

11. Kurtz N. // Serotonin 1A Receptors in Depression and Anxiety / Eds S. M. Stahl et al. — New York, 1992. — P. 163—170.
 12. Naumenko E. V., Amstislavskaya T. G., Osadchuk A. V. // Exp. Clin. Endocrinol. — 1991. — Vol. 97. — P. 1—12.
 13. Neale R. F., Fallon S., Boyar W. et al. // Eur. J. Pharmacol. — 1987. — Vol. 136. — P. 1—9.

14. Rodriguez M., Castro R., Hernandez G., Mas M. // Physiol. Behav. — 1984. — Vol. 33, N 1. — P. 5.
 15. Steinbusch H. W. M., Nieuwenhuys R. // Serotonin: Current Aspects of neurochemistry and Function / Eds B. Haber et al. — New York, 1981.

Поступила 19.11.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 616-002-092:612.017.1]-02:613.863]-092.9

С. В. Гейн, Т. А. Симоненко, С. П. Тендрякова

ВЛИЯНИЕ РОТАЦИОННОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА. РОЛЬ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Лаборатории электронной микроскопии и радиоизотопных исследований (зав. — канд. биол. наук Н. С. Чурилова) и экологической иммунологии (зав. — проф. Н. Н. Кеворков) Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, Пермь. Кафедра микробиологии и иммунологии (зав. — акад. РАН В. А. Черешнев) Пермского государственного университета

В эксперименте на беспородных мышцах-самцах изучено влияние блокады δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов в модели ротационного стресса на антителообразование, гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) изменение числа антителообразующих (АОК) и ядросодержащих клеток лимфатических узлов и селезенки при локальной форме иммунного ответа. Выявлено, что ротационный стресс приводил к слабовыраженному угнетению иммунного воспаления при ГЗТ, значительному увеличению числа АОК и ядросодержащих клеток в регионарных лимфатических узлах без изменения титра антител в периферической крови. Блокада δ -, μ -, κ -опиоидных рецепторов налоксоном отменяла эти эффекты стресса. Высказано предположение о том, что отмена стимулирующего влияния ротационного стресса на количество АОК и депрессии ГЗТ может быть связана с блокадой эффектов β -эндорфина и мет-энкефалина, действующих преимущественно через стимуляцию δ -рецепторов.

Experiments on non-inbred male mice used a model of rotational stress to examine the impact of δ -, μ - κ -opiate receptor blockade on antibody formation, delayed-type hypersensitivity (DTH), changes in the count of antibody-forming cells (AFC) and nucleated cells of lymph nodes and spleen during a local immune response. Rotational stress was found to cause a slightly pronounced inhibition of immune inflammation in DTH, a considerable increase in the count of AFC and nucleated cells in the regional lymph nodes, without changing the titers of antibodies from peripheral blood. Naloxone blockade of δ -, μ - κ -opiate receptors abolished these effects of stress. It has been suggested that abolishment of the promoting effect of rotational stress on the count of AFC and on the depression of DTH may be associated with the blockade of effects of β -endorphin and met-enkephalin that act predominantly via stimulation of δ -receptors.

Эндогенные опиоидные пептиды, такие как α -, β -, γ -эндорфины, лей- и метэнкефалины, а также некоторые продукты их эндогенного протеолиза играют важную роль в нейроэндокринной регуляции функций иммунной системы [1, 4, 12, 14, 15]. Влияние этих соединений на функции иммунокомпетентных клеток реализуется через различные типы опиоидных рецепторов [1, 10, 12, 14]. В последние годы большое внимание уделя-

ется изучению стрессозависимых эффектов опиоидных пептидов. Данные литературы, касающиеся этого вопроса, неоднозначны и противоречивы. Большинство авторов склоняются к мнению о том, что опиоидная система является стресслимитирующей [4, 6—8], однако есть данные, свидетельствующие об участии опиоидных пептидов в патогенезе стрессорных повреждений [5]. В разных моделях стресса выраженность иммунных

Таблица 1

Изменение числа АОК и количества ядросодержащих клеток (ЯСК) в органах лимфомеллоидного комплекса на 5-й день иммунного ответа при ротационном стрессе, стрессе на фоне блокады δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов и изолированном введении налоксона

Группа животных	Экспериментальное воздействие	Число животных	Селезенка		Правый лимфатический узел			Левый лимфатический узел	
			число ЯСК на орган, $\cdot 10^6$	\log_{10} числа АОК на орган	число ЯСК на орган, $\cdot 10^6$	индекс изменения числа ЯСК, %	\log_{10} числа АОК на орган	число ЯСК на орган, $\cdot 10^6$	\log_{10} числа АОК на орган
1-я	Контроль	10	292,2 \pm 43,15	1,75 \pm 0,48 (57)	13,9 \pm 1,19	291,14 \pm 58,29	2,69 \pm 0,14 (490)	4,28 \pm 0,71	0,7 \pm 0,2 (5)
2-я	Стресс	10	310,56 \pm 22,53	2,16 \pm 0,49 (145)	17,82 \pm 2,61**	367,65 \pm 73,49	3,33 \pm 0,15* (2142)	4,14 \pm 0,57	0,69 \pm 0,24 (4,7)
3-я	Стресс+ налоксон	10	346,2 \pm 29,99	2,24 \pm 0,51 (175)	11,42 \pm 1,67	216,57 \pm 20,7	2,97 \pm 0,2 (945)	3,68 \pm 0,52	0,41 \pm 0,19 (2,6)
4-я	Налоксон	9	344,67 \pm 46,39	1,81 \pm 0,58 (64)	14,11 \pm 1,71	407,65 \pm 61,01	2,89 \pm 0,26 (783)	3,56 \pm 0,76	0,26 \pm 0,1 (1,8)

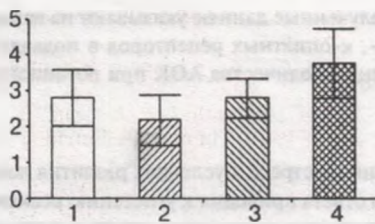
При м е ч а н и е . * — $p < 0,05$ по непарному t-критерию Стьюдента по отношению к контрольной группе; ** — $p < 0,05$ по непарному t-критерию Стьюдента по отношению к 3-й группе.

Индекс изменения числа ЯСК рассчитывали по формуле

$$\text{Индекс} = \frac{A - B}{B} \cdot 100\%,$$

где A — число ЯСК в регионарном (правом подколенном) лимфатическом узле, B — число ЯСК в отдаленном (левом подколенном) лимфатическом узле.

В скобках указана средняя геометрическая (антилогарифм из средней арифметической \log_{10} числа АОК) числа АОК.



Изменения титра антител к нативным эритроцитам барана. По оси ординат — \log_2 титра антител; по оси абсцисс — группа животных.

реакций, индуцируемых опиоидами, определяется силой, продолжительностью, характером и интенсивностью воздействия стрессорного фактора, концентрацией пептидных гормонов и опиоидов, взаимодействием опиоидных пептидов с тем или иным типом рецепторов, а также возможностью неспецифического взаимодействия [4, 15].

Цель данной работы — исследование влияния блокады δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов при ротационном стрессе на показатели клеточно-опосредованного, гуморального иммунитета в условиях развития локальной формы иммунного ответа.

Материалы и методы

Для экспериментального моделирования стресса использовали одночасовую ротационную модель [9]. Участие δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов в стрессорных изменениях показателей клеточного и гуморального иммунитета исследовали в условиях их блокады налоксоном гидрохлоридом. Эксперимент проведен на 40 беспородных мышках-самцах. Животных разделили на 4 группы: 1-я — контрольная, 2-я — часовой ротационный стресс, 3-я — часовой ротационный стресс на фоне блокады δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов налоксоном, 4-я — введение только налоксона. Налоксона гидрохлорид вводили животным подкожно однократно в дозе 0,2 мг/кг массы тела за 20 мин до ротации. При выборе дозы и схемы введения налоксона гидрохлорида учитывали результаты ранее проведенных исследований [3]. После окончания ротации всех животных иммунизировали эритроцитами барана под кожу правой стопы (10^8 клеток в 0,02 мл среды 199). Разрешающую дозу эритроцитов барана (в опытную стопу — 10^9 клеток в 0,02 мл среды 199, в контрольную стопу — 0,02 мл среды 199) вводили на 4-е сутки. На 5-е сутки эксперимента проводили оценку выраженности гуморального и клеточно-опосредованного иммунного ответа, изменения клеточности

регионарного (правого), контралатерального (левого) лимфатических узлов и селезенки.

Интенсивность гуморального ответа на эритроциты барана оценивали по числу антителообразующих клеток (АОК) методом локального гемолиза в геле агарозы [11] и титру антител в периферической крови с помощью реакции активной геммагглютинации.

Выраженность иммунного воспаления при гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) оценивали через 24 ч после разрешающей инъекции антигена путем регистрации толщины и массы опытной и контрольной стопы.

Статистический анализ результатов проводили с использованием непарного t -критерия Стьюдента. Результаты в таблицах и на рисунке представлены в виде средней арифметической и ее стандартной ошибки ($M \pm m$).

Результаты и их обсуждение

Выраженность гуморального иммунного ответа оценивали по титру антител в плазме крови и числу АОК в регионарном и контралатеральном лимфатических узлах, селезенке (табл. 1). Изменение числа АОК в различных отделах иммунной системы у животных контрольной группы свидетельствует о развитии преимущественно локальной формы иммунного ответа. Наибольший уровень АОК был зарегистрирован в правом подкожном лимфатическом узле, незначительное повышение их количества зафиксировано в селезенке, в то время как в левом лимфатическом узле был выявлен фактически фоновый уровень АОК. Среднее число АОК в селезенке оказалось в среднем в 500 раз меньше, чем при системном иммунном ответе [2]. Как видно из рисунка, при стрессе имела место тенденция к снижению титра антител к эритроцитам барана в периферической крови, однако статистически значимых различий в уровне антител у животных разных групп выявить не удалось. Таким образом, при использованной схеме иммунизации развивалась локальная форма иммунного ответа со значительным увеличением числа АОК только в регионарных лимфатических узлах. Межгрупповых различий уровня АОК в селезенке и отдаленном лимфатическом узле не выявлено. Стресс приводил к статистически достоверному увеличению числа АОК в правом лимфатическом узле у животных 2-й группы по сравнению с контрольной. В 3-й группе при стрессе на фоне блокады δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов наблюдали отсутствие стимулирующего влияния стресса на гуморальный иммунный ответ (показатели статистически значимо не отличались от контрольной группы). Изолированное введение налоксона гидрохлорида на количество АОК влияния не оказывало.

Таблица 2

Изменения выраженности иммунного воспаления при реакции ГЗТ на 5-е сутки иммунного ответа при ротационном стрессе, стрессе на фоне блокады μ -, δ -, κ -опиатных рецепторов и изолированном введении налоксона

Группа животных	Экспериментальное воздействие	Число животных	Интенсивность иммунного воспаления			
			по толщине стопы		по массе стопы	
			разница, мм	индекс реакции, %	разница, мг	индекс реакции, %
1-я	Контроль	10	0,99 ± 0,11	45,78 ± 6,38	41,7 ± 6,18	28,17 ± 4,41
2-я	Стресс	10	0,7 ± 0,09*	29,82 ± 3,86*	54,15 ± 5,83	36,94 ± 3,93
3-я	Стресс+налоксон	10	1,02 ± 0,22	46,02 ± 10,26	54,15 ± 5,83	30,84 ± 6,95
4-я	Налоксон	9	0,97 ± 0,22	45,62 ± 12,58	58,67 ± 11,55	37,48 ± 7,95

Примечание. Индекс реакции (ИР) рассчитывали по формуле

$$\text{ИР} = \frac{P_o - P_k}{P_k} \cdot 100\%$$

где P_o — показатели массы и толщины в опытной конечности; P_k — то же в контрольной конечности.

* — $p < 0,05$ по непарному t -критерию Стьюдента по отношению к контрольной группе.

При стрессе у животных 2-й группы наблюдали статистически значимое увеличение числа ЯСК в регионарном лимфатическом узле по сравнению с таковым у животных 3-й группы. Поскольку статистически достоверных различий между 1-й и 3-й группами выявлено не было, можно говорить о том, что блокада δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов налоксоном нивелировала увеличение клеточности правых лимфатических узлов по сравнению со стрессированными животными (2-я группа).

На 5-е сутки эксперимента у животных контрольной группы развивалась выраженная реакция ГЗТ, оценку которой проводили по выраженности локального иммунного воспаления (в табл. 2 она представлена в виде индекса реакции, оцениваемого по изменению размера или массы стопы). Стресс приводил к статистически достоверному снижению выраженности иммунного воспаления по сравнению с контрольной группой по индексу размера, но не по индексу массы. В 3-й группе выраженность ГЗТ статистически достоверно не отличалась от таковой в контрольной группе по показателю индекса как размера, так и массы, что указывает на отмену иммунодепрессивного эффекта стресса налоксоном. Показатели 4-й группы статистически достоверно не отличались от контроля.

В целом представленные выше результаты свидетельствуют о важной роли δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов в развитии иммунодепрессии клеточного звена иммунитета и стимуляции гуморального звена при ротационном стрессе. Известно, что в зависимости от вида стрессорного воздействия реакция опиоидной системы может значительно варьировать — от ярко выраженной при травме и гипертермии до отсутствующей при холодовом стрессе [13]. По данным литературы, концентрация опиоидных пептидов, в частности β -эндорфина, может повышаться в разной степени при различных стрессорных воздействиях; наиболее значительное увеличение его уровня в плазме крови было зарегистрировано при болевом, тепловом, а также операционном стрессе [4]. N-концевой пентапептид β -эндорфина метэнкефалин обладает выраженным сродством к δ -опиоидным рецепторам, и его иммуномодулирующее действие и по характеру и по силе сходно с эффектами β -эндорфина. β -эндорфин в низких концентрациях (10^{-11} — 10^{-13} М) стимулирует антителообразование, снижает экспрессию CD₂ на T-лимфоцитах, а метэнкефалин в концентрации 5 мкг/кг угнетает реакцию ГЗТ [1, 12]. Поскольку одночасовая ротация по степени гормональных сдвигов не столь интенсивный стрессор, как, например, травма или хирургическое вмешательство, то с определенной осторожностью можно предположить, что уровень опиоидов при ротации не достигает своих пиковых значений. На наш взгляд, отмена стимулирующего влияния ротационного стресса на количество АОК и депрессии ГЗТ может быть связана с блокадой эффектов β -эндорфина и метэнкефалина, действующих преимущественно через стимуляцию δ -рецепторов.

В целом полученные данные указывают на важную роль стимуляции δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов в подавлении реакции ГЗТ и повышении количества АОК при ротационном стрессе.

Выводы

1. Ротационный стресс в условиях развития локальной формы иммунного ответа приводил к угнетению реакции ГЗТ и стимуляции гуморального иммунного ответа в регионарных лимфатических узлах.

2. Блокада δ -, μ -, κ -опиатных рецепторов налоксоном отменяла эти эффекты стресса, что указывает на вовлеченность опиоидных механизмов в регуляцию иммунных реакций при ротационном стрессе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гормоны репродукции в регуляции процессов иммунитета / Кеворков Н. Н., Шилов Ю. И., Ширшев С. В., Черешнев В. А. — Екатеринбург, 1993.
2. Зозуля А. А., Пшеничкин С. Ф. // ВИНТИ. Итоги науки и техники. Сер.: Иммунология. — 1990. — Т. 25. — С. 48—120.
3. Кирилина Е. А., Захарова Е. А., Михайлова А. А., Василенко А. М. // Бюл. эксп. биол. — 1990. — Т. 109, № 3. — С. 68—70.
4. Корнева Е. А., Шхинек Э. К. Гормоны и иммунная система. — М., 1988.
5. Крыжановский Г. Н. // Вестн. АМН СССР. — 1985. — № 8. — С. 3—12.
6. Кулинский В. И., Ольховский И. А. // Успехи соврем. биол. — 1992. — Т. 112, вып. 5 (6). — С. 697—714.
7. Ляшев Ю. Д. // Иммунология. — 2000. — № 6. — С. 22—24.
8. Меерсон Ф. З., Пшеничникова М. Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физической нагрузке. — М., 1988.
9. Фомичева Е. Е., Рыбакина Е. Г. // Рос. физиол. журн. 1998. — Т. 84, № 8. — С. 747—753.
10. Harrison L. M., Kastin A. J., Zadina J. E. // Peptides. — 1998. — Vol. 19, N 9. — P. 1603—1630.
11. Jerne N. K., Nordin A. A. // Science. — 1963. — Vol. 140, N 3365. — P. 405.
12. Madden K. S., Felten D. L. // Physiol. Rev. — 1995. — Vol. 75, N 1. — P. 77—106.
13. O'Connor P., Chipkin R. E. // Life Sci. — 1984. — Vol. 35, N 6. — P. 631—639.
14. Salzet M., Vieau D., Day R. // Trends Neurosci. — 2000. — Vol. 23, N 11. — P. 550—555.
15. Vaccarino A. L., Kastin A. J. // Peptides. — 2000. — Vol. 21. — P. 1975—2034.

Поступила 17.07.01