

УДК (619:612:598.017): 547. 590.

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО ОТВЕТА В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ КАК АДАПТИВНО-РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НА СТРЕСС

Маннапова Р.Т., Рапиев Р.А.

ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет,
МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, e-mail: ram.mannapova55@mail.ru

В настоящей статье представлены результаты исследований по изучению влияния кратковременно-стрессового фактора (КСФ) и длительного стрессового фактора (ДСФ) на показатели иммунного ответа в организме животных как адаптивно-регуляторные механизмы на стресс. Стресс создавался путем включения механизма с высоким уровнем шума – отбойного молотка (120 дБ). Стресс, после стадии тревоги, характеризовался явлениями активизации надпочечников в виде выброса кортикостероидов и через 24–48 часов проявлялся включением защитных механизмов сопротивления организма стрессору. На фоне действия КСФ иммунные механизмы быстро восстанавливались до физиологических значений, тогда как ДСФ способствовал снижению показателей естественной резистентности, фагоцитоза и дисбалансу в параметрах Т- и В-систем иммунитета, в выработке иммуноглобулинов, моноклональных антител, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Применение необработанного янтаря в комплексе с маточным молочком пчел на фоне действия на организм животных ДСФ способствовало активизации механизмов иммунной защиты.

Ключевые слова: кратковременный и длительный стрессовый фактор, естественная резистентность, бактерицидная, лизоцимная активность сыворотки крови, фагоцитоз лейкоцитов крови и альвеолярных макрофагов, Т- и В-системы иммунитета, сывороточные иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы, моноклональные антитела, необработанный янтарь, маточное молочко пчел

IMMUNE RESPONSE IN ANIMALS, AS ADAPTIVE-REGULATORY MECHANISMS ON STRESS

Mannapova R.T., Rapiiev R.A.

Russian state agrarian university, The Moscow Agricultural Academy n.a. K.A. Timiryazev,
Moscow, e-mail: ram.mannapova55@mail.ru

This article presents the results of studies on the effect of short-term stress factor (CSF) and prolonged stress factor (PSF) for indicators of immune response in animals, as adaptive-regulatory mechanisms on stress. The stress created by a high-noise-Jackhammer (120 DB). Stress, anxiety, stage was characterized by phenomena of increased adrenal gland as a burst of corticosteroids and 24–48 hours was manifested through the inclusion of protective mechanisms of resistance of the organism stressor. Against the backdrop of the PSF immune mechanisms quickly restored to physiological values, whereas the DPF has helped reduce all studied indexes natural resistance, phagocytosis, and imbalance in the parameters of T-and B-immunity systems, immunoglobulins, monoclonal antibodies, circulating immune complexes. Application of raw amber in conjunction with Royal Jelly bee, on the background of the animal organism of the PSF, helps to activate the mechanisms of immune protection.

Keywords: short-and long-term stress factor, natural resistance, lizocimnaâ, bactericidal activity of serum, white blood cells and phagocytosis of alveolar macrophages; T-and B-immunity; serum immunoglobulins, circulating immune complexes, monoclonal antibodies; raw amber Royal Jelly

Организм животных в промышленных комплексах постоянно подвергается действию стрессовых факторов, среди которых ведущее место принадлежит действию шумовых механизмов [1, 3, 4]. Это отражается на всех системах организма и, прежде всего на иммунной, что в последующем способствует снижению продуктивных и репродуктивных показателей животных [2, 5]. В этой связи были проведены опыты на крысах. Целью настоящих исследований явилось: изучить особенности иммунных реакций как адаптивно-регуляторных механизмов при действии на организм крыс КСФ и ДСФ и установить возможности их восстановления маточным молочком в комплексе с необработанным янтарем, со сравнительной оценкой:

а) естественной резистентности и фагоцитарной активности нейтрофилов крови и альвеолярных макрофагов;

б) динамики изменения показателей Т- и В- систем иммунитета (тЕ-РОК, ЕМ-РОК, рЕ-РОК, сЕ-РОК, аЕ-РОК, вЕ-РОК);

в) продукции сывороточных иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgE), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), мононуклеарных клеток периферической крови, иммуноферментированных с помощью моноклональных антител.

Материал и методы исследований

Опыты проводились на крысах, которые по принципу аналогов были разделены на 7 групп. Крыс содержали в янтарном ящике из янтарных планшет, каждая из четырех сторон которой, размером 60х60см, создает поток легких отрицательных ионов на расстоянии 1,5 м в 2833 ион//см³/с. Животные 1 группы были контрольные. Крысы 2 группы подвергались действию кратковременного стрессового фактора (КСФ), 3 группы – длительного стрессового фактора (ДСФ). Животные 4 и 5 групп на фоне КСФ и ДСФ находились под влиянием аэроионов янтаря (лёгких

отрицательных ионов, фитонцидов необработанного янтаря и аэрозолей янтарной кислоты), которые выделялись от янтарных планшет и дополнительно в их рацион вносили янтарный порошок в дозе 0,25 г на голову, 1 раз в день, с кормом, ежедневно в течение 30 дней. Измерение количества легких отрицательных ионов в янтарном ящике для крыс проводили с использованием счетчика аэроионов САИ ТГУ-70 ИТ 6914. С крысами 6 и 7 групп, на фоне КСФ и ДСФ, проводили те же манипуляции, что и с животными 4 и 5 групп и дополнительно в рацион животных этих групп вносили маточное молочко пчел из расчета 0,5 г (таблетки «Апилака») в день на животное, в течение 15 дней эксперимента, из шприца со шлангом, предварительно растворив в слабощелочной воде для предупреждения разрушения его желудочным соком).

КСФ и ДСФ создавали путем включения механизма с высоким уровнем шума (120 дБ). Источником шума в 120 дБ служил электрический отбойный молоток Sparky K 615CE (1300 Вт; 1900–3000 уд./мин, 15 Дж). Измерение шума осуществляли шумомером профессиональным AR 844 с USB интерфейсом (диапазон измерения от 30–130 дБ).

Бактерицидную активность сыворотки определяли по П.А. Емельяненко (1980), лизоцимную – по В.Г. Дорофейчуку (1977). При определении фагоцитарной активности лейкоцитов объектом фагоцитоза служила суточная культура *Staphylococcus aureus*. Определение Т- и В-лимфоцитов в крови крыс проводили методом спонтанного розеткообразования, популяций Т-лимфоцитов – в реакции розеткообразования с теофиллином (S. Limatibul et al., 1978). Для оценки функционирования В-системы иммунитета определяли концентрацию иммуноглобулинов (G, A, E классов) в сыворотке крови методом радиальной иммунодиффузии в геле по G. Mancini с соавт. (1981). Иммунофенотипирование мононуклеарных клеток периферической крови проводили с использованием моноклональных антител (МКА) серии ИКО-10, ИКО-124 методом непрямой реакции иммунофлюоресценции (РИФ).

Статистическая обработка полученных данных проводилась по общепринятым методикам. Расчет результатов осуществляли с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0 (for Windows; «Stat Soft Inc», США).

Результаты исследований и их обсуждение

Состояние иммунной системы изучалось в опытах на крысах. КСФ и ДСФ в начале действия оказывали стимулирующее действие на выработку лизоцима. Через 30 мин описываемый показатель в сыворотке крови крыс опытных групп не имел существенных изменений и соответствовал физиологическому уровню. Однако уже через 3 ч регистрировалось повышение активности лизоцима. Через 24 ч и, особенно, через 48 ч регистрировалась дальнейшая активизация лизоцимной активности сыворотки крови крыс, и она была на этот период максимальной. К 7 и 30 сут опыта отмечалось резкое снижение лизоцимной активности сыворотки крови крыс 3, 5 и 7 групп. Такое явление также свиде-

тельствует о неблагоприятном развитии защитных реакций, о его дисбалансе. Лизоцимная активность сыворотки крови крыс 3, 5 и 7 групп к 30 сут опыта была ниже контрольных цифр в 1,37; 1,19 и 1,1 раза. Значение описываемого показателя в организме крыс 2, 4 и 6 групп, в которых животные подвергались кратковременному стрессу, эти изменения были умеренными. Подобно динамике лизоцимной активности сыворотки крови изменялась бактерицидная активность и фагоцитарная активность альвеолярных макрофагов (рис. 1).

Стресс способствовал проявлению всех защитных механизмов Т- и В-систем иммунитета, о чем свидетельствует динамика в организме животных не только т-Е-РОК-лимфоцитов (Т-активных), но и высокоавидных Т-индукторов-киллеров (РЕ-РОК-лимфоцитов), тимических – лимфоцитов (сЕ-РОК-лимфоцитов), посттимических предшественников функционально зрелых Т-клеток (аЕ-РОК-лимфоцитов), киллеров-супрессоров (вЕ-РОК-лимфоцитов) и ЕМ-лимфоцитов (рис. 2).

Стресс оказывал существенное влияние на активность тЕ-РОК-лимфоцитов в организме крыс. Содержание тЕ-РОК-лимфоцитов в крови крыс 2 группы через 3 часа от действия стресс-фактора по всем опытным группам превысило контрольную цифру на 8,0–10,0%. Через 24 и 48 часов отмечалось резкое повышение данного показателя в крови крыс всех опытных групп.

К 7 сут наблюдалось резкое снижение уровня тЕ-РОК-лимфоцитов в крови крыс опытных групп. Значение описываемого показателя уступало данным крыс контрольной группы на этот срок опыта по 2, 3, 4, 5, 6, 7 группам на 39,0; 59,7; 34,8; 49,2; 32,0 и 42,2%. В последующие сроки эксперимента по всем опытным группам регистрировалось повышение в крови уровня тЕ-РОК-лимфоцитов. Этот процесс имеет разную степень проявления и выраженности в зависимости от типа стресса и проведенных дополнительных профилактических манипуляций с необработанным янтарем и маточным молочком. Через 30 сут от начала опытов содержание тЕ-РОК-лимфоцитов в крови крыс 2 группы уступало показателю контроля на 11,1%, 3 группы – на 27,0%, 4 группы – на 4,2%, 5 группы – на 80,8%, 6 группы – достигло контрольного уровня, 7 группы – было ниже, чем в контроле на 16,8%. Эта динамика продолжалась и к 60 сут эксперимента. В конце опыта (90 дней) содержание тЕ-РОК-лимфоцитов в крови крыс 4 и 6 групп значительно приблизилось к контрольной цифре и соответствовало физиологическим

параметрам, а показатели животных 2, 3, 5 и 7 групп были несколько ниже его значения.

КСФ и ДСФ вызвали в организме животных снижение антителогенеза. Данный процесс в отношении IgM прогрессировал до 48 ч. В последующем регистрировалось постепенное повышение описываемого показателя в сторону его физиологического значения. Уже через 3 ч содержание IgM в сыворот-

ке крови крыс 2, 3, 4, 5, 6, 7 групп снизилось, по сравнению с контролем на 26,1; 10,8; 11,8; 15,0; 20,3; 11,8%, через 24 ч – на 23,9; 29,4; 21,1; 27,1; 19,3 и 24,3%. Максимальное снижение уровня IgM регистрировалось в опытных группах через 48 ч. К этому сроку исследований описываемый показатель уступал контрольной цифре на 23,7; 31,3; 21,8; 28,0; 18,5; 24,2%.

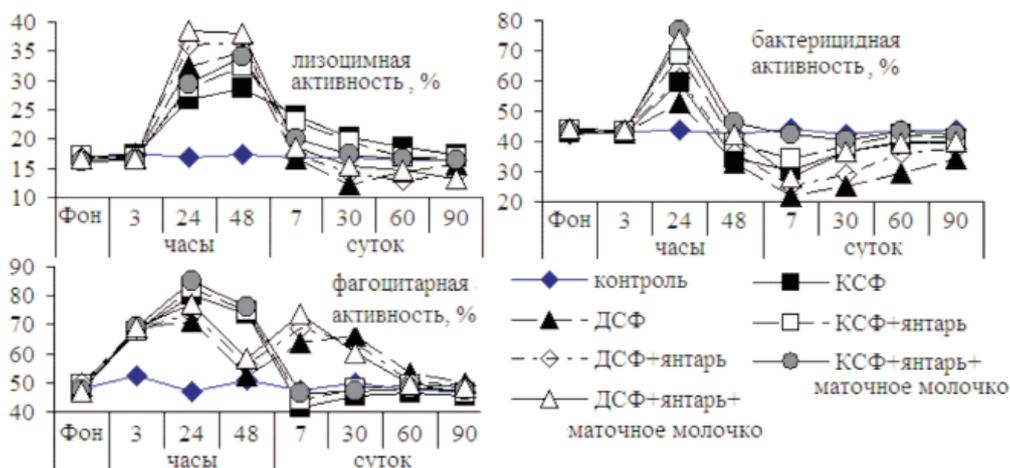


Рис. 1. Лизоцимная, бактерицидная активность сыворотки крови и фагоцитарная активность альвеолярных макрофагов крыс

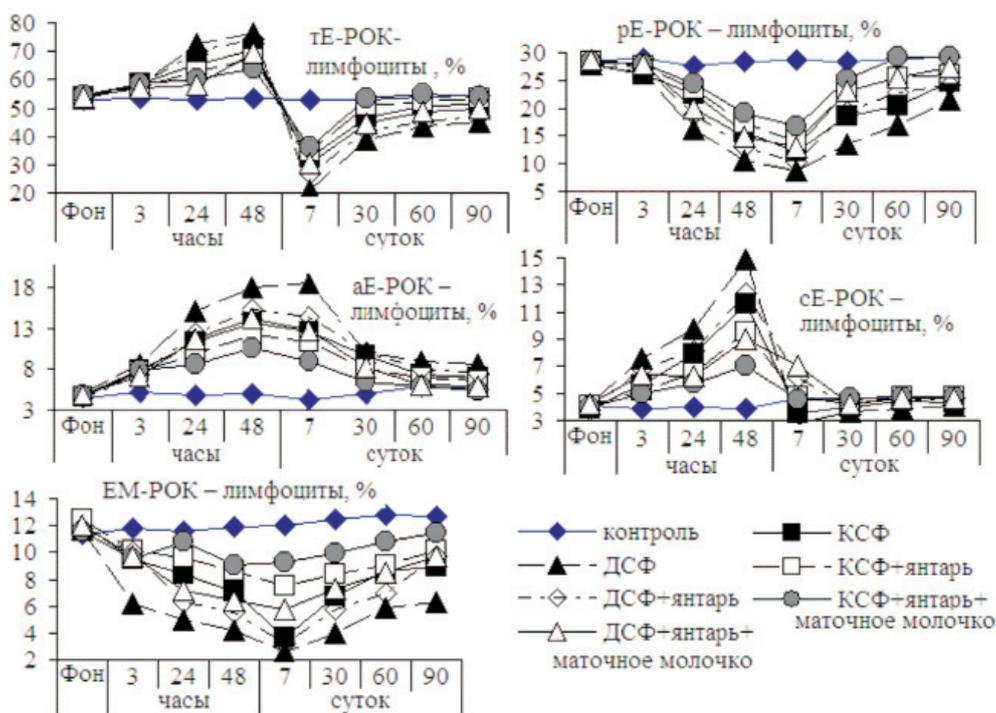


Рис. 2. Динамика т-Е-РОК, рЕ-РОК, аЕ-РОК, сЕ-РОК, ЕМ-РОК – лимфоцитов в крови крыс

В последующие сроки опыта наблюдалось постепенное повышение данного показателя в сторону контрольных цифр. Однако они продолжали уступать показателям жи-

вотных контрольной группы. К 7 сут исследований содержание IgM в сыворотке крови крыс 2, 3, 4, 5, 6 и 7 групп уступало контролю, на данный срок опыта, соответственно

на 15,1; 23,7; 12,1; 18,2; 4,7 и 12,1%, через 30 сут – на 12,0; 26,3; 5,4; 16,0; 3,2 и 22,1%. Данная тенденция сохранялась и к 60 и 90 сут опыта содержание IgM в сыворотке крови крыс 2, 3, 4, 5, 6, 7 опытных групп было ниже, чем в контроле на 13,3 и 11,3%; на 20,2 и 15,6%; на 8,2 и 5,6%; 15,5 и 13,9%;

2,2 и 0,9%; 13,7 и 8,7%. Подобно динамике IgM в сыворотке крови животных на фоне действия КСФ и ДСФ изменялась динамика содержания IgG.

Данные по изучению динамики изменения содержания в сыворотке крови крыс IgE приведены в таблице.

Динамика содержания в крови крыс IgE (тыс./мкл)

Группы животных	Фон	30 мин	Сроки исследования от начала опытов						
			часы			сутки			
			3	24	48	7	30	60	90
1	57,30	61,40	58,30	60,80	59,60	56,80	62,70	57,60	61,60
2	62,30	64,80	89,6***	106,6***	124,9***	118,3***	98,7***	80,4***	72,60*
3	58,60	65,90	86,0***	139,3***	168,3***	172,5***	157,9***	126,0***	108,6***
4	59,00	64,80	82,50***	95,70***	115,70***	96,50***	71,00**	62,90	59,70
5	60,40	65,10	80,00***	128,90***	149,70***	153,00***	129,6***	112,7***	85,90***
6	56,90	64,30	78,90***	90,50***	100,80***	82,90***	61,90	59,50	60,50
7	61,50	65,80	80,00***	121,80***	128,70***	134,80***	102,6***	86,70**	70,80**

Примечания: * – P – 0,95, ** – P – 0,99, *** – P – 0,999.

Стресс способствовал значительной активизации в организме животных ЦИК. Более выраженным этот процесс был под действием ДСФ. Через 30 мин от начала эксперимента уровень ЦИК в сыворотке крови животных 2, 3, 4, 5, 6 и 7 групп повысился на 6,0; 6,0; 8,0; 5,0 и 5,0 МЕ/мл, через 3 сут – на 26,0; 28,0; 24,0; 30,0; 25,0 и 26,0 МЕ/мл. В последующие сроки эксперимента процесс накопления в организме крыс опытных групп ЦИК интенсивно продолжался. Максимальное повышение содержания ЦИК в крови крыс всех опытных групп регистрировалось, с разной степенью активности, через 48 ч. На 7 сут исследований его содержание несколько снизилось в группах при действии КСФ, но продолжало повышаться в группах под влиянием ДСФ, за исключением 7 группы (ДСФ). При этом по всем опытным группам он еще значительно превышал физиологические значения. На 30, 60 сут по всем опытным группам отмечалось, в разной степени проявления и активности, снижение содержания в сыворотке крови уровня ЦИК. До конца опыта (90 сут) уровень ЦИК динамично снижался. При действии КСФ данный показатель по 2 группе значительно приблизился к контрольному уровню, по 4 и 6 группам – восстановился и соответствовал физиологическим нормам. Показатели ЦИК в организме крыс, подвергнутых действию ДСФ (3, 5 и 7 группы), по сравнению с предыдущими сроками исследований, значительно приблизились к контрольным уровням, но превышали их в 1,57; 1,44 и 1,21 раза.

Заметным проявлением стресса было на динамику выработки в организме крыс моноклональных антител. МКА серии ИКО-124 в крови крыс 2 и 3 групп значительно снизились и через 48 ч от начала эксперимента были ниже показателя животных контрольной группы на 3,2 и 3,0%, через 7 сут на 4,9 и 8,6%, через 30 сут на 3,2 и 11,6%, через 60 сут на 2,1 и 8,9%. Содержание моноклональных антител серии ИКО-124 в крови крыс 6 и 7 групп имело тенденцию к повышению. Наиболее выраженным данный процесс был по 6 группе. При этом показатели животных 6 группы с 7 дня эксперимента превысили контрольный уровень. В крови крыс 7 группы они увеличились, по сравнению с показателями животных 3 группы, через 2, 7, 30 и 60 сут на 1,7; 4,9; 9,5 и 10,5%, но не достигали показателя животных контрольной группы. Подобно динамике изменения содержания в сыворотке крови животных МКА серии ИКО-124 изменялась динамика МКА серии ИКО-10.

Заключение

1. Применение необработанного янтаря в комплексе с маточным молочком пчел на фоне действия на организм животных ДСФ способствует активизации механизмов иммунной защиты, проявляющихся в виде:

а) стабилизации факторов естественной резистентности (бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови), фагоцитарной активности лейкоцитов крови и альвеолярных макрофагов;

б) восстановления уровня иммунокомпетентных клеток в крови: повышение содержания т-Е-РОК-лимфоцитов, рЕ-РОК-лимфоцитов (индукторов-хелперов); сЕ-РОК-лимфоцитов (тимические); ЕМ-лимфоцитов, на фоне снижения активности вЕ-РОК-лимфоцитов (киллеры-супрессоры) и аЕ-РОЕ-лимфоцитов (посттимические предшественники функционально зрелых Т-лимфоцитов);

в) нормализации уровня сывороточных иммуноглобулинов и ЦИК до значения их физиологических норм: содержание IgG повышается в 1,3; IgM в 1,08 раза, уровень IgE и ЦИК снижается в 1,53 и 1,29 раза;

г) активизации продукции МКА серии ИКО-124 в 2,0 раза, серии ИКО-10 – в 1,54 раза.

Список литературы

1. Дж. Гринберг. Управление стрессом. – СПб., 2008. – 279 с.
2. Калужный С.И. Пробиотикотерапия и иммуностимуляция для коррекции иммунитета при криптоспоридиозе свиней / С.И. Калужный, Р.Т. Маннапова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана. – Казань, 2010. – Т. 202. – С. 123–127.
3. Кочиш И.И. Зоогиена с основами ветеринарии / И.И. Кочиш, Н.С. Калужный. – СПб.: Изд-во Лань, 2013. – 328 с.
4. Линева А.И. Физиологические показатели нормы животных. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 256 с.
5. Маннапова Р.Т. Коррекция уровня гормонов надпочечников при кратковременном и длительном стрессе свиней янтарем и маточным молочком пчел / Р.Т. Маннапова,

Р.А. Рапиев // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 1 (2) – С. 304–307.

References

1. Dg. Greenberg. *Stress management*. St.-Petersburg, 2008. 279 p.
2. Kalyuzhny S.I., Mannapova R.T. *Probiotikoterapiâ and immunostimulation for correction of immunity in kriptosporidioze pigs*. Memoirs of the Kazan State Academy of veterinary medicine Bauman-Kazan.Kasan, 2010. Tome 202, pp. 123–127.
3. Kocsis I.I., Kalyuzhny N.S. *Fundamentals of animal hygiene veterinary*: St. Petersburg. Publishing House Of The Lani 2013 328 p.
4. Lineva A. I. *Physiological rates of animals*. M. GEOTAR, 2008. 256 p.
5. Mannapova R.T., Papiev R.A. *Correction levels of adrenal hormones with short-term and long-term stress pigs amber and Royal Jelly bee*. Basic research, no. 1 (2), 2013, pp. 304–307.

Рецензенты:

Емцев В.Т., д.б.н., профессор кафедры микробиологии и иммунологии (факультет почвоведения, агрохимии и экологии), ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», г. Москва;

Храмцов В.В., д.с.-х.н., (зооинженерный факультет), ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», г. Москва;

Юров Ю.Б., д.б.н., профессор, заведующий лабораторией, УРАМН Научный центр психического здоровья Российской академии медицинских наук, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 11.02.2014.