щоденно, починаючи із 3-го тижня моделювання ХСС у дозі 15 мг/кг (групи 4 та 5, відповідно); щурі з ХСС1 та ХСС2, яким здійснювали модуляцію складу кишкової мікрофлори шляхом в/ш щоденних введення *Лактобактерію* (*Lb*, суміш живих ліофільно висушених лактобактерій *L. plantarum* штаму 8P-A3 і *L. fermentum* штаму 90T-C4) впродовж 3-х тижнів у дозі 4·10⁸ КУО (групи 6 та 7, відповідно). Рівень емоційно-поведінкової активності встановлювали у тесті "відкрите поле" згідно з вираженням дослідницької активності, у тесті Порсолта ("вимушеного плавання", ВП) визначали рівень депресивності тварин. Щурів виводили з експерименту методом декапітації під наркозом.

Структуру популяції LMP2⁺-клітин вивчали на підставі аналізу серійних гістологічних зрізів й даних їх морфометричних і денситометричних характеристик. Для про-

ведення даного дослідження на ротаційному мікроскопі MICROM HR-360 (Microm, Німеччина) робили 5-мікронні серійні зрізи клубової кишки, які потім депарафінували в ксилолі, проводили регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100%, 96%, 70%), відмивали у 0,1 М фосфатному буфері (рН = 7,4) і фарбували з первинними кролячими моноклональними антитілами (МКАТ) до LMP2 щура (SantaCruzBiotechnology, США) протягом 18 годин у вологій камері при Т = 4°C. Після відмивання надлишку первинних антитіл в 0,1 М фосфатному буфері, зрізи інкубували 60 хвилин (Т = 37°C) з вторинними антитілами до повної молекули IgG кролика (SantaCruzBiotechnology, США), кон'югованими з FITC. Після інкубації зрізи промивали 0,1М фосфатним буфером і укладали в суміш гліцерину і фосфатного буфера (9:1) для подальшої люмінесцентної мікроскопії. Оброблені гістологічні зрізи вивчали з допомогою комп'ютерної програми ImageJ (NIH, США). Зображення, що отримуються на мікроскопі PrimoStar (ZEISS, Німеччина) в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм (FITC) за допомогою високочутливої камери AxioCam 5c (ZEISS, Німеччина) і пакета програм для отримання, архівування та підготовки зображень до публікації AxioVision 4.7.2 (ZEISS, Німеччина) негайно вводилося в комп'ютер. При цьому в автоматичному режимі визначалися області зі статистично значущою флуоресценцією, характерною для клітин, які експресують LMP2. Обчислювалися морфометричні і денситометричні характеристики імунопозитивних клітин. При фарбуванні МКАТ досліджували LMP2⁺-клітини, розташовані у так званих заповнених лімфоцитами ворсинках (Lymphocyte-filled villi, LFV, ЗЛВ), які є окремим компартментом КАЛТ щурів та уявляють собою скупчення лімфоїдних клітин у власній пластинці слизової оболонки ворсинок, у субепітеліальній зоні згрупованих лімфоїдних вузликів (CE3, PP Suber) та лімфоїдних фолікул (ЛФ). Всі одержані експериментальні дані обробляли на персональному комп'ютері пакетом прикладних і статистичних програм EXCEL з пакету MS Office 2013 (Microsoft Corp., США), STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001).

Результати. Обговорення

Розвиток ХСС супроводжувався односпрямованою тенденцією щодо збільшення загальної кількості LMP2⁺-лімфоцитів у лімфоїдних структурах клубової кишки щурів, найбільш вираженою в ЗЛВ. Так, сумарна щільність LMP2⁺-клітин в ЗЛВ зросла в 3,2 рази (р<0,05) при ХСС1 і в 2,5 рази (р<0,05) при ХСС2; в ЛФ - в 3,3 рази (р <0,05) при ХСС1 і на 60% (р<0,05) при ХСС2; в CE3 - в 2,6 рази (р <0,05) при ХСС1 і на 46% (р <0,05) у разі ХСС2 (рис. 1 А, D). Дане збільшення загального числа LMP2⁺-клітин відбувалося за рахунок збільшення лімфоцитів всіх класів, при цьому найбільш інтенсивно зростала щільність популяції лімфобластів. Концентрація LMP2 не змінювалася при ХСС1 і достовірно знижувалася при ХСС2 у LMP2⁺-лімфобластів (CE3 - на 22%, р <0,05), і LMP2⁺-малих лімфоцитів (в ЛФ - на

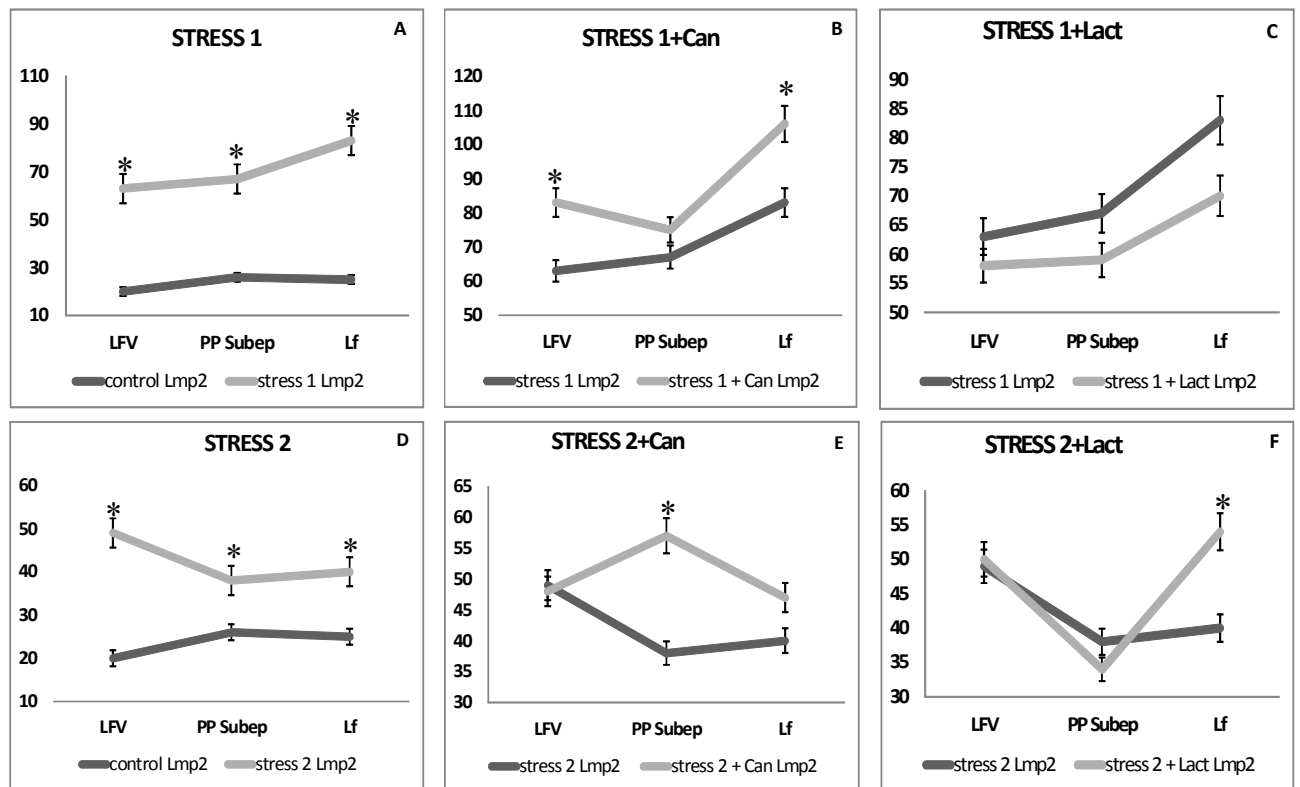


Рис. 1. Сумарна щільність LMP2⁺-лімфоцитів (на 1 мм²) у ЗЛВ (LFV), ЛФ (Lf) та СЕЗ (PP Subep),* - p < 0,05.

10%, p < 0,05 і в СЕЗ - на 9%, p < 0,05 при ХСС2) (рис. 2 А-С).

Введення *Can* супроводжувалось збільшенням сумарної щільності LMP2⁺-лімфоцитів, достовірно вираженим в ЗЛВ і ЛФ при ХСС1 (на 24%, p < 0,05 і на 27%, p < 0,05, відповідно) і в СЕЗ при ХСС2 (на 50%, p < 0,05) (рис. 1 В,Е). Даний приріст чисельності LMP2⁺ - клітин відбувався за рахунок збільшення кількості лімфобластів (в СЕЗ - в 2,5 рази, p < 0,05 при ХСС2), середніх лімфоцитів (в СЕЗ - на 75%, p < 0,05 при ХСС2), малих лімфоцитів (в ЗЛВ - на 38%, p < 0,05, в ЛФ - на 75%, p < 0,05 і в СЕЗ - на 36%, p < 0,05 при ХСС1). При цьому введення *Can* різноспрямовано впливали на концентрацію LMP2: знижували при ХСС1 у LMP2⁺-середніх і малих лімфоцитів і підвищували в цих же клітинах при ХСС2 (рис. 2 А-С).

Введення *Lb* призводило до збільшення сумарної щільності LMP2⁺ - лімфоцитів тільки в ЛФ при ХСС2 (на 35%, p < 0,05) рис. 1 С, F). Аналіз розподілу окремих класів LMP2⁺ - клітин показав збільшення кількості LMP2⁺ - лімфобластів при ХСС2 (в ЛФ - в 3,1 раз, p < 0,05) і зниження їх числа при ХСС1 в ЛФ і в ЗЛВ (на 38%, p < 0,05 і на 39%, p < 0,05, відповідно), зменшення кількості середніх лімфоцитів в ЛФ (на 26%, p < 0,05).

Введення *Lb* супроводжувалися збільшенням концентрації LMP2 у LMP2⁺ - лімфобластів при ХСС2 (на 23%, p < 0,05) і зниженням при ХСС1 (на 16%, p < 0,05), а також підвищували експресію імунної субодиниці протеасоми у LMP2⁺-середніх і малих лімфоцитах тільки

при ХСС2 (рис. 2 А-С).

Виявлені нами зміни експресії LMP2 в умовах ХСС можуть суттєво впливати на ризик розвитку імунопатології. Так, у багатьох експериментальних дослідженнях виявлено зв'язок між підвищеною експресією LMP2 і розвитком запальних і аутоімунних захворювань, зокрема, ЦД 1 типу, ревматоїдного артриту, неспецифічного виразкового коліту [Basler et al., 2010], хвороби Крона [Visekruna et al., 2009], запальних захворювань кишківнику (IBD) [Fitzpatrick et al., 2007], а використання інгібіторів ІМП покращує їх перебіг. Зокрема, реакція цитотоксичних лімфоцитів (CTL) на M45, імунодомінантний епітоп у цитомегаловірус-інфікованих мишей помітно знижена у нокаутних по LMP7/β5i-тварин [Hutchinson et al., 2011]. Також, відповіді CTL на 2 домінантних епітопу вірусу грипу NP366-374 і PA224-233 у мишей лінії B6, сильно скорочені у LMP2/β1i - дефіцитних мишей. Однак, є і протилежні дані, що свідчать про відсутність суттєвих змін загальних відповідей CTL на вірусні епітопи у експериментальних тварин, позбавлених ІМП. Так, LMP2/β1i- або LMP7/β5i- дефіцитні миші, інфіковані вірусом лімфоцитарного хориомеїнігиту не показали помітних відмінностей у вірусному навантаженні і кількості відповідей CTL порівняно з мишами дикого типу [Nussbaum et al., 2005], однак, виживаність Т-лімфоцитів у них значно змінювалася [Moebius et al., 2010]. Ці результати показують, що процесинг антигенів, мабуть, не є основною біологічною функцією ІМП і вони активно беруть участь і в інших видах

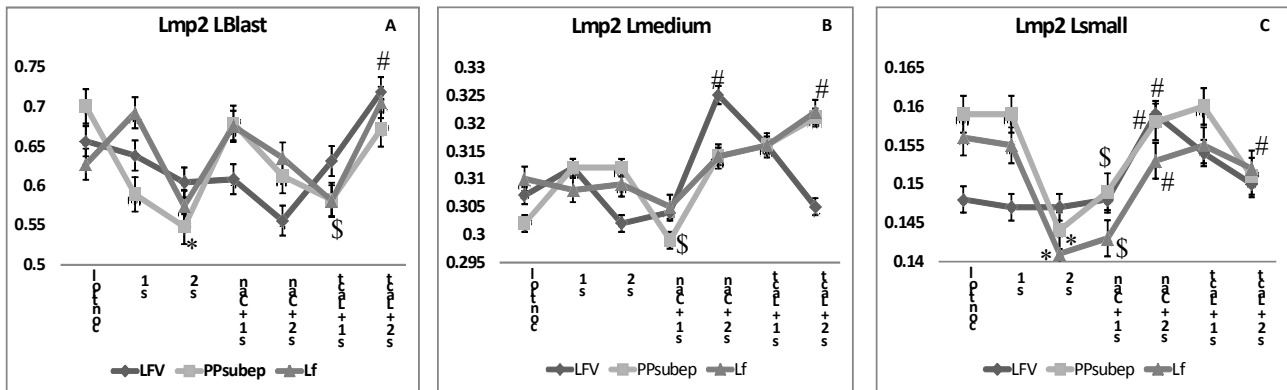


Рис. 2. Концентрація білку LMP2 (OIF). * - $p < 0,05$ по відношенню до контролю, \$ - $p < 0,05$ до стресу 1, # - $p < 0,05$ до стресу 2.

регуляції імунної відповіді. Так, ряд досліджень продемонстрував ключову роль ІМП в регуляції продукції цитокінів імунними клітинами. Зокрема, дендритні клітини (ДК) у LMP2/β1i-дефіцитних мишей, інфікованих вірусом грипу, продукували нижчий рівень цитокінів IFN-α, (IL)-1β, IL-6 і TNF-α в порівнянні з мишами дикого типу, що свідчить про важливу роль ІМП у вродженій імунній відповіді [Hensley et al., 2010]. Крім того, у LMP2^{-/-}-мишей спостерігається цілий ряд інших імунних порушень, які зачіпають насамперед В-лімфоцити і ДК: зниження продукції противірусних АТ, зміна числа і виживання В-лімфоцитів селезінки, функцій Т-хелперів і секреції цитокінів [Hensley et al., 2010]. Причому ці дефекти, зумовлені ні зміною рівня деградації білків, а пов'язані в LMP2/β1i-дефіцитних клітинах з порушенням NF-κB-сигналізації. Було також показано, що селективне інгібування β5i субодиниці ІМП за допомогою специфічного інгібітору PR-957 блокує виробництво IL-23 в моноцитах і TNF-α і IL-6 в Т-клітинах [Muchamuel et al., 2009]. Аналогічна тенденція спостерігалася і в тваринних моделях аутоімунних захворювань, таких як експериментальний коліт і ревматоїдний артрит, у яких інгібування β5i за допомогою PR-957 [Basler et al., 2013] або шляхом генетичного нокауту у LMP7/?5i- мишей [Schmidt et al., 2010] призводило до зниження продукції про-запальних цитокінів та редукції запалення і проявів захворювання. Введення більш високої дози PR-957 також блокує β1i і β2i субодиниці ІМП, викликаючи ще більш виражене зниження виробництва TNF-α і IL-6, вказуючи, що ці дві субодиниці також беруть участь в регуляції продукції цитокінів.

Однак, основні механізми, за допомогою яких ІМП активує специфічні внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, такі як NF-κB, ефективніше, ніж стандартна протеасома, залишаються неясними. Висловлено припущення, що переважання експресії ІМП щодо стандартної протеасоми в імунних клітинах може сприяти переважно активації сигналізації NF-κB в місці запалення, можливо, за рахунок більш ефективного розщеплення I?B - необхідної умови для активації NF-κB. Причому дефіцит ІМП модифікує як класичні, так і альтернативні шляхи активації NF-κB [Maldonado et al., 2013].

Крім того, дослідження показали участь ІМП в диференціюванні, виживанні і проліферації Т-клітин. Введення PR-957 перешкоджає індукції за допомогою IL-6 і TGF-β CD4⁺ Т-клітинному диференціюванню у напрямку Th17-клітин, припускаючи, що ІМП беруть участь в процесингу необхідних для цього диференціювання факторів. Ці висновки були підтверджені *in vivo*, коли інгібування або дефіцит ІМП призводив до зниження експансії Th1 і Th17-клітин, тоді як сприяв розвитку Treg при експериментальному коліті, індукованому DSS [Kalim et al., 2012]. У таких LMP7^{-/-} або LMP2^{-/-} дефіцитних мишей, яким індукували DSS-коліт виявлялася підвищена стійкість до розвитку запалення, деструкції тканин, спостерігалася низька кількість інфільтруючих кишкову тканину Th17 клітин, і, відповідно, низька активність про-запальних цитокінів, таких як TNF-α і IL-1β. Інгібування ІМП знижує виробництво IL-17 і рівень м-РНК транскрипційного фактору RORγt, регулюючого диференціювання Th17. Suzuki E. et al. [2011] виявили, що експресія FoxP3 і TGF-α збільшилася в Treg клітинах, підданих впливу PR-957, а на виробництво IL-4 Th2 клітинами така блокада ІМП не впливала [Suzuki et al., 2011]. Цікаво, що підвищена експресія FoxP3 була відзначена не тільки в Treg, але також і в Th0 і Th1 клітинах, підданих впливу PR-957. Інгібування ІМП призводить також до зниження фосфорилування STAT1 і STAT3 в Th1 і Th17 клітинах, відповідно [Suzuki et al., 2011]. Крім того, дефіцит β2i призводить до підвищення співвідношення CD4⁺/CD8⁺ Т-клітин, імовірно, через власні регуляторні механізми, не пов'язані з процесингом антигенів. Було також показано зміна проліферації Т- клітин з дефіцитом імунних субодиниць MECL-1 і LMP7 [Caudill et al., 2006]. Тим часом, LMP2 нокаут не впливав на проліферацію В- і CD4⁺ Т- клітин після активації їх такими митогенами як ЛПС або ConA, однак, змінював їх виживання [Hensley et al., 2010].

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Розвиток стресу підвищує кількість LMP2⁺-лімфоцитів в лімфоїдних структурах клубової кишки щурів, не впливає на концентрацію LMP2 при ХСС1 і знижує

при ХСС2 у LMP2⁺-лімфобластів і малих лімфоцитів.

2. Введення *Cap* переважно збільшує, а *Lb* майже не впливає на загальну щільність LMP2⁺-лімфоцитів, різноспрямовано змінює концентрацію імунної субоди-

ниці протеасоми.

Значний інтерес представляє подальше вивчення компонентів вродженої та адаптивної імунної системи КАЛТ при ХСС і модуляції складу кишкової мікрофлори.

Список літератури

- Цимоха А. С. Протеасомы: участие в клеточных процессах / А. С. Цимоха // Цитология. - 2010. - № 4. - С. 277 - 300.
- A cytosolic pathway for MHC class II-restricted antigen processing that is proteasome and TAP dependent / M. K. Tewari, G. Sinnathamby, D. Rajagopal [et al.] // Nat. Immunol. - 2005. - Vol. 6. - P. 287 - 294.
- A dominant role for the immunoproteasome in CD8⁺T cell responses to murine cytomegalovirus / S. Hutchinson, S. Sims, G. O'Hara [et al.] // PLoS One. - 2011. - Vol. 6, № 2. - P. e14646.
- A selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP7 blocks cytokine production and attenuates progression of experimental arthritis / T. Muchamuel, M. Basler, M. Aujay [et al.] // Nat. Med. - 2009. - Vol. 15, № 7. - P. 781 - 787.
- Angeles A. Immune and non-immune functions of the immunoproteasome / A. Angeles, G. Fung, H. Luo // Frontiers in Bioscience. - 2012. - Vol. 17. - P. 1904 - 1916.
- Dextran sulfate sodium-induced colitis is associated with enhanced low molecular mass polypeptide 2 (LMP2) expression and is attenuated in LMP2 knockout mice / L. Fitzpatrick, V. Khare, J. Small [et al.] // Dig. Dis. Sci. - 2006. - Vol. 51 - P. 1269 - 1276.
- Enhanced intestinal expression of the proteasome subunit low molecular mass polypeptide 2 in patients with inflammatory bowel disease / L. Fitzpatrick, J. Small, L. Poritz [et al.] // Dis. Colon. Rectum. - 2007. - Vol. 50. - P. 337 - 348.
- Expression of catalytic proteasome subunits Lee W. The immunoproteasome: an emerging therapeutic target / W. Lee, K. Kim // Curr. Top. Med. Chem. - 2011. - Vol. 11, № 23. - P. 2923 - 2930.
- Maldonado M. Immunoproteasome Deficiency Modifies the Alternative Pathway of NFκB Signaling / M. Maldonado, R. Kapphahn, M. Terluk // PLoS One. - 2013. - Vol. 8, № 2. - P. 561 - 587.
- Powell N. Psychosocial stress and inflammation in cancer / N. Powell, A. Tarr, J. Sheridan // Brain, Behavior and Immunity. - 2013. - Vol. 30. - P. 41 - 47.
- Structural plasticity of the proteasome and its function in antigen processing / M. Groettrup, M. Broek, K. Schwarz [et al.] // Crit. Rev. Immunol. - 2001. - Vol. 21 - P. 339 - 358.
- T - cells lacking immunoproteasome subunits MECL-1 and LMP7 hyperproliferate in response to polyclonal mitogens / C. Caudill, K. Jayarapu, L. Elenich [et al.] // J. Immunol. - 2006. - Vol. 176, № 7. - P. 4075 - 4082.
- Targeting the proteasome: partial inhibition of the proteasome by bortezomib or deletion of the immunosubunit LMP7 attenuates experimental colitis / N. Schmidt, E. Gonzalez, A. Visekruna [et al.] // Gut. - 2010. - Vol. 59, № 7. - P. 896 - 906.
- The immunoproteasome in antigen processing and other immunological functions / M. Basler, M. Dajee, C. Moll [et al.] // Curr. Opin. Immunol. - 2013 - Feb. 25, № 1. - P. 74 - 80.
- Unexpected Role for the Immunoproteasome Subunit LMP2 in Antiviral Humoral and Innate Immune Responses / S. Hensley, D. Zanker, B. Dolan [et al.] // J. Immunol. - 2010. - Vol. 15. - P. 4115 - 4122.
- in the gut of patients with Crohn's disease / A. Visekruna, N. Slavova, S. Dullat [et al.] // Int. J. Colorect. Dis. - 2009. - Vol. 10. - P. 1133 - 1139.
- Groettrup M. Prevention of experimental colitis by a selective inhibitor of the immunoproteasome / M. Groettrup, C. Kirk // J. Immunol. - 2010. - Vol. 185. - P. 634 - 641.
- Immunoproteasome activity controls the balance of inflammatory and regulatory gene expression in T helper cells / E. Suzuki, T. Muchamuel, S. Arastu-Kapur [et al.] // The J. of Immunology. - 2011. - Vol. 186. - P. 152 - 161.
- Immunoproteasome Subunit LMP7 Deficiency and Inhibition Suppresses Th1 and Th17 but Enhances Regulatory T Cell Differentiation / K. Kalim, M. Basler, C. Kirk [et al.] // The J. of Immunology. - 2012. - Vol. 189. - P. 4182 - 4193.
- Immunoproteasome-deficient mice mount largely normal CD8⁺ T cell responses to lymphocytic choriomeningitis virus infection and DNA vaccination / A. Nussbaum, M. Rodriguez-Carreno, N. Benning [et al.] // J. Immunol. - 2005. - Vol. 175, № 2. - P. 1153 - 1160.
- Immunoproteasomes are essential for survival and expansion of T cells in virus-infected mice / J. Moebius, M. Broek, M. Groettrup [et al.] // Eur. J. Immunol. - 2010. - Vol. 40. - P. 3439 - 3449.
- Kröger E. Immunoproteasomes at the interface of innate and adaptive immune responses: two faces of one enzyme / E. Kröger, P. Kloetzel // Curr. Opin. Immunol. - 2012. - Feb. 24, № 1. - P. 77 - 83.

Топол І.А., Камышний А.М.

ЕКСПРЕСІЯ ІМУННОЇ СУБЪЕДИНИЦІ ПРОТЕАСОМИ LMP2 ЛІМФОЦИТАМИ КИШЕЧНО-АССОЦІЙОВАНОЇ ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИ В УМОВАХ ХРОНИЧЕСЬКОГО СОЦІАЛЬНОГО СТРЕСА І МОДУЛЯЦІЇ СОСТАВА КИШЕЧНОЇ МІКРОФЛОРИ

Резюме. *Исследовано влияние хронического социального стресса и модуляции состава кишечной микрофлоры на распределение LMP2 - клеток в лимфоидных структурах подвздошной кишки крыс. Установлено, что развитие социального стресса приводит к увеличению количества LMP2⁺-лимфоцитов, а изменение концентрации LMP2 в иммунных клетках зависит от вида стресса. Введение антибиотика преимущественно увеличивает, а пробиотика почти не влияет на общую плотность популяции LMP2⁺-лимфоцитов при разнонаправленном изменении в них концентрации иммунной субъединицы протеасомы.*

Ключевые слова: стресс, LMP2-клетки, пробиотики, антибиотики.

Топол І.А., Камышний А.М.

EXPRESSION OF IMMUNE PROTEASOME SUBUNITS LMP2 GUT-ASSOCIATED LYMPHOID TISSUE LYMPHOCYTES IN CONDITIONS OF CHRONIC SOCIAL STRESS AND MODULATION OF THE INTESTINAL MICROFLORA

Summary. *It is investigated the influence of chronic social stress and modulation of the composition of intestinal microflora on the distribution of LMP2- cells in the lymphoid structures of the ileum of rats. It is established that the development of CHSS results leads*

to an increase of quantity of LMP2⁺-lymphocytes, but change in concentration of LMP2 depends on the kind of stress in immunopositive cells. Introduction of kanamycin to the stressed rats mainly increases the general quantity of LMP2⁺-lymphocytes, but lactobacterine results doesn't influence on the total density of LMP2⁺- cells in multidirectional changes in these concentrations of the immune proteasome subunits.

Key words: stress, LMP2⁺-lymphocytes, probiotics, antibiotics.

Стаття надійшла до редакції 27.05.2014 р.

Топол Інна Олександрівна - асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету; +38 061 234-26-31, +38 068 446-16-74; innatopol@yandex.ua

Камишний Олександр Михайлович - д. мед. н., доцент, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету; +38 061 234-26-31

© Болгова Т.В., Дубова М.Г., Розова Е.В., Маньковська І.М.

УДК:616.12-02:633.1+576.3:612.2732

Болгова Т.В., Дубова М.Г., Розова Е.В., Маньковська І.М.

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, відділ по вивченню гіпоксичних станів (вул. Богомольця, 4, Київ, 01024, Україна)

МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ СТАНУ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО АПАРАТУ ЛЕГЕНЬ І МІОКАРДА ПРИ РІЗНИХ РЕЖИМАХ ІНТЕРВАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ

Резюме. У даній статті представлені дані морфометричного дослідження стану мітохондрій легень і міокарда щурів за різних режимів інтервальної гіпоксії. Показано, що тритижневе дихання газовою сумішшю із 12% O₂ в N₂ протягом 5 хвилин з 4-разовим чергуванням 15-хвилинного дихання повітрям має більш виражений адаптивний вплив на стан мітохондрій міокарда і легень, ніж трьохтижневий режим дихання із 7% O₂ в N₂ з аналогічною періодичністю.

Ключові слова: мітохондрії, інтервальна гіпоксія, міокард, легені.

Вступ

З моменту відкриття Альтманом біобластів і по сьогоднішній день вивчення організації та функції мітохондрій (Мх) залишається актуальним, оскільки вони відіграють ключову роль в енергетичному гомеостазі, метаболізмі, сигнальних процесах, клітинній загибелі тощо [Cowdry 1953; O'Rourke, 2010].

Кількість, структура і функціональні властивості Мх тісно пов'язані зі специфікою клітини, її метаболічними і сигнальними потребами [Giovanni et al., 2005; Osellame et al., 2012]. Такий зв'язок регулюється низкою факторів транскрипції, які, в свою чергу, є чутливими як до змін енергетичного статусу клітини та її метаболічних потреб, так і до фізіологічного статусу організму [Scarpulla 2008; Whelan, Zuckerbraun, 2013].

За останнє десятиліття було показано, що Мх просторово розміщуються у клітині у вигляді сітки (mt-network) чи поодинокі [Іванченко, Твердохліб, 2013; Giovanni et al., 2005]. Зміни в їх просторовій організації відбуваються як за різних фізіологічних умов, так і при більшості патологічних процесів [Chen, Chan, 2009]. Це обумовлює їх участь у коротко- чи довготривалій адаптивній відповіді (зокрема на гіпоксичний стимул) шляхом регуляції мітохондріальної функції, зміни їх локалізації та просторової організації у клітині, формуванні нових Мх шляхом індукції їх біогенезу [Scarpulla, 2008].

Відомо, що адаптація до гіпоксії на тканинному і клітинному рівнях, головним чином, залежить від молекулярно-генетичних і біохімічних процесів у Мх [Hoppeler et al., 2003]. Інтервальна гіпоксія (ІГ) - це один

із сучасних методів адаптації до гіпоксії, технологія якого була розроблена ще у кінці 70-років ХХ століття Р.Б.Стрелковим і А.Я.Чижовим. Він і сьогодні широко застосовується як нефармакологічний спосіб профілактики і корекції патологічних станів [Колчинская і др., 2003; Serebrovskaya 2002]. Наші попередні дослідження [Розова та ін., 2009; Гончар, Розова 2007] показали наявність вираженої органоспецифічної реакції на ІГ як різних тканин організму, так і їх Мх. У цих роботах було показано, що тип гіпоксії, ступінь зниження PO₂, тривалість та режим гіпоксичного впливу, найбільш ймовірно, визначають характер реакції організму на ІГ - підвищення резистентності чи розвиток патологічних зрушень. Але, необхідні подальші дослідження для встановлення того, чи є тривалість, частота і характер гіпоксичних епізодів факторами, які зумовлюють адаптивний або пошкоджуючий ефект ІГ.

Метою даної роботи було вивчення особливостей ультраструктури та просторової організації Мх легень і міокарда при різних режимах ІГ.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 65 статевозрілих самцях щурів лінії Вістар масою 200-230 г. Тварини були поділені на 6 груп (табл. 1): I група - контрольні інтактні тварини; тварини II групи дихали гіпоксичною газовою сумішшю з 7% O₂ в N₂ протягом 30 хв. Саме такий вміст O₂ у вдихуваній суміші газів дає можливість визначити межі адаптивних можливостей організму як на системному, так і на клітинному рівнях [Розова та ін.,