

- crine and immune responses. *Cryobiology*. 2014, 69, 26-33.
2. Козырева Т. В., Ткаченко Е. Я., Елисеева Л. С., Храмова Г. М., Тузиков Ф. В. и др. Влияние Ca^{2+} на терморегуляторные реакции, состав липопротеидов крови и иммунный ответ при действии холода на организм в норме и при артериальной гипертензии Бюллетень СО РАМН. 2007, 4, 138-144.
 3. Кузьменко Е. В. Современные представления о проявлениях механизмов психоэмоционального стресса. Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Серия «Биология, химия». 2013, 2, 95-106.

FEATURES OF LUMINAL-DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE REACTION UNDER THE COLD STRESS. OPIATE MECHANISMS

Sharavyeva I. L.¹, Geyn S. V.^{1,2}, Tendryakova S. P.^{1,2}

¹ASO of Russia Federal state budgetary institution of science. Institute of ecology and genetics of microorganisms UR RAS, Perm, Russian Federation; ²Perm state research university Perm, Russia

Acute cold stress (4°C, 4 hours) led to inhibition of the production of ROS (reactive oxygen species) in stimulated cultures of peritoneal macrophages of the mouse. The effect of acute cold stress was not modified by the administration of naloxone. Chronic cold stress (4°C, 4 hours, 7 days) led to stimulation of ROS production by peritoneal macrophages of mice in the presence of zymosan. This effect is partially canceled by the administration of naloxone.

Key words: peritoneal macrophages, hemiluminiscence, cold stress

ВЛИЯНИЕ НАДОЛОЛА НА СТРЕССОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛЮМИНОЛЗАВИСИМОЙ ХЕМИЛЮМИНИСЦЕНЦИИ ПРИ ЗИМОЗАНОВОМ ПЕРИТОНИТЕ

Шилов Ю. И.^{1,2,3}, Туляев Я. А.¹, Шилов С. Ю.^{1,2}, Братчикова О. Г.³

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН; ²ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России; ³ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия

Установлено, что острый стресс приводит к снижению показателей люминолзависимой хемилюминисценции у крыс с зимозановым перитонитом, а введение надолола в условиях стресса отменяет этот эффект.

Ключевые слова: бета-адренорецепторы, надолол, стресс, люминолзависимая хемилюминисценция

Актуальность. Ранее нами показана зависимость изменения функций фагоцитирующих клеток при остром стрессе от функциональной экспрессии бета-адренорецепторов; фармакологическая блокада бета-адренорецепторов пропранолола гидрохлоридом приводит к выраженной активации функций циркулирующего пула фагоцитирующих клеток [1]. В свя-

зи с тем что пропранолола гидрохлорид может частично проникать через гематоэнцефалический барьер, представляется целесообразным оценить иммуномодулирующее действие при стрессе антагониста бета-адренорецепторов периферического действия – надолола. Участие бета-адренергических механизмов в мобилизации фагоцитирующих клеток при

воспалении на фоне стресса практически не изучено.

Цель работы – исследование влияния антагониста периферических бета-адренорецепторов надолола на стрессорные изменения показателей люминолзависимой хемилюминисценции при зимозановом перитоните у крыс.

Материалы и методы. Исследования выполнены на самцах белых неинбредных крыс средней массой 200,5 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария (свободный доступ к воде и пище, 12-часовой световой день). Для моделирования общего адаптационного синдрома использовали экспериментальную модель 24-часового иммобилизационного стресса (иммобилизация животных в положении на спине в пластиковых рестрейнерах (ООО «НПК Открытая Наука» Open Science, Россия; <http://www.openscience.ru/index.php?page=other&item=021>) в сочетании с дозированной кровопотерей (трехкратное взятие по 1,5 мл крови из сосудов хвоста в момент начала иммобилизации, через 6 и 24 ч от ее начала). Для фармакологической блокады периферических бета-адренорецепторов за 30 мин до начала иммобилизации животным вводили внутривенно 0,25 % раствор надолола (Sigma-Aldrich, N 1892, США) на официальной воде для инъекций в дозе 5 мг/кг массы тела однократно. Выраженность стрессорной перестройки метаболизма и ее отмены надололом контролировали по изменению уровня глюкозы периферической крови в динамике эксперимента. Изменения гематологических показателей оценивали общепринятыми методами. Для экспериментального моделирования мобилизации фагоцитирующих клеток при воспалении использовали модель 21-часового зимозанового перитонита. Животным вводили стерильную суспензию зимозана (*Zymosan A from *Sacharomyces cerevisiae**, Fluka, 97340) внутривенно в дозе 50 мг/кг (в группах со стрессом суспензию зимозана вводили через 3 ч от начала 24-часовой иммобилизации). Для приготовления суспензии 100 мг зимозана суспендировали в 4 мл изотонического официального раствора хлорида натрия, прогревали полученную суспензию в течение 60 мин на кипящей водяной бане, после чего взвесь диспергировали на ультразвуковой бане и на Vortex-Genie-2 (Scientific Industries, США). В группах сравнения и в контрольной группе вместо 0,25 % раствора надолола животным вводили

внутрибрюшинно официальную воду для инъекций, а вместо суспензии зимозана – официальный изотонический раствор хлорида натрия. Животных выводили из эксперимента под наркозом. Перитонеальные лейкоциты выделяли методом промывания брюшной полости 20 мл среды 199 с добавлением 20 ЕД/мл гепарина. После двукратного отмывания центрифугированием при 400 g в течение 10 мин раствором Хенкса концентрацию клеточных суспензий доводили до 25×10^6 клеток/мл. Кислородзависимую микробицидность перитонеальных фагоцитирующих клеток оценивали методом люминолзависимой хемилюминисценции. В стимулированном варианте в лунке планшета (3915 Assay Plate 96 Well Flat bottom Black Polysterene, Corning Inc. Costar) смешивали 70 мкл раствора Хенкса без фенолового красного, 10 мкл натриевой соли люминола (Luminol sodium salt, Sigma, США, A4686-1G) на растворе Хенкса (конечная концентрация 2×10^{-4} М), 10 мкл клеток перитонеального смыва (25×10^6 /мл) и 10 мкл опсонизированного зимозана (конечные концентрации 15, 150 и 1500 мкг/мл). В спонтанном варианте смешивали те же компоненты, но вместо зимозана вносили 10 мкл раствора Хенкса. Измерение проводили на люминометре Luminoskan Ascent® Thermo Labsystems (тип измерения – kinetic, integration time – 1000 ms, интервал – 3 мин, meas. count – 60) в течение 180 мин. Для статистического анализа использовали интегральный показатель хемилюминисценции за весь период измерения (integral, RLU). Статистический анализ проводили с использованием методов описательной статистики и критерия Дункана для множественного сравнения между группами.

Результаты и обсуждение. В использованной экспериментальной модели острого стресса у животных, подвергнутых стрессу без введения надолола, уже через 30 мин от начала иммобилизации развивается статистически значимое повышение уровня глюкозы, максимально выраженное в течение первых 6 ч от начала иммобилизации. Введение надолола на фоне стресса полностью отменяет развитие стрессорной гипергликемии, концентрация глюкозы при этом не отличается от показателей исходного фона и нестрессированных крыс контрольной группы ($p > 0,05$). Дозированная кровопотеря приводит через 24 ч от начала иммобилизации к снижению

числа эритроцитов и концентрации гемоглобина, одинаково выраженному у животных, подвергнутых только стрессу, и у крыс, подвергнутых стрессу на фоне введения надолола ($p > 0,05$ между группами). В связи с этим ее можно рассматривать как дополнительный фактор стрессорного воздействия.

Установлено, что острый стресс приводит к статистически значимому снижению показателей хемилюминисценции в пробах со всеми исследованными концентрациями опсонизированного зимозана, а введение надолола в условиях стресса отменяет этот эффект. Экспериментальные воздействия не влияют на уровень спонтанной хемилюминисценции.

Полученные результаты указывают на важную роль сигналов с периферических бета-адренорецепторов, функциональная экспрессия

которых повышается при стрессе под действием глюкокортикоидов, в супрессии воспалительной мобилизации фагоцитирующих клеток при развитии зимозанового перитонита.

Заключение. Таким образом, острый стресс приводит к статистически значимому снижению показателей люминолзависимой хемилюминисценции у крыс с зимозановым перитонитом, а введение надолола в условиях стресса отменяет этот эффект.

Работа частично выполнена в рамках гранта РФФИ 17-44-590995.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shilov Ju.I., Orlova E. G. Role of adrenergic mechanisms in regulation of phagocytic cell functions in acute stress response. *Immunology Letters*, 2003, 86 (30), 229-233.

EFFECT OF NADOLOL ON STRESS-INDUCED CHANGES OF INDICES OF LUMINOL-DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE UNDER ZIMOSAN-INDUCED PERITONITIS

Shilov Ju. I.^{1,2,3}, Tulyaev Ya. A.¹, Shilov S. Ju.^{1,2},
Bratchikova O. G.³

¹Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS; ²Acad. E. A. Wagner Perm State Medical University; ³Perm State University, Perm, Russia

It was established that acute stress leads to a decrease in the indices of luminol-dependent chemiluminescence in rats with zymosan-induced peritonitis, and administration of nadolol under stress conditions cancels this effect.

Key words: beta-adrenoceptors, nadolol, stress, luminol-dependent chemiluminescence

ВЛИЯНИЕ ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛЮМИНОЛЗАВИСИМОЙ ХЕМИЛЮМИНИСЦЕНЦИИ ПРИ ЗИМОЗАНОВОМ ПЕРИТОНИТЕ У СТАРЫХ КРЫС

Шилов С. Ю.^{1,2}, Шилов Ю. И.^{1,2}, Барков С. Ю.²

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН; ²ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия

Установлено, что у старых самцов крыс при развитии зимозанового перитонита показатели реакции люминолзависимой хемилюминисценции выше в сравнении с молодыми крысами. Введение дегидроэпиандростерона старым крысам приводит к выраженному снижению показателей люминолзависимой хемилюминисценции с перитониальными клетками.

Ключевые слова: дегидроэпиандростерон, воспаление, старение, люминолзависимая хемилюминисценция