

Бурмистрова Ольга Сергеевна

студент

Жилочкина Татьяна Ивановна

канд. с.-х. наук, преподаватель

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная

академия ветеринарной медицины»

г. Санкт-Петербург

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ У МЫШЕЙ, НАХОДЯЩИХСЯ В ЗАМКНУТОМ ПРОСТРАНСТВЕ

***Аннотация:** целью данной работы является исследование влияние стрессового фактора на изменение показателей крови и фагоцитарной активности перитонеальных лейкоцитов мышей, находящихся в замкнутом пространстве.*

В процессе своей жизнедеятельности любой живой организм подвергается воздействию различных неблагоприятных факторов со стороны внешней среды, которые, в свою очередь, вызывают формирование стрессовой ситуации и, как следствие – стрессовой реакции. Стресс – это универсальная нейрогормональная реакция организма, вызывающая напряжение неспецифических адаптационных механизмов в ответ на внешнее раздражение, которое может проявляться либо в виде повреждающего воздействия, либо, сигнала угрозы жизни. Возникновение и характер стрессовой реакции определяется не только действием повреждающего фактора, но и реактивностью самого организма в момент действия стрессора. В это время, как правило, происходит повышению резистентности организма [2]. Появляются все новые и новые данные о влиянии стресса на организм, и о путях активации иммунной системы. Одним из важнейших стрессовых факторов, действующих на организм животных и человека, является замкнутое пространство [1]. Изучение механизмов стресса не утрачивает своей актуальности на протяжении десятилетий, а изучение механизмов

регуляции функций иммунной системы при иммобилизационном стрессе имеет большое практическое значение.

Ключевые слова: стресс, лейкоциты, мышцы, замкнутое пространство.

Материалы и методы исследования.

Согласно цели работы, экспериментальное исследование проводилось на молодых самцах белых неинбредных мышей в количестве 37 голов, в возрасте от 2 до 3 месяцев, имеющих среднюю массу 35 г. Все животные были распределены по трем группам, содержались в лаборатории, в условиях вивария, на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде, при освещении в виде чередования 12 часов света и 12 часов темноты. Согласно схеме опыта, в первой опытной группе находились интактные мыши, во второй группе – животные, которые подвергались острому 24 – часовому иммобилизационному стрессу без введения в конце опыта препарата RU486. В третьей группе мыши подвергались аналогичному воздействию, но с введением в конце опыта RU486. Группу контроля оставили без каких-либо внешних воздействий. Далее, проводился забор центральной крови методом декапитации, после которой проводилась аутопсия лимфомиелоидного комплекса (тимус, селезенка, надпочечники). Для изготовления микроскопических препаратов использовалась только что извлеченную кровь по 10 мкл на лейкоформулу. Для оценки фагоцитарной активности лейкоцитов использовались микропробирки Эппендорфа, в которых полученная гепаринизированная кровь мышей количестве 20 мкл смешивалась с суспензией зимозана в концентрации 100×10^6 частиц/мл полной питательной среды (ППС). Результаты учитывали микроскопически.

Для приготовления микроскопических препаратов количественного состава перитонеальных лейкоцитов (лейкоформулы) в микропробирках Эппендорф смешивали по 6 мкл среды (RPMI-1640)+10 мкл аутоплазмы, (открытой на центрифуге Heindolph, Type – ZENTRAX 280 E на 10 минут при скорости 1500 об/мин.) + 4 мкл суспензии клеток перитонеального смыва (25×10^6 клеток в 1 мл ППС). На мазки помещали по 10 мкл.

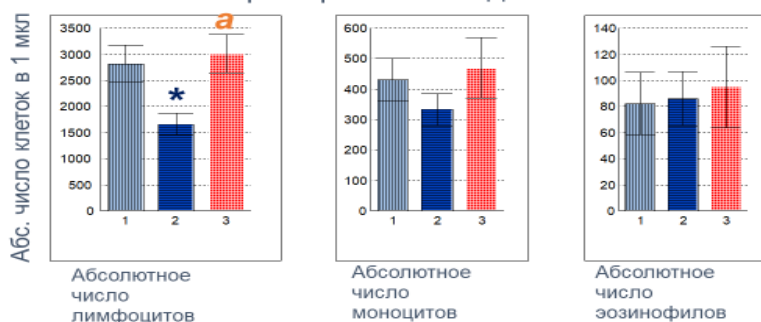
Эксперимент *ex vivo* с полученными клетками проводили на полной питательной среде (ППС). Для определения фагоцитарной активности перитонеальных лейкоцитов в микропробирках Эппендорф смешивали 4 мкл суспензии клеток (25×10^6 клеток в 1 мл ППС), 10 мкл аутоплазмы, 6 мкл среды (RPMI-1640) и 20 мкл суспензии зимозана с концентрацией 100×10^6 частиц/мл пробы инкубировали 30 минут при 37 °С. Изменение количественного состава перитонеальных лейкоцитов оценивали микроскопическими методами, а также с помощью гематологического анализатора HORIBA ABX Diagnostick, ABX MICROS 60.

За сутки, до выведения мышей из эксперимента, подкожно, в мышечную ткань бедренной части им вводился антистрессовый препарат мифепристон (RU486) в дозе 50мг/кг массы тела.

Результаты исследования.

Анализ полученных результатов показывает, что стресс влияет на изменение показателей крови. Так, образование абсолютного числа лимфоцитов во время нахождения мышей в замкнутом пространстве, уменьшается. По окончании опыта, введение RU486 отменяет данный эффект. Так же, во время стрессовой ситуации, в крови мышей отмечено уменьшение количества моноцитов и эозинофилов, что является свидетельством влияния стрессового фактора на данные показатели.

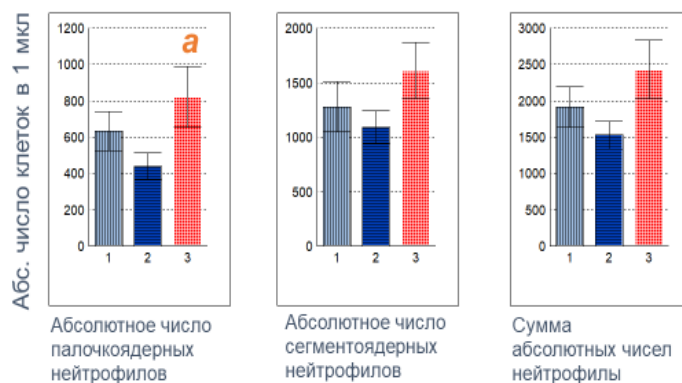
Изменение количественного состав лейкоцитов крови мыши при стрессе и введении RU486



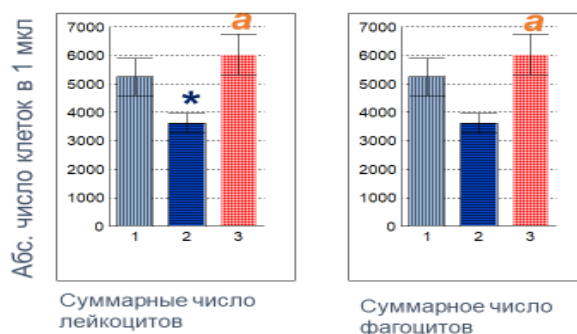
По оси абсцисс: 1 - интактные мыши, 2 - стресс, 3 - стресс + RU 486;
 * - $p < 0,05$ к интактным животным; ^a - $p < 0,05$ в сравнении со 2-й группой

Во время стресса в показателях абсолютного числа палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов наблюдается снижение, а при введении антистрессового препарата, их становится больше, даже в сравнении с теми же показателями до создания для мышей стрессовой ситуации. Сумма абсолютных чисел

нейтрофилов, имеет такую же тенденцию к изменению, сначала к снижению показателей, а затем, при введении антистрессового препарата мифепристона, в сравнении с тем же показателем у мышей без этого препарата, к их увеличению. Количество фагоцитирующих нейтрофилов активных фагоцитов незначительно.



По оси абсцисс: 1 - интактные мыши, 2 - стресс, 3 - стресс + RU 486;
* - $p < 0,05$ к интактным животным; а - $p < 0,05$ в сравнении со 2-й группой

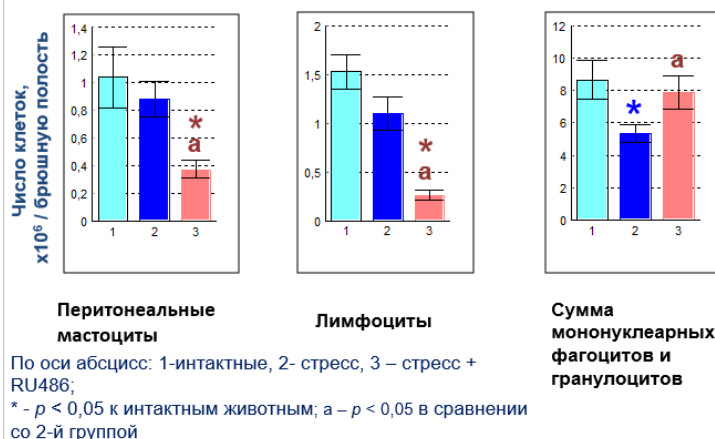


По оси абсцисс: 1 - интактные мыши, 2 - стресс, 3 - стресс + RU 486;
* - $p < 0,05$ к интактным животным; а - $p < 0,05$ в сравнении со 2-й группой

Суммарное число лейкоцитов и фагоцитов указывает на резкое их снижение во время стрессовой ситуации и, при введении после опыта, антистрессового препарата мифепристона, так же, резкое их возрастание

По показателю абсолютного значения перитонеальных клеток при стрессе и введении RU486 (мифепристона) наблюдаются статистически значимые изменения, как в общем количестве ядродержащих клеток перитонеального смыва, так и в мононуклеарных фагоцитах. Отмечено их снижение в группах мышей, находящихся в состоянии стресса относительно интактных и значительное увеличение показателей мононуклеарных фагоцитов между группой, мышей, находящихся в состоянии стресса и группой, получившей в мифепристон.

Изменение абсолютного числа перитонеальных клеток при стрессе и введении RU486



Таким образом, исходя из анализа полученных результатов, можно сделать вывод, что стресс в виде замкнутого пространства влияет на изменение показателей уровня лимфоцитов, уменьшая их содержание в крови, угнетает образование перитонеальных лимфоцитов, снижает иммунитет и фагоцитарную активность моноцитов. Введение же антистрессового препарата мифепристона RU486 способствует выравниванию состояния мышей, приводя исследуемые показатели в норму.

Список литературы

1. Зимин Ю.И. Стресс: иммунологические аспекты / Ю.И. Зимин // Итоги науки и техн. ВИНТИ. Сер. Иммунология. Т. 12. – М.: ВИНТИ, 1983. – С. 41–62.
2. Пащенко М.В. Физиология клеток врожденной иммунной системы: дендритные клетки / М.В. Пащенко, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2006. – Т.27, №6. – С. 368–378.
3. Мартынов А.И. Оценка иммунного статуса человека в условиях воздействия химического и биологического фактора / А.И. Мартынов, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – С. 752.
4. Activation of the MAPK signaling pathway induces upregulation of pro-apoptotic proteins in the hippocampi of cold stressed adolescent mice. Xu B, Lian S, Guo JR, Wang JF, Zhang LP, Li SZ, Yang HM. *Neurosci Lett.* 2019 Apr 23;699:97–102.

5. Elliot, D. Innate immunity in disease / D. Elliot, S. Siddique, J. Weinstock // Clinical gastroenterology and hepatology. – 2014. – Vol.12, №5. – P.749–755.