

УДК 616-092

Иммунные показатели в крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности

Скрипкина Д.В., Абрамова А.Ю., Шойбонов Б.Б., Алексеева И.В., Никенина Е.В., Перцов С.С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»
125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Длительные стрессорные воздействия вызывают дисрегуляцию большинства компонентов иммунной системы. Большой интерес исследователей к изучению системы комплемента и цитокинов связан с широким спектром их функций. Цель исследования – изучение показателей концентрации цитокинов и функциональной активности системы комплемента в крови крыс на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности. Методы. Исследование проведено на 42 крысах-самцах Wistar. Выделены 5 экспериментальных групп: контрольная группа; четыре опытные группы, которых подвергали многократным стрессорным нагрузкам на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса в течение 1, 2, 3 и 4 недель соответственно. Концентрацию ИЛ-4 и ИЛ-10 в сыворотке крови крыс определяли методом твердофазного ИФА, функциональную активность системы комплемента – с помощью скрининг-теста в реакции комплемент-зависимого лизиса эритроцитов человека.

Результаты. Выявлено статистически значимое повышение уровня ИЛ-10 через 2, 3 и 4 недели, но снижение концентрации ИЛ-4 в крови крыс через 2 и 4 недели стрессорных воздействий. Функциональная активность системы комплемента увеличивалась через 2 недели хронического стресса, но не отличалась от контрольных значений в последующие периоды.

Заключение. Выявленные изменения иллюстрируют специфику активности клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа в условиях многократных непредсказуемых стрессорных воздействий разной длительности.

Ключевые слова: крысы; хронический непредсказуемый мягкий стресс; цитокины крови; функциональная активность системы комплемента.

Для цитирования: Скрипкина Д.В., Абрамова А.Ю., Шойбонов Б.Б., Алексеева И.В., Никенина Е.В., Перцов С.С. Иммунные показатели в крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности. Патогенез. 2024; 22(2): 89-92.

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.89-92

Для корреспонденции: Скрипкина Дарья Викторовна, e-mail: skripkina_dv@academpharm.ru

Финансирование. Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета и не имело спонсорской поддержки

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 30.05.2024.

Immune parameters in the blood of rats under conditions of chronic unpredictable mild stress of different durations

Skripkina D.V., Abramova A.Yu., Shoibonov B.B., Alekseeva I.V., Nikenina E.V., Pertsov S.S.

Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies
Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Long-term stress causes dysregulation of most components of the immune system. The great interest of researchers in studying the complement system and cytokines is associated with a wide range of their functions. The purpose of the study was to study the concentrations of cytokines and the functional activity of the complement system in the blood of rats using a model of chronic unpredictable mild stress of different durations.

Methods. The study was conducted on 42 male Wistar rats. There were 5 experimental groups: control group; four experimental groups that were subjected to repeated stress loads in a chronic unpredictable mild stress model for 1, 2, 3 and 4 weeks, respectively. The concentration of IL-4 and IL-10 in the blood serum of rats was determined by solid-phase enzyme immunoassay, the functional activity of the complement system was determined using a screening test in the reaction of complement-dependent lysis of human erythrocytes.

Results. A statistically significant increase in the level of IL-10 was revealed after 2, 3 and 4 weeks, but a decrease in the concentration of IL-4 in the blood of rats after 2 and 4 weeks of stress exposure. The functional activity of the complement system increased after 2 weeks of chronic stress, but did not differ from control values in subsequent periods.

Conclusion. The identified changes illustrate the specificity of the activity of the cellular and humoral components of the immune response under conditions of repeated unpredictable stressors of varying duration.

Key words: rats; chronic unpredictable mild stress; blood cytokines; functional activity of the complement system.

For citation: Skripkina D.V., Abramova A.Yu., Shoibonov B.B., Alekseeva I.V., Nikenina E.V., Pertsov S.S. [Immune parameters in the blood of rats under conditions of chronic unpredictable mild stress of different durations]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2024; 22(2): 89-92. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.89-92

For correspondence: Skripkina Darya Viktorovna, skripkina_dv@academpharm.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 30.05.2024.

Введение

Известно, что психоэмоциональный стресс оказывает воздействие на функциональную активность иммунной системы у млекопитающих. В условиях хронического стресса изменения физиологических функций приобретают устойчивый характер. Развивающаяся дисрегуляция большинства компонентов иммунной системы приводит к различным патологическим процессам.

Интерлейкины обладают широким спектром функций, классифицируются как про- или противовоспалительные и секретируются практически всеми клетками иммунной системы. Изменения цитокинового профиля крови у млекопитающих и человека в различных стрессогенных условиях привлекают внимание многих исследователей [1]. Это связано, в частности, с выраженным влиянием цитокинов на разные физиологические показатели, в т.ч. на поведение [2]. В настоящее время известно, что одним из основных цитокинов, оказывающих регуляторное воздействие на цитокиногенез, является ИЛ-10 [3]. ИЛ-4, в свою очередь, может влиять на широкий спектр клеток-мишеней, необходим для синтеза IgE и дифференцировки клеток Th2, подавляет функцию нейтрофилов и обладает мощным антиапоптотическим эффектом [4]. Характер стресс-индуцированного изменения цитокинового профиля крови млекопитающих во многом зависят от вида, длительности и интенсивности стрессогенных стимулов.

Одним из важнейших гуморальных факторов врожденного иммунитета является система комплемента – каскад растворимых белков, мембранных рецепторов и регуляторов, который действует в плазме, тканях, на поверхности клетки и даже внутри клетки. Комплемент способствует элиминации чужеродных клеток, иммунных комплексов и апоптотических клеток из крови и поврежденных тканей [5]. Специфика изменений данной системы в условиях хронического стресса остается мало изученной.

Целью нашей работы явилось изучение показателей цитокинового профиля и функциональной активности системы комплемента крови у крыс на модели хронического мягкого стресса разной длительности.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 42 крысах-самцах Wistar с массой тела 180-200 г. При проведении опытов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Этической комиссией НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина (протокол №1 от 3.09.2005), требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных. Исследование одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (протокол №2 от 13.02.2024).

Крысы были распределены на 5 групп: контрольная группа – 10 интактных животных; четыре опытные группы по 8 особей в каждой, в зависимости от длительности стрессорного воздействия – 7, 14, 21 и 28 дней. Крысы опытных групп подвергались последовательному ежедневному воздействию стрессорных факторов на модифицированной модели хронического непредсказуемого мягкого стресса [6]: наклон клетки 30° в течение 7 ч; дневное освещение – 17 ч; загрязненная клетка – 12 ч; питьевая депривация – 12 ч; пустая бутылка – 12 ч; пищевая депривация – 12 ч; тесная клетка – 12 ч; удаление опилок – 12 ч. По окончании эксперимента крыс декапитировали с последующим сбором крови.

Определение концентрации ИЛ-4 и ИЛ-10 (пг/мл) в сыворотке крови осуществляли методом твердофазного ИФА (HTI ImmunoChem-2100 (Microplate reader, США). Изучение функциональной активности системы комплемента (%) в крови крыс проводили с помощью соответствующего скрининг-теста в реакции комплемент-зависимого лизиса эритроцитов человека (патент № RU 2786208 C1) на фотометре для иммуноферментного анализа Maltiscan MCC (Labsystem, Финляндия).

Множественное межгрупповое сравнение проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса для независимых переменных. При наличии статистически значимых различий по указанному критерию анализ межгрупповых различий изучаемых показателей проводили с применением непараметрического U -критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты исследования

При анализе иммунных показателей крови крыс получены следующие результаты. Концентрация ИЛ-10 в сыворотке крови животных проявляла тенденцию к увеличению через 1 неделю (на 95,6%, $p > 0,05$) и статистически значимо возрастала через 2, 3 и 4 недели хронического непредсказуемого мягкого стресса по сравнению с таковой у интактных особей (на 159, 142 и 124% соответственно, $p < 0,005$; табл. 1).

Выявлено, что многократная стрессорная нагрузка приводит к уменьшению концентрации ИЛ-4 в периферической крови крыс через 2 и 4 недели по сравнению с контрольными значениями (на 47,0 и 72,4% соответственно, $p < 0,05$). В конце 1-й и 3-й недели данный показатель был ниже контрольного уровня (на 45,5 и 73,8%), однако, данные изменения не были статистически значимыми (табл. 1).

Функциональная активность системы комплемента у крыс через 2 недели хронического непредсказуемого мягкого стресса превышала контрольные значения на 17,3% ($p < 0,05$). К окончанию 4-й недели наблюдений данный показатель был значимо меньше такового, отмеченного через 2 недели хронического мягкого стресса ($p < 0,05$), при этом не отличаясь от соответствующих значений интактных особей (табл. 1).

Концентрация цитокинов (пг/мл) и функциональная активность системы комплемента (% лизиса эритроцитов) в сыворотке крови крыс разных экспериментальных групп (Ме (Q1; Q3))

Экспериментальные группы	Цитокины		Функциональная активность системы комплемента
	ИЛ-10	ИЛ-4	
Интактные	4,03 (2,90; 7,26)	2,18 (2,18; 2,38)	75,0 (56,0; 78,0)
Стресс – 1 неделя	7,89 (5,53; 11,58)	1,19 (0,73; 2,18)	87,5 (75,0; 92,0)
Стресс – 2 недели	10,45 (7,99; 10,55) ^^	1,16 (0,66; 1,65) ^	88,0 (86,0; 92,0) ^
Стресс – 3 недели	9,76 (9,35; 11,05) ^^	0,57 (0,24; 0,84)	85,0 (71,5; 92,0)
Стресс – 4 недели	9,03 (8,39; 10,89) ^^	0,60 (0,36; 1,14) ^	77,0 (69,0; 81,5) ▼

Примечание. ^ – $p < 0,05$ и ^^ – $p < 0,005$ по сравнению с интактными животными; ▼ – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Стресс – 2 недели».

Обсуждение

Выявленное нами повышение концентрации ИЛ-10 уже с 1-ой недели хронических стрессорных нагрузок может быть связано с влиянием катехоламинов, которые способствуют усилению продукции ИЛ-10 макрофагами [7]. Снижение концентрации ИЛ-4 в крови крыс может быть обусловлено модулирующим действием ИЛ-10 на порог активации Т-клеток и подавлением выработки ими цитокинов (в том числе, ИЛ-4) [3]. Обнаруженное нами повышение функциональной активности системы комплемента в состоянии хронического стресса может быть обусловлено «синдромом функциональной готовности» на ранних сроках стрессогенных воздействий. Последующее восстановление данного показателя до нормальных значений к окончанию эксперимента, вероятно, отражает развитие адаптивных реакций в поздние периоды хронического стресса.

Заключение

Результаты нашего исследования расширяют представления об особенностях физиологических процессов в организме млекопитающих, лежащих в основе иммунных механизмов адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды, в частности, стрессогенного характера.

Выявленные изменения показателей функциональной активности системы комплемента и цитокинового профиля крови отражают специфику клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа при многократных стрессорных нагрузках разного генеза и длительности.

Список литературы

1. Калиниченко Л.С., Коплик Е.В., Перцов С.С. Цитокиновый профиль периферической крови у крыс с разными поведенческими характеристиками при остром эмоциональном стрессе. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013; 156(10): 426–429.

2. Перцов С.С., Коплик Е.В., Симбирцев А.С., Калиниченко Л.С. Влияние ИЛ-1b на поведение крыс в условиях слабой стрессорной нагрузки при тестировании в открытом поле. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009; 148(11): 488–490.
3. Commins S., Steinke J.W., Borish L. The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 121: 1108–1111. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.02.026
4. Keegan A.D., Leonard W.J., Zhu J. Recent advances in understanding the role of IL-4 signaling. *Fac. Rev.* 2021; 10: 71. DOI: 10.12703/r/10-71
5. Merle N.S., Noe R., Halbwachs–Mecarelli L., Fremeaux–Bacchi V., Roumenina L.T. Complement System Part II: Role in Immunity. *Front. Immunol.* 2015; 6: 257. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00257
6. Willner P., Towell A., Sampson D., Sophokleous S., Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987; 93(3): 358–364. DOI: 10.1007/BF00187257
7. Larché M. Regulatory T cells in allergy and asthma. *Chest*. 2007; 132(3): 1007–1014. DOI: 10.1378/chest.06-2434

References

1. Kalinichenko L.S., Koplik E.V., Pertsov S.S. [Cytokine Profile of Peripheral Blood in Rats with Various Behavioral Characteristics during Acute Emotional Stress]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2013; 156(10): 426–429. (in Russian)
2. Pertsov S.S., Koplik E.V., Kalinichenko L.S., Simbirtsev A.S. [Effect of interleukin-1β on the behavior of rats during mild stress in the open-field test]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2009; 148(11): 488–490. (in Russian)
3. Commins S., Steinke J.W., Borish L. The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 121: 1108–1111. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.02.026
4. Keegan A.D., Leonard W.J., Zhu J. Recent advances in understanding the role of IL-4 signaling. *Fac. Rev.* 2021; 10: 71. DOI: 10.12703/r/10-71
5. Merle N.S., Noe R., Halbwachs–Mecarelli L., Fremeaux–Bacchi V., Roumenina L.T. Complement System Part II: Role in Immunity. *Front. Immunol.* 2015; 6: 257. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00257
6. Willner P., Towell A., Sampson D., Sophokleous S., Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987; 93(3): 358–364. DOI: 10.1007/BF00187257
7. Larché M. Regulatory T cells in allergy and asthma. *Chest*. 2007; 132(3): 1007–1014. DOI: 10.1378/chest.06-2434

Сведения об авторах:

Скрипкина Дарья Викторовна — специалист лаборатории системных механизмов эмоционального стресса и боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0002-1283-0955>

Абрамова Анастасия Юрьевна — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией системных механизмов эмоционального стресса и боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0001-5940-3056>

Шойбонов Батожаб Батожаргалович — кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0001-7061-6706>

Алексеева Ирина Владимировна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории системных механизмов эмоционального стресса и боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0001-9236-5143>

Никенина Екатерина Валерьевна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории системных механизмов эмоционального стресса и боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0003-4869-0576>

Перцов Сергей Сергеевич — доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, директор Научно-исследовательского института нормальной физиологии имени П.К. Анохина Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0001-5530-4990>