

УДК: 612.112:611.018.46:599.323.45:591.35
DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.364

СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ С ПОЛОВЫМ ХРОМАТИНОМ В КРОВИ И КОСТНОМ МОЗГЕ У НОВОРОЖДЁННЫХ МЫШАТ

Панова Н.А. (<https://orcid.org/0000-0001-8276-4634>) – к.б.н., доцент
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

Ключевые слова: кровь, красный костный мозг, лейкоциты, молозиво, мышата-самцы.
Key words: blood, red bone marrow, leukocytes, colostrum, male mice.



РЕФЕРАТ

Молозиво необходимо для роста и развития потомства. Начало лактации характеризуется повышенным содержанием лейкоцитов в секрете молочной железы. Лимфоциты, попадая с молозивом в организм новорожденного, активизируют систему клеточного иммунитета. У самцов, в крови и костном мозге, встречаются лейкоциты с тельцами Барра и являются материнскими лейкоцитами, переданными новорождённому вместе с молозивом. Половой хроматин (или тельце Барра) встречается в клетках особей только женского пола. Целью нашего исследования было выявить наличие лейкоцитов с половым хроматином в крови и костном мозге новорождённых мышат. Для исследования использовали кровь и костный мозг новорождённых мышат-самцов молозивного периода. Приготовленные и окрашенные препараты крови и красного костного мозга исследовали с использованием иммерсионной оптики. Установили, что у 3-дневных мышат-самцов лимфоцитарный профиль лейкограммы. Процентное содержание лимфоцитов составило $62,44 \pm 1,73\%$. Пересчёт в абсолютные значения не делали. При этом в $4,13 \pm 1,35\%$ лимфоидных клетках из 100, выявили половой хроматин, тогда как в красном костном мозге у новорождённых мышат-самцов $13,26 \pm 1,84\%$ лимфоцитов были клетками материнского происхождения ($p < 0,001$). Лимфоциты с материнскими половыми хромосомами проникают в центральные органы иммунной системы новорождённого мышонка-самца. Передача новорождённым иммунокомпетентных клеток с молозивом матери способствует не только формированию гуморального, но и клеточного иммунитета у новорождённых. Клетки молозива являются основой колострального клеточного иммунитета. В результате этого у новорождённого устанавливается стойкий и длительный иммунитет.

ВВЕДЕНИЕ

Функциональная деятельность молочной железы тесно связана с деятельностью иммунной системы. Иммуноглобулины молозива играют исключительную роль в поддержании иммунной системы новорождённого. Мигрируя в просвет секреторных альвеол молочной железы, лимфоциты включаются в процесс секретобразования [1, 3].

В молоке присутствуют лимфоидные клетки, количество которых значительно увеличивается в лактационный период. Конечный эффект в цепи реакций на попадание в организм чужеродного белка (антигена) требует последовательного или одновременного взаимодействия нескольких клеток различных типов. Иммунная реакция в организме - это кооперативный клеточный ответ иммуноцитов.

Т и В-лимфоциты вступают в контакт с антигенпрезентирующими клетками, несущими на поверхности клеточной мембраны детерминанту [8, 9]. С молозивом в организм детёныша поступают лимфоидные клетки, которые проникают через гемато-молочный барьер и являются клеточными факторами защиты.

В молозиве обнаруживаются нейтрофильные лейкоциты, предохраняющие организм новорожденных от действия патогенной микрофлоры. В процессе превращения молозива в молоко, эти клетки исчезают из секрета. В начале молозивного периода содержится наибольшее количество соматических клеток и лейкоцитов. Через 2-3 суток лактации молозиво, по содержанию клеточных и гуморальных факторов защиты, соответствует секрету молочных желез [2].

В иммунитете новорождённого организма важная роль принадлежит прежде всего лимфоцитам молозива. Лимфоциты, попадая с молозивом в организм новорожденного, активизируют систему клеточного иммунитета [3]. Т- и В-лимфоциты проникают в лимфоидный слой кишечника. Пролимфоциты новорожденного активизируются, и пройдя сложный цикл, превращаются в собственные Т- и В-лимфоциты [4, 5]. Кровь новорождённых, получивших первую порцию молозива не позже, чем через час после рождения, содержит повышенное число лейкоцитов [11]. Также молозиво оказывает нормализующее действие на многие физиологические и биохимические процессы в организме новорождённого [2].

Одним из важных факторов исследования крови новорождённых было то, что в лимфоидных клетках обнаружены тельца Барра. Половой хроматин (или тельце Барра) встречается в клетках особей женского пола. В связи с этим возможно изучение колострального иммунитета детёнышей с помощью природных меток — телец Барра, в лейкоцитах, переданных с молозивом новорождённым от матерей [4, 5]. В молозиве обнаруживаются клетки с тельцами Барра, которые являются дериватом Х-хромосом. Это различие,

связанное с полом, наблюдается и в остальных клетках. Образование полового хроматина имеет прямое отношение к количеству Х-хромосом в клетке. В процессе клеточного деления они расщепляются, образуя два новых дочерних ядра. Во время интерфазы молекулярный носитель наследственной информации в хромосомах осуществляет свою собственную репликацию. В этой фазе возможно хорошо различить тельца Барра. Присутствие телец Барра в кровотоке детёнышей убедительно доказывает возможность проникновения клеток матери, которые и осуществляют функций, характерные для лейкоцитов материнского организма [6].

Учитывая данный факт, нам было интересно было выявить наличие лейкоцитов с тельцами Барра в крови и красном костном мозге новорождённых мышат-самцов. Целью нашего исследования было выявить наличие лейкоцитов с половым хроматином в крови и костном мозге новорождённых мышат-самцов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на базе кафедры биохимии и физиологии СПбГУВМ. Сформировали группу животных в количестве 5 мышат-самцов трёхдневного возраста.

Для исследования использовали венозную кровь. Костный мозг у новорождённых мышат-самцов отбирали из проксимального отдела бедренной кости. С задней лапки удаляли мышечную ткань. Перед взятием костного мозга остатки мышечной ткани удаляли с помощью салфетки. Извлекали костный мозг, отрезав головку бедра, кусочек большого вертела и кусочек мыщелка на другом конце кости. Приготовленные мазки крови и красного костного мозга высушивали, окрашивали по Паппенгейму и исследовали с использованием бинокулярного микроскопа (увеличение $\times 100$). Подсчёт производили в окрашенных мазках периферической крови и красного костного мозга по линии Меандра. При этом учитывали количество лимфоцитов с тельцами Барра.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

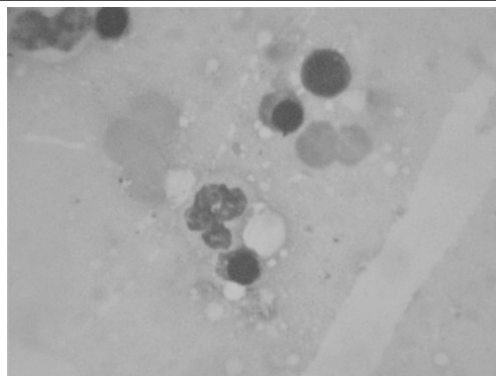


Рис. 1. Лейкоцит с тельцем Барра в красном костном мозге трёхдневного мышонка-самца. Стрелкой указано тельце Барра. Увеличение $\times 100$.

Таблица 1
Содержание иммунокомпетентных клеток и лимфоцитов с тельцами Барра у трёхдневных мышат-самцов (%).

Иммунокомпетентные клетки	Кровь	Красный костный мозг
Сегментоядерные нейтрофилы	$42,34 \pm 1,56$	$48,25 \pm 1,62$
Лимфоциты	$62,44 \pm 1,73$	$54,15 \pm 1,38$
Лимфоциты с тельцами Барра	$4,13 \pm 1,35$	$13,26 \pm 1,84^*$

* $p < 0,001$

Во время лактации механизмы иммунной системы самки максимально направлены на защиту потомства и поддержание его иммунного статуса в первые дни жизни. Происходит этот процесс под непосредственным контролем нейрогуморальной регуляции. С молозивом и молоком новорожденный получает все питательные вещества и иммуноглобулины, необходимые для роста и развития организма. Но следует учитывать, что иммуноглобулины как защитные факторы поступают в молозиво только в самом начале лактационного периода. После завершения молозивного периода их содержание и способность пересекать барьер кишечного эпителия значительно снижаются.

Установили, что у 3-дневных мышат-самцов лимфоцитарный профиль лейкограммы. Процентное содержание лимфоцитов в крови составило $62,44 \pm 1,73$ %.

При этом в $4,13 \pm 1,35$ % лимфоидных клетках из 100, выявили половой хроматин (табл. 1), тогда как в красном костном мозге у новорожденных мышат-самцов лимфоцитов материнского происхождения (рис. 1) было установлено достоверно больше и составило $13,26 \pm 1,84$ % ($p < 0,001$).

Таким образом, лимфоциты с материнскими половыми хромосомами проникали в центральные органы иммунной системы новорожденного мышонка-самца.

ОБСУЖДЕНИЕ

При молозивном вскармливании, новорожденный обеспечивается клеточным иммунитетом. С молозивом и молоком в организм детёныша мышёнка-самца поступают Т- и В-лимфоциты памяти [4].

По своим биохимическим и иммунным свойствам, лейкоциты молозива отличаются от лейкоцитов в кровеносном

русле. Лейкоциты из крови не проникают сквозь кишечную стенку. В пищеварительном тракте клетки не перевариваются. Их можно наблюдать в отпечатках слизистой кишечника при электронном микроскопировании. Микрофаги, Т- и В-лимфоциты проникают по межклеточным пространствам в лимфоидный слой кишечника, передают иммунорецепторы пролимфоцитам новорожденного, «вооружая» их активностью к распознаванию генетически чужеродного. Пролимфоциты новорожденного, получив этот биохимический стимул и пройдя сложный цикл, превращаются в собственные Т- и В-лимфоциты. Для их полной активизации и накопления в достаточном количестве требуется некоторое время. Новорожденные, получившие первую порцию молозива не позже, чем через час после рождения, отличаются повышенной численностью лейкоцитов в крови, более выраженным фагоцитозом микроорганизмов гранулярными лейкоцитами, что свидетельствует о стимуляции гемо- и лимфопоэза [10].

Наличие лимфоидных клеток в молозиве усиливает развитие иммунной системы новорожденных. Лейкоцитарный состав в молочной железе зависит от физиологического состояния самки. Эндокринное влияние - важный фактор поддержания физиологических процессов в молочной железе на определенном уровне. Благодаря этому в секреторных клетках альвеол происходит синтез составляющих молозива [7].

В секрете молочной железы повышено содержание лимфоцитов. В молозивный период в секрете молочной железы содержатся нейтрофилы, которые обладают фагоцитозом. Отмирающие клетки эпителия альвеол уничтожаются макрофагами. После прекращения молозивного периода количество лейкоцитов в молозиве и в молоке значительно снижается. Они появляются в конце лактации, в связи с инволюцией железистой структуры молочной железы, используя подвижных макрофагов. В конечном итоге альвеолярная ткань замещается жировой. [11].

Высокое содержание в молозиве клеток лимфоидной природы (макрофагов, нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов) свидетельствует о значительной эффективности иммунных процессов в молочной железе при подготовке к лактационному периоду [12, 13]. При анализе клеточного состава молозива, выяснилось, что в этот период в мазке отмечаются преимущественно клетки лимфоцитарного ряда. Аналогичные клетки установлены в просвете альвеол. Важную роль в деятельности молочной железы играют клетки лимфоидного ряда. Моноциты проявляют свою активность в процессе репаративных и иммунных процессах, проявляющихся в период становления лактации [4,5].

ВЫВОДЫ

В предродовой и послеродовой периоды, в молочной железе, происходят значительные иммунобиологические процессы.

Осуществляется передача с молозивом иммунитета от матери новорожденному не только пассивно, но и закладывается фундамент для нормальной деятельности иммунной системы в дальнейшем.

На основании наших исследований можно предположить, что клетки молозива являются основой колострального клеточного иммунитета. В результате этого у новорожденного устанавливается собственный стойкий и длительный иммунитет.

THE CONTENT OF LEUKOCYTES WITH SEX CHROMATIN IN THE BLOOD AND BONE MARROW OF NEWBORN MICE.

Panova N.A. (<https://orcid.org/0000-0001-8276-4634>) – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor FSBEI HE "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

ABSTRACT

In the colostrum period, in the formation of immunity in newborns, a significant role belongs to colostrum cells, namely, lymphocytes. The synthesis of colostrum by the mammary gland is an important component for the further growth and development of offspring. Lymphocytes, getting into the

body of a newborn with colostrum, activate the system of cellular immunity. In newborns, leukocytes with Barr bodies are found in the blood and bone marrow and, therefore, are maternal leukocytes transferred to the newborn along with colostrum. Sex chromatin (or Barr's body) is found in the cells of females only. Given this fact, it was interesting for us to detect the presence of leukocytes with Barra bodies in the blood and red bone marrow of newborn male mice. The aim of our study was to identify the presence of leukocytes with sex chromatin in the blood and bone marrow of newborn mice. The blood and bone marrow of newborn male mice of the colostrum period were used for the study. Prepared blood and red bone marrow preparations were examined using immersion optics. The study of the leukogram showed that in 3-day-old male mice there is a change in the blood profile from neutrophilic to lymphocytic. The ratio of lymphocytes and segmented neutrophils was $62,44 \pm 1,73$ % and $42,34 \pm 1,56$ %, respectively. At the same time, sex chromatin was found in $4,13 \pm 1,35$ % lymphoid cells, while in the red bone marrow of newborn male mice, $13,26 \pm 1,84$ % lymphocytes were cells of maternal origin ($p < 0,001$). Lymphocytes with maternal sex chromosomes penetrate into the central organs of the immune system of the newborn male mouse. In the colostrum, the content of lymphoid cells in the secretion of the mammary gland increases. The transfer, with colostrum, of immunity from the mother to the newborn is not only passive, but also the foundation is laid for the normal functioning of the immune system in the future. Colostrum cells are the basis of colostrum cellular immunity. As a result, the newborn establishes a stable and long-term immunity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Панова, Н.А. Состав иммунокомпетентных клеток и клеточная структура молочной железы у мышей в фазы лактации и физиологического покоя / Н.А. Панова, В.Г. Скопичев, П.А. Полистовская // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 3. – С. 193-196.

2. Коляков, Я. Е. Ветеринарная иммунология. - М.: Агропромиздат, 1986. - 227 с.
3.. Hurley W.L. Mammary gland growth in the lactating sow // *Livestock Product. Sc.* - 2001. - Vol.70, № 1/2. - P. 149-157.
4.4. Hurley WL, Kim SW. Characterization of mammary gland development in pregnant gilts // *J. Anim. Sci.* - 2006. - Vol. 84, № 3. - P. 579-587.
5. Скопичев, В. Г. Молоко: учеб. пособие / В. Г. Скопичев, Н. Н. Максимюк. - Санкт-Петербург: Проспект Науки, 2011. – 368 с.
6. Скопичев, В. Г. Иммунобиология молочной железы и молочная продуктивность / В. Г. Скопичев, В. Б. Прозоровский. – Beau Bassin: Lap LAMBERT Academic Publishing, 2018. – 328 с.
7. Pogodaeva, P. Cells of immune memory in mice in the colostrums / P. Pogodaeva, N. Panova, V. Skopichev [et. al.] // *Journal of the Reproduction in Domestic Animals.* – 2019. – Vol. 54. - № 3. – P. 103.
8. Самбулов, Н.В. Повышение биологических свойств молозива / Н.В. Самбулов // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии.- 2008.- № 2.- С. 28-29.
9. Литвинова, Д.Н. Обнаружение иммунокомпетентных клеток матери в крови новорожденных бычков / Д.Н. Литвинова, В.Г. Скопичев // Медицинская иммунология. Материалы XV Всероссийского научного Форума с международным участием имени акад. В.И. Иоффе – 2015. – Т. 17. – С. 308.
10. Panova, N. A. A role for cellular immunity in early postpartum period / N. A. Panova, V. G. Skopichev // *Medical Immunology (Russia).* – 2021. - Vol. 23. - № 4. - P. 853-858.
11. Скопичев, В. Г. Физиология репродуктивной системы млекопитающих: учебное пособие / В. Г. Скопичев, И. О. Боголюбова – СПб.: Изд-во «Лань», 2007. – С. 391 - 428.
12. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mol M. Shifts in immunoglobulins levels in the porcine mammary secretions during whole lactation // *Bull. Vet. Inst. in Pulawy.* - 2010. - Vol.54, № 3. - P. 345-349.

13. Mielke H. Geschichtliches und Grundlagen der immunobiologischen Beziehungen zwischen Muttertier und Frucht beim Rind // Mh. Vet. Med. -1979.- Bd. 34.- № 6.- S. 217 - 223.

REFERENCES

1. Panova, N.A. The composition of immunocompetent cells and the cellular structure of the mammary gland in mice in the phases of lactation and physiological rest / N.A. Panova, V.G. Skopichev, P.A. Polistovskaya // Issues of legal regulation in veterinary medicine. - 2017. - No. 3. - P. 193 - 196.

2. Kolyakov, Ya. E. Veterinary immunology. - M.: Agropromizdat, 1986. - 227 p.

3. . Hurley W.L. Mammary gland growth in the lactating sow // Livestock Product. Sc. - 2001. - Vol.70, No. 1/2. - P. 149-157.

4. 4. Hurley WL, Kim SW. Characterization of mammary gland development in pregnant gilts // J. Anim. sci. - 2006. - Vol. 84, No. 3. - P. 579-587.

5. Skopichev, V. G. Milk: textbook. allowance / V. G. Skopichev, N. N. Maksimyuk. - St. Petersburg: Prospekt Nauki, 2011. - 368 p.

6. Skopichev, V. G. Immunobiology of the mammary gland and milk productivity / V. G. Skopichev, V. B. Prozorovsky. - Beau Bassin: Lap LAMBERT Academic Publishing, 2018. - 328 p.

7. Pogodaeva, P. Cells of immune memory in mice in the colostrums / P. Pogodaeva, N.

Panova, V. Skopichev [et. al.] // Journal of the Reproduction in Domestic Animals. - 2019. - Vol. 54. - No. 3. - P. 103.

8. Samburov, N.V. Improving the biological properties of colostrum / N.V. Samburov // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. - 2008. - No. 2. - P. 28-29.

9. Litvinova, D.N. Detection of maternal immunocompetent cells in the blood of newborn bulls / D.N. Litvinova, V.G. Skopichev // Medical Immunology. Proceedings of the XV All-Russian Scientific Forum with international participation named after acad. IN AND. Ioffe - 2015. - T. 17. - P. 308.

10. Panova, N. A. A role for cellular immunity in early postpartum period / N. A. Panova, V. G. Skopichev // Medical Immunology (Russia). - 2021. - Vol. 23. - No. 4. - P. 853-858.

11. Skopichev, V. G. Physiology of the reproductive system of mammals: textbook / V. G. Skopichev, I. O. Bogolyubova - St. Petersburg: Publishing house "Lan", 2007. - P. 391 - 428.

12. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mol M. Shifts in immunoglobulins levels in the porcine mammary secretions during whole lactation // Bull. Vet. Inst. in Pulawy. - 2010. - Vol.54, No. 3. - P. 345-349.

13. Mielke H. Geschichtliches und Grundlagen der immunobiologischen Beziehungen zwischen Muttertier und Frucht beim Rind // Mh. Vet. Med. -1979.-Bd.34.-№.6.-S.217-223.