

В ходе автоматической обработки изображений рассчитывались индекс накопления ИРМ в площади исследованной структуры ($E_{\text{ИФ}}/\text{мкм}^2$), и удельной площади ИРМ (%) к nNOS. На основании исследуемых показателей был составлен паттерн экспрессии nNOS в аркуатном ядре гипоталамуса.

Анализ и обсуждение полученных результатов. В ходе проведенного иммуногистохимического исследования распределения nNOS в аркуатном ядре гипоталамуса были установлены следующие особенности. Во-первых, экспрессия ИРМ фермента зависела от принадлежности к определенному компартменту: в тканевом она была слабо выражена, характеризовалась диффузным распределением практически по всему аркуатному ядру, тогда как в сосудистом – иммунореактивный материал располагался локально, чаще в виде единичных интенсивно «светящихся» фрагментов, либо в виде короткой цепочки. Во-вторых, в тканевом компартменте, представленным в основном мелкоклеточными нейронами, nNOS была диффузно распределена преимущественно субмембранно, а в перинуклеарном пространстве ИРМ к ферменту практически не выявлялся. В-третьих, в ядре встречались нейроны с разной интенсивностью экспрессии nNOS среди которых были и клетки его не содержащие. По-видимому, это связано с разными фазами функциональной активности нейронов исследуемой структуры. Сравнительный статистический анализ особенностей распределения nNOS в тканевом и сосудистом компартментах позволил нам установить, что концентрация ИРМ к nNOS в сосудистом компартменте была более чем на 40 % достоверно выше, чем в тканевом. Содержание ИРМ имело обратную динамику – в тканевом превышало показатели сосудистого более чем на 65 %.

Таким образом, проведенные исследования позволяют нам констатировать, что паттерн экспрессии nNOS в аркуатном ядре гипоталамуса характеризуется распределением в двух компартментах сосудистом и тканевом, уровень ее экспрессии зависит от локализации и функциональной активности нейронов.

РІВЕНЬ ЕКСПРЕСІЇ мРНК ГЛЮКОКОРТИКОЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ NR3C1 І β -АДРЕНЕРГІЧНИХ РЕЦЕПТОРІВ ADRB2 У КИШКОВО-АСОЦІЙОВАНІЙ ЛІМФОЇДНІЙ ТКАНИНІ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО СОЦІАЛЬНОГО СТРЕСУ

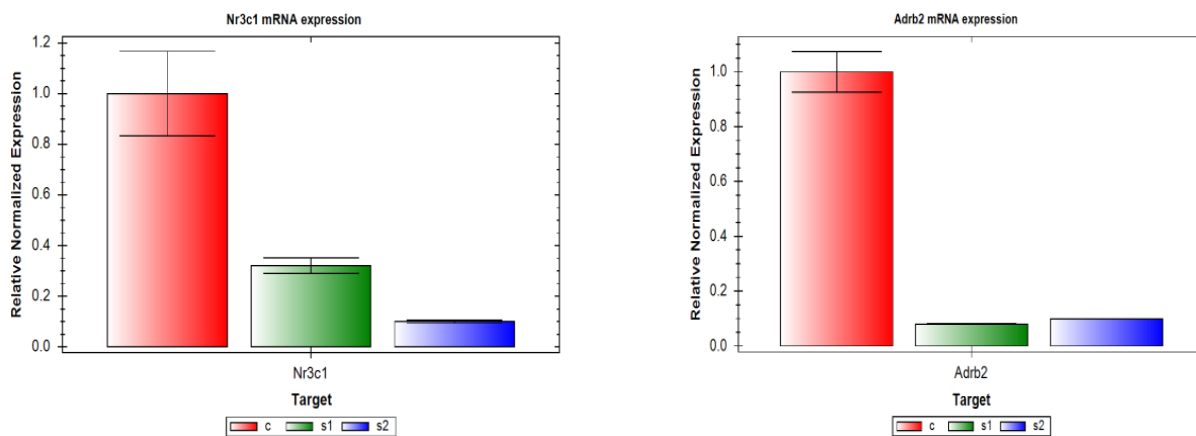
Топол І.О., Камишний О.М.

Запорізький державний медичний університет

Вступ. Хронічний соціальний стрес (ХСС) є невід'ємною частиною сучасного життя. Стрес-індукована імунна дизрегуляція призводить до значних негативних наслідків для здоров'я, збільшуючи ризик розвитку вірусних інфекцій, хронічних автоімунних і запальних захворювань. Головними ефекторними гормонами під час стрес-реакції є глюкокортикоїди (ГК) та катехоламіни (КХ), а зміни рівня експресії їх рецепторів Nr3c1 і Adrb2 можуть призводити до резистентності к ГК та КХ і пояснити превалювання про-запальної сигналізації в умовах ХСС всупереч класичній парадигмі стресу. Відомо, що імунокомпетентні клітини мають рецептори до ГК і КХ. Завдяки цій обставині можливий прямий вплив гормонів і медіаторів на елементи імунної системи та їх участь в регуляції імунної відповіді при ХСС. Тому **метою** даного дослідження було вивчення експресії мРНК NR3C1 і Adrb2 в КАЛТ в умовах ХСС у щурів лінії Wistar.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на самках щурів лінії Wistar, які були розділені на три експериментальні групи: контрольні щури (група 1); щури, яким моделювали ХСС1 шляхом трьохтижневої соціальної ізоляції і тривалого психоемоційного впливу (група 2); щури, яким моделювали ХСС2 шляхом утримання тварин у перенаселених клітках із щоденною зміною угруповання (група 3). Для визначення рівня експресії мРНК генів NR3C1 та Adrb2 проводили ЗТ-ПЛР в реальному часі на ампліфікаторі CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Відносний рівень експресії вищевказаних генів оцінювали за методом $\Delta\Delta C_t$, нормалізуючи за референс-геном GAPDH. Статистичну обробку отриманих даних виконували з використанням пакета прикладних програм «Bio-Rad CFX Manager 3.1» (Bio-Rad, США).

Результати. Дослідження експресії Nr3c1 та Adrb2 в КАЛТ клубової кишки показало, що розвиток ХСС призводив до значного зниження вмісту мРНК досліджуваних генів (Nr3c1 - в 3,1 рази ($p < 0,05$) при ХСС1 та в 10 разів ($p < 0,01$) при ХСС2 (Рис. 1А); Adrb2 - в 12,5 разів ($p < 0,02$) при ХСС1 та в 10,1 разів ($p < 0,01$) у випадку ХСС2 (Рис. 1Б)) порівняно з контрольною групою щурів.



А.

Б.

Рис.1. Відносна нормалізована кількість кДНК гена глюкокортикоїдних рецепторів *Nr3c1* (А) та β 2-адренергічного рецептора *Adrb2* (Б) в клітинах КАЛІТ. Нормалізація за методом $\Delta\Delta C_t$ з геном GAPDH. c-контроль; s1-ХСС1; s2-ХСС2.

Висновок. Проведені дослідження показали, що хронічний соціальний стрес суттєво знижує транскрипційну активність генів *Nr3c1* та *Adrb2* що, відповідно, нівелює імуносупресивні ефекти ГК, впливає на характер диференціювання лімфоцитів та визначає підвищений ризик розвитку запальних та АІЗ.

СИНТАЗЫ В МИОКАРДЕ КРЫС ЛИНИИ WISTAR

Федотова М.И.

Запорожский государственный медицинский университет

Актуальность темы. Нейрональная NO-синтаза (nNOS) участвует в важных физиологических процессах, происходящих в миокарде. nNOS, по данным большинства исследователей, локализуется в саркоплазматическом ретикулуме. Она участвует в циклическом перемещении Ca^{2+} в ретикулуме и играет главную роль в осуществлении сопряжения возбуждения с сокращением. Кроме этого эта изоформа ограничивает активность ксантиноксиредуктазы (XOR), которая является главным источником супероксиданиона (O_2^-) в нем. Синтезируемый ею NO облегчает циклические перемещения Ca^{2+} и увеличивает сократимость миокарда. При возникновении дисфункции миокарда происходит транслокация nNOS из саркоплазматического ретикулума в сарколемму.

Целью нашего исследования было изучить физиологические особенности экспрессии NOS-1 в миокарде интактных крыс линии Вистар.

Методы исследования: Исследование образцов миокарда для иммуногистохимического исследования от 10 крыс проводилось в ультрафиолетовом спектре возбуждения с помощью светофильтра 38HE с высокой эмиссией на микроскопе AxioImager-M2. Изображения, полученные с видеокамеры AxioCam-5HRm, записывались в виде компьютерного файла с последующей обработкой системой цифрового анализа AxioVision 4.8.2. В автоматическом режиме выделялись зоны со статистически значимой флуоресценцией nNOS с расчетом следующих параметров: площади иммунореактивной материала (%), что отражает интенсивность ее экспрессии в миокарде и интенсивность флуоресценции иммунореактивного материала, что отражает концентрацию фермента в миокарде. Отдельно анализировалась распространенность nNOS в миокардиоцитах и периваскулярном пространстве сосудов миокарда.

Анализ полученных результатов: Проведенные исследования позволили нам установить, что nNOS в миокарде в физиологических условиях широко представлена преимущественно в периваскулярном пространстве и внутрисосудисто. В миокардиоцитах также была установлена статистически значимая флуоресценция к nNOS, при этом экспрессия фермента выявлялась непосредственно субмембранно в виде мелких глыбок либо дисперсно. Проведение количественного анализа паттерна распределения nNOS среди миокардиоцитов и межклеточного пространства позволило нам установить, что 84 % значимой флуоресценции наблюдалось в сосудистом и периваскулярном пространствах, тогда как в кардиомиоцитах, соответственно, составляло 16 %.