

DOI 10.25789/YMJ.2018.62.03
УДК 612.11

Л.И. Аржакова, Д.К. Гармаева, Т.И. Дмитриева, А.И. Федорова, Д.С. Белолюбская, О.Г. Афанасьева, А.И. Егорова

ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХОЛОДОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

В статье представлены результаты экспериментального исследования, целью которого было изучение изменений клеточного состава крови крыс в зависимости от времени их экспозиции в условиях холодового воздействия. Полученные результаты свидетельствуют, что холодовое воздействие влияет на активность клеток, обеспечивающих реакции неспецифического и специфического иммунного ответа, в частности со стороны эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов.

Ключевые слова: холодовой стресс, клеточный состав крови, специфический и неспецифический иммунный ответ, эксперимент.

The article presents the results of an experimental study, the purpose of which was to study changes in the cellular composition of the blood of rats depend of their exposure time to cold. The obtained results indicate that the cold affects the activity of cells that provide nonspecific and specific immune responses.

Keywords: cold stress, cellular blood composition, specific and nonspecific immune response, experiment.

Введение. В связи с усиленными темпами освоения Крайнего Севера в настоящее время вопрос адаптации организма человека к жизни в северных широтах, где он подвергается воздействию низких природных температур, вновь становится актуальным [7,12].

Известно, что организм человека на негативное воздействие различных факторов окружающей природной среды отвечает нарушением состояния регулирующих систем, сопровождаемым изменением клеточного состава крови [1,5,13,14]. Показано, что в осуществлении защитной реакции организма большую роль играют лейкоциты, поскольку фагоцитарная активность лейкоцитов является неспецифическим клеточным иммунитетом организма и зависит от воздействия любых стресс-факторов [10,13,14]. Далее это сопровождается изменениями иммунологической реактивности, снижением адаптационных возможностей организма, развитием транзиторных или стойких форм вторичной иммунной недостаточности [12].

Дисбаланс иммунной системы оказывает влияние на формирование, характер течения и исходы многих патологических процессов. Наиболее

высокие уровни заболеваемости приходятся на болезни органов дыхания, нервной системы и органов чувств, системы кровообращения [4,9,15].

Таким образом, исследование механизмов клеточной адаптации системы крови, а также реакции иммунных органов, поиск путей повышения сопротивляемости организма, профилактики и лечения нарушений иммунного ответа в условиях низких температур являются чрезвычайно актуальными в условиях Республики Саха (Якутия).

Данное исследование является частью комплексной работы, связанной с изучением механизмов дезадаптации в условиях Арктики и Субарктики. Данная работа проводится с учетом приоритетных направлений научной платформы «Иммунология» государственной программы «Стратегия развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года».

Целью исследования является изучение в эксперименте изменений клеточного состава крови крыс в зависимости от времени их экспозиции в условиях холодового воздействия.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на кафедре нормальной и патологической анатомии, оперативной хирургии с топографической анатомией и судебной медицины Медицинского института СВФУ им. М.К. Аммосова. В качестве экспериментальных животных были использованы 25 беспородных крыс самцов массой 200-250 г в возрасте 5-6 мес. Животные были разделены на 4 группы: 1-я – контроль, которых содержали в стандартных условиях вивария; 2, 3, 4, 5-я группы – животные, которые подвергались воздействию холода. Охлаждение проводили в климатической камере «Vestfrost» (Дания) при темпе-

ратуре $-10 \pm 2^\circ\text{C}$ [2,7,8] по 1 ч ежедневно в течение 7, 14, 21, 30 дней.

Протокол экспериментальной части исследований, использованный на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта, соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985г); Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей (Страсбург, 1986); Приказу МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных»; Приказу МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Крыс декапитировали с соблюдением требований гуманности согласно Приложению №4 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления) животного» к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к Приказу МЗ СССР №755 от 12.08.1977). Пробы крови и сыворотка были получены во время декапитации животных. Забор крови проводили в стеклянные пробирки с антикоагулянтом гепарином в количестве 5 мл из брюшной полости на 7, 14, 21, 30-е сутки. Гематологические исследования проводились сразу после получения проб на автоматизированном гематологическом анализаторе AbacusJunior 30, биохимические исследования сделаны на биохимическом анализаторе Mindray BA-88A готовыми растворами HigtTechnology. Исследование крови и сывороток

МИ СВФУ им. М.К. Аммосова: **АРЖАКОВА Лена Аржаковна** – к.м.н., доцент, lena.arzhakova@mail.ru, **ГАРМАЕВА Дарима Кышектовна** – д.м.н., проф., darib66@mail.ru, **ФЕДОРОВА Аида Ивановна** – к.м.н., доцент, fed.aida@rambler.ru, **БЕЛОЛЮБСКАЯ Дария Степановна** – к.м.н., доцент, b_d_st@mail.ru, **АФАНАСЬЕВА Оксана Гавриловна** – к.м.н., доцент, kafanatomiya@mail.ru, **ЕГОРОВА Ангелина Иннокентьевна** – к.б.н., м.н.с., egorovaanil@mail.ru; **ДМИТРИЕВА Туяра Ивановна** – аспирант ФГБОУ ВО «Якутская ГСХА», dark_dell@mail.ru.

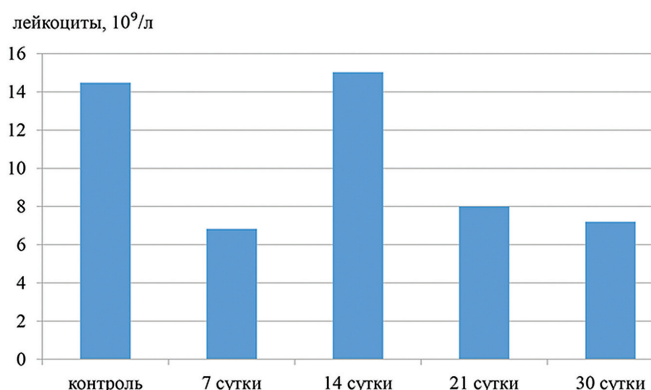


Рис.1. Изменения общего количества лейкоцитов у экспериментальных животных в сравнении с контрольной группой

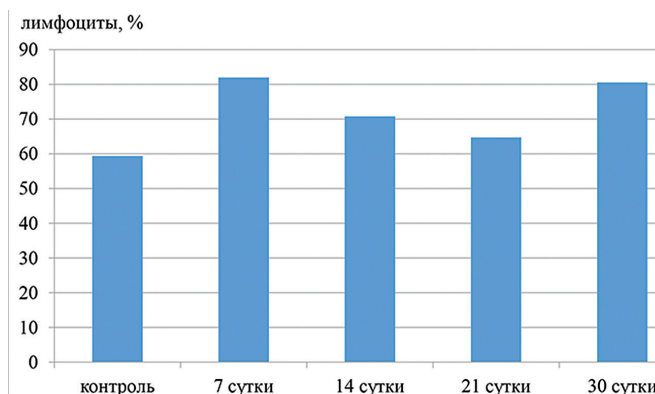


Рис.2. Изменения относительного количества лимфоцитов у экспериментальных животных в сравнении с контрольной группой

крови выполнено в научно-исследовательской клинко-диагностической лаборатории для сельскохозяйственных и домашних животных Якутской ГСХА.

Результаты и обсуждение. В результате эксперимента было установлено, что показатели клеточного состава крови у контрольной группы животных, содержащихся при оптимальных температурных условиях, не сопровождались отклонениями от физиологической нормы. В то время как при оценке состояния экспериментальных групп крыс выявлены изменения показателей количества форменных элементов (от 0,5 до 1,3%), в том числе снижение уровня гемоглобина, гранулоцитов, МСНС, увеличение количества гематокрита и MCV.

Результаты исследования свидетельствуют, что холодовое воздействие влияет на активность клеток, обеспечивающих реакции неспецифического и специфического иммунного ответа. Так, общее количество лейкоцитов крови снижается на 7, 21 и 30-е сут на 52,9; 44,8 и 50,4% соответственно, несмотря на то, что на 14-е сут отмечается незначительное их повышение (на 3,7%) (рис. 1).

При этом количество лимфоцитов остается повышенным в течение всего эксперимента, максимально возрастая на 7-е и 30-е сут (на 22,6 и 21,2% соответственно) (рис. 2).

MID – показатель, отражающий содержание смеси моноцитов, эозинофилов, базофилов и незрелых клеток, снижается на 7-е сут на 31,1%, на 21-е – на 45,6% и 30-е сут на 62,1%; а на 14-е сут отмечается незначительное повышение на 2,1%. Количество гранулоцитов (эозинофилов, нейтрофилов и базофилов) также снижается на 7, 14, 30-е сут эксперимента, а на 21-е

сут соответствует показателю у контрольной группы (рис. 3).

Значительное снижение общего количества лейкоцитов на 7, 21 и 30-е сут свидетельствует, что холодовое воздействие действительно является стрессовым фактором для теплокровных животных. Это коррелирует с исследованиями Костоломовой Е.Г., где показано, что популяции изолированных ИКК по-разному реагируют на длительность холодовой экспозиции [6]. Кратковременное охлаждение является фактором, активирующим функциональную активность моноцитов и нейтрофилов, а длительное – угнетающим. В исследованиях Николаева В.М. также отмечалось, что при адаптации крыс к гипотермии изменяются показатели неспецифического клеточного иммунитета, связанные с фагоцитарной активностью лейкоцитов [7]. Статистически достоверное уменьшение среднего числа поглощенных частиц лейкоцитами, как в первой, так и во второй группах экспериментальных животных, свидетельствует об угнетении неспецифического клеточного

иммунитета при воздействии отрицательных температур. Будем полагать, что экспозиция крыс в нашем эксперименте в течение от 7 до 30 сут, имеющее в результате подавление активности лейкоцитов, являлось достаточно длительным. Однако увеличение числа лейкоцитов на 14-е сут (на 3,7% к контролю и 59,6% относительно показателя на 7-е сут) связано с кратковременной стимуляцией лейкоцитопоза. В экспериментах Абрашовой Т.В и др. также показано, что у крыс-самцов линии Вистар, подвергнутых комбинированному (холодовому) плаванию в воде при температуре $+7^{\circ}\text{C}$, наблюдалось повышение количества лейкоцитов преимущественно за счет резкого нарастания гранулоцитов. Авторы утверждают, что в результате действия холодового фактора стимулируется специфический иммунный ответ, а реакции неспецифического ответа, опосредованные лейкоцитами, подавляются [11].

Также отмечалось сильное снижение количества тромбоцитов после воздействия холода на организм. На

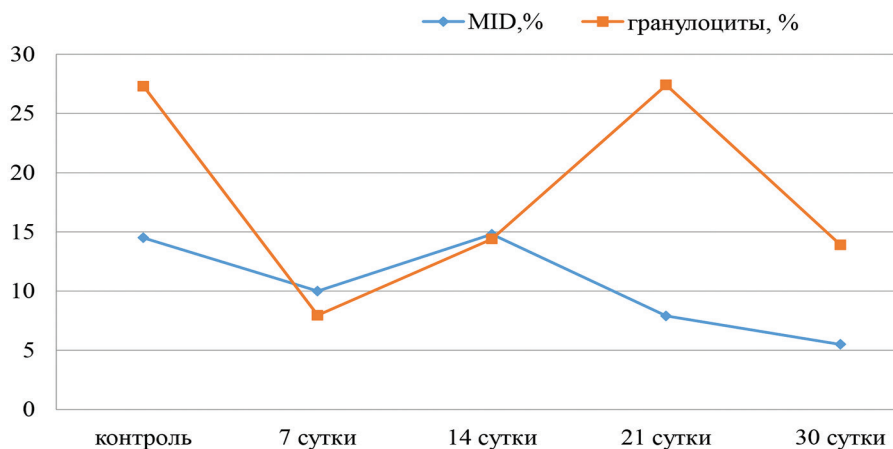


Рис.3. Изменения показателей MID и гранулоцитов в эксперименте

блюдаемые нами изменения в гематологическом статусе данных животных согласуются с литературными данными, в которых описано уменьшение числа тромбоцитов как реакция на стресс [17]. Уменьшение количества тромбоцитов представляется как целесообразная реакция организма в ответ на холодовое воздействие, так как тромбоциты принимают непосредственное участие в репаративных процессах, наблюдающихся при повреждении ткани холодом, а также улучшают миграцию лейкоцитов к очагу воспаления. Будучи высокоактивным метаболитом арахидоновой кислоты, тромбоциты являются мощным ингибитором агрегации последних. Также авторы указывают на снижение ферментативного и медиаторного потенциала кровяных телец, вследствие чего снижается их способность к образованию агрегатов [16].

Повышение гематокрита, эритроцитов – одна из количественных характеристик физиологической адаптации организма к новым условиям жизни. Повышенный гематокрит и одновременное усиление синтеза эритропоэтина, стимулирующего созревание эритроцитов, могут быть одними из признаков реакции на стресс, в нашем случае на холодовой [3].

Заключение. Таким образом, холодовое воздействие является стрессом, выражающимся в реакции со стороны всего клеточного состава крови. В результате действия холодового фактора стимулируется специфический иммунный ответ, на что указывает увеличение в крови количества лимфоцитов, а реакции неспецифического ответа, опосредованные другими видами лейкоцитами – подавляются. Уменьшение количества тромбоцитов также представляется как целесообразная реакция организма в ответ на холодовое воздействие, так как тромбоциты принимают непосредственное участие в репаративных процессах, наблюдающихся при повреждении ткани холодом. Повышенный показатель гематокрита свидетельствует об увеличении доли форменных элементов крови относительно плазмы, и является достоверным критерием ответной реакции на стресс.

Дальнейшие исследования коснутся изучения процессов пролиферации и дифференцирования иммунокомпетентных клеток органов и тканей лимфоидного комплекса (селезенка, тимус, лимфатические узлы, МАЛТ полых органов) при холодовой нагрузке.

Литература

- Агаджанян Н.А. Стресс и теория адаптации / Н.А. Агаджанян. – Оренбург, 2005. – С.60–94.
Agadzhanian N.A. Stress and theory of adaptation / N.A. Agadzhanian. – Orenburg, 2005. – P. 60–94.
- Венцовская Е.А. Изменение адаптационных способностей крыс после ритмических холодовых воздействий / Е.А. Венцовская, А.В. Шило, Г.А. Бабичук // Вестник биологии и медицины. – 2010. – Вып. 2. – С. 38–42.
Ventskovskaya E.A. Change in adaptive capabilities of rats after rhythmic cold exposures / E.A. Ventskovskaya, A.V. Shilo, G.A. Babichuk // Bulletin of biology and medicine. – 2010. – Issue 2. – P. 38–42.
- Вычужанова Е.А. Влияние хронического стресса на острую стресс – реакцию у крыс / Е.А. Вычужанова // Наука и образование: проблемы, идеи, инновации. – 2015. – С. 9–11.
Vyuchuzhanova E.A. Effect of chronic stress on acute stress reaction in rats / E.A. Vyuchuzhanova // Science and education: problems, ideas, innovations. – 2015. – P. 9–11.
- Гольдерова А.С. Особенности неспецифической адаптивной реакции у больных с острой холодовой травмой / А.С. Гольдерова, Ф.А. Захарова, С.Н. Алексеев // Якутский медицинский журнал. – Якутск, 2009. – № 1(25). – С. 7–9.
Golderova A.S. Features of nonspecific adaptive response in patients with acute cold trauma / A.S. Golderova, F.A. Zakharova, S.N. Alekseev // Yakut Medical Journal. – Yakutsk, 2009. – №1 (25). – P. 7–9.
- Казначеев В.П. Современные аспекты адаптации / В.П. Казначеев. – Новосибирск: Наука, 1980. – 190 с.
Kaznacheev V.P. Contemporary aspects of adaptation / V.P. Kaznacheev. – Novosibirsk: Nauka, 1980. – 190 p.
- Костоломова Е.Г. Сопряженность иммунофизиологических реакций макроорганизма и изолированных иммунокомпетентных клеток при различных режимах криовоздействия: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.01.01 / Е.Г. Костоломова. – М., 2011. – 171 с.
Kostolomova E.G. Contingence of immunophysiological reactions of a macroorganism and isolated immunocompetent cells under various regimes of cryoexposure: author's abstract ... cand. sc. (Biology): January 14th, 2011 / E.G. Kostolomova. – M., 2011. – 171 p.
- Николаев В.М. Изменения прооксидантно-антиоксидантного равновесия в ответных эколого-биохимических реакциях организма животных и человека на действие холода: автореф. дис. ... на к.биол.н. / В.М. Николаев. – Якутск, 2007. – 112 с.
Nikolaev V.M. Changes in prooxidant-antioxidant balance in response ecological biochemical reactions of the animal and human organism to cold effects: author's abstract ... cand. sc. (Biology) / V.M. Nikolaev. – Yakutsk, 2007. – 112 p.
- Обухова Л.А. Структурные преобразования в системе лимфоидных органов при действии на организм экстремально низких температур и в условиях коррекции адаптивной реакции полифенольными соединениями растительного происхождения: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Л.А. Обухова. – Новосибирск, 1998. – 43 с.
Obukhova L.A. Structural transformations in the system of lymphoid organs at the action on the organism of extremely low temperatures and in corrective conditions for adaptive reaction by polyphenolic compounds of plant origin: author's abstract. ... doctor of medical sciences / L.A. Obukhova. – Novosibirsk, 1998. – 43 p.
- Роль экспедиционных исследований в изучении здоровья населения Арктики / П.Г. Петрова [и др.] // Вестник Северо-Восточного федерального ун-та им. М.К. Аммосова: Серия «Медицинские науки». – 2017. – № 2 (07). – С.28–35.
Role of expeditionary research in study of the health of arctic population / P.G. Petrova [et al.] // M.K. Ammosov North-Eastern Federal University Herald: «Medical Sciences» Series. – 2017. – №2 (07). – P. 28–35.
- Сапин М.Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М.Р. Сапин, Д.Б. Никитюк. – М.: АПП «Джангар», 2000. – 184 с.
Sapin M.R. Immune system, stress and immunodeficiency / M.R. Sapin, D.B. Nikitjuk. – M.: JPE «Dzhanga», 2000. – 184 p.
- СПРАВОЧНИК. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Т.В. Абрашова [и др.] – СПб.: Изд-во «ЛЕМА». – 2013. – 116 с.
Directory. Physiological, biochemical, and biometric indicators of the norm of experimental animals / T.V. Abrashova [et al.]. – SPb.: «LEMA» Publishing. – 2013. – 116 p.
- Среда обитания и здоровье человека на Севере / Д.Д. Саввинов [и др.]. – Новосибирск: Наука, 2005. – 100 с.
Habitat and human health in the North / D.D. Savvinov [et al.]. – Novosibirsk: Nauka, 2005. – 100 p.
- Петров Р.В. Иммунология / Р.В. Петров. – М.: Медицина. – 1982. – 636 с.
Petrov R.V. Immunology / R.V. Petrov. – M.: Medicine. – 1982. – 636 p.
- Хайтов Р.М. Экологическая иммунология / Р.М. Хайтов, Б.В. Пинегин, Х.И. Истамов. – М.: Изд-во ВНИРО, 1995. – 219 с.
Khaitov R.M. Ecological immunology / R.M. Khaitov, B.V. Pinegin, H.I. Istamov. – M.: «VNIRO» Publishing, 1995. – 219 p.
- Человек на Севере: системные механизмы адаптации: сб. тр., посвященный 20-летию НИЦ «Арктика» ДВО РАН под общей ред. засл. деятеля науки, д.м.н., проф. А.Л. Максимова. – Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2011. – Т.2. – 162 с.
Man in the North: systemic mechanisms of adaptation: digest dedicated to the 20th Anniversary of RAS Siberian Branch «Arktika» RDE under the general editorship of honored scientist, professor A.L. Maksimov. – Magadan: RASSB North-Eastern Scientific Center, 2011. – Vol. 2. – 162 p.
- Шаповалов К.Г. Функциональное состояние тромбоцитов при местных холодовых поражениях / К.Г. Шаповалов, М.И. Михайличенко, В.А. Сизоненко // Казанский мед. журнал. – 2008. – Т. 89, №5. – С. 662–665.
Shapovalov K.G. Functional state of thrombocytes at local cold lesions / K.G. Shapovalov, M.I. Mikhaylichenko, V.A. Sizonenko // Kazan Medical Journal. – 2008. – Vol. 89, №5. – P. 662–665.
- Шахматов И.И. Влияние однократной иммобилизации различной интенсивности на реакцию системы гемостаза / И.И. Шахматов // Бюлл. СО РАМН. – 2011. – Т. 31, №4. – С.33–36.
Shakhmatov I.I. Effect of single immobilization of different intensity on the response of the hemostatic system / I.I. Shakhmatov // RAMS Siberian Branch Bulletin. – 2011. – V. 31, №4. – P. 33–36.