

Российская академия медицинских наук
Сибирское отделение
ГУ Научно-исследовательский институт клинической иммунологии

**ИММУНОЛОГИЯ,
ИММУНОГЕНЕТИКА,
ИММУНОПАТОЛОГИЯ**

*Материалы 6-й отчетной конференции
ГУ НИИКИ СО РАМН*

Под редакцией:

Замдиректора ГУ НИИКИ СО РАМН по научной работе
члена-корреспондента РАМН, профессора В. И. Коненкова

*Scientific report 2003
Institute of Clinical Immunology
Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences*

Новосибирск
2003

СДВИГ БАЛАНСА O_2^- / H_2O_2 ПОТЕНЦИРУЕТ АПОПТОЗ ТИМОЦИТОВ, ВЫЗВАННЫЙ ГЛЮКОКОРТИКОИДАМИ

Персиянова В. О., Вольский Н. Н.

Ранее нами была предложена гипотеза о том, что активность различных антиоксидантных ферментов (таких как супероксиддисмутаза и каталаза) может играть существенную роль в выборе программы клеточной реакции в ответ на активацию. Из этого предположения следует, что повышенная активность супероксиддисмутазы, превращающей супероксидный радикал (O_2^-) в перекись водорода (H_2O_2), должна тормозить пролиферативные реакции клеток и способствовать развитию апоптоза.

Чтобы проверить это предположение, мы исследовали влияние $Cu(Lys)_2$ – хелата меди с супероксиддисмутазной активностью – на интенсивность апоптоза тимоцитов, индуцированного добавлением дексаметазона ($100 \mu M$). Эксперименты проводились на тимоцитах мышей (CBA \times C57Bl)F₁, которые инкубировались в течение 6-24 часов в среде, содержащей 20% эмбриональной телячьей сыворотки. Из литературы известно, что высокие концентрации сыворотки в среде инкубации защищают клетки от развития апоптоза, и действительно, в таких экспериментальных условиях интенсивность дексаметазон-индуцированного апоптоза была низкой: даже через 24 часа инкубации с дексаметазоном количество жизнеспособных клеток составляло 30-60% от контроля (инкубация клеток без дексаметазона).

Добавление в среду инкубации $Cu(Lys)_2$ (в концентрации $50 \mu M$) потенцировало эффект глюкокортикоида, увеличивая интенсивность апоптоза в пробах с дексаметазоном. В пробах, инкубированных с дексаметазоном и $Cu(Lys)_2$, количество жизнеспособных клеток через 6, 9 и 24 часа было в среднем достоверно ниже, чем в пробах, инкубированных только с дексаметазоном (на 18%, 16% и 11% соответственно). В пробах без дексаметазона $Cu(Lys)_2$ также на 13% увеличивал интенсивность «спонтанного» апоптоза тимоцитов.

Полученные данные подтверждают прогнозируемый нами про-апоптотический эффект супероксиддисмутазы, связанный со сдвигом соотношения O_2^- / H_2O_2 в клетках в сторону преобладания перекиси водорода. В литературе уже давно высказывались предположения о том, что гипоплазия тимуса и усиленный апоптоз тимоцитов, наблюдаемые у больных с синдромом Дауна, объясняются гиперэкспрессией гена Cu,Zn-супероксиддисмутазы, расположенного на 21-й хромосоме. Показано, что у мышей Ts65Dn, в геном которых введен дополнительный ген Cu,Zn-супероксиддисмутазы, наблюдаются характерные для синдрома Дауна нарушения. Кроме того, CD4-CD8⁻ тимоциты таких мышей были более чувствительны к развитию апоптоза, индуцированного введением ЛПС и дексаметазона, что сопровождалось повышенным содержанием H_2O_2 в клетках. С другой стороны, как было обнаружено нами ранее, снижающая концентрацию H_2O_2 каталаза ингибирует апоптоз тимоцитов мыши, вызванный глюкокортикоидами.

Таким образом, и литературные данные, и полученные нами результаты свидетельствуют в пользу того, что, изменяя активности супероксиддисмутазы и каталазы в иммунокомпетентных клетках, можно регулировать направление и интенсивность клеточных реакций в ответ на активационные стимулы.

CHANGE OF O_2^- / H_2O_2 BALANCE POTENTIATES GLUCOCORTICOID-INDUCED THYMOCYTE APOPTOSIS

Persianova V. O., Volsky N. N.

Previously we have suggested a hypothesis that activity of different antioxidant enzymes (such as a superoxide dismutase and catalase) can play an essential role in choice of cell reaction program in response to activation. It follows from this suggestion that elevated activity of superoxide dismutase which converts superoxide anion (O_2^-) into peroxide (H_2O_2) has to decrease cell proliferation and promote apoptosis.

To check this suggestion we examined influence of $Cu(Lys)_2$ (copper helate with superoxide dismutase activity) upon intensity of thymocyte apoptosis induced by dexamethasone (100 μM). The thymocytes of (CBA \times C57Bl6) F_1 mice have been incubated in culture medium with 20% FCS for 6, 9 and 24 hours. It's known that high FCS concentration in incubation medium protects cell against apoptosis. Indeed, intensity of dexametasone-induced apoptosis was low in these experimental conditions:

number of viable cells has been 30-60% vs control (cells without dexametasone) even after 24 hours of incubation with dexametasone.

Adding of 50 μM $\text{Cu}(\text{Lys})_2$ to the incubation medium potentiates the effect of glucocorticoid: apoptosis intensity has been increased in these probes. Number of viable cells in probes with $\text{Cu}(\text{Lys})_2$ and dexametasone after 6, 9 and 24 hours has been lower than ones in probes with only dexametasone (by 18%, 16% and 11%, accordingly; $p < 0,05$). Intensity of «spontaneous» thymocyte apoptosis has been increased by 13% in probes with only $\text{Cu}(\text{Lys})_2$ also.

Received data confirm predicted proapoptotic effect of superoxide dismutase which is connected with the change in cellular relationship between O_2^- and H_2O_2 toward peroxide predominance. Long ago it was presupposed in literature that thymus hypoplasia and enhanced thymocyte apoptosis in patients with Down's syndrome can be explained by hyperexpression of Cu,Zn-superoxide dismutase gene located in chromosome 21. It was shown that the typical for Down's syndrome disturbances are observed in Ts65Dn mice with additional Cu,Zn-superoxide dismutase gene. Besides CD4-CD8-thymocytes of these mice were more susceptible to dexametasone- and LPS-induced apoptosis and these events were accompanied by increased contents of H_2O_2 within cells.

Thus, both literature data and our results support for the view that a changing of superoxide dismutase and catalase activities can regulate the direction and the intensity of cell reactions in response to activating stimuli.