

СОСТОЯНИЕ НЕРВНОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕПТИДНОГО БИОРЕГУЛЯТОРА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Улзытуева Д.А., Лебедева С.Н.

ФГБОУ ВПО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления», Улан-Удэ, Россия (670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в),
ulzytueva@mail.ru

Работа посвящена изучению влияния пептидного биорегулятора, полученного из тимуса свиней, на поведенческую активность, показатели состояния органов иммунопоэза и периферическую кровь лабораторных животных – мышей на фоне азатиоприновой иммуносупрессии. В работе показано, что введение азатиоприна экспериментальным животным вызывало снижение уровня ориентировочно-исследовательского поведения и суммарной двигательной активности, физической выносливости, массы и клеточности иммунных органов (тимуса и селезенки) и изменение лейкоцитарной формулы крови. Введение пептидного биорегулятора способствовало коррекции изучаемых показателей до уровня интактной группы животных. Была установлена взаимосвязь показателей поведенческой активности и иммунной системы лабораторных животных при воздействии пептидного биорегулятора, полученного из тимуса свиней. Полученные данные позволяют рекомендовать пептидный биорегулятор в качестве биологически активной добавки к пище и для создания продуктов лечебно-профилактического назначения.

Ключевые слова: пептидный биорегулятор, азатиоприн, поведенческая активность, иммунная система.

CONDITION NERVOUS AND IMMUNE SYSTEMS AT INFLUENCE OF THE PEPTIDE BIOREGULATOR IN THE EXPERIMENT

Ulzytueva D.A., Lebedeva S.N.

East Siberian state university of technologies and management, Ulan-Ude
Ulan-Ude, Russia (670013, Ulan-Ude, Klyuchevskaya street, 40B) ulzytueva@mail.ru

The article is devoted to the influence of peptide bioregulators, received from the thymus of pigs, on the behavioral activity, indicators of the condition of organs of immunopoiesis and peripheral blood of laboratory animals - mice against azathioprinum immunosuppression. It was shown, that the introduction azathioprinums experimental animals, caused a decrease in the level of orienting - exploratory behavior and total motor activity, physical endurance, weight and cellularity of immune organs (thymus and spleen) and changes in blood leukocyte counts. The introduction of peptide bioregulators correction contributed to the level of the studied indicators intact group of animals. In result of study was established an interrelation of indicators of behavioral activity and immune system of laboratory animals when exposed to peptide bioregulators, received from the thymus of pigs. The data obtained allow to recommend the peptide bioregulators as biologically active additive to food, and to create products of therapeutic and preventative purposes.

Key words: peptide bioregulator, azathioprinum, behavioral activity, immune system.

Введение

Между иммунной и нервной системами сложилось и постоянно осуществляется взаимодействие, с помощью которого они взаимно контролируют свои функции. Интеграция их со всеми другими функциями и обеспечивает существование организма как единого целого. Иммунная система – уникальная саморегулирующаяся организация, состоящая из различных популяций и субпопуляций лимфоидных клеток, постоянно

взаимодействующих между собой. Однако их жизнедеятельность, активация, пролиферация и дифференцировка во многом зависят от других систем организма, и в первую очередь от нервной [1].

Цель исследования – изучить влияние пептидного биорегулятора, полученного из тимуса свиней, на поведенческую активность, показатели состояния органов иммуноопоза и периферическую кровь лабораторных животных на фоне азатиоприновой иммуносупрессии.

Материал и методы исследования

Объектом исследования явился пептидный биорегулятор из тимуса свиней, полученный в Проблемной научно-исследовательской лаборатории ВСГУТУ. Технология выделения биорегулятора предусматривает поэтапное удаление термолабильных белков (при 100 °С) из солевого гомогената органа с гидромодулем (1 : 3) с концентрацией пептидов 3,0 мг/мл [3].

Исследования были проведены на половозрелых белых беспородных мышах – самцах весом 22–25 г. Мыши были разделены на 3 группы методом случайной выборки и в течение недели проходили зоосоциальную адаптацию. Экспериментальные исследования проведены при соблюдении правил, сформулированных в приказе МЗ СССР № 1179 (10.10.1983 г.).

Первая группа мышей – интактная – получала воду. У второй группы животных вызывали иммунодефицитное состояние пероральным введением классического иммунодепрессанта азатиоприна в дозе 50 мг/кг массы тела 1 раз в сутки в течение 5 дней. Третьей группе животных после азатиоприна вводили фракцию пептидов, выделенных из тимуса свиней (АФТсвин.), в дозе 0,1 мг/кг массы тела животного 1 раз в сутки в течение 7 дней.

Оценка поведенческих реакций животных осуществлялась в изучении ориентировочно-исследовательского поведения мышей в тесте «открытого поля» и суммарной двигательной активности животных в течение 3 мин. Оценивали вегетативную функцию по тесту дефекации, а также груминг мышей.

Установка «открытое поле» представляла собой прямоугольную камеру (100x100 см) с белыми стенами высотой 40 см. Полom служил лист белого пластика, на котором черной краской была нанесена решетка, разделяющая поле на 100 равных квадратов (64 – периферических и 36 – внутренних квадратов). Освещение производили четырем лампами по 50 Вт, расположенными по соответствующим сторонам камеры [2].

Изучение общей физической выносливости животных проводили с использованием модели истощающей физической нагрузки – плавание животных в бассейне с

температурой воды $20 \pm 0,5$ °С. Для уменьшения вариабельности получаемых результатов к каждой мышке к основанию хвоста подвешивали груз (5% от массы тела), не затрудняющий движение животного [5].

На 14-е сутки эксперимента животные были выведены из опыта методом мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом. У них была взята кровь и выделены органы иммунной системы – тимус и селезенка, у которых были определены масса и клеточность. Дифференциальный подсчет типов лейкоцитов в мазках периферической крови проводили после окраски по методу Романовского–Гимза [4].

Результаты и их обсуждение

В тесте «открытого поля» было установлено, что животные первой группы (интактные) характеризовались высоким уровнем исследовательского поведения (рис. 1) и высокой суммарной двигательной активностью ($134,7 \pm 4,0$ у.е.). При этом мышки данной группы были эмоциональны (уровень дефекации за 3 мин. составил $2,7 \pm 0,1$ у.е.). Груминг наблюдался у 80% животных и составил $1,5 \pm 0,1$ у.е.

У животных второй группы после введения азатиоприна выявлено снижение уровня исследовательского поведения. Так, число посещений ими периферических квадратов в тесте «открытого поля» было на 36,9% ниже, чем в интактной группе, а число посещений центральных квадратов – в 2,1 раза меньше (рис. 1). Мышки этой экспериментальной группы характеризовались низкой суммарной двигательной активностью ($81,0 \pm 2,8$ у.е., $p < 0,05$), эмоциональность составила $1,6 \pm 0,2$ у.е. ($p < 0,05$), груминг наблюдался только у 60% животных и составил $0,6 \pm 0,1$ у.е. ($p < 0,05$).

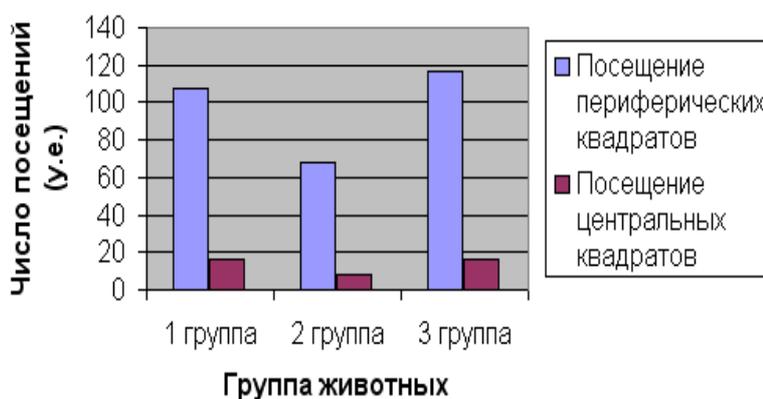


Рис. 1. Посещение периферических и центральных квадратов мышками в тесте «открытого поля» в условиях воздействия азатиоприна и коррекции пептидами тимуса свиней.

Введение животным пептидов тимуса способствовало коррекции изучаемых показателей. У мышек третьей группы возрос уровень исследовательского поведения как за счет 2-кратного увеличения (по сравнению со второй группой) числа посещений

центральных квадратов, так и за счет увеличения числа посещений периферических квадратов в 1,7 раза. Суммарная двигательная активность по сравнению со второй группой увеличилась на 42,1% и составила $139,8 \pm 4,3$ у.е. ($p < 0,05$). И хотя груминг наблюдался у 60% животных, он был выше, чем во второй группе, и составил $1,3 \pm 0,1$ у.е.

Результаты по определению физической выносливости мышей в условиях иммунодепрессии и коррекции пептидами, полученными из тимуса свиней, представлены в таблице 1.

Таблица 1 Физическая выносливость мышей в условиях воздействия азатиоприна и коррекции пептидами тимуса свиней (n=30)

№ группы	Вариант опыта	Концентрация АФТсвин., мг/кг	Плавание, мин.
1.	Интактные	-	$46,8 \pm 1,4$
2.	Азатиоприн (Аз)	-	$25,3 \pm 0,6^{*1}$
3.	Аз+ АФТсвин.	0,1	$44,0 \pm 0,9^{*2}$

*^{1,2} – $p < 0,05$ относительно 1 или 2 группы.

Как следует из представленных в таблице 1 данных, введение иммунодепрессанта азатиоприна (2-я группа) вызывало снижение физической выносливости животных в 1,8 раза. Введение пептидов тимуса свиней (3-я группа) способствовало увеличению данного показателя в 1,7 раза по сравнению со второй группой.

Данные о массе и клеточности иммунных органов мышей – тимуса и селезенки – представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Масса и клеточность иммунных органов в условиях воздействия азатиоприна и коррекции пептидами тимуса свиней (n=30)

№ гр.	Вариант опыта	Масса мышей	Масса тимуса	Масса селезенки	Клеточность тимуса, $\times 10^6$	Клеточность селезенки, $\times 10^6$
1.	Интактные	$25,6 \pm 2,5$	$43,3 \pm 6,0$	$67,3 \pm 5,8$	$8,8 \pm 0,8$	$24,3 \pm 3,4$
2.	Азатиоприн (Аз)	$23,4 \pm 2,2$	$12,0 \pm 3,9^{*1}$	$47,0 \pm 1,4^{*1}$	$3,5 \pm 0,7^{*1}$	$14,7 \pm 0,9^{*1}$
3.	Аз+ АФТсвин.	$22,5 \pm 2,2$	$25,5 \pm 3,9^{*2}$	$61,0 \pm 5,6^{*2}$	$6,5 \pm 0,6^{*2}$	$23,4 \pm 1,9^{*2}$

*^{1,2} – $p < 0,05$ относительно 1 или 2 группы.

Из данных таблицы 2 следует, что введение азатиоприна вызывало достоверное уменьшение массы и клеточности иммунных органов: тимуса и селезенки. Введение пептидов тимуса свиней на фоне действия иммунодепрессанта азатиоприна способствовало коррекции данных показателей практически до уровня показателей в интактной группе животных.

Лейкоцитарная формула крови мышей в условиях иммуносупрессии и коррекции биорегулятором представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Изменение лейкоцитарной формулы крови мышей в эксперименте (M±m, n=30)

Вариант опыта	Сегментояд. нейтрофилы	Палочкояд. нейтрофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Моноциты
Интактные	42,1±2,3	2,5±0,2	1,4±0,1	51,0±2,1	3,0±0,2
Азатиоприн	50,9±1,5 ^{*1}	2,2±0,5	1,3±0,1	42,1±2,4 ^{*1}	3,5±0,3
Аз+АФТсвин.	41,0±1,8 ^{*2}	2,6±0,3	1,4±0,2	51,9±3,2 ^{*2}	3,1±1,1

^{*1,2} – p<0,05 относительно 1 или 2 группы.

Как следует из данных таблицы 3, азатиоприн вызывал перераспределение элементов крови: уменьшение содержания лимфоцитов (лимфопению) и увеличение содержания сегментоядерных нейтрофилов. Количество других форменных элементов достоверно не изменялось. Введение пептидного биорегулятора восстанавливало количество лейкоцитов в крови экспериментальных животных до уровня контрольных значений, что способствовало восстановлению лейкоцитарной формулы крови.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что введение классического иммунодепрессанта азатиоприна не только оказывало супрессивное действие на показатели системы иммунитета, но и снижало показатели поведенческих реакций и физическую выносливость экспериментальных животных. Введение пептидов, выделенных из тимуса свиней, на фоне действия азатиоприна способствовало коррекции изучаемых показателей практически до уровня интактной группы животных. Наблюдаемая картина зависимости между показателями поведенческой активности и

показателями состояния системы иммунитета в условиях супрессии и коррекции отражают общую закономерность, в основе которой лежит концепция о том, что организм представляет собой единую целостную систему, в которой доминирующие функциональные системы обеспечивают гомеостаз под влиянием изменяющихся условий существования.

Список литературы

1. Абрамов В.В. Интеграция иммунной и нервной систем // Иммунология. – 1999. – № 3. – С. 62–64.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / пер. с англ. – М. : Высш. школа, 1991. – С. 119–123.
3. Лебедева С.Н., Красиков П.В., Бурдуковская Т.А. Выделение и исследование пептидов тимуса свиней // Сб. науч. трудов. Серия «Химия и биологически активные природные соединения» / ВСГТУ. – Улан-Удэ, 2006. – Вып. 11. – С. 14–21.
4. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник. – М., 1987. – 364 с.
5. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище. Методические указания МУК 2.3.2.721-98. – М. : Минздрав России, 1999.

Рецензенты:

Сандакова С.Л., д.б.н., доцент кафедры зоологии и экологии ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет», г. Улан-Удэ.

Мондодоев А.Г., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН, г. Улан-Удэ.