

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
Факультете біології, географії та екології  
кафедра біології людини та імунології

Адренергічний вплив на клітини імунної системи

Adrenergic influence on immune system cells

Кваліфікаційна робота (проект)  
на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

Виконав: здобувач (ка) Баданюк Наталія  
Ігорівна

Спеціальності 091 Біологія

Освітньо-професійної (освітньої,  
наукової) програми ID 1906 ОП  
«Ботаніка»

Баданюк Наталія Ігорівна

Керівник: Бесчасний С.П.  
кандидат біологічних наук, доцент

Рецензент: Головченко І.В., доцент,  
кандидат біологічних наук

Івано-Франківськ – 2023

## ЗМІСТ

|  |           |
|--|-----------|
| <b>ВСТУП.....</b>  | <b>3</b>  |
| <b>РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЛЕЙКОЦИТІВ, ЯК<br/>ВИСОКОСПЕЦІАЛЬНИХ КЛІТИН.....</b>             | <b>6</b>  |
| 1.1.Поняття та характеристика лейкоцитів крові.....  | 6         |
| 1.2.Будова лейкоцитів.....   | 9         |
| 1.3.Дослідження лейкоцитів.....  | 11        |
| <b>РОЗДІЛ 2. МЕХАНІЗМ ВПЛИВУ СТРЕС-ГОРМОНІВ НА<br/>ЛЕЙКОЦИТИ.....</b>                            | <b>16</b> |
| 2.1.Вплив короткочасного стресу на лейкоцити.....  | 16        |
| 2.2.Особливості лейкоцитарної формули крові за умов стрес-<br>гормону.....                       | 19        |
| 2.3.Роль лейкоцитів для імунітету.....   | 21        |
| <b>РОЗДІЛ 3. ЕМПІРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АДРЕНЕРГІЧНОГО<br/>ВПЛИВУ НА КЛІТИНИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ.....</b> | <b>26</b> |
| 3.1.Організація та методи дослідження.....   | 26        |
| 3.2.Аналіз результатів дослідження.....  | 29        |
| <b>ВИСНОВКИ.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>   | <b>36</b> |

## ВСТУП

**Актуальність дослідження.** В сучасному ритмі активного життя людина все частіше стикається із стресовими ситуаціями та станами, які в свою чергу, не залишаються безслідними на функціонуванні біологічної системи всіх живих організмів. Перш за все, слід зазначити, що хоча термін «стрес» у більшості людей викликає негативні асоціації, він може бути нешкідливим для нашого організму. Для адаптації нам потрібен стрес, щоб вижити. Саме механізми реагування на стрес, вбудовані в наш організм, допомагають нам знаходити вихід зі складних ситуацій, знаходити рішення проблем і адаптуватися до нових змін, що в основному залежить від його інтенсивності та тривалості.

Всі лейкоцити здатні до фагоцитозу. Сам фагоцитоз полягає в тому, що рухливі клітини тіла макроорганізмів захоплюють цитоплазму і перетравлюють різні чужорідні речовини: бактерії, фрагменти клітин тощо.

Загальна функція лейкоцитів заснована на фагоцитозі. Важливе значення має трофічна функція лейкоцитів. Це пов'язано з тим, що лейкоцити можуть захоплювати поживні речовини, перетравлювати їх і передавати продукти живлення іншим клітинам організму.

Потрапляючи в кров і тканини нашого організму, лейкоцити захоплюють різноманітні речовини від дрібних частинок пилу, шкіри, легенів і численних мікропошкоджень травного тракту. Разом з частинками вони проходять через кровоносну систему в кишечнику і виводяться з організму.

Захисна функція здійснюється лейкоцитами за допомогою фагоцитозу патогенних мікроорганізмів і їх токсинів і вироблених ними особливих речовин – антитіл, а це найважливіша і навіть основна функція лейкоцитів. Не менш важливою і специфічною функцією є тканинна деградація, тобто руйнування тканин тіла лейкоцитами. Основна функція білих кров'яних тілець - захист організму від сторонніх речовин. Усі лейкоцити мають ядро, а тривалість їх життя від годин до днів, за винятком лімфоцитів.

Важливо відзначити та виявити, що саме змінюється в нашій імунній системі під час стресових ситуацій та вироблення стрес-гормону. По-перше, лейкоцити перерозподіляються по всьому організму. Білі кров'яні клітини - це клітини імунного захисту, також відомі як білі кров'яні клітини. Вони захищають організм, поглинаючи і розщеплюючи чужорідні клітини, знищуючи клітини злоякісних пухлин. Лейкоцити перерозподіляються з крові в шкіру, підвищуючи клітинний імунітет шкіри. Це необхідно для захисту нашого організму від проникнення хвороботворних бактерій через шкіру. І навпаки, рівень лейкоцитів у селезінці та периферичній крові знизився, що порушувало імунну функцію цих систем. У результаті наш організм жертвує своєю здатністю створювати сильну імунну відповідь, щоб захистити нас від мікробів.

По-друге, В-лімфоцити мігрують у великих кількостях і розподіляються по всіх системах організму. В-лімфоцити це клітини імунної системи, які відповідають за розпізнавання чужорідних речовин в організмі, наприклад різного роду вірусів чи мікроорганізмів, і синтез антитіл, тобто спеціальних білків, які забезпечують знищення цих збудників. В-лімфоцити також є клітинами пам'яті: якщо організм людини заражається одним і тим же мікроорганізмом не перший раз, то миттєво реагують саме В-лімфоцити, оскільки вони пам'ятають антитіла, які минулого разу знищили чужорідну бактерію.

Одночасно знижується активність Т-лімфоцитів. Т-лімфоцити поділяються на три групи відповідно до їх функцій: Т-клітини-кілери - відповідають за знищення чужорідних клітин, Т-хелпери - підтримують функцію Т-клітин-кілерів і Т-клітини-супресори, які регулюють активність Т-клітин. Т-лімфоцити можуть викликати аутоімунну відповідь. Наприклад, коли людина отримує поранення, білки, що належать тому самому організму, потрапляють у кров з місця ураження, але деякі Т- приймають їх за «чужих» і починають атакувати. Отже, імунна відповідь сама по собі погана, і щоб запобігти цьому, наш організм м'яко знижує активність Т-лімфоцитів.

У той же час активні Т-лімфоцити мігрують до кісткового мозку нашого організму. Це клітини, які були спеціально відібрані за здатністю розпізнавати чужорідні білки. Цей відбір чітко диференціював Т-лімфоцити, які могли обманом розпізнавати власні білки від чужорідних. Тому Т-клітинам не загрожує аутоагресія. У крові також збільшується кількість нейтрофілів. Нейтрофіли - це клітини імунної системи, основна функція яких полягає в ковтанні та розщепленні дрібних сторонніх предметів або клітин. Після такого поділу нейтрофіли гинуть. Вони циркулюють по всьому тілу для своєчасного порятунку.

**Об'єкт дослідження:** стан функціональної активності лейкоцитів в умовах адренергічного впливу.

**Предмет:** функціональні показники впливу стрес-гормону на лейкоцити.

**Мета дослідження:** визначити, яким чином адренергічний вплив змінює функціональний стан лейкоцитів периферичної крові.

Відповідно до сформульованої мети необхідно виконати наступні завдання дослідження:

- 1) дати характеристику поняття, будови та функцій лейкоцитів крові;
- 2) дослідити фактори впливу короткочасного стресу на лейкоцити;
- 3) охарактеризувати особливості лейкоцитарної формули крові за умов стрес-гормону;
- 4) вивчити цитохімічні методи дослідження для визначення функціонального стану лейкоцитів;
- 5) визначити, яким чином відбувається реалізація фагоцитарної функції під впливом адреналіну.

**Структура роботи.** Дипломна робота складається зі вступу, трьох розділів, восьми підрозділів, висновків, списку використаної літератури.

## РОЗДІЛ 1

### ТЕОРЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЛЕЙКОЦИТІВ, ЯК ВИСОКОСПЕЦІАЛЬНИХ КЛІТИН

#### 1.1. Поняття та характеристика лейкоцитів крові

Провідну роль у формуванні імунітету відіграють клітини крові лейкоцити. Збільшення їх кількості називається лейкоцитозом, а зменшення лейкопенією. На відміну від інших клітин крові, які виконують свою функцію безпосередньо в судинному руслі, лейкоцити діють переважно в сполучній тканині різних органів.

Вони циркулюють у крові лише через кілька годин, зокрема від 4 до 72 годин після виходу з кісткового мозку. Потім лейкоцити перетинають стінки капілярів і оселяються в тканинах, де можуть залишатися кілька днів. Усі лейкоцити здатні рухатися самостійно. Рухливість забезпечується білками актину і міозину, які в ній містяться. Тому кров є проміжною стадією, де існують лейкоцити. Лейкоцити, що утворюються в кістковому мозку, поширюються по всіх органах через кровотік [4].

Лейкоцити це зрілі клітини, які містять ядро та інші субклітинні структури. Відповідно до форми ядра та різноманітних тілець-включень, присутніх у цитоплазмі, лейкоцити класифікуються на п'ять типів, а їх відсотковий вміст у крові називають лейкоцитарними формулами.

Існує два основних типи лейкоцитів: гранулоцити і негранулоцити. Відмінною рисою гранулоцитів є поділ ядра (бузкового кольору), еозинофільної цитоплазми (рожевого кольору), що містить гранули. За специфічною зернистістю протоплазми гранулоцити поділяються на такі види:

- нейтрофіли (мієлоїдні, молоді, паличкоядерні та сегментоядерні);
- еозинофіли;
- базофіли.

Особливістю гранулоцитів є несегментоване ядро і базофільна, блакитна цитоплазма без зернистості. До них належать:

- лімфоцити;
- моноцити.

Основною функцією лейкоцитів є захист організму від мікроорганізмів, чужорідних білків і сторонніх предметів, які можуть становити загрозу. Білі кров'яні тільця здатні рухатися самостійно, оскільки вони захоплюють мікроби та сторонні тіла та переносять їх у клітини для травлення. За швидкістю найшвидше рухаються нейтрофіли, повільніше лімфоцити і базофіли. Рухливість збільшується при захворюваннях і запаленнях. Це може бути пов'язано зі здатністю патогенних мікроорганізмів виділяти токсини, в результаті чого прискорюється рух лейкоцитів.

Фагоцитоз можна охарактеризувати як поглинання та перетравлення лейкоцитами різних мікроорганізмів, які потрапляють в організм через згустки. До речі, І.Мечников зазначав, що фагоцитарну функцію в організмі виконують клітини, які було розподілено на дві групи: рухомі - до них відносяться лімфоцити, моноцити і лімфатичні вузли, печінка та інші органи та ті, що включають нерухомі клітини. Простіше кажучи, фагоцитоз – це здійснення захисної функції організму [6].

Для боротьби з інфекцією в організмі використовуються два види факторів захисту: неспецифічні та специфічні. До неспецифічних факторів належать шкіра та слизові оболонки, які виконують роль бар'єрів і можуть утримувати сторонні речовини та перешкоджати їх потраплянню у внутрішнє середовище. До неспецифічних факторів відносяться фагоцити, які знаходяться в крові, а також присутні в різних органах системи організму.

Основними факторами боротьби з інфекціями є певні фактори, які виробляє організм. Вони визначають специфічний імунітет організму до інфекції, для якої вони створені. Така форма захисту називається імунітетом, тобто включає власні захисні механізми організму від зовнішніх впливів, таких як бактерії, віруси [4].

Імунний процес - це реакція організму на вторгнення подразників або антигенів. Антиген - це білок, який вторгся в його внутрішнє середовище і обійшов травлення. Антигени - це високомолекулярні сполуки, які можуть викликати імунну відповідь і стимулювати імунокомпетентні лімфоцити. Антигенні властивості унікальні для всіх білків. Існують сотні тисяч антигенів. Кров має здатність виробляти спеціальні білкові тіла, які захищають організм від антигенів - антитіл.

Антитіла - це так звані сироваткові глобуліни людини, які утворюються у відповідь на надходження в організм різних антигенів, нейтралізують їх і вступають з ними в різні реакції.

Утворившись у клітинах лімфатичних вузлів, селезінки та кісткового мозку, антитіла потрапляють у кров і циркулюють по всьому організму. Найбільш активними продуцентами антитіл є лімфоцити, моноцити.

Антитіла по-різному впливають на мікроорганізми або патогени. Деякі зв'язують мікроорганізми, інші осаджують зв'язані частинки, а деякі повністю розчиняють мікроорганізми.

Преципітини - це антитіла, які мають здатність зв'язуватися з мікроорганізмами. Антитіла, які лізують бактерії, називаються бактеріолізинами. Антитіла, які нейтралізують токсини бактерій, грибів, змій і рослин, називаються антитоксинами. Вони починають діяти на ті самі мікроорганізми або токсини, які викликали їх утворення [21].

Після потрапляння в організм антиген деякий час залишається в лімфовузлах. Це називається сигналом до формування макрофагів, які починають поглинати та переробляти антиген.

Імунітетом можна назвати стан, спрямований на підтримку сталого стану внутрішнього середовища, тобто захисних реакцій організму. Поняття імунітет означає непридатність до інфекційних захворювань. Існує два типи імунітету: вроджений імунітет і штучний імунітет. Вроджений імунітет – це несприйнятливність до інфекційних захворювань, які передаються від матері до дитини.



## 1.2.Будова лейкоцитів

Усі лейкоцити мають ядро та багато лізосом. Через свою неправильну форму він може утворювати псевдоподії та рухатися як амеба. Деякі типи лейкоцитів проникають крізь стінки капілярів, щоб пересуватися між клітинами.

Цитоплазма містить гранули, що містять різні речовини, такі як ферменти та білки зі специфічними функціями, такі як нейтрофіли, базофіли та еозинофіли.

Цитоплазма моноцитів і лімфоцитів позбавлена зернистих включень. Лейкоцити відрізняються за формою, розміром, будовою, властивостями та походженням.

Кількість білих кров'яних тілець у крові може коливатися, оскільки 50% з них знаходиться в інтерстиціальному просторі, одна третина в еритроцитах і лише невелика частина знаходиться в крові [17].

Розглядаючи функціональні та морфологічні властивості лейкоцитів, можна зробити висновок, що це нормальні клітини з ядром і цитоплазмою. Їх функція полягає в захисті організму від шкідливих факторів. Така структура лейкоцитів знищує чужорідні речовини, які потрапляють в організм. Будова лейкоцитів людини різноманітна. Розглянемо докладніше види білих кров'яних тілець.

Як я вже згадувалося раніше лейкоцити бувають різними і класифікуються відповідно до їх зовнішнього вигляду, структури та функції, які є структурними особливостями лейкоцитів людини.

Таким чином, до гранулоцитів відносяться:

- базофіл;
- нейтрофіли;
- еозинофіли.

Гранулоцити представлені наступними типами клітин:

1) базофіл. Низькі типи кров'яних клітин (до 1% від загальної кількості лейкоцитів). Будова лейкоцитів дуже проста. Вони мають округлі, сегментарні або паличкоподібні ядра. Цитоплазма містить різноманітні темно-фіолетові гранули. Ці гранули, які називаються базофільними гранулами, містять регуляторні молекули, ферменти та білки [10].

Базофіли походять з кісткового мозку і походять від базофілів. У зрілому стані він потрапляє в кров. Після клітини потрапляють у тканини організму. Вони беруть участь у запальних реакціях і можуть знижувати згортання крові під час анафілактичного шоку.

2) Нейтрофіл. Кров містить до 70% усіх лейкоцитів. Нейтрофіли мають у своїй цитоплазмі пурпурно-коричневі гранули, які виглядають як дрібні гранули і можуть забарвлюватися барвниками. Нейтрофіли округлої форми з сегментованими, об'єднаними паличкоподібними ядрами.

Зрілі клітини живуть протягом двох тижнів, перш ніж руйнуються в селезінці або печінці.

У цитоплазмі є 250 видів гранул. Обидва містять ферменти, які є регуляторними молекулами, які допомагають нейтрофілам виконувати свої нормальні функції. Вони можуть захистити свій організм, наприклад, один нейтрофіл може знешкодити до семи мікроорганізмів.

3) Еозинофіл. Він також має кругле ядро у формі палиці. Клітини в цитоплазмі великі, з гранулами однакової форми та розміру. Склад: білки, фосфоліпіди, вітаміни, ферменти.

Еозинофіли утворюються в кістковому мозку. Вони присутні від 8 до 15 днів, після чого потрапляють в тканини, що контактують із зовнішнім середовищем. Еозинофіли також мають фагоцитоз [4].

### 1.3. Дослідження лейкоцитів

Основне завдання – не допустити проникнення сторонніх інфекційних агентів бактеріальної, вірусної або протозойної природи. Переваги наявності лейкоцитів в організмі величезні, оскільки зменшена кількість лейкоцитів може значно підвищити сприйнятливість людини до інфекції. Сукупність різноманітних функцій, таких як фагоцитоз, алергічні реакції, робота гуморального імунітету тощо дозволяє організму ефективно боротися з інфекцією.

Після захоплення та перетравлення патогенів шляхом фагоцитозу лейкоцити руйнуються. Цей процес супроводжується розвитком місцевої запальної реакції, з підвищенням температури тіла, набряком, зміною кольору ураженої ділянки, іноді гноєм. Тривалість життя лейкоцитів не перевищує 4 днів. Кількість лейкоцитів вимірюється автоматичним аналізатором імпедансним або оптичним методами [32].

Мікроскопічне дослідження частки окремих субпопуляцій називається експресією лейкоцитів. Це дослідження в основному базується на ідентифікації та підрахунку індивідуальної морфології лейкоцитів під час підготовки мазків крові, досліджених методом MGG.

Автоматизована диференціація лейкоцитів може класифікувати лейкоцити на 3,5 або більше популяцій на основі методу вимірювання. Відповідно до вимірювання маси лейкоцитів їх можна розділити на три групи. Таким чином диференціювали фракції нейтрофілів і лімфоцитів і фракції клітин крові середнього розміру, включаючи інші лейкоцити.

Поєднуючи проточну цитометрію з методами, які оцінюють фізико-хімічні та біохімічні властивості лейкоцитів, лейкоцити можна класифікувати на п'ять груп. Автоматичні аналізатори не можуть точно ідентифікувати молоді форми лейкоцитів, але можуть розпізнати їх присутність і класифікувати їх, наприклад, як великі незрілі клітини, великі незабарвлені клітини та незрілі гранулоцити.

Порушення, виявлені в автоматизованих аналізах крові, вказують на мікроскопічне дослідження досліджуваних мазків крові. Експертна система, вбудована в аналізатор, визначає багато різних кількісних і якісних захворювань, які можна визначити на основі первинних або вторинних вимірювань. По-перше, патологія першого вимірюваного параметра вимагає мікроскопічної перевірки та зворотного зв'язку з діагностичним персоналом лабораторії [17].

Рекомендації NCCLS 1992 року щодо використання абсолютного аналізу крові для оцінки лінії лейкоцитів змінили спосіб інтерпретації результатів. Сьогодні не рекомендується використовувати формули відсотка для оцінки змін у кількості окремих типів лейкоцитів. Натомість використання формули відсотка може допомогти виявити певні порушення якості, зокрема:

- 1) загальна кількість лейкоцитів : 4000-10000/мкл;
- 2) підмножини лейкоцитів виражаються у відсотках від загальної кількості лейкоцитів та їх абсолютної кількості.

Зміни загальної кількості лейкоцитів завжди слід розглядати разом зі змінами кількості їх підгруп. Зменшення загальної кількості лейкоцитів зазвичай є наслідком зменшення їх найбільшої субпопуляції - нейтрофілів або лімфоцитів. Збільшення загальної кількості лейкоцитів, навпаки, є наслідком збільшення вищевказаних підгруп або появи патологічних клітин.

Лейкоцитоз, збільшення загальної кількості лейкоцитів, зазвичай вказує на інфекцію або лімфопроліферативне захворювання. Збільшення кількості нейтрофілів (нейтрофілів  $> 8000$ /мкл) може свідчити про наступне:

- 1) гостра бактеріальна інфекція;
- 2) мієлоїдний лейкоз;
- 3) занадто багато кортикостероїдів - синдром Іценко-Кушинга;
- 4) ревматоїдний артрит;
- 5) надмірні крововиливи;
- 6) травма (стрес);

- 7) стани після масивної крововтрати;
- 8) певні отруєння, наприклад, важкими металами, чадним газом;
- 9) діабетичний кетоацидоз;
- 10) уремія;
- 11) печінкова кома.

Підвищена кількість базофілів (базофіли > 300/мкл):

- 1) хронічний мієлоїдний лейкоз;
- 2) хронічний мієломоноцитарний лейкоз;
- 3) гострий базофільний лейкоз<sup>4</sup>
- 4) поліцитемія.

Збільшення кількості лімфоцитів (лімфоцитоз > 5000/мкл):

- 1) хронічна бактеріальна інфекція;
- 2) вірусний гепатит;
- 3) лейкемія внаслідок зрілих лімфоцитів;
- 4) вірусна інфекція (інфекційний мононуклеоз, епідемічний паротит, кір та ін.) [9].

Лейкопенія, зниження загальної кількості лейкоцитів, як правило, свідчить про порушення вироблення лейкоцитів. Нейтрофіли реагують на бактеріальні та грибові ураження людини. При важких інфекціях відзначається їх активний синтез. В результаті в кров потрапляють незрілі клітини, при цьому показники можуть збільшуватися в кілька разів. Крім того, підвищений рівень нейтрофілів реєструється в гострій фазі панкреатиту, інфаркту міокарда та мієлоїдної карциноми. У пацієнтів спостерігається високий рівень лімфоцитів у крові, переважно через вірусні інфекції. Стійкий лімфоцитоз також є ознакою мієлоїдних злоякісних новоутворень. Моноцити підвищуються при захворюваннях вірусної етіології, а також при сифілісі, новоутвореннях кісткового мозку і лімфовузлів.

Проводять цитохімічні дослідження мазків крові, лейкоцитарних концентратів. Вони засновані на використанні специфічних хімічних реакцій

для ідентифікації різних речовин усередині клітин. Ці експерименти дозволяють вивчити локалізацію та об'єктивно оцінити кількість певних речовин у різних клітинних елементах. Цитохімічні дослідження відносно прості і дозволяють досліджувати різні типи лейкоцитів, але менш точні, ніж кількісні аналізи, що проводяться за допомогою біохімічних методів.

У цитохімічних дослідженнях частіше використовують напівкількісний аналіз результатів за принципом Астальді, заснований на виявленні різного ступеня інтенсивності специфічності фарбування. Відповідно досліджувані елементи поділяються на чотири групи: негативна реакція (-), слабо позитивна (+), позитивна (+) і сильно позитивна (+++).

Для кількісного представлення результатів ми підраховували 100 клітин певного типу, диференційованих за заздалегідь визначеними принципами, потім розраховували кількість клітин з однаковою інтенсивністю фарбування плюс відповідну конкретну групу та помножили на умовну одиницю цих результатів.

Наприклад, коли досліджували активність лужної фосфатази в нейтрофілах, зі 100 досліджених клітин 60 клітин не показали ферментативної активності (-), а 35 клітин показали слабе специфічне фарбування (+), яке було сильнішим у 5 (+) клітинах. У цьому випадку показник активності лужної фосфатази нейтрофілів становить  $(60 \times 0) + (35 \times 1) + (5 \times 2) = 0 + 35 + 10 = 45$  одиниць. Результати можуть бути у вигляді середніх цитохімічних показників або середнього цитохімічного коефіцієнта [29].

Для цього також диференціюють 100 дослідницьких клітин за наведеною вище системою. Помножте отриманий відсоток клітин у кожній групі на відповідне позитивне число для цієї групи. Сума цих значень, поділена на 100, є ССС для однієї комірки. У цьому прикладі ССС для лужної фосфатази нейтрофілів буде 0,45. Якщо досліджувана речовина локалізована внутрішньоклітинно у вигляді окремих гранул (наприклад, активність

неспецифічних естераз у лімфоцитах), результати цитохімічної реакції показують позитивну реакцію.

Хоча напівкількісний метод оцінки є орієнтовним, він дозволяє порівняти розподіл досліджуваної речовини в одних і тих же клітинах різних клітинних елементів або різних патологічних станів організму в залежності від еволюції захворювання. залежно від тяжкості та проведеного лікування.

Дослідження клітинних ферментів, які є найпоширенішими, можуть продемонструвати активність різних ферментів усередині клітини. Для цього частіше використовується метод азосполучення. У цьому процесі специфічні субстрати взаємодіють з ферментами, утворюючи продукти реакції, які забарвлюються солями діазонію. За кольором визначають локалізацію ферменту та його активність [1].

Патологічний лейкоцитоз поділяють на абсолютний і відносний.

Абсолютний- збільшення кількості лейкоцитів у крові до кількох сотень тисяч ( $100,0-600,0 \times 10^9/\text{л}$  і більше). Найчастіше спостерігається за умов розвитку лейкозу: при хронічному лейкозі – дев'яносто відсотках випадків, при гострому лейкозі - в 50-60%. Підставою для діагностики лейкозу є зміна співвідношення лейкоцитів у пунктованому кістковому мозку і в крові.

Відносний лейкоцитоз фіксують у випадках:

- при гострих запальних та інфекційних процесах (проте за винятком черевного тифу, грипу, віспи, краснухи, хвороба Боткіна). Посилений лейкоцитоз встановлено при сепсисі;

- внаслідок дії токсичних речовин (інсектицидів, ендотоксинів), іонізуючого випромінювання (відразу після впливу);

- в результаті дії кортикостероїдів, адреналіну, гістаміну, ацетилхоліну, наперстянки;

- при розпаді тканин (некрозі), інфаркті міокарда, тромбозі периферичних артерій з гангреною, опіках, ексудативному плевриті, перикардиті, уремії, печінковій комі;

- значні крововтрати внаслідок травм, внутрішніх, гінекологічних та інших кровотеч. У більшості випадків підвищення кількості лейкоцитів при інфекційних захворюваннях супроводжується зрушенням лейкоцитарної формули вліво [3, 16].



## РОЗДІЛ 2

### МЕХАНІЗМ ВПЛИВУ СТРЕС-ГОРМОНІВ НА ЛЕЙКОЦИТИ

#### 2.1. Вплив короткочасного стресу на лейкоцити

Цікаво, що фізіологічні зміни при стресі пов'язані не тільки з роботою м'язів і серцево-судинної системи. Імунітет також зазнає серйозних змін, досягаючи більш високого рівня захисту. У цьому контексті виникає цілком логічне запитання: як бути з твердженням, що стрес це ворог імунітету? Як виявилось, все залежить від того, скільки триватиме стрес. Короткочасне опромінення від хвилин до годин є корисним, тоді як тривале опромінення днями чи навіть місяцями шкідливе.

Спочатку необхідно зрозуміти, чому короткочасний вплив посилює захисну функцію. У ситуаціях наїзду та втечі часто виникає багато фізичних пошкоджень. До прикладу, постраждала антилопа, якій вдалося вирватися з пазурів хижака. Вона буде кровоточити, і її виживання залежить від швидкості процесу відновлення. Логіка зміцнення імунного захисту під час стресу полягає в швидкому загоєнні ран і протистоянні патогенним мікроорганізмам, які можуть проникнути в кров і заразити організм. По-перше, це відбувається шляхом зміни розподілу імунних клітин [11].

Щоб забезпечити швидкий і ефективний захист, лейкоцити, тобто білі кров'яні клітини, які відіграють важливу роль у специфічному та неспецифічному захисті організму, повинні зібратися в місці потенційного пошкодження. У нормальних умовах в крові циркулює певна кількість лейкоцитів, достатня для забезпечення надійного захисту. Однак це число швидко змінюється під час стресу. Це явище характерне не лише для людей, а й для риб, мишей, щурів, коней, кроликів та інших тварин, що не лише підкреслює еволюційну важливість цього явища.

Цікаво, що до появи лабораторних тестів для вимірювання гормонів стресу кількість лейкоцитів у крові була провідним показником стресу. Тепер

відомо, що короткочасний стрес викликає перерозподіл імунних клітин, тобто зменшення кількості лімфоцитів і моноцитів і підвищення кількості нейтрофілів у крові.

Цей процес починається через кілька хвилин після впливу стресора. Синтез гормонів стресу активізується гіпоталамусом і гіпофізом, які діють як своєрідні сигнали. Його необхідно активувати, тому що клітини лейкоцитів швидко залишають свої місця локації (селезінку, тимус, легені та інші органи, де збираються лейкоцити) по дорозі в кровоносні та лімфатичні судини. Ці шляхи ведуть лейкоцити до виконання їх неохотних функцій в організмі. До них відносяться шкіра, слизова шлунково-кишкового тракту, печінка і лімфатичні вузли. Саме такий розподіл лейкоцитів дозволяє миттєво приймати рішення на місці, коли виникає така необхідність та сигнал в організмі.

Ще одне питання зацікавило вчених, коли з'ясувалося, що короткочасний стрес прискорює перерозподіл лейкоцитів до шкіри. Щоб дослідити це, команда вчених вирішила перевірити, як короткочасний стрес впливає на імунітет у мишей, дві групи тварин, вакцинованих равликовою лімфоціаніною вакциною, було зібрано. Мишей дослідної групи перед імунізацією 2,5 години утримували в закритих загонах у стресових умовах. Через 9 місяців тваринам повторно вводили гемоціанін равликів. Цікаво, що експериментальна група мишей, у яких розвинулася короткочасна тривога перед першою імунізацією, мала значно вищу імунну відповідь на повторне введення антигену [18].

Після першої імунізації в лімфатичних вузлах цих мишей було виявлено більше Т-клітин пам'яті та хелперів. Підвищена кількість Т-клітин пам'яті сприяє збільшенню кількості лімфоцитів і макрофагів після повторного введення антигену. Досліди на мишах показали, що передвакцинальний стрес посилює імунну відповідь, тим самим підвищуючи ефективність вакцинації. Крім того, передопераційний стрес пацієнта також

може сприяти швидшому одужанню пацієнта. Зокрема, прискорюється процес загоєння післяопераційних ран.

Імуностимулюючу дію стресу неодноразово демонстрували дослідження на мишах, щурах і приматах. Виявилося, що дендритні імунні клітини у стресових станах у тварин дозрівають швидше, а в шкірі та лімфатичних вузлах стає більше макрофагів. Тому вчених, які вивчають вплив короткочасного стресу на імунітет, зацікавило, чи може стрес допомогти запобігти злоякісним пухлинам шкіри. Посилення експресії генів спостерігалось в експериментальних групах тварин, які зазнали короткочасного стресу. Це невеликі пептидні молекули, які стимулюють міграцію лейкоцитів із крові до тканин. Стресові тварини також мали більше хелперних Т-клітин і цитотоксичних Т-лімфоцитів, які важливі для боротьби зі злоякісними клітинами.

## **2.2. Особливості лейкоцитарної формули крові за умов стрес-гормону**

Імунологічну реактивність лейкоцитів крові можна охарактеризувати їх морфологічними властивостями, структурною організацією та функціональним станом. На основі кількісної та якісної оцінки змін експресії лейкоцитів у периферичній крові формуються уявлення про пристосувальну реакцію організму. Інтегральний гематологічний показник, заснований на визначенні клітинного співвідношення в препаратах крові, динамічно оцінює стан сполук неспецифічного і специфічного імунітету для визначення ступеня інтоксикації організму та її ефективності, дозволяє лікувати ряд захворювань.

Тому показники лейкоцитарного складу крові є важливим додатковим методом дослідження захворювань різної етіології, у тому числі патологій, спричинених впливом стресу на організм. У медичній практиці традиційними психосоматичними захворюваннями вважаються нейродерміт, бронхіальна астма, псоріаз, виразкова хвороба дванадцятипалої кишки та шлунка, тиреотоксикоз, ішемічна хвороба серця, ревматоїдний артрит, цукровий діабет, часті застуди [23].

У стресових умовах функціональні резерви організму знижуються, адаптаційні можливості знижуються, а гомеостаз підтримується за рахунок більшого навантаження на регуляторні системи, що призводить до дослідження та впровадження природних адаптогенів. Серед них увагу приділено поліфенольним сполукам.

Згідно з сучасними уявленнями, ендотелій є метаболічно активним органом, який відіграє важливу роль у регуляції судинного гомеостазу та запобіганні розвитку серцево-судинних патологій шляхом контролю тону судин [17].

Він реагує на механічний вплив рідини, артеріального тиску та результуючого стресу, який чиниться на м'язовий шар кровоносних судин, і чутливий до хімічних і структурних пошкоджень [18].

Участь ендотелію у вазодилатації опосередковується дією оксиду азоту, простагліцину та процесом ендотеліозалежної гіперполяризації [19].

Емоційний стрес є згубним чинником, а серед механізмів адаптації до нього важливу роль відіграє гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова система. Вплив катехоламінів на ендотелій проявляється пригніченням синтезу оксиду азоту та збільшенням утворення ендотеліну-1, що призводить до підвищення загального периферичного опору судин.

Пролонгована дія медіаторів під час фази стресостійкості призводить до ендотеліальної дисфункції, а під час фази стресової втоми – до впливу або локального некрозу клітин [22].

Вазоконстрикцію черевної аорти у відповідь на стимуляцію ацетилхоліну хлоридом можна пояснити порушенням ендотеліальних ацетилхолінових рецепторів і прямим впливом медіаторів на гладкі м'язи інтими. Тому необхідно провести подальші дослідження, щоб зрозуміти, які фактори сприяють формуванню станів стресу-втоми, розвитку ендотеліальної дисфункції та вікової залежності.

Результати нашого експериментального дослідження реакції ендотелію судинної стінки, вік якого можна екстраполювати на вік статевого дозрівання у людини, свідчать про те, що ендотеліальні тіла ендотелію перебувають у стані сильного стресу у здорових особин лабораторних щурів. Показує, що компенсаторна здатність гемодинаміки черевної аорти, яка бере участь у механізмі нормалізації, зберігається тривалий час. Виснаження компенсаторних механізмів збігається з розвитком ендотеліальної дисфункції та глобальних гемодинамічних розладів, які не піддаються повній корекції.

### 2.3. Роль лейкоцитів для імунітету

Імунна система сформувалася в процесі еволюції і відіграє важливу роль у захисті організму від внутрішніх і зовнішніх біологічних атак (інфекційних захворювань і пухлин) і підтримці генетичної стабільності внутрішнього середовища. Імунна система включає біологічні макромолекули з інших організмів із власними структурними модифікаціями, що є результатом ендегенних помилок у реплікації генетичної інформації через мутації та шкідливі фактори. Усі ці біополімери об'єднані під загальною назвою антиген.

В імунній відповіді організму беруть участь лейкоцити, які діляться на два види: мієлоїдні та лімфоїдні. Популяція мієлоїдних клітин представлена гранулоцитами і моноцитами, а популяція лімфоцитів представлена лімфоцитами (Т- і В-клітини) і природними клітинами-кілерами (NK-клітини).

Насправді лише Т- і В-лімфоцити класифікуються як імунокомпетентні клітини, оскільки вони забезпечують адаптивну імунну відповідь і синтезують рецептори з чітко визначеною антигенною специфічністю. Усі інші лейкоцити (моноцити, гранулоцити, природні клітини-кілери) є частиною природної захисної системи [30].

Окрім лейкоцитів, клітини крові, такі як еритроцити та тромбоцити, також відіграють роль у виведенні антигенів в організмі. Вони мають поверхневі рецептори для антитіл до опсоніну та компонентів комплементу, які вони використовують для зв'язування імунних комплексів і транспортування їх через кровотік до печінки, де вони захоплюються клітинами Купфера. Вони руйнуються, а продукти розпаду виводяться в кишечник разом з жовчю. Тромбоцити також беруть участь у процесі гемостазу (тромбування), що важливо для захисту організму від поширення інфекційних агентів.

Крім того, тромбоцитарні гранули містять різні цитокіни та медіатори запалення, які впливають на імунну систему та регулюють імунні реакції. Таким чином, імунологія досліджує одну з найважливіших функцій крові: її захисну функцію. Лейкоцити лише умовно називаються клітинами крові. Кров не є постійним домом для лейкоцитів. Лейкоцити циркулюють у крові лише протягом певних фаз свого існування. Коли еритроцити залишаються в крові в середньому 120 днів, тромбоцити — 10 днів, а лейкоцити — від 10 годин до 2 днів. Потім лейкоцити залишають судинну систему і мігрують до периферичних тканин або спеціалізованих лімфоїдних органів, де вони функціонують.

Таким чином, кров і лімфа є транспортними системами, які транспортують лейкоцити з місця їх походження — червоного кісткового мозку — до інших органів і тканин.

За умов складності виявити патологічні елементи у мазках крові (наприклад, за наявності стадії алейкімозу гострого лейкозу та ін.) проводять подальше приготування та дослідження лейкоконцентрату. Лейкоконцентрацію зазвичай виконують при невиражених результатах стеральної пункції [21].

Застосування методів лейкоконцентрації поділяють на наступні: 1) процес гемолізу; 2) виконання центрифугування; 3) седиментація. Методики, які застосовують седиментацію формених елементів являють собою найбільш поширені.

Найрозповсюдженим є метод із трилоном Б. Принцип його в тому, що через різну питому вагу еритроцитів та лейкоцитів вливання трилону Б прискорює осідання еритроцитів, при цьому отримують плазму, яка має надзвичайно велику кількість лейкоцитів.

Реактиви: 1. 3% розчин трилону Б. 2. Фарба Романовського - Гімзе або азур-еозину. 3. Метанол для фіксації мазків.

Спеціальне обладнання: 1. Мікроскоп. 2. Термостат на 37 °С. 3. Центрифуга.

Хід визначення. У пробірку з 1 мл 3% розчину трилону Б вносять 4 мл венозної крові і обережно перемішують. Ставлять суміш крові з трилоном в термостат (можна відстоювати і при кімнатній температурі) на 30 - 45 хв (за цей час над еритроцитами з'явиться 2 - 3 мл прозорої плазми). За допомогою пастерівської піпетки відсмоктують в центрифужну пробірку шар плазми, намагаючись не захопити еритроцити. Центрифугують при 1000 об / хв протягом 10 хв. Надосадову рідину видаляють, а з осаду готують мазки (поміщають краплю осаду пастерівською піпеткою на предметне скло і готують мазок). Мазки висушують на повітрі, фіксують і зафарбовують гематологічними барвниками. Метод з гепарином може бути використаний при необхідності видалення тромбоцитів.

Принцип. При центрифугуванні плазми, розведеною холодним фізіологічним розчином хлориду натрію, тромбоцити осідають в осад, а лейкоцити залишаються в підвішеному стані.

Реактиви. 1. Гепарин (500 ОД / мл). 2. 0,85% розчин хлориду натрію.

Хід визначення. У пробірку з 1 мл гепарину додають 4 мл крові. Відстоюють

40 - 45 хв. За допомогою пастерівської піпетки відбирають плазму в центрифужну пробірку, намагаючись не захопити еритроцити. Центрифугують при 1500 об / хв протягом 10 хв. Надосадкову рідину видаляють, а до осаду додають 5 мл холодного 0,85% розчину хлориду натрію. Центрифугують при 500 - 800 об / хв протягом 10 - 15 хв (якщо в осаді є домішки еритроцитів, то повторно центрифугують з холодним розчином хлориду натрію).

З осаду готують мазки і фарбують їх гематологічними барвниками.

Нормальні величини. При дослідженні лейкоконцентрату 50 здорових людей Р. А. Поспелова отримала наступну лейкограму: нейтрофіли паличкоядерні  $1,2 \pm 0,1\%$ , сегментоядерні  $58,8 \pm 0,7\%$ , еозинофіли  $1,8 \pm 0,05\%$ , базофіли  $0,7 + 0,08\%$ , лімфоцити  $31,2 \pm 1\%$ , моноцити  $7,1 \pm$



0,3%, плазматичні клітини  $0,2 \pm 0,03\%$ . У одної людини виявлено 0,2% мієлоцитів, у 2 -0,2 і 0,4% метамієлоцитів, у 2 -поодинокі фрагменти ядер мегакаріобластів [15, 17].

Перевагою проведення дослідження мазків лейкоконцентрату (у порівнянні із дослідженням мазків периферичної крові при гострих лейкозах) є те, що це дослідження може надати можливість виявити бластні клітини, визначити повноту ремісії за умов гострого лейкозу, а також здійснити цитохімічне дослідження, що має важливе прогностичне значення при гострих лейкозах [18].

Важливою особливістю лімфоцитів і моноцитів є те, що вони не повністю дозрівають і не потрапляють у кров. Вони проходять останні стадії дозрівання після контакту з антигенами, присутніми в периферичних лімфоїдних органах (для лімфоцитів) і тканинах (для моноцитів). Кажуть, що лімфоцити не зустрічаються з антигеном. Початковий контакт з антигеном називається примінгом лімфоцитів. Після антигенної стимуляції вони проліферують і перетворюються на клітини, здатні виконувати свої специфічні функції. На відміну від лімфоцитів і моноцитів гранулоцити вже повністю диференційовані і надходять у кров у функціонально інтактному стані.

Першими клітинами, які зустрічаються з чужорідним антигеном, що потрапив в організм, є місцеві тканинні лейкоцити, які вже покинули судинну мережу і оселилися в тканині. Це тканинні макрофаги (гістіоцити), дендритні клітини, гладкі клітини (огрядні клітини), базофіли та деякі популяції лімфоцитів. Це локальні лейкоцити, які мають функцію активації запальних процесів і запуску імунної відповіді.

Важливо, що всі тканинні лейкоцити походять від мієлоїдних попередників, і на деяких стадіях їх розвитку надходять у кровотік. Він розташовується в проміжку, де виконує місцеві захисні функції. Кров і лімфа зазвичай містять не більше 20%, тоді як кістковий мозок і лімфоїдні органи містять близько 30% лейкоцитів. Кров і лімфа транспортують лейкоцити до

місця призначення, до конкретної тканини, де ці клітини повинні виконувати свою функцію [18].

Лейкоцити можуть розпізнавати ендотелій кровоносних судин у різних органах і тканинах, взаємодіяти з ендотеліальними клітинами та проходити між судинними клітинами, щоб проникнути в навколишні тканини. Під час розвитку та функціонування клітини імунної системи мають рецептори для багатьох нейромедіаторів і гормонів і тому тісно взаємодіють з клітинами інших регуляторних систем організму, таких як нервова та ендокринна системи. Це визначає цілісність організму та системну реакцію на зовнішні втручання.

Адаптивні захисні системи природи тісно пов'язані як філогенетично, так і онтогенетично. Про це свідчить той факт, що всі клітини крові, які беруть участь у специфічних і неспецифічних захисних реакціях організму, походять від спільного предка – гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку, а різні типи та стадії диференціювання згруповані в єдину гемопоетичну структуру.

Збільшення показників активності виявляють при запальних процесах, інтоксикаціях, злоякісних новоутвореннях, цирозу печінки. Значення цього показника може бути застосоване як диференціально-діагностична ознака при лейкемоїдних реакціях (так говорять за умов збільшення активності ферменту) і хронічному мієлолейкозі. Пригнічення активності ферменту пов'язано із вірусним гепатитом або інфекційним мононуклеозом [11, 12, 14].

## РОЗДІЛ 3

### ЕМПІРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АДРЕНЕРГІЧНОГО ВПЛИВУ НА КЛІТИНИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ

#### 3.1. Організація та методи дослідження

Для дослідження адренергічного впливу на клітини імунної системи нами було використано фагоцитарний індекс Гамбургера та фагоцитарне число Райта. На основі одержаних результатів дослідження було проведене порівняння показників фагоцитарної активності під впливом адреналінової стимуляції.

Оскільки усунути більшість стресорів неможливо, актуальним є попередження та усунення шкідливих наслідків стресу, розробка засобів підтримки гомеостазу та підвищення адаптивності досліджуваної групи тварин.

Однією із систем організму, на яку найбільше негативно впливає стрес, є імунна система. Дисфункція імунної системи, спричинена морфологічними та функціональними змінами крові під впливом стресових факторів посилює тяжкість перебігу цього періоду та сприяє патогенезу повсюдної мікробіоти, спричиняючи ендогенні інфекції та низьку ефективність окремих методів профілактики та лікування хворих.

Коли організм перебуває у стресових ситуаціях, активується гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова система і підвищується рівень кортизолу. Підвищення вмісту гормонів пригнічує активність ферментів, що беруть участь в енергетичному обміні, і знижує транспортні процеси всередині клітини [3, 15].

Проблему зниження загальної імунобіологічної резистентності у щурів, які були взяті для дослідження, пов'язану зі зміною показників клітинної та ферментативної активності крові, функціонування антиоксидантної системи

організму та гормональної регуляції стресових умов, які необхідно вирішувати корекційними заходами.

Для визначення адаптивної антистресової дії цих препаратів досліджено їх вплив на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів, показники системи антиоксидантного захисту та показники імунної системи у щурів.

Фагоцитарну активність нейтрофілів оцінювали в нативній капілярній крові щурів за двома показниками: кількість фагоцитів Райта і середня кількість мікробів, поглинених одним активним фагоцитом.

Фагоцитарну активність оцінювали за такими показниками: індекс Гамбургера для визначення фагоцитів - відсоток фагоцитів, які поглинули частинки, від загальної кількості фагоцитів.

Для експерименту було зібрано 14 статевозрілих мишей-самців одного віку та випадковим чином розділено на 2 групи по 7 особин у кожній (група 1 і група 2). Тварини містилися у віварії в стандартних умовах. Кровотечу для дослідження фагоцитозу проводили з хвостової вени до та після початку та закінчення досліду в обох групах дослідних тварин. Для імітації стресу підшкірно вводили 5 мг/кг адреналіну.

Функціональна активність нейтрофілів у сироватці підраховує загальну кількість клітин, які беруть участь у фагоцитозі (індекс Гамбургера фагоцитів FI, %), і середню кількість мікроорганізмів, поглинених однією фагоцитарною клітиною (RF – кількість фагоцитів Райта), досліджували під мікроскопом.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили на ПК за допомогою програми Excel. Розраховували середнє арифметичне (M), похибку середнього арифметичного (m) і подавали результати у вигляді  $M \pm m$ . Відмінності між групами оцінювали за допомогою тесту Манна-Уїтні, а результати з  $p \leq 0,5$  вважали надійними.

Методика організації дослідження.

1. Техніка тримання досліджуваної тварини.

Правою рукою тримаємося за хвіст, а лівою за голову. Шкіру спочатку захоплюють між великим і безіменним пальцями, а безіменний міняють вказівним так, щоб складка шкіри між пальцями була перпендикулярна до шиї тварини. Цей метод може зменшити тиск на шию щура. Піднімаємо щура над поверхнею клітки, щоб вона могла вхопитися за поручні клітки передніми лапами, і продовжуємо обережно тягнути тварину. Це не дозволяє їм повернутися і вкусити експериментатора. Перш ніж підняти щура, слід переконатися, що шкірна складка перед твариною добре витягнута, а голова піднята.

2. Фіксуємо тварину нерухомо.

Візьмемо за складки шкіри на голові біля вух. Щури повинні триматися досить міцно, а відповідно через це він не може повертати голову. Потім скріплюємо хвіст 4-м і 5-м пальцями руки і підставою руки. Закріплюємо щура в пластиковій трубці з вентиляцією.

### 3.2. Аналіз результатів дослідження

Дослідження функціональної активності лейкоцитів є малоінвазивним методом визначення стану організму. За допомогою простого взяття крові за допомогою методів цитохімічного дослідження можна знайти різні функціональні показники. На нашу думку, таку ж користь мають дослідження фагоцитозу лейкоцитів. Цей метод не вимагає великої кількості біологічних зразків або дорогого обладнання. Водночас фагоцитарна активність є найважливішою складовою вродженого імунітету, за якої повністю є унеможливленим функціонування адаптивного імунітету.

В ході проведеного дослідження ми визначали фагоцитарну активність лейкоцитів на першу добу проведення експерименту та на десятю добу його повторного проведення. Одержані результати дослідження наведено у таблиці 3.1.

30

Таблиця 3.1

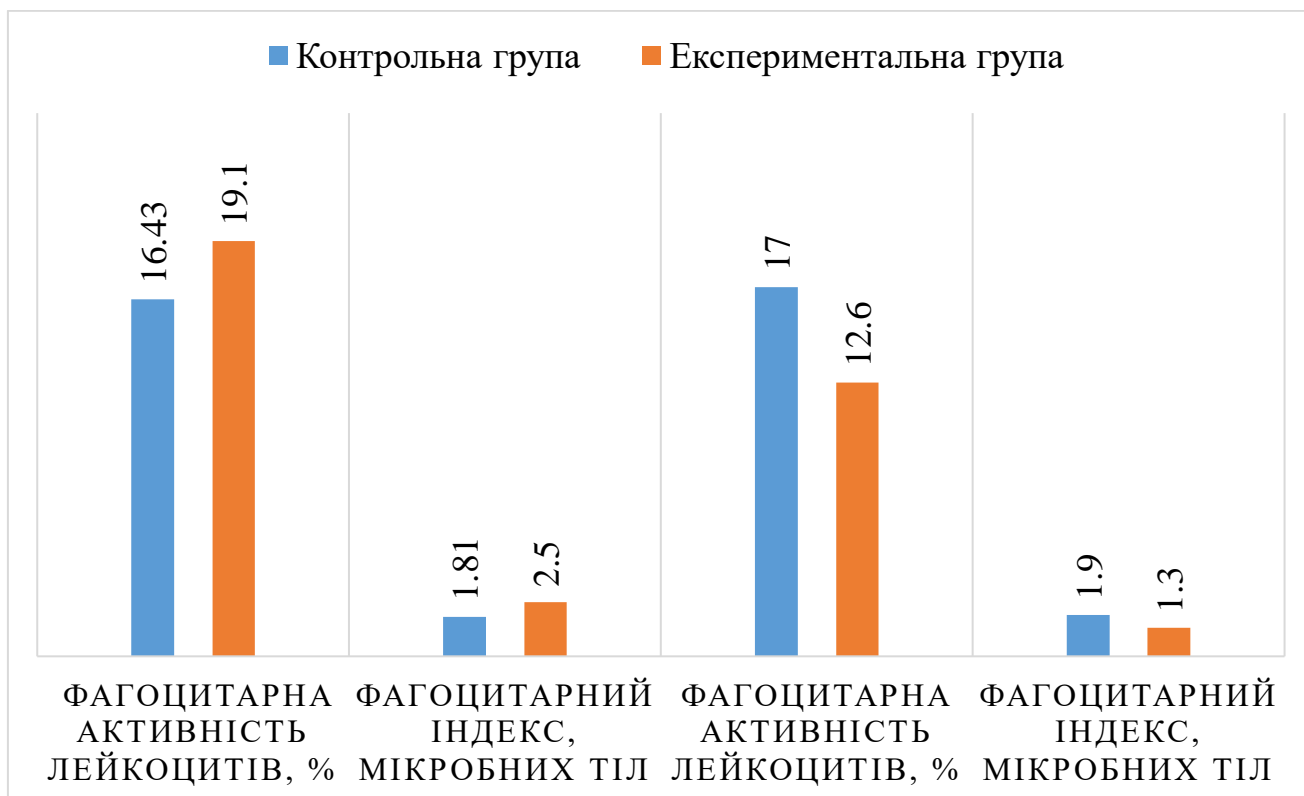
**Показники фагоцитарної активності лейкоцитів периферичної крові під впливом адреналіну**

|  | 1 доба експерименту                  |                                    | 10 доба експерименту                 |                                    |
|--|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
|  | Фагоцитарна активність лейкоцитів, % | Фагоцитарний індекс, мікробних тіл | Фагоцитарна активність лейкоцитів, % | Фагоцитарний індекс, мікробних тіл |
| Контрольна група                             | 16.43                                | 1.81                               | 17.0                                 | 1.9                                |
| <u>Експериментальна</u> (вводився адреналін) | 19.1                                 | 2.5                                | 12.6                                 | 1.3                                |

Активация  
Чтобы активир  
раздел "Парал

Аналізуючи отримані дані, що наведені у таблиці 3.1, ми побачили, що вихідний рівень як в контрольній, так і в експериментальній групах був приблизно однаковий. На противагу цьому, через 10 діб після уведення значної дози адреналіну (яка імітує вивільнення адреналіну під час стресової реакції) було виявлено вплив адреналінового стресу на показники фагоцитарної активності лейкоцитів.

Адреналін, який є активним гормоном, вивільнення якого активізується під впливом стресу, здатний впливати на метаболічні процеси в організмі на рівні клітин і тканин для подальшої мобілізації захисних сил організму. Проте, виходячи з дослідження активності фагоцитозу, можна зробити інший висновок (рис. 3.1).



**Рис. 3.1. Порівняння показників фагоцитарної активності під впливом адреналінової стимуляції**

Отже, фагоцитарна активність лейкоцитів в контрольній групі зросла непомітно, а саме на 0,17%, а в експериментальній, навпаки, знизилася на 6,5%. Щодо фагоцитарного індексу, мікробних тіл в контрольній групі ми

можемо спостерігати зростання на 0,09%, а в експериментальній зниження на 48 %.

Таким чином, несприятливий вплив адреналінової стимуляції на фагоцитарну активність лейкоцитів периферичної крові досліджуваних груп тварин є несприятливим. Відбувається зниження показників фагоцитарної активності та фагоцитарного індексу.

Дивлячись на пофарбовану плівку крові під мікроскопом, можна побачити, що лейкоцити мають різну форму. Розрізняють дві групи лейкоцитів: зернисті і незернисті. У першому випадку цитоплазма містить дрібні частинки (гранули), забарвлені різними барвниками в синій, червоний або фіолетовий колір. У незернистих форм лейкоцитів такі гранули відсутні.

В ході дослідження було встановлено, що зернисті лейкоцити по-різному реагують на різні барвники. Якщо частинки цитоплазми найкраще забарвлюються основним забарвленням, ці форми називаються базофілами, якщо вони кислі кислими нейтрофілами.

Існують певні взаємозв'язки між різними формами лейкоцитів. Процентне співвідношення різних форм лейкоцитів називається формулою лейкоцитів. При деяких захворюваннях спостерігаються характерні зміни частки лейкоцитів окремих морфологій. При глистовій інвазії збільшується кількість еозинофілів, при запаленні нейтрофілів, а при туберкульозі нерідко підвищується кількість лімфоцитів.

Формула лейкоцитів часто змінюється в міру прогресування захворювання. Під час важкого перебігу та загострення інфекції еозинофіли в крові можуть не виявлятися, але після початку загоєння, ще до появи ознак значного поліпшення стану пацієнта, вони також добре помітні під мікроскопом.

Кількість лейкоцитів у крові може коливатися. Після їжі інтенсивна м'язова робота підвищує рівень цих клітин у крові. Зокрема, багато лейкоцитів з'являється в крові при запальних процесах. Коли стороннє тіло перевищує розмір лейкоцитів, навколо нього збираються групи нейтрофілів.



утворюють бар'єр. Перетравлюючи або розплавляючи це чужорідне тіло з навколишніми тканинами, лейкоцити гинуть, навколо чужорідного тіла утворюється гній, який через деякий час розривається, а його вміст викидається з організму. Зруйнована тканина або мертва тканина. кров'яні клітини, сторонні речовини, що потрапили в організм, також вимиваються.

Поглинання і перетравлення лейкоцитами різних мікроорганізмів, найпростіших і різних чужорідних речовин, які проникли в організм, називається фагоцитозом, а самі лейкоцити називаються фагоцитами. Від кола набуває зірчастої форми з численними витягнутими відростками. Просто пошкоджуючи дрібну кровоносну судину, тромбоцити дуже швидко склеюються, злипаються, склеюються і утворюють білий тромб, таку собі біологічну пробку, яка допомагає зупинити кровотечу. Нитки фібрину та еритроцити прикріплюються навколо цього згустку. Згусток змінює колір і стає червоним. Як правило, утворення тромбу супроводжується звуженням судини. Це стало можливим завдяки серотоніну спеціальному судинозвужувальному речовині, що виділяється при руйнуванні тромбоцитів.

Під впливом стресу виділяються гормони, які визначають стан імунної системи. Лейкоцити захищають організм. Саме вони вбивають і поглинають чужорідні клітини.

Під впливом гормонів стресу лейкоцити з крові мігрують до шкіри як зони можливого пошкодження, тим самим підвищуючи імунітет шкіри. А також слизові оболонки травного тракту, печінки і лімфатичних вузлів. Водночас, рівень у крові та селезінці знижується, що знижує загальний імунітет.

Незбалансованість мікроелементів і вітамінів, нерегулярне харчування негативно позначаються на стані імунної системи. Вживання води і зеленого чаю виводить з організму шкідливі речовини і зміцнює організм. Помірні фізичні навантаження, такі як ходьба, заняття спортом, плавання, зміцнюють імунітет, але обмеження активності послаблюють його. Але при цьому не

можна забувати, що надмірне навантаження на організм призводить до перевтоми і зниження захисту.

## ВИСНОВКИ

Отже, в ході дослідження стресу, стрес-гормонів та їх впливу на імунну систему було встановлено, що першими на стрес реагують структури центральної нервової системи - мигдалеподібне тіло, гіпоталамус і гіпофіз. Вони активізують ендокринну систему і стимулюють надниркові залози виробляти стероїдні гормони.

Кортизол є основним стероїдним гормоном, який синтезується у відповідь на стрес. Він відповідає за пристосування і підтримку життєдіяльності живих організмів в нових і дуже складних умовах. Стероїдні гормони активізують імунну систему, обмін речовин і серцево-судинну діяльність. Тривалий стрес призводить до постійної вироблення гормонів. Це призводить до виснаження імунної системи та інших життєво важливих механізмів.

Хронічний стрес також зменшує кількість клітин, які синтезують антитіла. В результаті імунітет людини не справляється зі знищенням небезпечних бактерій і вірусів. Доведено, що люди, які постійно перебувають у стресовому стані, більш схильні до респіраторних захворювань.

Зниження власних захисних функцій організму може порушити утворення так званих НК-лімфоцитів. Вони відповідають за знищення власних пухлинних клітин організму. Хронічний стрес приводить м'язи тіла в більш-менш постійний стан напруги і навіть може призвести до захворювань, пов'язаних зі стресом.

В ході проведеного дослідження було встановлено:

1. Відомо три групи лімфоцитів: Т-лімфоцити (відповідають за клітинний імунітет), цитотоксичні лімфоцити (відрізняються від інших лімфоцитів, таких як Т-клітини і В-клітини, тим, що вони мають здатність проникати в інші клітини та спричиняти їх гибель, які продукуються для боротьби зі збудниками інфекцій, такими як віруси і бактерії, а також для виявлення та усунення аномальних клітин) та Т-хелпери, які відіграють

ключову роль в розвитку та регуляції імунної відповіді організму на інфекції та інші агенти. Ці клітини є частиною класу Т-лімфоцитів, які допомагають активувати та координувати роботу інших клітин імунної системи, таких як цитотоксичні Т-лімфоцити, В-лімфоцити та макрофаги

2. Короткочасний стресорний вплив здатен спричинити збільшення кількості лейкоцитів в крові, особливо нейтрофілів та лімфоцитів. Це може бути корисним для організму посиливши резистентність. За умов хронічного стресу це може призвести до зниження чисельності лейкоцитів в крові, зокрема, лімфоцитів. Це явище знижує ефективність імунної системи та робить організм більш вразливим до інфекцій та інших захворювань. Може бути зниженою активність цитотоксичних Т-лімфоцитів, які відповідають за знищення інфікованих та ракових клітин в організмі. Також, довготривалий стрес може призвести до зниження функції Т-хелперів, які допомагають іншим клітинам імунної системи у боротьбі з інфекціями.

3. На початку виникнення стресу може спостерігатися збільшення кількості нейтрофілів та лімфоцитів в крові. Це пов'язано з активацією стресової відповіді організму, яка спрямована на збільшення запасу біохімічних ресурсів для боротьби зі стресом. Однак, при тривалому перебігу може відбуватися зниження кількості лімфоцитів, зокрема Т-лімфоцитів та збільшення кількості нейтрофілів. Також, може виникнути зміна співвідношення різних типів лейкоцитів, наприклад, зниження відносної кількості лімфоцитів та збільшення відносної кількості нейтрофілів.

4. Цитохімічне дослідження лейкоцитів - це метод вивчення хімічного складу клітин, зокрема лейкоцитів, за допомогою фарбування спеціальними реагентами та подальшого мікроскопічного дослідження. Цей метод дозволяє визначити наявність та кількість різних компонентів у клітинах, таких як ензими, білки, ліпіди, глікоген, ДНК та РНК. Результати цитохімічного дослідження можуть вказувати на наявність патологічних змін в клітинах

5. Підтвердженням негативного впливу адренергічної стимуляції на імунний статус є те, що підвищення рівня адреналіну спричиняє зниження

фагоцитарної активності лейкоцитів. Було виявлено знижену активність фагоцитозу (на 34 %), з одночасним зниженням показника фагоцитарного індексу (на 48%). Отримані результати є свідченням зниження опірності імунної системи внаслідок тривалих стресових впливів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Astaldi G., Verga L. Acta haematol., 1957, vol. 17, p. 129-136; Kaplow L. Blood, 1955, vol. 10, № 10, p. 1023-1029.
2. Абрамов М. Г. Гематологический атлас.- М.: Медицина, 1979. 279 с.; 1985-344 с.
3. Алексеев Г. А., Берлинер Г. Б. Гемоглобинурии.- М.: Медицина, 1972.- 248 с.
4. Алмазов В. А., Афанасьев Б. В., Зарицкий А. Ю. и др. Лейкопении.- Л.: Медицина, 1981.---240 с.
5. Бажора Ю. И., Тимошевский В. Н., Протченко П. З., Головченко А. Н. Лаб. дело, 1981, No 4, с. 198---200; Нагоев Б. С., Лаб. дело, 1983, No 8, 7-11; Park B. H., Flrkig S. M., Smitwick E. M. Lancet, 1968, vol. 2, p. 532-534; Stuart J., Gordon K, Lee T. J. Histochem. Cytochem., 1975, vol. 7, p. 477.
6. Буйкис И. М., Руденс Ю. Ф. Гистохимическое определение активности щелочной фосфатазы методом одновременного азосочетания.- Вопросы лейкологии (Рига), 1969, No 1, с. 369 - 376; Шубин М. Г.- Лаб. дело, 1965, No 1, с. 10 -14; Шубин М. Г., Нагоев Б. С. Щелочная фосфатаза лейкоцитов в норме и патологии.- М.: Медицина, 1980, с. 41; Kaplow L. Blood, 1955, vol. 10, No 10, p. 1023-1029.
7. Вилков И. Н. Патология лимфатических узлов/Пер. с болг.- София: Медицина и физкультура, 1980.- 246 с.
8. Грибова И. А. Гематологическая норма. – В кн.: Руководство по гематологии/ Под ред. А. И. Воробьева, Ю. И. Лорие. М.: Медицина, 1979, с. 53.
9. Золотницкая Р. П. Лаб. дело., 1983, № 5, с. 36-38.
10. Идельсон Л. И. Гипохромные анемии.- М.: Медицина, 1981,- 190 с.
11. Кассирский И. А. Физиологические нормы лейкоцитов и проблема leucopenia innocens / И. А. Кассирский, Д. И. Денщикова, 1974. – 144 С.

12. Козинец Г. И. «Кровь и инфекция» / Г. И. Козинец и др. - М., 2001.- 456 С.
13. Мазинг Ю. А., Старосельская И. Я. Лаб. дело, 1981, No 10, стр. 582 - 584; Нагоев Б. С. Катионный белок лейкоцитов и его значение: Методические указания.- Нальчик, 1982. - 67 с.; Пигаревский В. Е., Мазинг Ю. А. Лаб. дело, 1981, No 10, с. 579 - 582; Шубин М. Г. Цитология, 1974, No 10, с. 1321 - 1322.
14. Мамаева Н. Н. Гематология: книга / Н. Н. Мамаева, С. И. Рябова. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2008. – 616 С.
15. Маковська Н. М., Чулков С. А. Зв'язок природної стійкості до хвороб та стресу. Розведення і генетики тварин. 2020. Вип. 60. С. 54–60.
16. Маковська Н. М., Бірюкова О. Д., Бодряшова К. В. Комплексне оцінювання резистентності та стресостійкості. Розведення і генетика тварин. 2016. Вип. 51. С. 101–106.
17. Морозова В. Т. Лабораторная диагностика лейкозов.- Л.: Медицина, 1977.- 152 с.
18. Мазуркевич А.Й. Фізіолого-біохімічні показники організму тварин / А.Й. Мазуркевича, М.Д. Камбур, А.А. Замазій // Суми: ПП Вінніченко М.Д., ФОП Дьоменко В.В. 2011. – 42 с.
19. Методичні рекомендації для оцінки та контролю імунного статусу тварин: визначення факторів неспецифічної резистентності, клітинних і гуморальних механізмів імунітету проти інфекційних захворювань / Р. П. Маслянко, І. І. Олексюк, А. І. Падовський та ін.; Під ред. Р. Й. Кравціва. — Львів: ЛДАВМ ім. С. З. Гжицького. — 2011. — 87 с.
20. Нарциссов Р. П. Арх.анат., 1969, No 5, с. 85 - 91; Nachlas M. M. et al.j. Histochem., Cytochem., 1957, vol. 5, p. 420 - 436; Quaglino D., Nayhoe F. Nature, 1960, vol.187, No 4731, p. 85 - 86.
21. Нарциссов Р. П. Лаб. дело, 1964, No 3, с. 150 - 151; Шафран М. Г., Пигаревский В. Е., Блинова Э. И. Цитология, 1979, т. 21, No 10, с. 1206 -

- 1208; Тодоров И. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. - София, 1963, с. 468.
22. Нормальна фізіологія. Підручник за ред. проф. Філімонова В. І. — К.: Здоров'я, 1994. — 608 с., іл. : 3,71 арк. іл.
23. Поспелова Р. А. Лейкоконцентрация в клинической практике. – М., 1973, с. 22.
24. Роскин Г. И., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника.--- М., 1957, с. 257.
25. Руденс Ю. Ф., Буйкис И. М. Лаб. дело., 1971, No 10, с. 592; Moloney W. S. et al. J. Histochem. Cytochem., 1960, vol. 8, p. 200 - 207; Schmalzl F. \ Braunsteiner H. Klin. Wschr., 1968, Bd 46, N. 12, S. 642 - 650.
26. Судаков К. В. «Нормальная физиология» / К. В. Судаков – Медицинское информационное агенство, 2006. 398 С.
27. Теодорович В. П., Абдулкадыров К.. М. Трепанобиопсия костного мозга при некоторых гематологических заболеваниях.- Л.: Медицина 1977.- 95 с.
28. Філімонов В. І. «Фізіологія людини» / В. І. Філімонов - Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина», 2015. – 448 С.
29. Фримель, Г.М. Імунологічні методи / під ред. Г. Фримель, Пер. з нім. А. П. Тарасова. - М. : Медицина, 1987. - 472 с.
30. Федосов, Д. В., Вивчення функціональної активності лейкоцитів / Федосов Д. В., Золототрубов А. П. // Матеріали Московського міжнародного ветеринарного конгресу. - 2012. - С. - 75-79
31. Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия: Пер. с англ./Под ред. Н. С. Кисляк.- М.: Медицина, 1983.- 319 с.
32. Чумаченко В.Ю. Дослідження імунної системи. Механізми захисту організму / Чумаченко В.В., Павленко О // Ветеринарна медицина України. - 2010. - № 4. С. 26 - 29.
33. Чумаченко В.Ю. Дослідження імунної системи. Фактори що впливають на резистентність тварин / В.Ю.Чумаченко, В.В.Чумаченко,



- О.Павленко // Ветеринарна медицина України. - 2009. - № 5. - С. 33 - 36.
34. Шабдаш А. Л. Изв. АН СССР; серия биол., 1947, No 6, с. 745 - 760;  
Шабдаш А. Л. Докл. АН СССР, 1949, т. 68, No 2, с. 389 - 392.
33. Dahmen G.P. Skrodies: Extracorporeal stoss wellen therapia (ESWT) in knochennahen weichteil bevei chander Schulter // Extracta Orthoped. – 1992. – №11. – P. 25-27.
34. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe (Strasbourg, 18.03.1986). – Strasbourg, 1986. – 52 p.

**КОДЕКС АКАДЕМІЧНОЇ ДОБРОЧЕСНОСТІ  
ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ ХЕРСОНСЬКОГО  
ДЕРЖАВНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

Я, Баданюк Наталія Ігорівна учасник(ця) освітнього процесу Херсонського державного університету, **УСВІДОМЛЮЮ**, що академічна доброчесність – це фундаментальна етична цінність усієї академічної спільноти світу.

**ЗАЯВЛЯЮ**, що у своїй освітній і науковій діяльності **ЗОБОВ'ЯЗУЮСЯ**:

– дотримуватися:

- вимог законодавства України та внутрішніх нормативних документів університету, зокрема Статуту Університету;
- принципів та правил академічної доброчесності;
- нульової толерантності до академічного плагіату;
- моральних норм та правил етичної поведінки;
- толерантного ставлення до інших;
- дотримуватися високого рівня культури спілкування;

– надавати згоду на:

- безпосередню перевірку курсових, кваліфікаційних робіт тощо на ознаки наявності академічного плагіату за допомогою спеціалізованих програмних продуктів;
- оброблення, збереження й розміщення кваліфікаційних робіт у відкритому доступі в інституційному репозитарії;
- використання робіт для перевірки на ознаки наявності академічного плагіату в інших роботах виключно з метою виявлення можливих ознак академічного плагіату;

– самостійно виконувати навчальні завдання, завдання поточного й підсумкового контролю результатів навчання;

– надавати достовірну інформацію щодо результатів власної навчальної (наукової, творчої) діяльності, використаних методик досліджень та джерел інформації;

– не використовувати результати досліджень інших авторів без використання покликань на їхню роботу;

– своєю діяльністю сприяти збереженню та примноженню традицій університету, формуванню його позитивного іміджу;

– не чинити правопорушень і не сприяти їхньому скоєнню іншими особами;

- підтримувати атмосферу довіри, взаємної відповідальності та співпраці в освітньому середовищі;
- поважати честь, гідність та особисту недоторканність особи, незважаючи на її стать, вік, матеріальний стан, соціальне становище, расову належність, релігійні й політичні переконання;
- не дискримінувати людей на підставі академічного статусу, а також за національною, расовою, статевою чи іншою належністю;
- відповідально ставитися до своїх обов'язків, вчасно та сумлінно виконувати необхідні навчальні та науково-дослідницькі завдання;
- запобігати виникненню у своїй діяльності конфлікту інтересів, зокрема не використовувати службових і родинних зв'язків з метою отримання нечесної переваги в навчальній, науковій і трудовій діяльності;
- не брати участі в будь-якій діяльності, пов'язаній із обманом, нечесністю, списуванням, фабрикацією;
- не підроблювати документи;
- не поширювати неправдиву та компрометуючу інформацію про інших здобувачів вищої освіти, викладачів і співробітників;
- не отримувати і не пропонувати винагород за несправедливе отримання будь-яких переваг або здійснення впливу на зміну отриманої академічної оцінки;
- не залякувати й не проявляти агресії та насильства проти інших, сексуальні домагання;
- не завдавати шкоди матеріальним цінностям, матеріально-технічній базі університету та особистій власності інших студентів та/або працівників;
- не використовувати без дозволу ректорату (деканату) символіки університету в заходах, не пов'язаних з діяльністю університету;
- не здійснювати і не заохочувати будь-яких спроб, спрямованих на те, щоб за допомогою нечесних і негідних методів досягати власних корисних цілей;
- не завдавати загрози власному здоров'ю або безпеці іншим студентам та/або працівникам.

**УСВІДОМЛЮЮ**, що відповідно до чинного законодавства у разі недотримання Кодексу академічної доброчесності буду нести академічну та/або інші види відповідальності й до мене можуть бути застосовані заходи

дисциплінарного характеру за порушення принципів академічної доброчесності.

21.09.2021 р.



Наталія Баданюк