

ЭКОЛОГО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛУДЕННОЙ ПЕСЧАНКИ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Е.И. Тихомирова¹, Л.А. Тихомирова², С.Н. Семихатова¹, З.С. Юсупова²

¹ Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
Россия, 410012, Саратов, Астраханская, 83

² Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»
Россия, 410005, Саратов, Университетская, 46

Поступила в редакцию 14.02.03 г.

Эколого-иммунологические особенности полуденной песчанки Нижнего Поволжья. – Тихомирова Е.И., Тихомирова Л.А., Семихатова С.Н., Юсупова З.С. – Исследованы морфологические особенности, функциональная активность и степень зрелости лимфоцитов тимуса, селезенки, лимфатических узлов и крови полуденных песчанок двух подвидов: *Meriones meridianus meridianus* Pall. и *Meriones meridianus nogaiorum* Hepth. Показано, что гистограммы распределения лимфоцитов по электрофоретической подвижности отличались у полуденных песчанок с различных мест обитания, характеризующихся различной инфекционной чувствительностью. Установлено, что в основе различий иммунологической резистентности у изученных подвидов полуденной песчанки лежат механизмы дифференцирования зрелых форм лимфоцитов и разная степень их функциональной активности.

Ключевые слова: полуденная песчанка, *Meriones meridianus*, лимфоциты, электрофоретическая подвижность, функциональная активность, резистентность.

Ecologo-immunological features of Midday geebil in the Lower Volga region. – Tikhomirova E.I., Tikhomirova L.A., Semikhatova S.N., Yusupova Z.S. – Two subspecies of Midday geebil, namely, *Meriones meridianus meridianus* Pall. and *Meriones meridianus nogaiorum* Hepth., were investigated for their morphological peculiarities, functional activity and maturity of thymus lymphocytes, spleen lymphocytes, lymph nodes and blood. The pattern of the lymphocyte distribution (from their electrophoretic mobility) is shown to differ for *Meriones meridianus* from different habitats characterized by various infection sensitivities. The differences in the immune resistance of the subspecies under study have been found to be caused by the differentiation mechanisms of mature lymphocyte forms and different degrees of their functional activity.

Key words: Midday geebil, *Meriones meridianus*, lymphocytes, electrophoretic activity, functional activity, resistance.

В процессе эволюции на правом и левом берегах р. Волги сформировались два подвида полуденных песчанок: *Meriones meridianus meridianus* Pall., обитающий в левобережье, и правобережный – *M. meridianus nogaiorum* Hepth. (Каталог млекопитающих ..., 1981).

Значительная разница в резистентности полуденных песчанок, обитающих на разных берегах р. Волги, является предметом исследований уже несколько десятилетий. Изучению причин этого явления посвящено много работ. Их анализ четко определяет два направления, по которым идут исследования: морфофизиологическое и иммунологическое.

Многие авторы пытались найти решение проблемы в различии физиологических особенностей право- и левобережных песчанок. Известно, что существенное значение в становлении резистентности грызунов имеют изменения процессов об-

ЭКОЛОГО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛУДЕННОЙ ПЕСЧАНКИ

мена веществ. Было установлено, что степень инфекционной чувствительности у полуденных песчанок коррелирует с сезонными и годовыми колебаниями уровней обмена веществ и терморегуляции, накоплением жировых резервов, содержанием в растительной пище токоферола и аскорбиновой кислоты, температурными условиями существования (Калабухов и др., 1959; Калабухов, 1965). Интересными являются данные о влиянии недостаточного питания на снижение естественной устойчивости правобережных песчанок.

Однако ни исследования Н.И. Калабухова (1982, 1989), показавшего физиологическую неоднородность двух подвидов, ни работы М.И. Леви (1973) и других авторов, отмечавших повышенное содержание железа и кальция в крови и нарушение утилизации кислорода у правобережных песчанок, не смогли аргументированно и в полной мере объяснить огромную разницу в их инфекционной чувствительности.

Т.Н. Донская с соавторами (1988, 1989 *а, б*) и Ю.А. Штельман (1994) изучали гормональный статус различных популяций песчанок для установления связи с их инфекционной чувствительностью. Ими была показана существенная разница в уровне связанной с белком фракции кортикостероидного гормона у левобережных и правобережных песчанок. Это позволило авторам сделать заключение, что организм левобережных полуденных песчанок является более приспособленным к адаптациям при воздействии на него внешних факторов в связи с высокой концентрацией летом и весной белковосвязанной фракции кортикостероидов, являющейся показателем запаса адаптационного потенциала. Правобережные же песчанки, по данным этих авторов, являются более чувствительными к внешним факторам, в том числе и инфекционным агентам.

Но различия в инфекционной чувствительности у зверьков двух подвидов трудно объяснить только с позиций гормонального статуса их организма. Их резистентность является исторически сложившимся и закрепленным генетическим признаком. Показатели инфекционной чувствительности могут меняться по сезонам и годам, зависеть от естественных (природных) и антропогенных факторов, воздействующих на данных животных, но степень variability чувствительности зверьков при этом всегда менее выражена, чем сама инфекционная чувствительность, сформировавшаяся в процессе эволюции (Максимов, 1984; Дятлов, 1989).

Иммунологическое направление в исследовании механизмов резистентности и инфекционной чувствительности разных подвидов песчанок предполагает изучение прежде всего особенностей функционирования иммунной системы организма животных на органном и клеточном уровнях.

Известно, что иммунная система является высокочувствительной системой организма, тонко реагирующей на изменение среды обитания животных (Ройт, 2002). В действии неблагоприятных факторов внешней среды на иммунологическую реактивность имеется определенная последовательность (стадийность), которую необходимо учитывать при экологических исследованиях (Слоним, 1971). В ранний (начальный) период контакта с неблагоприятными факторами окружающей среды компенсаторно изменяется состав иммунокомпетентных клеток, повышаются показатели резистентности и иммунитета, что рассматривается как дистанционная реакция организма к новым условиям существования или сигнал тревоги. В более поздний период постепенно развиваются сенсбилизация, аутоим-

мунные реакции, иммунодепрессия. Названные иммунологические расстройства обычно наступают раньше других изменений в организме (Сиротинин, 1969). Поэтому исследование состава иммунокомпетентных клеток (ИКК) позволяет судить об изменениях иммунологической реактивности животных на том этапе, когда они еще не привели к развитию различных заболеваний, но уже вызвали иммунные повреждения (Галактионов, 1998).

Одним из объективных методов, позволяющих получить функциональные характеристики ИКК по их пролиферативной активности и степени зрелости, является метод непрерывного клеточного электрофореза (Петров и др., 1980; Дозморov, 1984). Оценка состава лимфоцитов этим методом проводится на основании их электрокинетических свойств, поскольку известно, что электрофоретическая подвижность клеток (ЭФП) является отражением физико-химического состояния мембран, а следовательно, показателем их функциональной активности (Дозморov, 1984; Ярилин, 2002).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовались морфологические особенности, функциональная активность и степень зрелости лимфоцитов тимуса, селезенки, лимфатических узлов и крови полуденных песчанок двух подвидов: *Meriones meridianus meridianus* из окр. с. Досанг и *Meriones meridianus nogaiorum* из окр. с. Енатаевка Астраханской области. Всего исследовано 68 животных.

Для электрофоретического фракционирования использовали лимфоциты крови, тимуса и селезенки. Лимфоцитарную взвесь из крови получали в градиенте фикола-верографин методом Бейум, из органов иммунной системы – модифицированным методом Неппеу (Бейум, 1980). Об электрофоретической подвижности лимфоцитов судили по расположению электрофоретической кривой распределения лимфоцитов после препаративной сортировки их на аппарате Elfor Var-5 (Bender, Hobein, ФРГ). Жизнеспособность лимфоцитов до и после разделения определяли с помощью трипанового синего красителя. Количество лимфоцитов в исходной смеси и в полученных фракциях подсчитывали в камере Горяева (Методы исследования ..., 1981). Для морфологических исследований проводили окраску гистологических срезов гематологическим красителем Гимза и окраску по Броше.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные нами исследования показали, что профиль распределения лимфоцитов по их ЭФП отличался у полуденных песчанок, выловленных с различных мест обитания и характеризующихся разной инфекционной чувствительностью.

Изучение электрофореграмм лимфоцитов крови левобережных песчанок *M. m. meridianus* позволило отметить их высокую ЭФП, так как клетки распределялись с 39-й по 53-ю фракции с основными пиками выхода в 44-й и 49-й фракциях. Лимфоциты крови песчанок *M. m. nogaiorum* более четко отличались друг от друга по ЭФП (расстояние между пиками выхода клеток от 6-й до 10-й фракций) и были представлены клетками с менее высокой и низкой ЭФП (рис. 1, а).

ЭКОЛОГО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛУДЕННОЙ ПЕСЧАНКИ

Тимоциты песчанок подвида *M. m. meridianus* характеризовались высокой ЭФП и располагались с 39-й по 51-ю фракции с пиками выхода в 44-й и 47-й фракциях. Тимоциты подвида *M. m. nogaiorum* распределялись на три группы клеток с разной, но тоже высокой ЭФП, пики выхода клеток были в 38-, 43- и 46-й фракциях (рис. 1, б). Следует отметить также, что в количественном отношении активных клеток в тимусе правобережных песчанок было значительно меньше, чем у левобережных.

Лимфоциты селезенки песчанок подвида *M. m. meridianus* были представлены клетками с более высокой ЭФП, чем у песчанок подвида *M. m. nogaiorum*, и количественно их было значительно больше (рис. 1, в).

Аналогичные электрофореграммы были получены и для лимфатических узлов песчанок разных подвидов (рис. 1, г).

Установлено также, что у исследованных подвидов песчанок в составе лимфоцитов органов иммунной системы преобладали малые лимфоциты, лишенные гранул и имеющие высокое соотношение «ядро:цитоплазма», и не обнаружены клетки, сходные по морфологии с большими гранулярными лейкоцитами (рис. 2).

При анализе полученных результатов авторы статьи опирались на данные о функциональной характеристике лимфоцитов по их ЭФП. Известно, что Т- и В-лимфоциты относятся к категории быстро обновляющихся клеток (Ано-

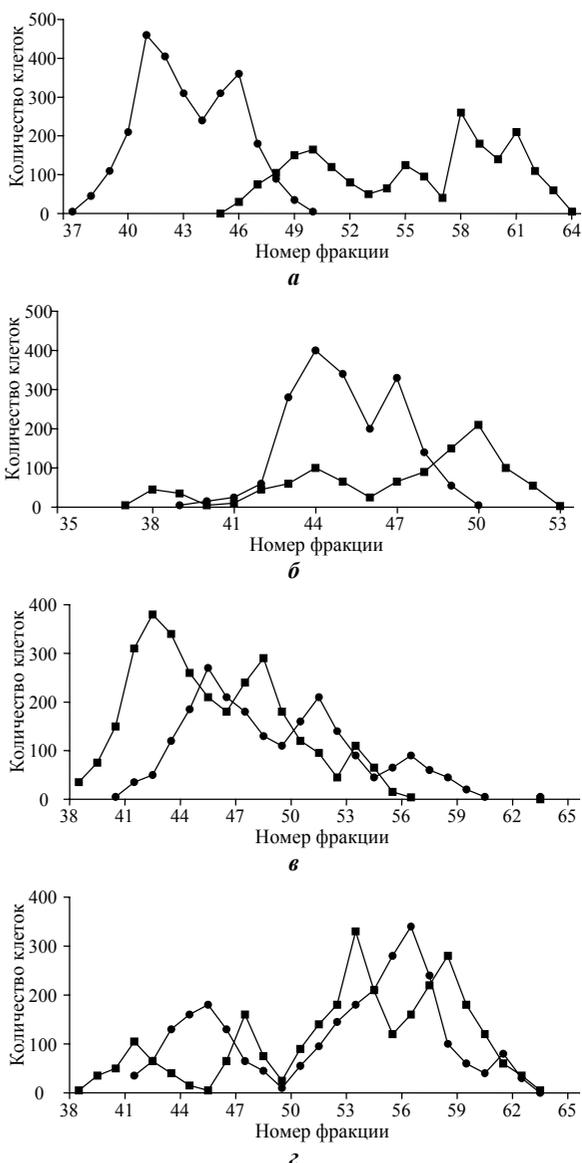


Рис. 1. Электрофореграммы лимфоцитов крови (а), тимуса (б), лимфоузлов (в) и селезенки (г) полуденной песчанки: ■ – *M. m. nogaiorum*, ● – *M. m. meridianus*

хин, Ярилин, 1980). В процессе клеточных превращений изменяются размеры клеток, меняется плотность рецепторов, клеточный фенотип также претерпевает изменения. Это находит свое отражение в изменении поверхностно-активных свойств мембран лимфоцитов (Петров и др., 1980). Для Т-лимфоцитов характерна более высокая ЭФП, формирование «иммунокомпетентности» клеток сопровождается формированием у них высокого отрицательного поверхностного заряда. Из тимуса идет интенсивная миграция клеток с высокой ЭФП в кровь и периферические органы иммунной системы (Харлова, 1987). Снижение ЭФП этих клеток характерно для молодых форм с высоким содержанием специфического тимусного антигена вследствие активации процессов пролиферации. Исследованиями ряда авторов показано, что мигрирующие в селезенку грызунов Т-лимфоциты характеризуются более низкой ЭФП, чем дифференцирующиеся там зрелые иммунокомпетентные Т-клетки (Дозморов, 1984; Ярилин, 2002).

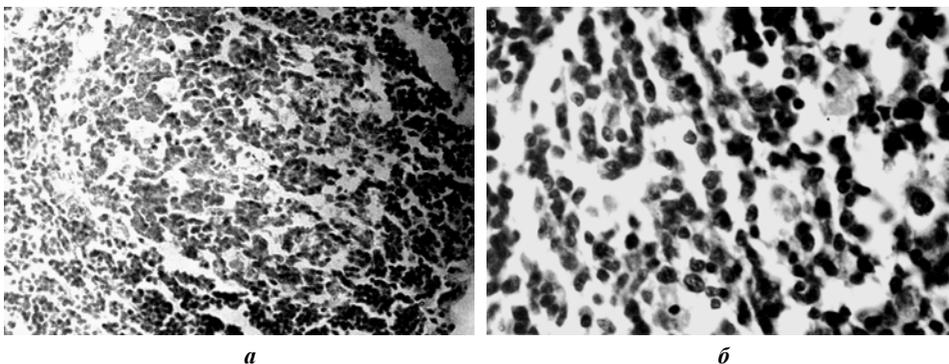


Рис. 2. Мозговая область лимфатического узла *M. m. meridianus* (а) и *M. m. nogaiorum* (б). Тяжи лимфоидной ткани (гистологический срез). Окрашивание гематоксилином/эозином $\times 1000$

В-лимфоцитам свойственна более низкая ЭФП, при электрофоретическом фракционировании эти клетки, как правило, выходят позже Т-лимфоцитов на несколько фракций (Дозморов и др., 1984). Выделяют три типа В-лимфоцитов селезенки – с высокой, низкой и средней ЭФП. Клетки с высокой ЭФП обладают большой пролиферативной активностью (являются В₁-клетками), среднюю ЭФП имеют клетки-предшественники. Большая часть клеток с малой ЭФП находится в состоянии покоя и является зрелыми В₂-лимфоцитами (Ярилин, 2002). Следовательно, можно сделать заключение о формировании в тимусе песчанок подвида *M. m. meridianus* двух функционально активных групп клеток с высокой степенью зрелости, а у подвида *M. m. nogaiorum* – трех групп клеток с разной степенью зрелости и функциональной активности. Важен также, на наш взгляд, факт преобладания более зрелых лимфоцитов с высокой функциональной активностью в крови, селезенке и лимфатических узлах песчанок подвида *M. m. meridianus*.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что в основе различий иммунологической резистентности и инфекционной чувствительности у двух изученных подвигов полуденной песчанки лежат механизмы дифференцировки зрелых форм лимфоцитов и разная степень их функциональной активности.

ЭКОЛОГО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛУДЕННОЙ ПЕСЧАНКИ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анохин Ю.Н., Ярилин А.А.* Миграция и расселение Т- и В-лимфоцитов // Успехи совр. биологии. 1980. Т. 89, вып. 2. С. 238 – 252.
- Бейум А.* Лимфоциты: выделение, фракционирование и характеристика. М.: Медицина, 1980. С. 9 – 20.
- Галактионов В.Г.* Иммунология. М.: Медицина, 1998. 320 с.
- Дозморов И.М.* Применение препаративного клеточного электрофореза в иммунологических исследованиях // Итоги науки и техники. Сер. Иммунология. 1984. № 13. С. 166 – 194.
- Дозморов И.М., Левин А.Д., Луценко Т.В., Николаева И.С., Баглаев Т.Н.* Характеристика электрофоретически разделяемых субпопуляций лимфоцитов // Иммунология. 1984. № 6. С. 43 – 48.
- Донская Т.Н., Челова Л.А., Штельман Ю.А., Раствунцева Е.В., Горькова А.В.* Баланс глюкокортикоидов у полуденных песчанок с разных берегов Волги по сезонам года // Профилактика особо опасных инфекций. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1988. С. 40 – 46.
- Донская Т.Н., Раствунцева Е.В., Штельман Ю.А., Челова Л.А., Тихомирова Л.А.* Активность иммунокомпетентных клеток в организме диких грызунов с различной инфекционной чувствительностью // Эпидемиология, микробиология и иммунология бактериальных и вирусных инфекций. Ростов на/Д.: Изд-во Ростов. ун-та, 1989 а. С. 90 – 95.
- Донская Т.Н., Раствунцева Е.В., Штельман Ю.А., Челова Л.А., Тихомирова Л.А.* Взаимосвязь инфекционной чувствительности, уровня кортикостероидов в плазме крови и численности полуденных песчанок из Волго-Уральского очага чумы. Саратов, 1989 б. 14 с. Деп. в ВИНТИ 15.08.89. В. 89. № 5707.
- Дятлов А.И.* Эволюционные аспекты в природной очаговости чумы. Ставрополь: Ставроп. кн. изд-во, 1989. 198 с.
- Калабухов Н.И.* Некоторые адаптивные особенности двух географических форм полуденной песчанки // Зоол. журн. 1965. Т. 44, вып. 7. С. 1048 – 1063.
- Калабухов Н.И.* Периодические (сезонные и годовые) изменения в организме грызунов, их причины и последствия. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1989. 248 с.
- Калабухов Н.И., Мокриевич Н.А., Штельман А.Н.* Изменчивость эколого-физиологических особенностей полуденных песчанок и ее связь с их чувствительностью к чумной инфекции // Тр. ин-та «Микроб». 1959. Вып. 3. С. 16 – 19.
- Калабухов Н.И., Илюхин А.А., Лабецкая А.А.* Особенности состава жировых запасов и их сезонные сдвиги у право- и левобережных полуденных песчанок // Проблемы особо опасных инфекций. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1982. С. 19 – 27.
- Каталог млекопитающих СССР. Плиоцен – современность / Под ред. И.М. Громова, Г.И. Барановой. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1981. 166 с.
- Леви М.И.* Сравнительно-иммунологические исследования и проблемы эволюции популяций некоторых видов песчанок // Журн. общ. биологии. 1973. №1. С. 147 – 155.
- Максимов А.А.* Многолетние колебания численности животных, их причины и прогноз. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1984. 206 с.
- Методы исследования в иммунологии. М.: Мир, 1981. 484 с.
- Петров Р.В., Дозморов И.М., Левин А.Д.* Характеристика популяций лимфоцитов, полученных препаративным электрофорезом // Иммунология. 1980. № 5. С. 5 – 8.
- Ройт А., Бростовф Дж., Мейл Д.* Иммунология. М.: Мир, 2002. 580 с.
- Сиротинин Н.Н.* Значение снижения реактивности организма в возникновении и развитии патологических процессов. Киев: Наук. думка, 1969. 276 с.
- Слоним А.Д.* Экологическая физиология животных. М.: Высш. шк., 1971. 448 с.
- Харлова Г.В.* Регенерация лимфоидных органов у млекопитающих. М.: Медицина, 1987. 270 с.
- Штельман Ю.А.* Влияние гормонального баланса в организме полуденных песчанок на их инфекционную чувствительность к чуме и вирулентные свойства чумного микроба: Дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1994.
- Ярилин А.А.* Основы иммунологии. М.: Медицина, 2002. 480 с.