

Лейкоцити крові щурів різного віку при ініціації десинхронозу на тлі введення кріоконсервованої кордової крові

В.В. Ломако

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків;
e-mail: victoria@regia@gmail.com*

Висловлюється припущення, що превентивне введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (ЯВК КК) перед ініціацією десинхронозу сприятиме корекції його негативного впливу на організм. Ефективність ЯВК КК визначали за лейкоцитарними показниками крові у молодих і старих щурів (вік 6 і 18 міс). Десинхроноз моделювали зсувом світлового режиму: збільшували тривалість світлового періоду на 12 год і таким чином світловий період становив 24 год. Типи лейкоцитів підраховували у мазках крові. За інтегральними лейкоцитарними індексами оцінювали стан імунної системи. Десинхроноз у молодих тварин викликав лейкоцитоз, у старих – лейкопенію. Кількість паличкоядерних нейтрофілів збільшувалася у обох вікових групах, сегментноядерних – у молодих зменшувалася, у старих – збільшувалася; число лімфоцитів змінювалося навпаки; еозинофілів у молодих зменшувалося, у старих – не змінювалося. У молодих щурів при десинхронозі відзначали переважання молодих клітин, макрофагів, активацію гуморальної ланки імунної системи, аутоінтоксикацію, прискорення процесів гіперчутливості негайного типу, ендogenous інтоксикацію, підвищення адаптації, у старих – інфекційну інтоксикацію, переважання клітинної ланки імунітету, зниження алергізації і адаптації. Після введення ЯВК КК перед розвитком десинхронозу у молодих щурів зберігався лейкоцитоз, кількість сегментноядерних нейтрофілів і еозинофілів відповідала контролю, паличкоядерних – збільшувалася, лімфоцитів – зменшувалася. У старих щурів загальна кількість лейкоцитів відповідала контрольній групі, відсоток еозинофілів був як у молодих тварин, але підсилювалася лімфопенія. Незалежно від віку зростав пул клітин неспецифічного захисту, активувалася клітинна ланка імунної системи, знижувалася адаптація і проявлялася аутоінтоксикація. Також у 6-місячних тварин переважали молоді форми нейтрофілів, знижувалася алергізація та імунореактивність, активувалася афекторна, а у старих – макрофагальна ланки імунної системи. Отже, застосування ЯВК КК перед ініціацією десинхронозу у старих щурів сприяло відновленню загальної кількості лейкоцитів, числа еозинофілів і моноцитів. У обох вікових групах знижувався індекс алергізації, у 6-місячних – збільшувався вміст молодих форм нейтрофілів, що свідчить про стимуляцію лейкопоезу.

Ключові слова: лейкоцити крові; десинхроноз; ядровмісні клітини кріоконсервованої кордової крові; вік.

ВСТУП

У зв'язку з особливостями життя і професійної діяльності (війна, хронічний стрес, нічні зміни, трансконтинентальні перельоти тощо) сучасна людина все частіше стикається з інверсією світлового режиму, внаслідок чого розвивається, зокрема циркадний десинхроноз. Десинхроноз (англ. jet lag) — це неузгодженість біологічних ритмів організму з

фізичними та соціальними датчиками часу, що, як відомо, сприяє розвитку функціональних порушень в організмі, особливо при старінні [1, 2]. Проблема профілактики десинхронозів є досить актуальною. Нерво-емоційне напруження, інтелектуальні перевантаження, порушення режиму праці та відпочинку можуть призвести до серйозних змін стану здоров'я. Нині проводяться спроби фармакологічної корекції десинхронозів і

© Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 2023

© Видавець ВД “Академперіодика” НАН України, 2023

пов'язаних з ними психоемоційних та соматичних розладів [2].

Відомо, що кордова кров (КК) широко використовується у відновлювальній медицині, оскільки містить велику кількість імуномодельюючих і стовбурових клітин, які можуть зменшувати наслідки ураження головного мозку, в першу чергу за рахунок протизапальних механізмів і вивільнення нейротрофічних факторів або факторів росту для стимуляції ендогенного нейрогенезу. Компоненти КК ефективні в лікуванні цілого спектра захворювань, включаючи гематологічні злоякісні новоутворення, недостатність кісткового мозку, гемоглобінопатії та вроджені порушення метаболізму [3, 4].

Ми припустили, що ін'єкції кріоконсервованих ядровмісних клітин (ЯВК) КК, завдяки унікальним властивостям і високому рівню збереження їхньої функціональної активності [5], можуть певною мірою сприяти нівелюванню негативних проявів впливу десинхронозу на організм.

Стан системи крові та її високоспеціалізованих клітин багато в чому визначає рівень адаптивних реакцій організму. Лейкоцити крові чутливо реагують на будь-які зміни в організмі, а повноцінність їхнього функціонування підтримує фізіологічну сталість імунного гомеостазу і сприяє реалізації реакцій вродженого і адаптивного імунітету. Отже, зміни кількісно-якісного співвідношення типів лейкоцитів можуть достовірно відображати стан організму за умов впливу екзо- та ендогенних факторів. До того ж, зміни більшості фізіологічних і біохімічних показників, що вивчаються у клініці, зумовлені механізмами, які також схильні до циркадних коливань і позначаються на ритмічності контрольованих функцій [6–8].

Мета нашої роботи – визначити за зміною лейкоцитарних показників крові ефективність превентивного використання ін'єкції кріоконсервованих ЯВК КК людини перед ініціацією десинхронозу у молодих і старих щурів.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) і положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), та були схвалені Комітетом із біоетики Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (ІПКіК НАН України).

Дослідження виконані на 6- та 18-місячних самцях білих безпородних аутбредних щурів, яких до початку експерименту утримували в умовах віварію ІПКіК НАН України за природного світлового режиму на стандартному раціоні *ad libitum*.

Суспензію кріоконсервованих ЯВК КК людини в аутологічній плазмі шурам вводили внутрішньоочеревинно (1,0 мл) за 7 діб до моделювання десинхронозу, вміст стовбурових CD34⁺-клітин становив $2-4 \cdot 10^5$ [5]. Десинхроноз моделювали одноразовим зсувом світлового режиму [9], тобто збільшенням тривалості світлового періоду на 12 год і таким чином світловий період становив 24 год. Тварин кожного віку розділили на експериментальні групи (по 5 у кожній): контроль (інтактні тварини), тварини з моделлю десинхронозу та з ініціацією десинхронозу після введення ЯВК КК людини. Забір крові одночасно з фрагментами тканин для інших досліджень проводили після декапітації тварин.

Кількісно-якісну оцінку типів лейкоцитів здійснювали у мазках крові, оброблених фіксатором Май-Грюнвальда і забарвлених гематологічним барвником (за Романовським). Загальну кількість лейкоцитів оцінювали у камері Горяєва. Розраховували інтегральні лейкоцитарні індекси (ЛІІ), що дає змогу оцінити в динаміці стан різних ланок імунної системи та неспецифічної резистентності організму, не вдаючись до спеціальних методів дослідження [6, 10–12]. У роботі використано

13 ІЛІ, а саме: індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів ($ICNM = N/M$), за його змінами можна судити про співвідношення компонентів мікро- та макрофагальної системи; індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів ($ICLM = L/M$), що відображає взаємовідносини афекторної та ефекторної ланок імунологічного процесу; індекс співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів ($ICNL = \frac{N + C}{L}$) – співвідношення клітин неспецифічного і специфічного захисту; лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс ($LPI = \frac{10L}{Mi + Y + N + C + E + B}$) – дає змогу диференціювати ауто- та інфекційну інтоксикацію; індекс ядерного зсуву ($IYZ = \frac{Mi + Y + N}{C}$) тобто співвідношення вмісту суми всіх молодих форм нейтрофілів до їхніх зрілих форм; індекс алергізації ($IA = \frac{L + 1 - (E + 1)}{N + C + M}$); індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів ($ICLE = L/E$), що відображає співвідношення процесів гіперчутливості негайного і уповільненого типу; індекс зсуву лейкоцитів ($I3L = \frac{E + B + C + N}{L + M}$), підвищення якого свідчить про активний запальний процес і порушення імунореактивності; лейкоцитарний індекс ($LI = L/N$), який відображає взаємовідносини гуморальної і клітинної ланок імунної системи; лейкоцитарний індекс інтоксикації Кальф-Каліфа ($LPI = \frac{4Mi + 3Y + 2N + C}{(PK + 1)(L + M)(E + 1)}$), що характеризує рівень ендогенної інтоксикації та активізації процесів тканинного розпаду; індекс реактивної відповіді нейтрофілів ($IRVN = \frac{N \times C}{(L + M) \cdot E}$), який є показником ендогенної інтоксикації; індекс адаптації Гаркаві ($IAG = L/C$) та індекс імунореактивності ($IIP = (L + E)/M$). Скорочення у наданих формулах означають типи клітин: П та С – паличко- та сегментоядерні нейтрофіли відповідно; Л – лімфоцити; М – моноцити; Н – нейтрофіли; Е – еозинофіли; Б – базофіли; Мі – мієлоцити; Ю – юні форми (метамієлоцити), ПК – плазматичні клітини.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням непараметричного

критерію Манна-Уїтні, виражали у вигляді $M \pm SE$. Вірогідність одержаних результатів оцінювали на рівні значущості не менше ніж 95% ($P < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У старих щурів контрольної групи порівняно з 6-місячними у мазках крові спостерігали збільшення загальної кількості лейкоцитів, відсотка сегментоядерних нейтрофілів, еозинофілів (майже вдвічі) і моноцитів та зменшення лімфоцитів (табл. 1), а також появу поліхроматофільних і юних (мієлоцити) клітин (1:100) та плазматизацію цитоплазми у окремих лейкоцитів.

Поліхроматофілія притаманна незрілим еритроїдним клітинам за умов одночасної наявності слабколужного гемоглобіну і кислій субстанції, що відбувається за інтенсивного виходу в кров молодих форм еритроцитів. Плазматизація цитоплазми спостерігається у незрілих лейкоцитів, нездатних продукувати антитіла; вихід таких клітин із кровотворної тканини і лімфатичних вузлів у кровотік є наслідком збою у роботі імунної системи, а також визначається реактивною відповіддю системи на стрес [6, 8].

Вивчення лейкоцитарної формули є необхідною складовою загального аналізу крові. Однак окремі її показники не дають цілісного уявлення про реакції системи крові та організму на вплив різних ендо- та екзогенних факторів. Тому розраховують ІЛІ (табл. 2), які дають змогу достовірно діагностувати і прогнозувати зміни стану організму тварин і людини, а також окремих ланок імунної системи [11–13]. Зміни ІЛІ у старих щурів порівняно з молодими (див. табл. 2) свідчили про активацію ефекторної ланки імунітету, процесів гіперчутливості, переважання клітин неспецифічного захисту (нейтрофілів) та їхніх незрілих форм, зниження імунореактивності та активацію запального процесу.

Слід зазначити, що індекс імунореактивності є маркером активності цитокінпроду-

куючих клітин та дисбалансу у цитокіновому профілі. Одночасне зниження індексу імунореактивності та підвищення індексу зсуву лейкоцитів свідчить про порушення балансу між гуморальною та клітинною ланками імунної відповіді [12]. Детальніший аналіз вікових змін лейкоцитарних показників наданий у нашій попередній праці [13].

Виходячи з класифікації десинхронозів використовується в наших експериментах модель відповідає екзогенному (фото-) десинхронозу першої стадії (тимчасової неузгодженості). До того ж віковий десинхроноз, оскільки дослідження проводили й на старих тваринах, за механізмами розвитку і причинному фактора окремо виділяється в особливій класифікації десинхронозів [1, 2].

За ініціації десинхронозу загальна кількість лейкоцитів у крові молодих щурів істотно збільшувалася (майже у 2,5 раза), у

старих тварин, навпаки, зменшувалася (у 1,4 раза), тобто десинхроноз викликав у молодих тварин лейкоцитоз, а у старих – легку лейкопенію (табл. 1). Кількість паличкоядерних нейтрофілів збільшувалася як у молодих, так і старих щурів (у 3,6 і 2,2 раза відповідно), сегментноядерних – зменшувалася у молодих (у 1,6 раза), а у старих – збільшувалася (у 1,2 раза); кількість лімфоцитів змінювалася навпаки; кількість еозинофілів у старих не змінювалася, у молодих – зменшувалася, у старих щурів спостерігали тенденцію до зменшення числа моноцитів (див. табл. 1). Зменшення кількості еозинофілів може мати фізіологічні причини, такі як фізичне навантаження, стрес тощо, і в такому разі їхній рівень нормалізується самостійно протягом деякого часу. Зменшення кількості еозинофільних лейкоцитів, які мають дезінтоксикаційну функціональну активність, а також

Таблиця 1. Зміни співвідношення типів лейкоцитів крові щурів за умов моделювання десинхронозу на тлі введення ядромісних клітин кордової крові людини (M ± SE)

Показник	Контроль	Десинхроноз	Ядромісні клітини кордової крові і десинхроноз
Загальна кількість лейкоцитів, 10 ⁹ /л			
Молоді щури	6,5 ± 0,1	15,2 ± 0,3*	11,0 ± 0,9*
Старі щури	7,3 ± 0,3**	5,7 ± 0,1* **	6,7 ± 0,1**
Паличкоядерні нейтрофіли, %			
Молоді щури	1,9 ± 0,4	7,0 ± 0,4*	9,0 ± 0,9*
Старі щури	2,5 ± 0,5	5,5 ± 0,3* **	5,5 ± 0,3* **
Сегментноядерні нейтрофіли, %			
Молоді щури	27,1 ± 1,5	16,9 ± 2,2*	30,4 ± 1,1
Старі щури	32,6 ± 2,0**	40,7 ± 2,3* **	49,0 ± 1,6* **
Еозинофіли, %			
Молоді щури	3,5 ± 0,7	1,5 ± 0,2*	4,1 ± 1,4
Старі щури	6,9 ± 0,7**	5,5 ± 1,7**	3,0 ± 1,6*
Лімфоцити, %			
Молоді щури	65,5 ± 1,3	73,2 ± 2,2*	54,6 ± 1,2*
Старі щури	56,2 ± 4,8**	46,2 ± 1,0* **	39,2 ± 1,1* **
Моноцити, %			
Молоді щури	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,9 ± 0,3
Старі щури	2,4 ± 0,4**	2,0 ± 0,4	1,5 ± 0,3

Примітка: тут і у табл. 2: *P < 0,05 порівняно з контролем відповідного віку; **P < 0,05 порівняно зі значеннями у молодих щурів.

Таблиця 2. Інтегральні лейкоцитарні індекси у щурів за умов моделювання десинхронозу на тлі превентивного введення ядровмісних клітин кордової крові людини (M ± SE)

Показник	Контроль	Десинхроноз	Ядровмісні клітини кордової крові і десинхроноз
Індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів			
Молоді щури	23,6 ± 2,4	15,7 ± 1,4*	23,1 ± 2,8
Старі щури	20,6 ± 5,7	20,6 ± 5,7	40,2 ± 8,3* **
Індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів			
Молоді щури	54,2 ± 1,9	59,1 ± 6,5	34,2 ± 6,2*
Старі щури	28,5 ± 5,5**	27,3 ± 7,4**	29,4 ± 5,6
Індекс співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів			
Молоді щури	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,7 ± 0,0*
Старі щури	0,7 ± 0,1**	1,0 ± 0,1	0,7 ± 0,0*
Лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс			
Молоді щури	20,1 ± 1,3	30,9 ± 3,6*	12,5 ± 0,5*
Старі щури	16,4 ± 3,7	8,9 ± 0,3* **	6,6 ± 0,3* **
Індекс алергізації			
Молоді щури	3,9 ± 0,4	4,1 ± 0,4	2,6 ± 0,4*
Старі щури	4,4 ± 1,0	2,4 ± 0,5* **	1,4 ± 0,3* **
Індекс ядерного зсуву			
Молоді щури	0,1 ± 0,0	0,5 ± 0,1*	0,4 ± 0,0*
Старі щури	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,0**	0,1 ± 0,0**
Індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів			
Молоді щури	17,8 ± 2,9	55,5 ± 7,7*	27,1 ± 6,1
Старі щури	9,2 ± 1,2**	12,2 ± 4,2**	13,2 ± 8,5**
Індекс зсуву лейкоцитів			
Молоді щури	0,5 ± 0,0	0,3 ± 0,0*	0,8 ± 0,0*
Старі щури	0,8 ± 0,1**	1,1 ± 0,0**	1,5 ± 0,1* **
Індекс адаптації Гаркаві			
Молоді щури	2,6 ± 0,2	5,0 ± 0,8*	1,9 ± 0,1*
Старі щури	2,4 ± 0,7	1,2 ± 0,1* **	0,8 ± 0,0* **
Лейкоцитарний індекс			
Молоді щури	2,5 ± 0,2	3,3 ± 0,4*	1,4 ± 0,1*
Старі щури	2,4 ± 0,6	1,0 ± 0,1* **	0,7 ± 0,0* **
Лейкоцитарний індекс інтоксикації Кальф-Каліфа			
Молоді щури	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0*
Старі щури	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,3
Індекс імунореактивності			
Молоді щури	59,5 ± 5,8	59,0 ± 6,3	37,0 ± 7,0*
Старі щури	31,9 ± 5,6**	31,1 ± 9,2**	31,6 ± 6,8
Індекс реактивної відповіді нейтрофілів			
Молоді щури	0,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2*	2,4 ± 0,8*
Старі щури	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	4,0 ± 1,5*

лімфоцитів і моноцитів, можна розглядати як ознаку пригнічення імунітету [14, 15]. Крім того, за умов ініціації десинхронозу у мазках крові молодих щурів спостерігали плазматизацію цитоплазми та амітоз (1-2:100) у частини лейкоцитів, у старих щурів – появу нормобластів (1:100).

Амітоз здебільшого спостерігається в клітинах зі зниженою мітотичною активністю, а також у старіючих, патологічно змінених або таких, що гинуть. Нормобласти є підкатегорією еритробластів, що нормально розвиваються. У здорових дорослих і дітей старшого віку нормобласти виявляються тільки у кістковому мозку, де вони розвиваються і дозрівають, тому їхня наявність у периферичній крові є важливою ознакою патологічного процесу в організмі [6–8]. Виявлення цих клітин на гемограмі – це ознака можливого формування серйозних захворювань системи кровообігу.

Розрахунок ІЛІ показав, що десинхроноз у 6-місячних щурів призводив до переважання у крові молодих клітин і компонентів макрофагальної системи, активації гуморальної ланки імунної системи, аутоінтоксикації, прискорення процесів гіперчутливості негайного типу, прояву ендогенної інтоксикації, а також підвищення адаптивних можливостей організму. У старих тварин на відміну від молодих за умов розвитку десинхронозу відзначали тільки інфекційну інтоксикацію, переважання клітинної ланки імунітету, а також зниження алергізації і адаптації організму (див. табл. 2). Слід відмітити, що моделювання десинхронозу у молодих тварин призводило до збільшення індексів адаптації Гаркаві та ядерного зсуву, а також зменшення індексу зсуву лейкоцитів. Підвищення останнього свідчить про активацію процесів запалення і порушення імунореактивності, чого за цих умов не відбувалося, а збільшення індексу ядерного зсуву – про стимуляцію лейкопоетичної функції кісткового мозку. Можна припустити, що певні ланки системи виявилися стійкими до зсуву світлового режиму або

розвиток десинхронозу чинить певний позитивний вплив на організм молодих щурів.

Коли ініціювання десинхронозу відбувалося на тлі превентивного введення ЯВК КК людини у молодих щурів ще зберігався лейкоцитоз (як і при самому десинхронозі), але менш істотний (у 1,7 раза перевищував контрольне значення). У старих щурів загальна кількість лейкоцитів у крові відповідала контрольному рівню, тобто ін'єкція ЯВК КК нормалізувала загальний вміст лейкоцитів у їхній крові, оскільки за умов десинхронозу у них спостерігали легку лейкопенію. Відсоток паличкоядерних нейтрофілів також залишався підвищеним у обох вікових групах як і при десинхронозі, але тепер у 4,7 та 2,2 раза відповідно; кількість сегментоядерних клітин у молодих не змінювалася (при десинхронозі була зменшеною), у старих тварин залишалася збільшеною у 1,5 раза порівняно з контролем, але менш виражено щодо значень при десинхронозі. Кількість еозинофілів у молодих щурів відповідала контрольному значенню (при десинхронозі вона зменшувалася), у старих – зменшувалася (майже вдвічі) і відповідала рівню молодих тварин контрольної групи. Відсоток лімфоцитів знижувався у обох вікових групах у 1,2 та 1,4 раза відповідно, тобто у старих щурів ще істотніше, ніж за умов десинхронозу. Оскільки у молодих щурів при ініціації десинхронозу вміст лімфоцитів був значно підвищеним, то можна стверджувати, що введення ЯВК КК практично сприяло нормалізації цього показника. Кількість моноцитів не змінювалася (див. табл. 1). Крім того, у них також спостерігали появу бластних клітин (1:200) як і при десинхронозі, а у старих щурів – ще й юних клітин. Наявність у крові останніх на тлі збільшення кількості паличкоядерних форм нейтрофілів, що характеризує зсув лейкоцитарної формули вліво, може свідчити про розвиток патологічного процесу в організмі і/або посилення процесів гемопоезу [8]. Особливості відповіді лейкоцитарної ланки крові молодих і старих щурів на ін'єкцію ЯВК КК

людини окремо описані у нашій попередній праці [16].

Лейкоцитоз, як відомо, є відповідною захисною реакцією системи. Фізіологічний перерозподільний лейкоцитоз проявляється при стресі, перенапруженні, впливі факторів навколишнього середовища. У поєднанні із зсувом лейкоцитарної формули вліво (регенеративний зсув), коли число паличкоядерних нейтрофілів збільшується на тлі появи молодих форм клітин, лейкоцитоз характеризує нормальну реакцію кісткового мозку на подразнення/вплив. Зсув лейкоцитарної формули вліво може також вказувати на тимчасовий дисбаланс клітин і виникати після певних навантажень. Зниження відсотка сегментоядерних нейтрофілів (спостерігалось у молодих щурів із десинхронозом) може визначатися як перерозподільними нейтропеніями, так і вказувати на розвиток патологічних змін в організмі. Зміни кількості лімфоцитів можуть відображати рівень стресу і неврологічні порушення в організмі. Наявність у крові бластних клітин (наймолодших, недиференційованих клітин крові) свідчить про активацію гемопоетичної функції кісткового мозку [5, 7, 8].

Зменшення кількості еозинофілів (еозінопенія), що спостерігалось у крові молодих щурів із десинхронозом та у старих за його ініціації на тлі введення ЯВК КК, може вказувати на зниження стійкості організму до дії екзо- і ендогенних факторів та фізичне перенапруження. Причини підвищення числа еозинофілів у крові визначаються алергічною готовністю організму, поєднане збільшення еозинофілів та моноцитів спостерігається й при інфекційних процесах [14, 15].

Можна припустити, що попереднє (за 7 діб до ініціації десинхронозу) введення ЯВК КК людини певною мірою сприяло нівелюванню окремих негативних наслідків зсуву світлового режиму на організм і молодих, і старих щурів на рівні змін кількісно-якісного співвідношення типів лейкоцитів крові. У молодих щурів якщо і зберігався лейкоцитоз,

то він був зниженим порівняно із самим десинхронозом, тобто спостерігалась тенденція до зменшення загального вмісту лейкоцитів у крові, а у старих тварин цей показник взагалі відновлювався до контрольного значення. Кількість сегментоядерних нейтрофілів і еозинофілів у молодих щурів поверталася до рівня контролю, при цьому вміст паличкоядерних нейтрофілів збільшувався, а лімфоцитів – зменшувався у обох вікових групах. До того ж, у старих тварин кількість еозинофілів зменшувалася майже вдвічі і відповідала контрольному значенню у молодих.

У групі молодих щурів моделювання десинхронозу на тлі попереднього введення ЯВК КК призводило до істотної зміни значення практично всіх ІЛІ, що вказувало на переважання клітин неспецифічного захисту, молодих форм нейтрофілів, а також про активний запальний процес, порушення імунореактивності і підвищення рівня ендогенної інтоксикації. Крім того, відзначалися активація клітинної і афекторної ланок імунної системи, посилення аутоінтоксикації, зниження адаптації і імунореактивності, але й пригнічення алергізації організму молодих щурів (див. табл. 2).

У старих щурів цієї групи як і у молодих також відбувалося переважання клітин неспецифічного захисту, активація клітинної ланки імунної системи, зниження рівня адаптації і алергізації організму, ендогенна та аутоінтоксикація, крім того у старих тварин активувалася макрофагальна система. Індекс імунореактивності у молодих щурів знижувався, у старих – не змінювався (див. табл. 2).

Слід відмітити, що за умов ініціації десинхронозу у старих щурів з 13 вивчених ІЛІ змінювалися лише 4 щодо 8 у молодих, а при розвитку десинхронозу на тлі введення ЯВК КК – 8 щодо 11. Складається враження, що певні ланки імунної системи старих тварин виявилися більш стійкими до застосованих впливів або не відповідали на стимули. До того ж імунітет – багаторівнева гомеостатична система, яку складно дестабілізувати,

оскільки вона має потужні компенсаторні властивості.

Таким чином, превентивне застосування ін'єкції кріоконсервованих ЯВК КК людини у щурів перед ініціацією десинхронозу мало певний позитивний ефект на рівні інтегральних лейкоцитарних показників крові. У старих щурів зменшений загальний вміст лейкоцитів (лейкопенія) відновлювався до контрольного, а кількість еозинофілів, збільшена у контролі, зменшувалася вдвічі щодо контрольного рівня молодих тварин. Крім того, у 6-місячних тварин збільшувалася кількість молодих форм нейтрофілів у крові, що може свідчити про стимуляцію лейкопоетичної функції кісткового мозку. Індекс алергізації знижувався у обох вікових групах.

ВИСНОВКИ

1. Після моделювання десинхронозу на тлі попереднього введення кріоконсервованих ЯВК КК людини у молодих щурів зберігається лейкоцитоз, але нижчий порівняно із самим десинхронозом, кількість сегментоядерних нейтрофілів і еозинофілів повертається до контрольного рівня, при цьому кількість паличкоядерних нейтрофілів збільшується, а лімфоцитів – зменшується. У старих щурів загальна кількість лейкоцитів у крові, знижена за умов десинхронозу, відповідає контрольному значенні, відсоток еозинофілів на рівні показників у молодих тварин, а кількість лімфоцитів зменшується, як і при десинхронозі.

2. За змінами ІЛІ превентивне введення ЯВК КК людини незалежно від віку призводить до подібних змін функціональної активності імунної системи, а саме відзначається переважання клітин неспецифічного захисту, активація клітинної ланки імунної системи, ендогенна інтоксикація, зниження рівня адаптації і алергізації організму (як і при десинхронозі у старих щурів). При десинхронозі у молодих щурів рівень адаптації підвищений. Також у молодих щурів збіль-

шується кількість незрілих форм нейтрофілів у крові (як і при десинхронозі), знижується імунореактивність (як і при десинхронозі у старих щурів) і активується афекторна ланка; у старих підсилюється макрофагальна система (як і при десинхронозі у молодих щурів).

Автор висловлює подяку лікарю вищої категорії Л.М. Піроженко та старшому науковому співробітнику, канд. біол. наук О.В. Шилу.

Робота виконана в рамках НДР за темою № 103, шифр 2.2.6.103, № держреєстрації 0116U003493 (2016-2020).

The author of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

V.V. Lomako

BLOOD LEUKOCYTES IN RATS OF DIFFERENT AGES UNDER DESYNCHRONOSIS INITIATION AGAINST THE BACKGROUND OF CRYOPRESERVED CORD BLOOD INJECTION

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Kharkov;
e-mail: victoria0regia@gmail.com*

It has been suggested that the preventive administration of cryopreserved cord blood nucleated cells (CBNCs) prior to the onset of desynchronosis may help to correct its negative effects on the body. The efficacy of CBNCs on blood leukocyte indicators in young and old rats (6 and 18 months old) was investigated. Desynchronosis was modelled by shifting the light regime: the duration of the light period was increased by 12 h, resulting in a light period of 24 h. Leukocyte types were determined in blood smears. Integral leukocyte indices were used to assess the state of the immune system. Desynchronosis caused leukocytosis in young rats and leukopenia in aged rats. The number of banded neutrophils increased in both, segmented neutrophils decreased in young rats and increased in aged rats; lymphocytes changed on the contrary; eosinophils decreased in young rats but did not change in aged rats. In young rats with desynchronosis, the predominance of young cells, macrophages, activation of the humoral link of the

immune system, auto- and endogenous intoxication, acceleration of hypersensitivity of the immediate type processes, and increased body adaptation were noted. In aged rats, infectious intoxication, cellular link of immune system predominance, and a decrease in allergy and adaptation were observed. After CBNCs injection before desynchronization, leukocytosis remained, segmented neutrophils and eosinophils recovered, banded neutrophils increased and lymphocytes decreased in young rats. In old rats, the total number of leukocytes, monocytes and eosinophils recovered, but lymphopenia increased. Regardless of age, the cells of non-specific protection predominated; the cellular link of the immune system activated, adaptation decreased and autointoxication was manifested. In young rats, young forms of neutrophils increased, allergy and immunoreactivity decreased, and the affective link of the immune system and macrophage in aged rats was activated. Therefore, after the preventive use of human CBNCs before desynchronization initiation in aged rats, the total leukocyte content and the number of eosinophils and monocytes were restored. In 6-month-old rats, the content of young forms of neutrophils increased, indicating stimulation of leukopoiesis. The allergy index decreased in both groups.

Key words: blood leukocytes; desynchronization; cryopreserved human cord blood nucleated cells; age; rats.

REFERENCES

1. Bazhanova ED. Desynchronization: types, main mechanisms, role in the pathogenesis of epilepsy and other diseases: a literature review. *Life (Basel)*. 2022 Aug 11; 12(8):1218.
2. Steele TA, St Louis EK, Videnovic A, Auger RR. Circadian rhythm sleep-wake disorders: a contemporary review of neurobiology, treatment, and dysregulation in neurodegenerative disease. *Neurotherapeutics*. 2021; 18(1):53-74.
3. Berglund S, Magalhaes I, Gaballa A, Vanherberghen B, Uhlin M. Advances in umbilical cord blood cell therapy: the present and the future. *Exp Opin Biol Ther*. 2017; 17(6): 691-99.
4. Orlando N, Pellegrino C, Valentini CG, Bianchi M, Barbagallo O, Sparnacci S, Forni F, Fontana TM, Teofili L. Umbilical cord blood: Current uses for transfusion and regenerative medicine. *Transfus Apher Sci*. 2020; 59(5):102952.
5. Babiichuk LO, Grischenko VI, Gurina TM, et al., inventors; Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, assignee. [Method of cryopreservation of nucleated cord blood cells, including hematopoietic stem cells]. Patent of Ukraine No. 92227. 11.10.2010. [Ukrainian].
6. Omman RA, Kini AR. Leukocyte Development, Kinetics, and Functions Chapter 9. In: Keohane EM, Walluga JM, Otto CN. *Rodax's hematology. Clinical principles and applications*. 6th ed. Elsevier; 2020. 117-35.
7. Dale DC, Boxer L, Liles WC. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood*. 2008; 112(4): 935-45.
8. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13(3): 159-75.
9. Sudo A, Miki K. Circadian rhythm of catecholamine excretion in rats after phase shift of light-dark cycle. *Indust Health*. 1995; 33(2): 57-66.
10. Dong CH, Wang ZM, Chen SY. Neutrophil to lymphocyte ratio predict mortality and major adverse cardiac events in acute coronary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Clin Biochem*. 2018; 52: 131-6.
11. Speransky AI, Samoilenko GE, Lobachev MV. General blood test – are all its possibilities exhausted? Integral intoxication indices as criteria for assessing the severity of endogenous intoxication, its complications and the effectiveness of the treatment. *Health Ukraine*. 2009; 19 (6): 51-7.
12. Voloshchuk OM, Luchyk TV, Kopylchuk GP. Indicators of immunoreactivity in rats under conditions of different nutrition regimen. *Biol Tvarin*. 2021; 23(1): 12-7.
13. Lomako V.V. Blood leukocyte indices in male rats of different ages. *Advan Gerontol*. 2020; 10(2): 135-41.
14. Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, Kay AB, Rothenberg ME. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38(5): 709-50.
15. Long H, Liao W, Wang L, Lu Q. A player and coordinator: the versatile roles of eosinophils in the immune system. *Transfus Med Hemother*. 2016; 43(2), 96-108.
16. Lomako VV, Pirozhenko LM. Effect of cryopreserved human cord blood on leukocyte indices in rats. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2021; 32(1):058-062.

*Матеріал надійшов
до редакції 13.04.2023*