УДК 593.96: 577.15

ИЗМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОЦИТОВ И МОРУЛЯРНЫХ КЛЕТОК ГОЛОТУРИИ EUPENTACTA FRAUDATRIX ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ КЛЕТОК И ИХ МОДУЛЯЦИЯ ДЕКСАМЕТАЗОНОМ

Долматова Л.С., Уланова О.А.

ФГБУН «Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева» Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, e-mail: olga_shitkova@mail.ru

Проведено исследование изменений активности антиоксидантных ферментов каталазы, глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы в фагоцитах (Ф1) или морулоподобных клетках (МК) голотурии *Eupentacta fraudatrix* при воздействии на клетки одного типа среды преинкубации клеток другого типа, преинкубированных с дексаметазоном (100 мкМ) или фосфатно-солевым буфером. Установлено, что изменения активности антиоксидантных ферментов в клетках-мишенях зависели как от времени преинкубации клеток-продуцентов, так и времени инкубации клеток-мишеней. Разнонаправленность изменений активности ферментов в двух типах клеток-мишеней свидетельствовала о разных механизмах их регуляции, что, по-видимому, обеспечивает взаимное ограничение избыточной функциональной активности клеток при их взаимодействии. Преинкубация клеток-продуцентов с дексаметазоном модулировала эффекты гуморальных продуктов при межклеточном взаимодействии, снижая уровень антиоксидантной ферментной защиты в фагоцитах и, напротив, стимулируя его рост в МК, что в целом может менять направленность иммунного ответа. Полученные данные указывают на возможность гуморальной регуляции иммунного ответа у голотурий и могут быть использованы при его моделировании.

Ключевые слова: взаимодействие клеток, иммунитет голотурий, антиоксидантные ферменты, дексаметазон

VARIATIONS IN ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES OF PHAGOCYTES AND MORULAR CELLS OF THE HOLOTHURIAN EUPENTACTA FRAUDATRIX DURING CELL INTERACTION AND THEIR MODULATION WITH DEXAMETHASONE

Dolmatova L.S., Ulanova O.A.

Ilichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, e-mail: olga_shitkova@mail.ru

Variations in activities of antioxidant enzymes catalase, glutathione reductase, and glutathione-S-transferase in phagocytes (P1) or morula cells (MC) of holothurian *Eupentacta fraudatrix* which were exposed to humoral products from each other preincubation medium were studied at presence of dexamethasone (100 μM) or phosphate-buffered saline in preincubation medium. It was shown that the changes in antioxidant enzyme activities in target cells depended both on time of preincubation of signaling cells and time of incubation of target cells with humoral products. The different trends in enzyme activity variations in two cell types studied indicate that their enzymes are regulated by different mechanisms. These provide for a reciprocal limitation of excess functional activity of the cells during their interaction. Signaling cell preincubation with dexamethasone modulated effects of humoral products on target cells as follows: decreased the level of antioxidant enzyme defence in P1, and, on the contrary, stimulated it in MC. This indicates that hormone can change the direction of immune response. The data obtained prove the possibility of hormonal regulation of immune response in holothurians and may be used in developing cell model for its studies.

Keywords: cell interaction, holothurian's immunity, antioxidant enzymes, dexamethasone

Исследования на позвоночных показали, что взаимодействие клеток в процессе иммунного ответа имеет важное значение для его выраженности и точности [3]. У беспозвоночных кооперация клеток изучена меньше, прежде всего из-за представлений о примитивности их иммунной системы. Однако иглокожие, являясь одними из низкоорганизованных животных, занимают особое место среди беспозвоночных, так как находятся в основании древа Deuterostomia, к которому относятся и позвоночные. Ключевую роль в иммунных реакциях иглокожих играют циркулирующие клетки – целомоциты, наиболее многочисленными из которых являются фагоциты и морулярные клетки [5]. Фагоциты иглокожих, подобно макрофагам позвоночных, фагоцитируют и инкапсулируют антигены. Морулярные клетки синтезируют ряд гуморальных факторов защиты, участвуют в инкапсулировании чужеродных микроорганизмов, в заживлении ран и регенерации. У голотурий (Echinodermata, Holothuroidea) показана возможность взаимодействия между отдельными типами иммуноцитов (фагоцитами и морулярными клетками) на гуморальном уровне [15], однако механизмы этого взаимодействия и их регуляции остаются недостаточно исследованными.

Активные формы кислорода (АФК) рассматриваются в настоящее время как

важные физиологические молекулы, участвующие во внутри- и межклеточной передаче сигнала [13]. При этом в фагоцитах позвоночных высокий уровень АФК в процессе иммунного ответа строго контролируется и «уравновешивается» высокой активностью антиоксидантных ферментов. Один из основных ферментов, детоксицирующих АФК, – каталаза (КФ 1.11.1.6), которая обезвреживает образовавшуюся H_2O_2. Важную роль в поддержании в клетке пула восстановленного глутатиона, который является важным неферментативным антиоксидантом, играет глутатионредуктаза (ГР, КФ 1.6.4.2). В свою очередь, глутатионтрансферазы (ГТ, КФ 2.5.1.18) осуществляют детоксикацию организма от ксенобиотиков, а также собственных метаболитов, в том числе продуктов пероксидации липидов, с участием восстановленного глутатиона.

Сдвиг в оксидантно-антиоксидантном балансе клетки является важным фактором, через который осуществляют свое регуляторное иммуносупрессорное действие у позвоночных глюкокортикоидные гормоны, при этом ключевое значение имеет изменение в клетках уровня перекиси водорода [8]. Стероидные гормоны обнаружены и у иглокожих [10]. При этом исследование влияния синтетического глюкокортикоидного гормона дексаметазона (Д) на иммунитет голотурии *Eupentacta fraudatrix* показало, что он оказывал апоптозмодулирующее действие при взаимодействии фагоцитов и морулоподобных клеток [15].

Цель работы – исследование изменений активности антиоксидантных ферментов фагоцитов и морулоподобных клеток голотурии *E. fraudatrix* при их взаимодействии на уровне гуморальных продуктов, синтезированных в отсутствие и в присутствии дексаметазона.

Материал и методы исследования

Голотурии *E. fraudatrix* (длина тела 35–70 мм) собраны в заливе Петра Великого осенью и зимой 2008 г. До начала экспериментов они находились в аквариуме с проточной аэрируемой морской водой в течение 2–4 недель.

Животных надрезали с помощью скальпеля, целомическую жидкость отбирали и добавляли в сосуд с антикоагулирующим раствором [5] в соотношении объемов 1:2. Образцы от трех-пяти (для последующей преинкубации клеток) или 15–40 животных (для последующей инкубации клеток) объединяли для центрифугирования. Получали фракции, обогащенные морулярными клетками (МК) и фагоцитами (фракция 1, Ф1), центрифугированием в ступенчатом градиенте фиколла-верографина, как описано ранее [15].

Эксперимент осуществлялся в два этапа и в двух повторностях. На первом (преинкубация) клетки инкубировали в течение 3 или 24 ч с фосфатно-солевым буфером (pH 7,6) с добавлением 36 г/л NaCl (ФСБН) или дексаметазона (100 мкМ), после чего отделяли среду преинкубации центрифугированием. На втором этапе (инкубация) полученные супернатанты Ф1, преинкубированных с дексаметазоном 24 ч (С(Ф1 + Д)24) или с ФСБН 24 ч (СФ1-24), добавляли к суспензиям свежевыделенных МК в объемном соотношении 1:1. Полученные супернатанты МК, преинкубированных с дексаметазоном 24 ч (С(МК + Д)24) или ФСБН в течение 3 ч (СМК3), или 24 ч (СМК24), аналогичным образом добавляли к свежевыделенным Ф1. В контрольные лунки добавляли ФСБН. Инкубацию проводили в течение 30 мин, 18 и 24 ч при температуре 22 °С. Пробы для последующего определения активности антиоксидантных ферментов замораживали в жидком азоте. Перед измерением активности ферментов к суспензии размороженных клеток добавляли фенилметилсульфонилфторид в концентрации 1 мМ и разрушали клетки ультразвуком (УЗДН-1, Россия) 22 кГц·100 с (5 раз по 20 с), 0 °С. Для получения безъядерного супернатанта образцы центрифугировали при 1000 g в течение 6 мин. Активность антиоксидантных ферментов каталазы, ГР и ГТ измеряли спектрофотометрическими методами, как описано ранее [6]. Определение концентрации белка в пробах производили окраской Кумасси-G250. Расчет активности антиоксидантных ферментов проводили по результатам не менее чем двух параллельных измерений.

Полученные данные (средние значения ± средняя ошибка измерений) анализировали с использованием непарного t теста (программное обеспечение INSTAT-3, GraphPad Software). Разницу между группами считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Добавление СМК3 вызывало в Ф1 через 30 мин или 18 ч инкубации снижение активности каталазы на 13 и 63 % соответственно, по сравнению с контролем (рис. 1, а). Добавление же СМК24 достоверно не влияло активность фермента в Ф1 через 30 мин, но стимулировало его активность через 24 ч инкубации на в 1,4 раза по сравнению с контролем (рис. 1, а).

Таким образом, действие продуктов из МК зависело как от времени преинкубации МК, так и от времени инкубации СМК с Ф1. При этом с увеличением времени преинкубации МК с 3 до 24 ч ингибирующий эффект супернатанта МК на активность каталазы в Ф1 сменялся на противоположный.

По-видимому, снижение активности каталазы в Ф1 во время инкубации с СМК3 связано с ингибирующим действием присутствующих в СМК3 гуморальных веществ, продуцированных в МК во время инкубации в стрессовых для клеток голотурий температурных условиях (22 °С). МК не обладают способностью к респираторному взрыву, но являются продуцентами ИЛ-1α-подобных веществ (ИЛ-1α-ПВ), повышение уровня которых в Ф1 отмечено в первые 30 мин воздействия гуморальных продуктов из МК, преинкубированных в течение 24 ч [15].

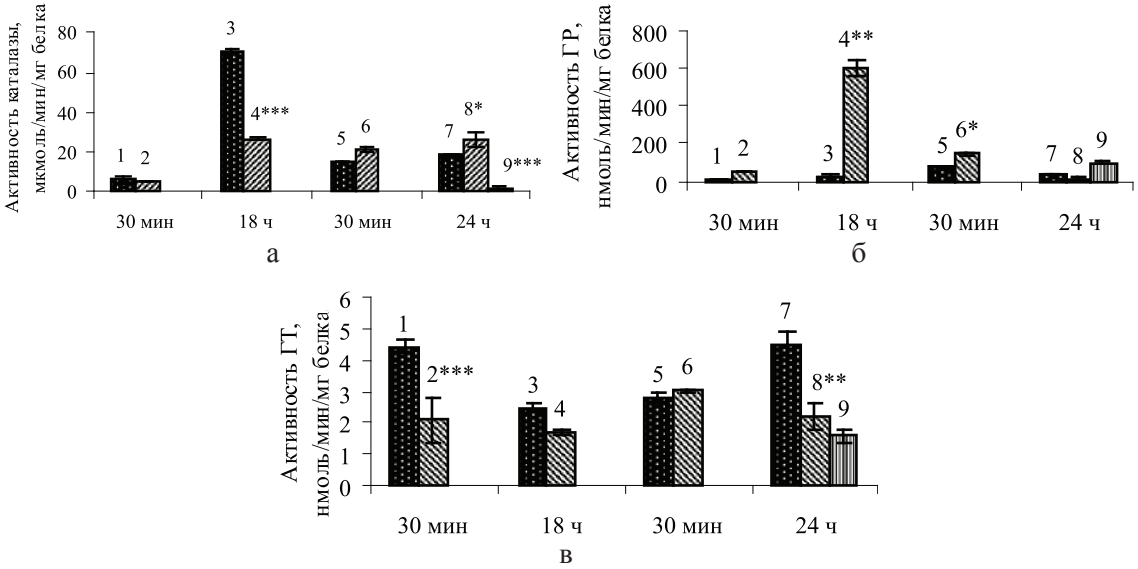

Рис. 1. Изменение активности каталазы (а), ГР (б) и ГТ (в) в фагоцитах при инкубации с супернатантом морулоподобных клеток:
1, 3, 5, 7 – контроль; 2, 4 – супернатант морулоподобных клеток, преинкубированных 3 ч; 6, 8 – супернатант морулоподобных клеток, преинкубированных 24 ч; 9 – супернатант морулоподобных клеток, преинкубированных 24 ч с дексаметазоном, 100 мкМ.
*Примечания: * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 по сравнению с контролем*

На возможность опосредованного воздействия цитокиноподобных веществ из МК на активность антиоксидантных ферментов в фагоцитах указывают и данные работы [4], показавшие, что морулярные клетки асцидий (хордовые) через синтезируемые ими цитокиноподобные вещества стимулировали респираторный взрыв в фагоцитах. Учитывая эти факты, можно предположить, что одними из гуморальных продуктов, модулирующих активность каталазы в Ф1, могут быть ИЛ-1α-ПВ. Линейный характер зависимости активности фермента от времени инкубации и достижение значимых изменений активности при увеличении времени инкубации Ф1 с гуморальными продуктами из МК до 24 ч указывает на то, что действие этих веществ в Ф1 осуществлялось, по-видимому, по аналогии с действием ИЛ-1α у позвоночных, через индукцию ядерных факторов, поскольку осуществление ядерных эффектов требует достаточно длительного времени [7]. При этом разница в действии СМК3 и СМК24 на активность каталазы в Ф1 может быть связана с различным уровнем ИЛ-1α-ПВ в супернатантах, полученных в разные сроки преинкубации МК, поскольку известно, что эффект действия цитокинов зависит от концентрации [2]. Сопоставление данных работы Zaika, Dolmatova [15] о развитии апоптоза в Ф1 при воздействии СМК3 и, напротив, снижении при воздействии СМК24 свидетельствуют о том, что изменения активности каталазы в Ф1, продемонстрированные в настоящей работе, соответствуют представлениям о защитной роли этого фермента в процессе апоптоза.

В пользу этого предположения свидетельствуют и данные о том, что преинкубация МК с дексаметазоном привела к снижению активности каталазы в Ф1 при 24 ч воздействии С(МК + Д)24 на 88 % по сравнению с контролем (рис. 1, а). При тех же условиях эксперимента, как показано ранее [15], С(МК + Д)24 стимулировал апоптоз в Ф1. Известно, что дексаметазон модулирует синтез цитокинов в клетках [1], и H_2O_2 играет ключевую роль в передаче индуцированного дексаметазоном апоптотического сигнала [8]. По-видимому, и в настоящем эксперименте преинкубация МК с дексаметазоном, через изменения в синтезе цитокинов в этих клетках, приводила к стимуляции синтеза H_2O_2 в Ф1 на фоне снижения активности каталазы.

Активность другого антиоксидантного фермента – ГР – возрастала в Ф1 в 6 и 23 раза после 30 мин или 18 ч инкубации с СМК3, соответственно, по сравнению с контролем (рис. 1, б). Такой рост активности фермента, как и снижение активности каталазы, по-видимому, связан со стресс-индуцированным ростом продукции АФК в Ф1 под влиянием гуморальных продуктов из МК и расходованием восстановленного глутатиона, на восполнение которого и направлена работа фермента, субстратом для

которого является окисленный глутатион. Однако с увеличением времени преинкубации МК до 24 ч, направленность изменений в Ф1 при воздействии супернатанта МК менялась: при 30 мин инкубации с СМК24 активность ГР возрастала в 2 раза, при 24 ч – напротив, снижалась в 2,3 раза. По-видимому, такие изменения активности фермента связаны со снижением расходования восстановленного глутатиона при воздействии гуморальных продуктов из СМК24 в течение 24 ч – срока инкубации, по-видимому, за счет активации каталазы. При добавлении же к Ф1 С(МК + Д)24 активность фермента росла в 2,8 раза по сравнению с контролем, что сходным образом находит объяснение в снижении уровня восстановленного глутатиона на фоне снижения активности каталазы.

Активность ГТ при инкубации Ф1 с СМК3 в течение 30 мин или 18 ч снижалась на 52 и 32 % соответственно, что также указывает в пользу предположения о росте уровня АФК и снижении уровня восстановленного глутатиона в Ф1 при воздействии гуморальных продуктов из МК. Можно предполагать, что именно развитие оксидантного стресса является причиной развития апоптоза в Ф1 при воздействии СМК3 [15]. Однако через 30 мин инкубации Ф1 с СМК24 активность ГТ практически не изменялась, а через 24 ч – даже снижалась на 51 % по сравнению с контролем, по-видимому, в связи со значительным снижением уровня АФК в результате активации каталазы и переходе клетки на другой уровень оксидантно-антиоксидантного баланса. При воздействии же С(МК + Д)24 активность ГТ снижалась еще больше, на 64 %, что коррелировало со снижением активности каталазы, по-видимому, уже за счет роста уровня АФК.

Полученные результаты подтверждают полученные ранее данные о способности гуморальных продуктов из МК, преинкубированных в стрессовых условиях инкубации (температура 22 °С), влиять на функциональный ответ фагоцитов [15]. Так, снижение активности каталазы и ГТ и рост активности ГР, которое происходило уже через 30 мин инкубации и в дальнейшем находилось в прямой зависимости от времени инкубации Ф1 с СМК3 (за исключением ГТ), свидетельствует о росте уровня АФК, по-видимому, в результате «респираторного взрыва» и функциональной активности фагоцитов. И, напротив, рост активности каталазы и снижение активности ГР при воздействии СМК24 с возрастанием времени инкубации до 24 ч указывает на снижение функциональной активности Ф1, сопровождающимся снижением в них продукции АФК. Вариации активности ГТ, как и ГР, свидетельствовали о том, что изменения уровня восстановленного глутатиона связаны с изменениями уровня АФК в Ф1, при этом отсутствие прямой корреляции между активностью ГТ и каталазы в некоторые периоды инкубации свидетельствует о том, что активность ГТ зависела от уровня не только АФК, но и, по-видимому, других метаболитов. При этом процесс влияния МК на Ф1 может модулироваться дексаметазоном, преинкубация МК с которым вызывает обратный эффект на активность антиоксидантных ферментов каталазы и ГР и, по-видимому, функциональную активность Ф1, вызывая ее стимуляцию через 24 ч инкубации.

При обратном влиянии, СФ1 на МК, 30 мин инкубация МК с СФ1-24 сопровождалась снижением активности каталазы на 73 % (рис. 2, а), а 24 ч инкубация, напротив, способствовала увеличению активности фермента в 1,9 раз по сравнению с контролем. При добавлении в среду инкубации Ф1 дексаметазона активность каталазы в МК, проинкубированных 24 ч с С(Ф1 + Д)24 возрастала еще более – в 6 раз по сравнению с контролем.

По-видимому, снижение активности каталазы через 30 мин связано с развитием в МК оксидантного стресса, вызванного повышением уровня АФК, продуцируемых Ф1, в окружающей МК среде инкубации, поскольку известно, что в самих Ф1 через 30 мин инкубации при повышенной температуре развивался апоптоз [15].

Возможность регуляции взаимодействия иммунных клеток позвоночных через выделяемые клетками АФК описана Sabbione et al. [12], которые показали, что нейтрофилы могут модулировать ответ Т-лимфоцитов, используя в качестве сигнальных молекул продуцируемые ими АФК.

И, напротив, рост активности каталазы через 24 ч происходил, по-видимому, в ответ на снижение уровня оксидантного стресса, индуцированного гуморальными продуктами из Ф1, в которых во время 24 ч преинкубации происходило снижение уровня апоптоза, как показано ранее [15], что, по-видимому, сопровождалось снижением уровня АФК в среде инкубации МК. Вместе с тем сравнение полученных результатов с ранее полученными данными о том, что воздействие СФ1 через 30 мин инкубации вызывало в МК снижение уровня апоптоза, а через 24 ч, напротив, стимулировало его рост по сравнению с контролем [15], свидетельствует о том, что в данных, условиях каталаза не оказывала защитного эффекта в отношении развития апоптоза.

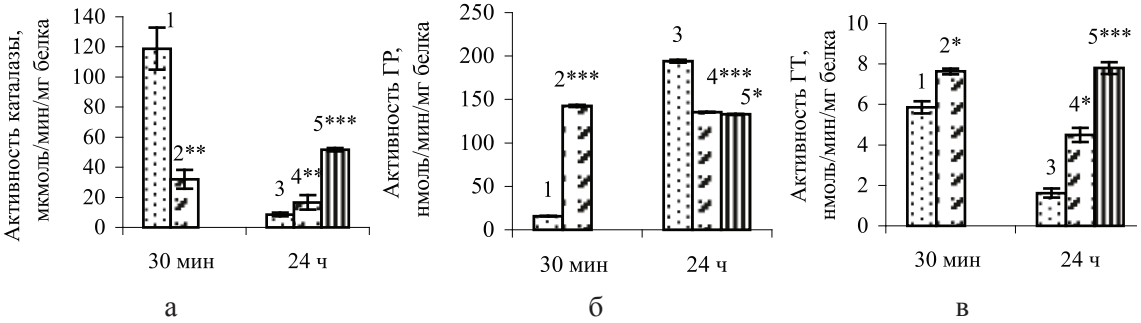

Рис. 2. Изменение активности каталазы (а), ГР (б) и ГТ (в) в морулоподобных клетках при инкубации с супернатантом фагоцитов:
1, 3 – контроль; 2, 4 – супернатант фагоцитов, преинкубированных 24 ч;
5 – супернатант фагоцитов, преинкубированных 24 ч с дексаметазоном, 100 мкМ.
*Примечания: * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 по сравнению с контролем*

По-видимому, развитие апоптоза в МК при воздействии гуморальных продуктов из Ф1 могло происходить по независимым от внутриклеточных АФК путям. В то же время известно, что цитокины могут как повышать, так и снижать уровнь апоптоза, при этом их антиапоптотическое действие на ранних стадиях инкубации может осуществляться независимо от их влияния на NF-kappaB, через антиапоптотическую протеинкиназу Akt [11]. Это свидетельствует о возможной роли ИЛ-1α-ПВ как внутриклеточного медиатора влияния АФК, продуцированных в Ф1, на МК.

При этом ключевую роль в развитии апоптоза могла играть не перекись водорода, а оксид азота (NO), синтез которого зависит от уровня цитокинов и для которого показана возможность как антиапоптотического действия через Akt, так и проапоптотического [14]. Кроме того, механизмы воздействия на сигнальные системы NO и АФК могут быть независимы [9]. Активность каталазы в МК при воздействии супернатантов Ф1 возрастала еще более, в 6 раз по сравнению с контролем, если Ф1 были преинкубированы с дексаметазоном (рис. 2, а). Поскольку ранее было показано, что в самих Ф1 24 ч преинкубация с дексаметазоном приводила к росту уровня апоптоза, и С(Ф1 + Д)24 также стимулировал рост апоптоза в МК, получает подтверждение предположение, что развитие апоптоза в МК индуцируется АФК, продуцируемыми Ф1, но АФК не являются внутриклеточными медиаторами апоптоза в этих клетках.

Активность ГР в МК изменялась противоположно изменениям активности каталазы (рис. 2, б): добавление СФ1-24 значительно стимулировало рост активности фермента (в 9 раз по сравнению с контролем) в МК через 30 мин инкубации, а через 24 ч инкубации наблюдалось, напротив, ингибирование фермента – на 30 % по сравнению с контролем. Воздействие С(Ф1 + Д)24 на активность фермента в МК не отличалось от действия СФ1-24. В целом это свидетельствует в пользу предположения о ведущей роли изменений в уровне H_2O_2 и, соответственно, активности каталазы, в механизмах воздействия на антиоксидантную ферментную систему в МК гуморальных продуктов из Ф1, при модуляции их синтеза дексаметазоном.

Добавление СФ1-24 к МК через 30 мин инкубации приводило к увеличению активности ГТ на 28 %, а через 24 ч – увеличивало ее в 1,8 раза по сравнению с контролем. Изменения активности ГТ через 24 ч инкубации позитивно коррелировали с изменениями активности каталазы. Добавление к МК С(Ф1 + Д)24 еще в большей степени увеличивало активность фермента – в 4,9 раз по сравнению с контролем. Опережающие изменения в активности каталазы по сравнению с активностью ГТ подтверждают ведущую роль каталазы в изменениях антиоксидантной ферментной системы в МК, свидетельствуя в пользу представлений о том, что именно H_2O_2, продуцируемая Ф1, играла роль межклеточного медиатора.

Результаты исследования указывают на то, что эффект клеток-продуцентов на клетки мишени зависел от функционального состояния как первых, так и вторых. При этом сравнение данных, полученных при изучении взаимодействия двух типов клеток при 24 ч сроке преинкубации клеток-продуцентов, свидетельствует о том, что Ф1 и МК действовали на антиоксидантную ферментную защиту своих клеток-мишеней при длительной инкубации (24 ч) противоположным образом: воздействие СМК на Ф1 вызывало преимущественно стимуляцию антиоксидантной ферментативной защиты в течение всего периода инкубации, а при воздействии СФ1 на МК отмечено первоначальное (30 мин) снижение

активности каталазы на фоне роста активности глутатион-зависимых ферментов, с последующим, к 24 ч, ростом антиоксидантной ферментативной защиты. При этом сравнение с данными работы Zaika, Dolmatova [15] показывает, что если в Ф1 уровень антиоксидантной ферментной защиты влиял на развитие апоптоза, то в МК – нет. Эти результаты указывают на наличие различных регуляторных внутриклеточных механизмов апоптоза в этих двух типах клеток, предположительно, H_2O_2-зависимые в Ф1 и NO-зависимые – в МК. Полученные данные свидетельствуют также о различной роли этих клеток (до сих пор недостаточно исследованной) в иммунном ответе у голотурий.

Дексаметазон, добавленный к среде преинкубации, модулировал эффекты гуморальных продуктов при межклеточном взаимодействии: снижал уровень антиоксидантной ферментной защиты в фагоцитах при воздействии гуморальных продуктов из МК и, напротив, стимулировал его в МК при воздействии среды инкубации фагоцитов. Таким образом, дексаметазон может менять направленность иммунного ответа. Это свидетельствует о повышении уровня продукции АФК, прежде всего H_2O_2, в фагоцитах при воздействии дексаметазона, которые, как показано выше, напротив, снижают уровень оксидантного стресса в МК, что может свидетельствовать об ограничении функциональной активности клеток. Это указывает на возможность наличия у голотурий гормональной (стероидной) регуляции иммунного ответа, сходной с таковой у позвоночных.

В целом полученные результаты свидетельствуют о том, что иммунные клетки беспозвоночных, как и у позвоночных, могут оказывать взаиморегулирующее действие, и различия как экстраклеточных, так и внутриклеточных механизмов взаимовлияния, в том числе на оксидантно-антиоксидантный баланс клеток, обеспечивают тонкую настройку иммунного ответа. Кроме того, такое взаимовлияние может регулироваться гормонально, о чем свидетельствуют полученные данные о модулирующем действии дексаметазона на активность антиоксидантных ферментов, приводящим к изменению функциональной активности обоих типов исследованных клеток и способствующим, по-видимому, ограничению активности морулярных клеток. В целом полученные результаты свидетельствуют о сложности регуляции иммунного ответа у голотурий, вероятно, и обеспечивающей тот высокий уровень иммунной защиты, который характерен для этих животных. Полученные данные могут быть использованы при разработке клеточной модели для механизмов врожденного иммунного ответа.

Выводы

1. В двух типах исследованных клеток существуют различные механизмы регуляции антиоксидантной ферментативной активности, что, по-видимому, обеспечивает взаимное ограничение избыточной функциональной активности клеток при их взаимодействии.

2. Преинкубация клеток-продуцентов с дексаметазоном приводила к изменению направленности эффекта гуморальных продуктов из МК на антиоксидантную ферментную систему в Ф1, подавляя ее, и еще в большей степени повышала стимулирующий эффект продуктов из Ф1 на активность ферментов в МК, что в целом может свидетельствовать об иммуносупрессорном действии дексаметазона в голотуриях.

Список литературы

1. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А. Эволюция воспаления // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 5–13.

2. Чечина О.Е., Биктасова А.К., Сазонова Е.В., Жукова О.Б., Прохоренко Т.С., Крат И.В., Часовских Н.Ю., Новицкий В.В., Рязанцева Н.В. Роль цитокинов в редокс-зависимой регуляции апоптоза // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – № 2. – С. 67–72.

3. Ярилин А.А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе // Вестник РАМН. – 1999. – № 4. – С. 25–29.

4. Ballarin L., Franchini A., Ottaviani E., Sabbadin A. Morula cells as the major immunomodulatory hemocytes in ascidians: evidences from the colonial species Botryllus schlosseri // Biological Bulletin. – 2001. – Vol. 201. – P. 59–64.

5. Chia F., Xing J. Echinoderm coelomocytes // Zoological Studies. – 1996. – Vol. 35, № 4. – P. 231–254.

6. Dolmatova L., Zaika O., Slinko E., Kolosova L. Antioxidant enzyme defense and heavy metal accumulation in tissues of holothurians *Apostichopus japonicus* and *Eupentacta fraudatrix*: characteristics of body-length dependences during spring-summer period // Pacific oceanography. – 2010. – Vol. 5, № 1. – P. 96–105.

7. Giavarotti L., Simon K.A., Azzalis L.A., Fonseca F.L., Lima A.F., Freitas M.C., Brunialti M.K., Salomão R., Moscardi A.A., Montaño M.B., Ramos L.R., Junqueira V.B. Mild systemic oxidative stress in the subclinical stage of Alzheimer's disease // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2013. – Article ID 609019. doi: 10.1155/2013/609019.

8. Jaramillo M.C., Frye J.B., Crapo J.D., Briehl M.M., Tome M.E. Increased manganese superoxide dismutase expression or treatment with a manganese porphyrin potentiates dexamethasone-induced apoptosis in lymphoma cells // Cancer Research. – 2009. – Vol. 69. – P. 5450–5457.

9. Kolamunne R.T., Dias I.H., Vernallis A.B., Grant M.M., Griffiths H.R. Nrf2 activation supports cell survival during hypoxia and hypoxia/reoxygenation in cardiomyoblasts; the roles of reactive oxygen and nitrogen species // Redox Biol. – 2013. – Vol. 1(1). – P. 418–426.

10. Lafont R., Mathieu M. Steroids in aquatic invertebrates // Ecotoxicology. – 2007. – Vol. 16. – P. 109–130.

11. Madge L.A., Pober J.S. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway, activated by tumor necrosis factor or interleukin-1, inhibits apoptosis but does not activate NFkappaB in human endothelial cells // The Journal of Biological Chemistry. – 2000. – Vol. 275, № 20. – P. 15458–15465.

12. Sabbione F., Gabelloni M.L., Ernst G., Gori M.S., Salamone G., Oleastro M., Trevani A., Geffner J., Jancic C.C. Neutrophils suppress γδ T-cell function // European Journal of Immunology. – 2013. doi: 10.1002/eji.201343664.

13. Tse H.M., Milton M.J., Piganelli J.D. Mechanistic analysis of the immunomodulatory effects of a catalytic antioxidant on antigen-presenting cells: implication for their use in targeting oxidation-reduction reactions in innate immunity // Free radical Biology and Medicine. – 2004. – Vol. 36. – P. 233–247.

14. Yim J.Y., Yang S.J., Yim J.M., Song M.Y., Rho H.W., Yim S.K., Han Y.H., Jeon S.Y., Kim H.S., Yhim H.Y., Lee N.R., Song E.K., Kwak J.Y., Sohn M.N., Yim C.Y. Lymphocyte-mediated macrophage apoptosis during IL-12 stimulation // Cytokine. – 2013. – Vol. 64(1). – P. 62–70.

15. Zaika O.A., Dolmatova L.S. Cooperative apoptosis of coelomocytes of the holothurian *Eupentacta fraudatrix* and its modulation by dexamethasone // Advances in Bioscience and Biotechnology. – 2013. – Vol. 4. – P. 908–917.

Referenses

1. Gusev E.Yu., Chereshnev V.A. Evolution of inflammation. *Cytokines and Inflammation*, 2012, Vol. 11, no. 4, pp. 5–13.

2. Chechina O.Ye., Biktasova A.K., Sazonova Ye.V., Zhukova O.B., Prokhorenko T.S., Krat I.V., Chasovskikh N.Yu., Novitsky V.V., Ryazantseva N.V. The role of cytokines in redox-dependent regulation of apoptosis. *Bulletin of Siberian Medicine*, 1999, No. 2, pp. 67–72.

3. Yarilin A.A. Intercellular cooperation under immune response. *Vestnik RAMN*, 1999, No. 4, pp. 25–29.

4. Ballarin L., Franchini A., Ottaviani E., Sabbadin A. Morula cells as the major immunomodulatory hemocytes in ascidians: evidences from the colonial species Botryllus schlosseri. *Biological Bulletin*, 2001, Vol. 201, pp. 59–64.

5. Chia F., Xing J. Echinoderm coelomocytes. *Zoological Studies*, 1996, Vol. 35, no. 4, pp. 231–254.

6. Dolmatova L., Zaika O., Slinko E., Kolosova L. Antioxidant enzyme defense and heavy metal accumulation in tissues of holothurians *Apostichopus japonicus* and *Eupentacta fraudatrix*: characteristics of body-length dependences during spring-summer period. *Pacific oceanography*, 2010, Vol. 5, no. 1, pp. 96–105.

7. Giavarotti L., Simon K.A., Azzalis L.A., Fonseca F.L., Lima A.F., Freitas M.C., Brunialti M.K., Salomão R., Moscardi A.A., Montaño M.B., Ramos L.R., Junqueira V.B. Mild systemic oxidative stress in the subclinical stage of Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, Article ID 609019. doi: 10.1155/2013/609019.

8. Jaramillo M.C., Frye J.B., Crapo J.D., Briehl M.M., Tome M.E. Increased manganese superoxide dismutase expression or treatment with a manganese porphyrin potentiates dexamethasone-induced apoptosis in lymphoma cells. *Cancer Research*, 2009, Vol. 69, pp. 5450–5457.

9. Kolamunne R.T., Dias I.H., Vernallis A.B., Grant M.M., Griffiths H.R. Nrf2 activation supports cell survival during hypoxia and hypoxia/reoxygenation in cardiomyoblasts; the roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Redox Biol*, 2013, Vol. 1(1), pp. 418–426.

10. Lafont R., Mathieu M. Steroids in aquatic invertebrates. *Ecotoxicology*, 2007, Vol. 16, pp. 109–130.

11. Madge L.A., Pober J.S. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway, activated by tumor necrosis factor or interleukin-1, inhibits apoptosis but does not activate NFkappaB in human endothelial cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, Vol. 275, no. 20, pp. 15458–15465.

12. Sabbione F., Gabelloni M.L., Ernst G., Gori M.S., Salamone G., Oleastro M., Trevani A., Geffner J., Jancic C.C. Neutrophils suppress γδ T-cell function. *European Journal of Immunology*, 2013. doi: 10.1002/eji.201343664.

13. Tse H. M., Milton M.J., Piganelli J.D. Mechanistic analysis of the immunomodulatory effects of a catalytic antioxidant on antigen-presenting cells: implication for their use in targeting oxidation-reduction reactions in innate immunity. *Free radical Biology and Medicine*, 2004, Vol. 36, pp. 233–247.

14. Yim J.Y., Yang S.J., Yim J.M., Song M.Y., Rho H.W., Yim S.K., Han Y.H., Jeon S.Y., Kim H.S., Yhim H.Y., Lee N.R., Song E.K., Kwak J.Y., Sohn M.N., Yim C.Y. Lymphocyte-mediated macrophage apoptosis during IL-12 stimulation. *Cytokine,* 2013, Vol. 64(1), pp. 62–70.

15. Zaika O.A., Dolmatova L.S. Cooperative apoptosis of coelomocytes of the holothurian *Eupentacta fraudatrix* and its modulation by dexamethasone. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2013, Vol. 4, pp. 908–917.

Рецензенты:

Ламаш Н.Е., д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории фармакологии, ФГБУН Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток;

Тимченко Н.Ф., д.м.н., профессор, заведующая лабораторией молекулярных основ патогенности бактерий, ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Сибирского отделения РАМН, г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 26.02.2014.