

писывают в процентах. Зная общее количество лейкоцитов, проценты можно пересчитать в абсолютные значения, которые гораздо более объективно отражают состояние лейкоцитарной популяции [6].

#### **Количественное определение показателей гуморального иммунитета**

Для количественного определения цитокинов в крови можно использовать два метода: иммунохимический (ИФА) и биотестирование [7, 8]. Биотестирование считается самым чувствительным методом, но по точности и специфичности анализа заметно уступает ИФА. В целом ИФА получило наибольшее распространение как раз из-за своей скорости и точности, которые позволяют проводить анализ практически на любое белковое вещество, в том числе цитокины, иммуноглобулины и факторы некроза, которые как раз и являются ключевыми веществами в иммунологическом исследовании. Биотестирование же чаще всего проводится для подтверждения результатов ИФА или для конкретных исследовательских целей.

ИФА исследование следует проводить по протоколу, который прилагается в коммерческом комплекте реагентики.

В качестве анализируемого вещества можно использовать любые организменные жидкости тестового объекта, в том числе и образцы крови.

В целом ИФА является главным методом для количественного определения показателей гуморального иммунитета [8].

#### **Список литературы**

1. Шагарова С.Г., Смирнова С.В. Показатели иммунного статуса и метаболизм лимфоцитов крови при бронхиальной астме // Сибирское медицинское обозрение. 2010. № 5. URL: С. 23-26.
2. Virchow J.-C., Kroegel C., Walker C., Matthys H. Cellular and immunological markers of allergic and intrinsic bronchial asthma. *Lung*. 1994. № 172(6). DOI: 10.1007/bf00172846.
3. Смольникова М.В., Смирнова С.В., Ильенкова Н.А., Коноплева О.С. Иммунологические маркеры неконтролируемого течения атопической бронхиальной астмы у детей // Медицинская иммунология. 2017. №4. С. 453-460.
4. Kenyon N.J., Ward R.W., Last J.A. Airway fibrosis in a mouse model of airway inflammation // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2003. № 186(2). С. 90-100. DOI: 10.1016/s0041-008x(02)00025-x.
5. Last J.A., Ward R., Temple L., Pinkerton K.E., Kenyon N.J. Ovalbumin-Induced Airway Inflammation and Fibrosis in Mice Also Exposed to Ultrafine Particles // *Inhalation Toxicology*. 2004. № 16(2). С. 93-102. DOI:10.1080/08958370490265077.
6. Выхристенко Л.Р., Смирнова О.В. Иммуноterapia бронхиальной астмы // *Медицинские новости*. 2011. №10. С. 10-16.
7. Зенкина Л.В., Смирнова С.В., Кадричева С.Г. Бронхиальная астма: концентрация IL2, IL4, IL6, *ifn*. . . . . И *tfn* в сыворотке периферической крови и изменения в иммунном статусе при атопии и псевдоатопии // *Вестник КБ* №51. 2008. № 2. С. 42-47.
8. Орадова А.Ш., Садуакасова К.З., Лесова С.Д. Лабораторная диагностика цитокинов (обзорная статья) // *Вестник КазНМУ*. 2017. №2. С. 200-202.

### **МЕТОДЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ И ОЦЕНКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У МЫШЕЙ**

Гальцова Е.А., Раджабова Г.С.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград,  
e-mail: takizyka@mail.ru

Актуальность данной темы обусловлена чрезмерной распространенностью аллергических заболеваний по всему миру, как в развитых странах, так и в развивающихся. По данным источника [1] стало известно, что процент страдающих аллергическими заболеваниями в 2022 году вырос до 35% мирового населения и показатели заболеваемости растут, у каждого третьего может встретиться аллергия.

Полной модели аллергических заболеваний человека, рассмотренных на экспериментальных животных, создать не удалось в силу того, что человек имеет генетически сложный антигенный состав тканей и имеет специфические антитела, которые до сих пор не изучены полностью.

Таким образом, улучшение качества диагностики и качества моделирования аллергических заболеваний является и по сей день актуальной проблемой здравоохранения.

Для изучения особенностей патогенеза аллергии используются разные лабораторные животные, и моделирование болезни на животных является идеальным средством выяснения и изучения механизмов, приводящих к проявлению аллергических реакций.

Мыши являются самыми популярными модельными организмами в изучении аллергических процессов, хотя бы из-за того, что есть возможность вмешиваться в их биологию, а также из-за легкости приобретения ими повышенной чувствительности к аллергенам. Они являются хорошим средством для проверки новых гипотез патогенеза аллергических состояний и подходов к их лечению.

Модели на мышах особенно важны для изучения роли лейкоцитов и связанных с ними цитокинов в развитии аллергического воспаления и легочной дисфункции. Мышей используют для изучения аллергии из-за их небольшого размера, что обеспечивает большую простоту манипуляций, короткое время генерации; относительно низких затрат на покупку и содержание. Кроме того, их короткие сроки беременности и большой размер помета делают грызунов идеальными для экспериментов по разведению и генетических манипуляций. Особенно важно, что геном мыши был полностью секвенирован, это позволило выявить специфические иммунологические механизмы [2].

## Методы моделирования аллергических реакций

### Моделирование аллергического ринита

Аллергический ринит – аллергическое заболевание слизистой оболочки носа I типа, вызванного причинно-значимым аллергеном, клинически характеризующееся обильной ринореей, зудом в полости носа, повторяющимся чиханием, непроходимостью носовых ходов. Заболевание известно под несколькими названиями, включая аллергический ринит, назальную аллергию, гиперэстетический ринит, назальную гиперчувствительность и поллиноз, которые чаще всего используются в публикациях [3].

#### *Сенсибилизация и стимуляция аллергического ринита овальбумином (OVA)*

Назальные вливания осуществляются в процедурном шкафу и перед этим нужно протереть вытяжку и рабочие места дезинфицирующим средством.

Необходимо подготовить две пипетки, каждая из которых заполнена 7,5 мкл соответствующего раствора (аллергена или буфера).

Раствор вводится в две ноздри каждому животному. По завершении инфузии всех мышшей убирают и протирают поверхность вытяжки дезинфицирующим средством.

Мышей, подвергшихся хроническому воздействию, обрабатывают в течение 6 недель, либо стерильным 1% раствором OVA (овальбумин), либо раствором PBS (фосфатно-солевой буфер). При 6-недельном воздействии мышши получают инфузии по 5 дней в течение 1 и 2 недель. 3-я неделя – неделя отдыха, без инфузий. За этим следуют однократные двусторонние инфузии в первый день 4-й недели. Затем возобновляют ежедневную инфузию в течение 5 дней 5-й недели и первых 3 дней 6-й недели. Животным вводят однократно двусторонние 7,5 мкл OVA или PBS за 1 день до умерщвления. Затем мышшей умерщвляют на четвертый день 6-й недели, через 1 день после последней инфузии.

Применяется ИФА для определения уровня IgE, специфичных для OVA, в сыворотке крови и окрашивание Luna для гистологической верификации носовой эпителиальной эозинофильной инфильтрации. Также рекомендуется изучить морфологию и распределение тканей по всей протяженности носовой полости мышши [4].

### Моделирование бронхиальной астмы

Бронхиальная астма определяется как приступообразная и обратимая обструкция дыхательных путей вследствие воспаления и трахеобронхиальной гиперреактивности. Основными симптомами являются кашель с мокротой вязкого стекловидного секрета, а также свистящее дыхание и одышка [5].

#### *Сенсибилизация и стимуляция астмы, вызванной овальбумином (OVA)*

Свежеприготовленный OVA эмульгируют адьювантом и квасцов. Смешать 250 мкл раствора OVA, 100 мкл адьюванта и 650 мкл физиологического раствора с фосфатным буфером (PBS) в пробирке для микроцентрифуги объемом 1,5 мл и эмульгировать смесь на вращателе в течение 1 часа при 4 °С.

Каждой мышши на 0-й и 12-й дни вводят внутривенно 200 мкл смеси OVA, используя шприц объемом 1 мл. Каждая мышшь получит дозу в 50 мкг OVA и 0,8 мг гидроксида алюминия. Вводят контрольным мышшам 200 мкл раствора PBS.

Мышей нужно заражать на 24, 26 и 28-й дни. Перед заражением разморозить 1 пробирку с 1 мг/мл раствора OVA и разбавить PBS до получения 400 мкг/мл раствора OVA. Перенести предварительно сенсибилизированную мышшь в индукционную камеру для ингаляционной анестезии путем испарения смеси изофлурана и кислорода. Извлечь мышшь из индукционной камеры, как только частота дыхания замедлится. Удерживая мышшь одной рукой, ввести пипеткой 50 мкл 400 мкг/мл OVA интраназально. В каждую мышшь вводят по 20 мкг OVA. Контрольным мышшам вводят интраназально 50 мкл PBS.

Умертвите мышшей для дальнейшей оценки фенотипа астмы, которая происходит на 29-й день, (через 1 день после введения OVA и PBS).

#### *Проверка функции легких*

Обезболить мышшь смесью ксилазина и кетамина внутривенно. Разрезать кожу и аккуратно удалить подчелюстную железу, чтобы обнажить трахею.

Через один день после последнего испытания для модели, индуцированной OVA, сопротивление дыхательных путей измеряют у интубированных и вентилируемых мышшей путем стимуляции повышающимися концентрациями метахолина (0, 3, 24, и 48 мг/мл в PBS) с использованием аппарата искусственной вентиляции легких с компьютерным управлением.

Эозинофилы являются ключевыми воспалительными клетками, участвующими в патофизиологии астмы. На мышшиных моделях астмы аллергическое воспаление дыхательных путей можно оценить путем подсчета общего количества клеток и эозинофилов в бальной жидкости.

#### *Гистология легких*

Воспаление легких также можно оценить с помощью гистологии легких. Окрашивание гематоксилином и эозином (H&E) используется для окрашивания клеточных и тканевых структур. Периодическое окрашивание кислотой Шиффа (PAS) проводится для выявления гиперсекреции слизи бокаловидными клетками.

#### *Измерение общего и OVA-специфического IgE*

Повышенный уровень сывороточного IgE является одним из основных признаков астмы у человека. Уровни общего и OVA-специфического

IgE можно определить с помощью твердофазного иммуноферментного анализа [6].

Грызуны и люди имеют достаточно много схожих механизмов аллергических заболеваний, но ни одна из доступных нам моделей на лабораторных животных не способна полностью смоделировать патологию человека.

#### Список литературы

1. Бедарева О.К. Эпоха аллергии: как взять эпидемию под контроль? // Вестник аллерголога-иммунолога для врачей. 2022. № 4. 8 с.
2. N. Franklin Adkinson Jr., Middleton's Allergy: Principles and Practice. 2019. Vol. 2. P. 1889.
3. Клинические рекомендации. Аллергология / Под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 340 с.
4. Irving C., Allen Editor. Mouse Models of Allergic Disease. Vol. 1032. Totowa, NJ.: Humana Press, 2013. 326 p.
5. Seebauer A. Schauer D. Schwender. Asthma bronchiale. Klinik für Anaesthesiologie, Ludwig-Maximilians Universität München. 1998. Vol. 47. No. 9. P. 788-802.
6. Kumi Nagamoto-Combs, Animal Models of Allergic Disease. Vol. 2223. Totowa, NJ.: Humana Press, 2021. 361 p.

### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Головин М.Д., Атешев Д.М.,  
Петрова О.В., Душкин Д.А.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный  
медицинский университет», Волгоград,  
e-mail: hodok.nikita@yandex.ru

Сердечно-сосудистая система – комплекс анатомо-физиологических образований, обеспечивающих направленное движение крови и лимфы в организм человека, необходимое для осуществления в тканях транспорта газов, субстратов питания и их метаболитов в процессе обмена. Быстрое и точное приспособление кровообращения к конкретным потребностям организма достигается благодаря совершенным и многообразным механизмам регуляции работы сердца. Функция сердца состоит в том, что миокард во время сокращения перекачивает кровь из венозного в артериальное сосудистое русло. Энергия сокращения миокарда сердца преобразуется в давление, сообщаемое порции крови, выталкиваемой из сердца во время сокращения желудочков [1].

Основным и гемодинамическими показателями, характеризующими работу сердечно-сосудистой системы, являются ударный объем (УО) (отражает насосную функцию левого желудочка), объем циркулирующей крови (ОЦК), общее периферическое сопротивление (ОПСС) и сопротивление резистивных сосудов (артериол и терминальных артерий с прекапиллярными сфинктерами), эластическое сопротивление стенок аорты и ее крупных ветвей, а также вязкость крови. Все они, в определенной степени, формируют такой важный показатель, как артериальное давление (АД), которое должно под-

держиваться на уровне, достаточном для обеспечения адекватной перфузии капиллярной сети системного сосудистого русла [2]. Механизмы регуляции АД условно могут быть разделены на гемодинамические факторы, которые непосредственно формируют гидродинамическое давление, и собственно регуляторные механизмы (нервные и гуморальные), меняющие его уровень при различных обстоятельствах [3].

Нервные и гуморальные механизмы регуляции АД включают две группы функциональных систем – прессорного и депрессорного действия [4]. К прессорным относятся ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС), симпатическая нервная система (СНС), вазопрессин и эндотелин. К депрессорным – оксид азота (NO), группа натрийуретических пептидов (НП), калликринин-кининовая система (ККС) и простаглицлин [5,6]. В организме существует определенное равновесие прессорных и депрессорных факторов и систем, и, благодаря их взаимодействию, артериальное давление поддерживается на оптимальном уровне. Ренин-ангиотензиновая система представляет собой многокомпонентную цепь разнонаправленных молекулярных взаимодействий, которые выполняют важную роль в регуляции артериального давления в организме.

Индивидуальные сочетания аллелей генов предрасположенности, формирующие риск развития заболевания, являются уникальным и для каждой популяции, сформировавшейся под влиянием своеобразных миграционных потоков и других факторов популяционной динамики и в результате адаптации данной популяции к определенным факторам окружающей среды. Идентификация генов наследственных болезней продолжает оставаться одной из наиболее важных задач в медицинских приложениях программы «Геном человека». Согласно данным Международного консорциума по сикувенусу генома человека, в последней версии каталога генов человека включено 22287 генных локусов, контролирующих синтез белков, из которых 19438 – известные гены и 2188 – предсказываемые. Примерно лишь для 2000 генов установлена их причинная связь с менделирующей патологией человека. Пока остается неизвестным, дают ли мутации примерно в 10 тыс. идентифицированных генов какие-либо фенотипические изменения. Сложность состоит в том, что существует множество генов с относительно небольшим вкладом в предрасположенность к мультифакториальным заболеваниям. Также не всегда известны изменения в структуре соответствующего гена, которые могут быть причинно связаны с развитием предрасположенности к определенному мультифакториальному заболеванию [4]. Следует отметить, что характер фенотипического проявления большого количества генетических по-