

**РОЛЬ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФАГОЦИТОЗА И
ПРОДУКЦИИ ТН1/ТН2 ЦИТОКИНОВ ПРИ ОСТРОМ ХОЛОДОВОМ
СТРЕССЕ У НЕИММУНИЗИРОВАННЫХ МЫШЕЙ**

Гейн С. В.^{1,2},

Шаравьева И.Л.¹

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов ПФИЦ УрО РАН.

² Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия.

**THE ROLE OF OPIOID RECEPTORS IN THE REGULATION OF
PHAGOCYTOSIS AND THE PRODUCTION OF TH1/TH2 CYTOKINES
UNDER ACUTE COLD STRESS IN NON-IMMUNE MICE**

S.V. Gein ^{a, b},

I. L. Sharav'eva ^a

^a Institute of ecology and genetics of microorganisms - branch of the Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia.

^b Perm State University, Perm, Russia.

Резюме.

Эндогенная опиоидная система играет важную роль в регуляции функций организма при стрессе, оказывая стресс-протективный, обезболивающий и иммунорегуляторный эффекты. Холодовой стресс является одной из форм стресса, и индуцируется действием низкой температуры окружающей среды (воздух, вода). Как и при других видах стрессорных воздействий, при холодовом стрессе имеет место активация симпатического отдела нервной системы и гипоталамо-гипофизарной оси. Цель данной работы - оценка влияния острого холодового стресса на продукцию цитокинов адаптивного иммунитета IL-2, IL-4, IFN- γ , фагоцитоз и продукцию активных форм кислорода у неиммунизированных мышей на фоне блокады опиоидных рецепторов *in vivo*. Объектом исследования являлись белые мыши самцы, которые подвергались острому холодовому стрессу при -20⁰ С на протяжении 10 или 60 мин. Для блокады опиоидных рецепторов использовали налоксона гидрохлорид, который вводили подкожно в дозе 0,2 мг/кг за 20 мин до стресса. После окончания стрессорного воздействия у животных выделяли селезенку и клетки перитонеальной полости. Концентрации цитокинов (IL-2, IL-4, INF- γ) в культурах спленоцитов определяли с помощью твердофазного ИФА. Поглотительную активность CD11⁺ клеток перитонеальной полости оценивали с помощью FITC-окрашенных *St.cohnii* на проточном цитометре, продукцию активных форм кислорода оценивали с помощью реакции ЛЗХЛ. Установлено, что выраженный эффект двух вариантов острого холодового стресса был выявлен в отношении продукции IFN- γ , обе экспериментальные модели налоксоннезависимо угнетали спонтанную продукцию IFN- γ . В стимулированных культурах угнетающее влияние на секрецию IFN- γ было зарегистрировано у животных, подвергнутых только 60 мин стрессу, также не зависящее от блокады опиоидных рецепторов. Продукция IL-2 снижалась в стимулированных культурах на фоне 60 мин стресса налоксоннезависимо. На продукцию IL-4 оба варианта холодового стресса влияния не оказывали. У животных, подвергнутых стрессу в течение 60 мин, наблюдалось угнетение поглотительной активности CD11⁺ клеток перитонеального смыва и активация продукции кислородных радикалов, которые отменялись введением налоксона. Таким образом, острый холодовый стресс приводил к налоксоннезависимому угнетению продукции Th1-цитокинов спленоцитами, налоксонзависимым угнетению фагоцитоза и активации микробицидного потенциала клеток перитонеальной полости.

Ключевые слова: холодовой стресс, IL-4, IL-2, IFN- γ , спленоциты, опиоидные рецепторы, фагоцитоз.

Abstract.

The endogenous opioid system plays an important role in the regulation of body functions under stress, providing stress-protective, analgesic and immunoregulatory effects. The aim of this work is to assess the effect of acute cold stress on the production of adaptive immunity cytokines IL-2, IL-4, IFN- γ , phagocytosis, and production of reactive oxygen species in non-immunized mice against the background of blockade of opioid receptors in vivo. The object of the study were male white mice that were subjected to acute cold stress at -20 C for 10 or 60 minutes. For the blockade of opioid receptors naloxone hydrochloride was used, which was administered subcutaneously at a dose of 0.2 mg/kg 20 min before stress. After exposure to stress, the spleen and peritoneal lavage were isolated from the animals. Cytokine concentrations were determined using ELISA. The absorption activity of CD11+ cells of the peritoneal cavity was assessed using FITC-stained *St.cohnii* on a flow cytometer, the production of reactive oxygen species was assessed using the reaction of luminol-dependent chemiluminescence. It was found that both experimental models naloxone independently inhibited the spontaneous production of IFN- γ . In stimulated cultures, an inhibitory effect on IFN- γ secretion was reported in animals subjected to only 60 min of stress, also independent of opioid receptor blockade. IL-2 production decreased in stimulated cultures against the background of 60 min stress naloxone independently. Both variants of cold stress had no effect on IL-4 production. Stress for 60 min inhibited absorption activity of CD11+ cells of the peritoneal lavage and activated production of oxygen radicals, which were canceled by the administration of naloxone. Thus, acute cold stress led to naloxone-independent inhibition of Th1 cytokine production by splenocytes, naloxone-dependent inhibition of phagocytosis, and activation of the microbicidal potential of peritoneal cavity cells.

Keywords: cold stress, IL-4, IL-12, IFN- γ , splenocytes, splenocytes, opioid receptors, phagocytosis.

1 Введение.

В настоящее время стресс – это общий профессиональный термин, используемый для описания любого физического, эмоционального, поведенческого ответа на угрожающие и провоцирующие факторы. Фактически стрессовый фактор представляет собой физический или психологический раздражитель, который может вызывать психическое напряжение или физиологические реакции, вызывающие патологическое состояние [7]. Различные экстремальные факторы внутренней и внешней среды приводят к выраженной нейро-эндокринной реакции, активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, и, как следствие, существенным изменениям в функционировании целого ряда органов и систем, в том числе и иммунитета [11]. Холодовой стресс является одной из форм стресса, и индуцируется действием низкой температуры окружающей среды (воздух, вода). При воздействии на организм данной стрессорной модели, как и при других видах стрессорных воздействий, имеет место активация симпатического отдела нервной системы и гипоталамо-гипофизарной оси [13].

Известно, что различные по характеру варианты стресса оказывают широкий спектр иммуномодулирующих эффектов, и холодовой стресс здесь не исключение. Показано, что воздействие низких температур приводит к существенным колебаниям в работе врожденного и адаптивного звеньев иммунитета [18], однако направленность эффектов может зависеть от целого ряда сопутствующих факторов, таких как условия, время воздействия и объект исследования [5, 6, 9]. В литературе есть данные, указывающие на то, что кратковременный повторяющийся холодовой стресс может оказывать стимулирующее действие на клеточно-опосредованное звено иммунитета [8], увеличивать активность и количество периферических естественных киллеров (NK) и CD8⁺ Т-лимфоцитов [17].

Эндогенная опиоидная система играет важную роль в регуляции функций организма при стрессе, оказывает стресс-протективный, обезболивающий и иммунорегуляторный эффекты. Показано, холодовой стресс модулирует уровни опиоидных пептидов в ЦНС и периферических тканях [13, 15], в то же время роль опиоидных рецепторов в регуляции функций клеток иммунной системы при холодовом стрессе изучена недостаточно. Ранее нами было показано, что острый холодовой стресс усиливает секрецию макрофагами активных форм кислорода, IL-10, не влияет на продукцию провоспалительных

цитокин IL-1 β и TNF- α [4] и модулирует секрецию Th1/Th2-цитокин у иммунизированных мышей в зависимости от времени введения антигена [2].

В настоящей работе мы оценили влияние острого холодового стресса на продукцию цитокинов адаптивного иммунитета IL-2, IL-4, IFN- γ , фагоцитоз и продукцию активных форм кислорода у неиммунизированных мышей на фоне блокады опиоидных рецепторов *in vivo*.

2 Материалы и методы.

Эксперимент выполнен на белых мышах самцах массой тела 20-22 г. Животные содержались в условиях лабораторного вивария, при естественном освещении, неограниченном доступе к воде и кормам. Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Мыши подвергались острому холодовому стрессу при - 20 $^{\circ}$ C в течение 10 или 60 мин. Налоксона гидрохлорид (Московский эндокринный завод, Россия) вводили подкожно в дозе 0,2 мг/кг за 20 мин до стрессорного воздействия. Все животные были разбиты на следующие группы: 1-я - контрольная, 2-я – холодовой стресс 10 или 60 мин, 3-я –холодовой стресс 10 или 60 мин + налоксон, 4-я – один налоксон. Через 1 ч после окончания экспериментальных воздействий животных выводили из эксперимента методом декапитации под эфирным наркозом и выделяли селезенку.

Для определения концентрации цитокинов в культурах спленоциты культивировали в среде RPMI (Gibco, UK) 1640 с добавлением 10% инактивированной фетальной сыворотки (Calticorn scientific, Germany), 100 ЕД/мл гентамицина (KRK), в 24-х луночных планшетах, содержащих 2,5x10 6 кл/мл. В качестве индуктора использовали конконовалин А (Кон А, «Sigma»; 20 мкг/мл). Супернатанты 48 ч культур собирали в пробирки «Эппендорфф», замораживали и хранили при - 20 $^{\circ}$ C. Определение концентрации цитокинов (IL-2, IL-4, INF- γ) проводили с использованием иммуноферментных тест-систем («R&D», США).

Для оценки поглотительной активности клеток перитонеальной полости инактивированные нагреванием клетки *St.cohnii* окрашивали

изоционатом флюоресцина (FITC). Объём 100 мкл FITC-меченных бактерий (10^9 клеток/мл) смешивали с равным объемом клеток перитонеального смыва ($1 \cdot 10^6$), инкубировали в течение 30 мин при 37°C и промывали центрифугированием в фосфатно-солевом буфере. После чего окрашивали CD11b anti-mouse PE-окрашенными антителами (Biolegend, США). Результат оценивали с помощью проточного цитофлуориметра («Cytotflex», Beckman Coulter, США, программное обеспечение CytExpert). Гейт клеточной популяции определяли путем оценки фронтального и бокового светорассеивания и размера клеток; в каждом гейте оценивали 50000 клеток. Результаты представили, как процент CD11b позитивных клеток, захвативших FITC-меченные бактериальные клетки.

Генерацию активных форм кислорода перитонеальными макрофагами оценивали с помощью спонтанной и индуцированной реакции люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛХЛ). В 96-луночные непрозрачные белые плоскодонные планшеты вносили 10^5 клеток в 100 мкл раствора Хенкса. В качестве индуктора ЛХЛ использовали опсонизированный зимозан в концентрации 150 мкг/мл. В качестве маркера выраженности реакции ЛХЛ использовался люминол 10^{-5} М. Регистрация результатов проводилась в течение часа с интервалом в 5 мин с помощью многофункционального спектрофотометра TECAN (Австрия).

Статистическая обработка результатов проведена с использованием факторного анализа и LSD-критерия для межгруппового сравнения. Все данные на рисунках представлены в виде средней и её стандартной ошибки ($M \pm m$).

3 Результаты.

Установлено, что выраженный эффект двух вариантов острого холодового стресса был выявлен в отношении продукции IFN- γ . Как видно из рис. 1, обе экспериментальные модели угнетали спонтанную продукцию IFN- γ . В стимулированных культурах угнетающее влияние на секрецию IFN- γ было зарегистрировано у животных, подвергнутых только 60 мин стрессу. Более короткий 10 мин стресс на стимулированную продукцию IFN- γ значимого влияния не оказывал, однако можно отметить имеющую место выраженную тенденцию к угнетению данного показателя. В группах животных, подвергнутых стрессу на фоне введения налоксона, угнетение продукции IFN- γ сохранялось. Оценка участия опиоидных рецепторов в регуляции продукции IL-2 и IL-4 при холодовом стрессе показала, что 60 мин

холодовой стресс угнетал стимулированную продукцию спленоцитами IL-2 (рис. 2). Как и в случае с INF- γ , этот эффект никак не зависели от введения мышам на фоне стресса налоксона гидрохлорида на продукцию IL-4 оба варианта холодового стресса влияния не оказывали (рис. 3).

При оценке влияния обоих вариантов холодового стресса на поглотительную активность клеток перитонеальной полости мышей было установлено, что у животных, подвернутых стрессу в течение 60 мин, наблюдалось снижение процента фагоцитоза CD11⁺ клеток перитонеального смыва, которая отменялась введение мышам налоксона. Экспозиция мышей при -20⁰ в течение 10 мин также приводила к снижению фагоцитарной активности клеток перитонеальной полости, однако, данное снижение носило характер тенденции, статистически недостоверной (рис 4). Также, сразу после окончания стресса, мы проводили оценку продукции АФК клетками перитонеальной полости мышей. Установлено, что в стимулированных зимозаном культурах (рис. 5) 10 мин холодовой стресс не влиял на продукцию АФК и стимулировал данный показатель в группе животных, подвергнутых стрессу на фоне введения налоксона. В группе животных, подвергнутых 60 мин стрессу, напротив, наблюдалась стимуляция продукции АФК с 5 по 55 мин наблюдения, которая отменялась на фоне введения животным налоксона.

4 Обсуждение результатов.

Подводя общий итог, можно сказать, что острый холодовой стресс угнетает продукцию цитокинов, ответственных за процесс Th1-поляризации Т-клеток и, как следствие, тормозит реакции клеточного звена иммунитета у неиммунизированных (интактных) мышей. Параллельно с этим, холодовой стресс угнетает такой важный показатель, как фагоцитоз и активирует продукцию кислородных радикалов, которые, наряду с микробицидным, обладают выраженным повреждающим эффектом, в том числе по отношению к клеткам иммунной системы [12].

Накопленные в литературе данные об иммуномодулирующих эффектах холодового стресса достаточно противоречивы и неоднозначны [2, 13]. Результаты настоящей работы указывают на подавление реакций клеточного иммунитета и фагоцитоза, что делает холодовой стресс, даже кратковременный, крайне негативным воздействием, которое способствует увеличению риска развития вирусных инфекций и опухолей. В ряде исследований установлено, что содержание мышей при субоптимальных температурах повышает риск

развития опухолей, кардио-васкулярных и нейро-дегенеративных расстройств [16]. В тоже время, в литературе присутствуют данные, указывающие на возможность стимуляции фагоцитоза, цитолитической активности NK и CD8⁺ - клеток, продукции IL-2 и INF-γ [13, 19], а также высказывается предположение, что умеренный холодовой стресс может быть полезен, в частности, для усиления противоопухолевого иммунитета. Ранее нами было показано, что острый холодовой стресс может оказывать стимулирующее действие на антителогенез, продукцию IL-2 и IL-4, но только через сутки после введения антигена. Если стрессорное воздействие производилось до иммунизации стимулирующего действия не наблюдалось [2].

Интерпретация роли эндогенной опиоидной системы в иммуномодулирующих эффектах стресса является не простой задачей. Ранее нами было показано, что отдельные модулирующие эффекты стресса, а также опиоидных пептидов не отменялись налоксоном как *in vitro*, так и *in vivo* [1, 2, 3]. Динамика различных иммунологических показателей на фоне блокады опиоидных рецепторов в различных моделях стресса может меняться разнонаправлено, показывая зависимость от целого ряда факторов, таких как модель стресса, время действия, наличие антигенной стимуляции, доза антагониста и т.д. В настоящее время известно, что все три типа рецепторов (μ, δ, κ) имеют схожую структуру, и с высокой степенью аффинности связывают представителей одного из семейств эндогенных опиоидных пептидов (эндорфины, эندоморфины, энкефалины, динарфины), однако с более низким сродством могут связывать и «не свои» лиганды. Интересным является тот факт, что в отличие от эндогенных пептидов, их синтетические аналоги взаимодействуют со всем спектром опиоидных рецепторов беспорядочно [14]. Известно, что в пределах опиоидных рецепторов могут существовать отдельные сайты для связывания пептидных и непептидных агонистов [10], помимо этого специфичность рецепторов может постоянно претерпевать некоторые изменения из-за процесса альтернативного сплайсинга. Как показано в настоящей работе, если продукция Th1-цитокинов (IL-2, INF-γ) угнеталась налоксоном независимо, то изменение показателей врожденного иммунитета отменялось блокадой опиоидных рецепторов. По нашему мнению, при остром холодовом стрессе блокада опиоидных рецепторов модифицирует только отдельные показатели и в большей степени со стороны врожденного иммунитета, в регуляции реакций адаптивного иммунитета опиоидная система принимает довольно скромное участие.

195 Исследования проведены в рамках государственного задания,
196 номер государственной регистрации темы № АААА-А19-119112290007-7.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Влияние 10 мин (А) и 60 мин (Б) холодного стресса на спонтанную и стимулированную продукцию IFN- γ спленоцитами мыши в условиях блокады опиатных рецепторов.

Figure 1. Effect of 10 min (A) and 60 min (B) cold stress on spontaneous and stimulated production of IFN- γ by mouse splenocytes under conditions of blockade of opiate receptors.

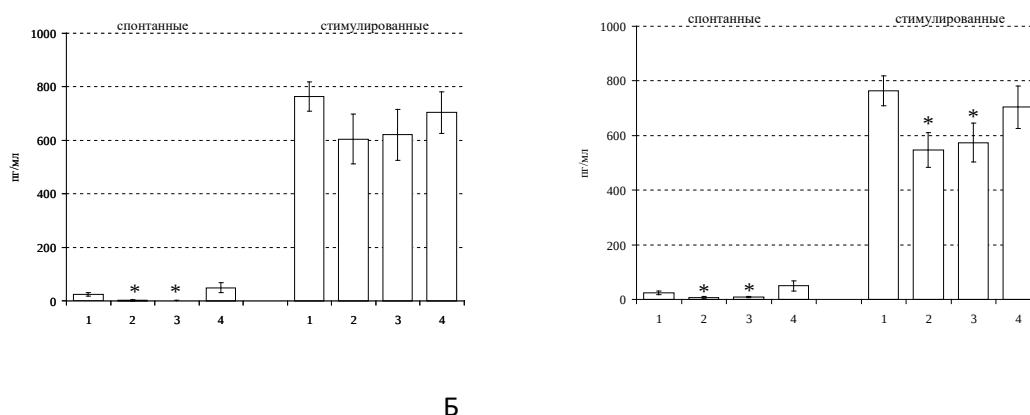


Рисунок 2. Влияние 10 мин (А) и 60 мин (Б) холодного стресса на спонтанную и стимулированную продукцию IL-2 спленоцитами мыши в условиях блокады опиатных рецепторов.

Figure 2. Effect of 10 min (A) and 60 min (B) cold stress on spontaneous and stimulated production of IL-2 by mouse splenocytes under conditions of blockade of opiate receptors.

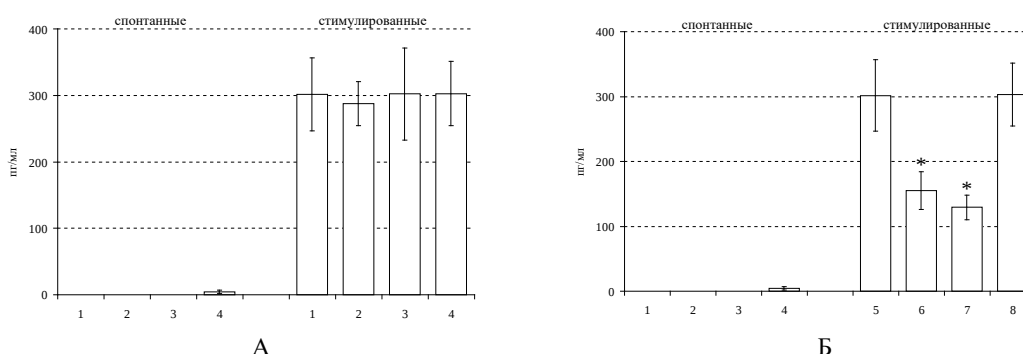


Рисунок 3. Влияние 10 мин (А) и 60 мин (Б) холодного стресса на спонтанную и стимулированную продукцию IL-4 спленоцитами мыши в условиях блокады опиатных рецепторов.

Figure 3. Effect of 10 min (A) and 60 min (B) cold stress on spontaneous and stimulated production of IL-4 by mouse splenocytes under conditions of blockade of opiate receptors.

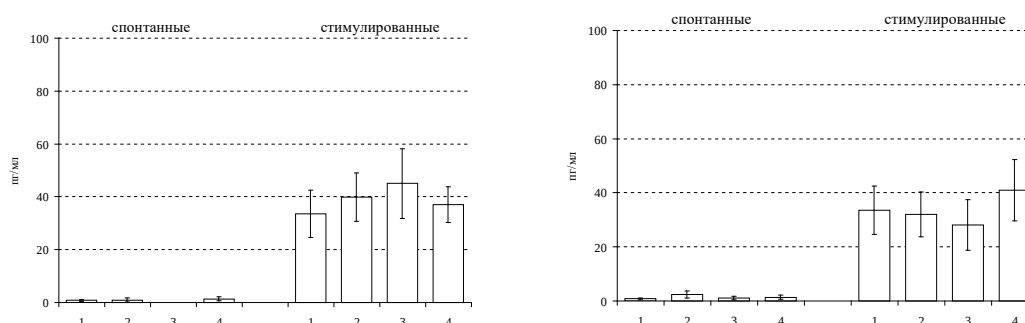


Рисунок 4. Влияние 10 мин и 60 мин холодного стресса на поглотительную активность CD 11⁺ клеток перитонеального смыва мыши в условиях блокады опиатных рецепторов.

Figure 4. Influence of 10 min and 60 min cold stress on the phagocytosis of CD 11⁺ mouse peritoneal lavage cells under conditions of blockade of opiate receptors.

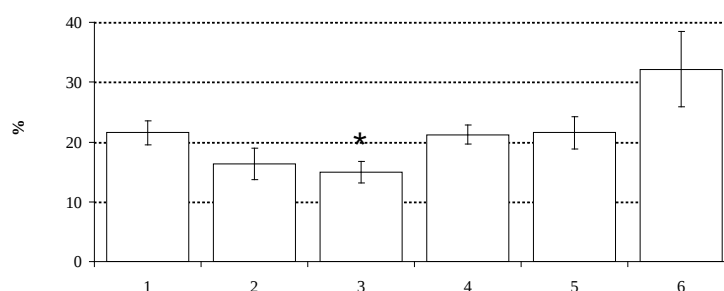
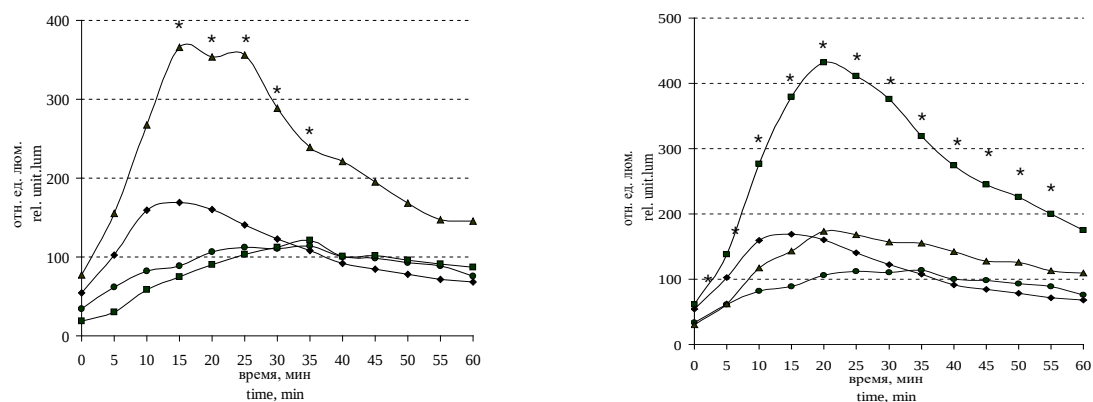


Рисунок 5. Влияние 10 мин (А) и 60 мин (Б) холодного стресса на стимулированную продукцию АФК перитонеальными клетками мыши в условиях блокады опиатных рецепторов.

Figure 5. Effects of 10 min (A) and 60 min (B) cold stress on stimulated ROS production by mouse peritoneal cells under conditions of blockade of opiate receptors.



Примечание: по оси абсцисс: 1 – контроль, 2 – стресс, 3 – стресс на фоне введения налоксона, 4 - налоксон. * - $p < 0,05$ по отношению к контролю, (n=9);

по оси ординат: процент CD11⁺ клеток, поглотивших микроорганизмы. По оси абсцисс: 1 – контроль, 2 – стресс 10 мин, 3 – стресс 60 мин, 4 – стресс 10 мин на фоне введения налоксона, 5 - стресс 60 мин на фоне введения налоксона, 6 – налоксон. * - $p < 0,05$ по отношению к контролю, (n=9);

●-контроль; ■-стресс 10 или 60 мин; ▲-стресс на фоне блокады опиатных рецепторов, ◆ - налоксон. * - $p < 0,05$ по отношению к контролю, (n=9).

Notes: on the abscissa: 1 - control, 2 - stress, 3 – stress and naloxone, 4 - naloxone. * - $p < 0.05$ in relation to observation, (n=9);

abscissa axis: 1 – control, 2 – 10 min stress, 3 – 60 min stress, 4 – 10 min stress against the background of naloxone administration, 5 – 60 min stress against the background of naloxone administration, 6 – naloxone. * - $p < 0.05$ in relation to the control, (n=9);

●-control; ■-stress 10 or 60 minutes; ▲-stress against the background of blockade of opiate receptors, ◆ - naloxone. * - $p < 0.05$ in relation to the control, (n=9).

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Гейн Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет; директор Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук;

адрес: 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13;

телефоны: (342)280-74-42 / 8(902)831-77-05;

факс: (342)280-92-11;

e-mail: gein@iegm.ru

Sergei V. Gein – MD, director of Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms - Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; professor of Department of Microbiology and Immunology Perm State National Research University;

telephones: (342)280-74-42 / 8(902)831-77-05;

fax: (342) 280-92-11;

e-mail: gein@iegm.ru

Блок 2. Информация об авторах

Шаравьева Ирина Леонидовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии развития микроорганизмов ФГБУ Института экологии и генетики микроорганизмов филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН;

индекс: 614081;

телефон: 8(912)781-81-25;

e-mail: irin.sh@gmail.com

Sharav'eva Irina L. – PhD, researcher of the laboratory of biochemistry of development of microorganisms Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences;

index: 614081;

telephone: 8(912)781-81-25;

e-mail: irin.sh@gmail.com

Блок 3. Метаданные статьи

РОЛЬ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФАГОЦИТОЗА И ПРОДУКЦИИ TH1/TH2 ЦИТОКИНОВ ПРИ ОСТРОМ ХОЛОДОВОМ СТРЕССЕ У НЕИММУНИЗИРОВАННЫХ МЫШЕЙ

THE ROLE OF OPIOID RECEPTORS IN THE REGULATION OF PHAGOCYTOSIS AND THE PRODUCTION OF TH1/TH2 CYTOKINES UNDER ACUTE COLD STRESS IN NON-IMMUNE MICE

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

РОЛЬ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФАГОЦИТОЗА И ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ПРИ СТРЕССЕ

THE ROLE OF OPIOID RECEPTORS IN REGULATION OF PHAGOCYTOSIS AND CYTOKINES PRODUCTION UNDER STRESS

Ключевые слова: холодовой стресс, IL-4, IL-2, IFN- γ , спленоциты, опиоидные рецепторы, фагоцитоз.

Keywords: cold stress, IL-4, IL-12, IFN- γ , splenocytes, splenocytes, opioid receptors, phagocytosis.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 5, количество таблиц – 0, количество рисунков – 5.

17.08.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядк овый номер ссылки	Авторы, название публикации, выходные данные	ФИО, название публикации на английском	Полный интернет адрес
1	Гейн С.В., Баева Т.А., Гейн О.Н., Черешнев В.А. Роль моноцитов в реализации эффектов β -эндорфина и селективных агонистов μ - и δ -опиатных рецепторов на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови // Физиология человека. – 2006. – Т. 32, №3. – С 111-116.	Gein S.V. , Baeva T.A., Gein O.N., Chereshev V.A. The role of monocytes in the effects of beta-endorphin and selective agonists of mu- and delta-Opiate receptors on the proliferative activity of peripheral blood lymphocytes Fiziol Cheloveka, 2006, Vol. 32, no.3, pp. 111-6. (In Russ.)	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9220227
2	Гейн С.В., Брагина Н.А., Шаравьёва И.Л. Влияние стресса на антителогенез, продукцию IL-2, IL-4, IFN- γ в зависимости от времени введения антигена и оценка роли опиоидных рецепторов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. Т. 175. № 3. – С. 298-304.	Gein S.V., Bragina N.A., and Sharav'eva I.L. Effect of stress on the production of antibodies and IL-2, IL-4, IFN γ depending on the time of antigen administration and evaluation of the role of opioid receptors. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2023, Vol. 175, no. 3, pp. 298-304	http://iramn.ru/journals/bbm/2023/3/7329/

3	Гейн С.В., Кадочникова Я.А. Влияние эндоморфинов-1,2 на функциональную активность нейтрофилов и моноцитов периферической крови in vitro // Физиология человека. – 2021. – Т. 47, № 6, – С. 65–71.	Gein S.V., Kadochnikova Y.A. Effect of endomorphins-1, 2 on functional activity of neutrophils and peripheral blood monocytes in vitro. Human Physiology, 2021, Vol. 47, no. 6, pp. 646-651.	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47147220
4	Гейн С.В., Шаравьева И.Л. Влияние холодового стресса на функциональную активность перитонеальных макрофагов мыши в условиях блокады опиатных рецепторов // Российский физиологический журнал им. Сеченова. – 2016. – Т. 102, №2. – С.188-194.	Gein S.V., and Sharav'eva I.L. Effects of Cold Stress on the Functional Activity of Mouse Peritoneal Macrophages in Conditions of Opiate Receptor Blockade. Neuroscience and Behavioral Physiology, 2017, Vol. 47, no. 5, pp. 524-527	(URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32319022/) https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25408181
5	Макарова О.В., Трунова Г.В., Диатроптов М.Е., и др. Сравнительная характеристика продукции цитокинов активированными конканавалином А спленocyтaми мышей BALB/C и C57B1/6 при холодовом воздействии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139, № 2. – С. 188-190.	Makarova. O.V., Trunova G.V., Diatroptov M.E., Serebryakov S.N., Kondashevskaya M.V., Malaitsev V.V. Comparative characterization of cytokine production by concanavalin A-activated splenocytes from BALB/c and C57BL/6 mice after cold exposure. Bull Exp Biol Med, 2005, Vol. 139, T. 2, pp. 220-222. English, Russian.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16027812/

6	Aviles H., Johnson M.T., Monroy F.P. Effects of cold stress on spleen cell proliferation and cytokine production during chronic <i>Toxoplasma gondii</i> infection. <i>Neuroimmunomodulation</i> , 2004, Vol. 11, pp. 93-102.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14758055/
7	Bali A., Randhawa P. K., Jaggi A. S. Stress and opioids: Role of opioids in modulating stress-related behavior and effect of stress on morphine conditioned place preference. <i>Neuroscience and Biobehavioral Reviews</i> , 2015, Vol. 51, pp. 138–150.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25636946/
8	Banerjee S.K., Aviles H., Fox M.T., Monroy F.P. Cold stress-induced modulation of cell immunity during acute <i>Toxoplasma gondii</i> infection in mice. <i>J. Parasitol.</i> 1999, Vol. 85, no. 3, pp. 442-447.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10386435/
9	Hangalapura B.N., Kaiser M.G., Poel J.J., Parmentier H.K., Lamont S. Cold stress equally enhances in vivo pro-inflammatory cytokine gene expression in chicken lines divergently selected for antibody responses. <i>Developmental & Comparative Immunology</i> , 2006, Vol. 30, pp. 503–511.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16150487/

10	Manglik A., Kruse A.C., Kobilka T.S., Thian F.S., Mathiesen J.M., Sunahara R.K., Pardo L., Weis W.I., Kobilka B.K., Granier S. Crystal structure of the μ -opioid receptor bound to a morphinan antagonist. Nature, 2012, Vol. 485, pp. 321-326.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22437502/
11	McEwen B.S., C.A. Biron, K.W. Brunson, Bulloch K., Chambers W.H., Dhabhar F.S., Goldfarb R.H., Kitson R.P., Miller A.H., Spencer R.L., Weiss J.M. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. Brain Res. Brain Res. Rev., 1997, Vol. 23, pp. 79–133.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165017396000124?via%3Dihub
12	Palermo-Neto J., de Oliveira Massoco C, Robespierre de Souza W. Effects of physical and psychological stressors on behavior, macrophage activity, and Ehrlich tumor growth. Brain, behavior, and immunity, 2003, Vol. 17 no. 1, pp. 43–54.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12615049/
13	Shevchuk N.A., Radoja S. Possible stimulation of anti-tumor immunity using repeated cold stress: a hypothesis. Infectious Agents and Cancer, 2007, Vol. 2, no. 20, pp. 1-9.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17999770/

14	Smith, E.M. Neuropeptides as signal molecules in common with leukocytes and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Brain, Behav. Immun., 2008, Vol. 22, no. 1, pp. 3–14.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17900859/
15	Vaswani K. K., Richard C. W., Tejwani G. A. Cold swim stress-induced changes in the levels of opioid peptides in the rat CNS and peripheral tissues. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 1988, Vol. 29, no. 1, pp. 163-168.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0091305788902900?via%3Dihub
16	Vialard F., Olivier M. Thermoneutrality and Immunity: How Does Cold Stress Affect Disease? Frontiers in Immunology, 2020, Vol.11 pp.1-11.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7714907/
17	Willemssen G., Carroll D., Ring C., Drayson M. Cellular and mucosal immune reactions to mental and cold stress: associations with gender and cardiovascular reactivity. Psychophysiology, 2002, Vol. 39, no. 3, pp. 222-228.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12212672/ https://core.ac.uk/reader/15457601?utm_source=linkout

18	Zhang Z., Chen B., Yuan L., et. al. Acute cold stress improved the transcription of pro-inflammatory cytokines of Chinese soft-shelled turtle against <i>Aeromonas hydrophila</i> . Dev. Comp. Immunol., 2015, Vol. 49, no. 1, pp. 127-37.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0145305X14002572?via%3Dihub
19	Zhao F.Q., Zhang Z.W., Qu J.P., Yao H.D., Li M., Li S., Xu S.W. Cold stress induces antioxidants and Hsps in chicken immune organs. Cell Stress and Chaperones, 2014, Vol. 19, pp. 635–648.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4147078/