

## ЭФФЕКТЫ ОСТРОГО ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА ПРОДУКЦИЮ IFN $\gamma$ И IL-12 СПЛЕНОЦИТАМИ МЫШИ

© 2019 г. И.Л. Шаравьева<sup>1\*</sup>, С.П. Тендрякова<sup>1,2</sup>

\*E-mail: irin.sh@gmail.com

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 11.03.2019

Исследовано влияние холодого стресса на продукцию активных форм кислорода (АФК) и IFN $\gamma$  и IL-12 спустя 6 часов после окончания стресса. Установлено, что острый холодого стресс ( $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 60 мин) приводил к усилению спонтанной и зимозан-стимулированной продукции АФК клетками перитонеальной полости мыши через 6 часов после окончания стрессорного воздействия. В аналогичных экспериментальных условиях уровни IFN $\gamma$  в спонтанных культурах спленоцитов мышей возрастали, тогда как в стимулированных снижались.

**Ключевые слова:** хемилюминесценция, цитокины, холодого стресс, макрофаги, спленоциты

DOI: 10.31857/S102872210006500-5

**Адрес:** 614081 Пермь, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН), Шаравьева Ирина Леонидовна.

Тел./факс: (8342) 2108759 (сл.), 8 912 781-81-25 (моб.).

E-mail: irin.sh@gmail.com

**Авторы:**

**Шаравьева И.Л.**, к.б.н., научный сотрудник ФГБУ «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия

**Тендрякова С.П.**, к.х.н., старший научный сотрудник ФГБУ «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия; доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия.

Острый холодого стресс является одним из мощнейших факторов, влияющих на организм человека и животных. Он развивается в результате действия низких температур и модулирует работу различных органов и систем – нейрогуморальной, сердечно-сосудистой, иммунной [1]. В результате действия острого холодого стресса может происходить как усиление, так и ослабление отдельных иммунных функций и показателей, а также состояния иммунного ответа в целом. Может изменяться интенсивность таких процессов, как фагоцитоз, пролиферация, продукция Th1/Th2 (IL-2, IL-4, IFN $\gamma$ ), про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ ,

TNF $\alpha$ , IL-6, IL-10) [2, 3]. Изменения, происходящие при стрессе в иммунной системе, сохраняются определенное время после окончания стрессорного воздействия. Ранее нами было показано, что острое переохлаждение ( $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 60 мин) приводит к усилению реакции ЛЗХЛ и продукции цитокинов клетками перитонеальной полости мышей [4].

**Цель работы** – оценить влияние острого холодого стресса на продукцию активных форм кислорода, IFN $\gamma$  и IL-12 перитонеальными клетками мыши через 6 ч после окончания стрессорного воздействия *in vivo*.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на белых мышках самцах массой тела 20–22 г. Животных содержали в условиях лабораторного вивария, при естественном освещении, неограниченном доступе к воде и кормам. В работе использовали модель холодого стресса. Мышей охлаждали при  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 10 или 60 мин однократно. Все животные были разбиты на следующие группы: 1-я – контрольная, 2-я – охлаждение при  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 10 мин, 3-я – охлаждение при  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 60 мин. Мышей выводили из эксперимента методом декапитации под эфирным наркозом спустя 6 ч после окончания переохлаждения.

дения. Перитонеальные лейкоциты выделяли по стандартной методике, селезенку выделяли и гомогенизировали для получения спленоцитов. Оценку продукции АФК перитонеальными клетками осуществляли с использованием реакции люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ). Для определения продукции цитокинов спленоциты культивировали в среде RPMI 1640 с добавлением 10 mM HEPES («Sigma»), 2 mM L-глутамин («Sigma»), 100 мкг/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 10% ЭТС («Биолот», г. Санкт-Петербург) в 24-луночных планшетах содержащих  $2,5 \times 10^6$  клеток на лунку. Через 12 ч (для детекции IL-12) и 24 ч (для детекции IFN $\gamma$ ) супернатанты собирали в пробирки «Эппендорфф», замораживали и хранили при  $-20^\circ\text{C}$ . Определение концентрации цитокинов в супернатантах клеточных культур проводили с использованием иммуноферментных тест-систем «R&D» в соответствии с инструкцией производителя (США). Статистическая обработка результатов проведена с использованием непарного t-критерия Стьюдента для межгруппового сравнения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что в спонтанных культурах клеток перитонеальной полости с 25 мин по 55 мин наблюдения отмечалось увеличение продукции АФК при проведении реакции ЛЗХЛ через 6 ч после окончания 60-минутного охлаждения. Под влиянием 10 мин охлаждения не отмечалось изменения продукции АФК клетками перитонеальной полости в аналогичные сроки (в аналогичных условиях) исследования. В стимулированных зимозаном культурах клеток перитонеальной полости спустя 6 ч после исследования отмечалось значительное увеличение продукции АФК на фоне 60-минутного охлаждения. Тогда как на фоне 10 мин охлаждения не было зафиксировано изменения продукции АФК. При анализе продукции цитокинов были получены следующие результаты. Под действием острого 60-минутного переохлаждения через шесть часов после окончания холодного воздействия отмечается значимое увеличение продукции INF $\gamma$  в спонтанных культурах спленоцитов мышей, 10-минутное переохлаждение же не приводило к изменениям концентраций данного цитокина в спонтанных культурах. В стимулированных культурах угнетение продукции INF $\gamma$  наблюдалось после воздействия охлажде-

ния 60 мин, но не после 10-минутного варианта переохлаждения. На продукцию IL-12 значимого влияния данные экспериментальные модели не оказывали.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, кратковременное 10-минутное охлаждение не изменяло функциональную активность клеток перитонеальной полости и спленоцитов спустя 6 ч после окончания стрессового воздействия, тогда как более продолжительное 60-минутное переохлаждение приводило к изменениям функциональной активности перитонеальных лейкоцитов и спленоцитов. Ранее нами было показано, что у животных, выведенных из эксперимента сразу после окончания стрессорного воздействия, увеличивалась продукция АФК при 60-минутном стрессе, и снижалась при 10-минутном стрессе [4]. Можно сделать вывод, что постстрессорные изменения фагоцитарной активности перитонеальных лимфоцитов и спленоцитов мыши сохраняются определенное время после исключения действия низкотемпературного стресса и зависят от его длительности.

Работа выполнена в рамках проекта № госрегистрации темы: АААА-А18-118030790046-9, поддержанного Комплексной программой Уральского отделения Российской академии наук.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *DhaBhar F. S.* The short-term stress response – Mother nature’s mechanism for enhancing protection and performance under conditions of threat, challenge, and opportunity. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2018, 49, 175–192.
2. *Sesti-Costa R., Ignacchiti M. D., Chedraoui-Silva S. Marchi L. F., Mantovani B.* Chronic cold stress in mice induces a regulatory phenotype in macrophages: correlation with increased 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase expression. *Brain Behav Immun*. 2012, 26, 50–60.
3. *Zhu G. F., Chancellor-Freeland C., Berman A. S., Lee-man S. E., Beller D. I., Black P. H.* Endogenous substance P mediates cold water stress-induced increase in interleukin-6 secretion from peritoneal macrophages. 1996, *J. Neurosci.*, 16, 3745–3752.
4. *Гейн С. В., Шаравьева И. Л.* Влияние холодного стресса на функциональную активность перитонеальных макрофагов мыши в условиях блокады опиатных рецепторов. 2016, *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, 2, 188–194. [*Gein S. V., Sharav'eva I. L.* Influence of cold stress on functional activity of mouse peritoneal macrophages under opiate receptors blockade. 2016, *Russian Journal of Physiology*, 2, 188–194].

**EFFECTS OF ACUTE COLD STRESS ON IFN $\gamma$  AND IL-12  
PRODUCTION BY MICE SPLENOCYTES**© 2019 I. L. Sharav'eva<sup>1\*</sup>, S. P. Tendryakova<sup>1,2</sup>*\*E-mail: irin.sh@gmail.com*<sup>1</sup>*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, UB RAS, Perm, Russia;*<sup>2</sup>*Perm State University, Perm, Russia***Received:** 28.02.2019. **Accepted:** 11.03.2019

The effect of cold stress on the production of reactive oxygen species (ROS) and IFN- $\gamma$  and IL-12 was studied 6 hours after the end of stress. It was established that acute cold stress ( $-20^{\circ}\text{C}$  for 60 min) led to increased spontaneous and zymosan-stimulated production of ROS by mouse peritoneal cavity cells 6 hours after the end of stress exposure. In similar experimental conditions, the levels of interferon- $\gamma$  in spontaneous splenocytes mice increased, while in stimulated mice decreased.

*Key words:* chemiluminescence, cytokines, cold stress, macrophages, splenocytes

**Authors:**

**Sharav'eva I. L.**, ✉ PhD, researcher of the laboratory of biochemistry of development of microorganisms Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, UB RAS, Perm, Russia. **E-mail:** irin.sh@gmail.com;

**Tendryakova S. P.**, PhD, senior researcher of the laboratory of ecological immunology Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, UB RAS, Perm, Russia; docent Department of microbiology and immunology Perm State University, Perm, Russia.