

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕГОЧНЫХ МАКРОФАГОВ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ОБЩЕЙ ГИПЕРТЕРМИИ

Андрей Викторович САМСОНОВ, Наталья Владимировна ДОЛОТИНА

ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава  
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

В настоящем исследовании было проведено определение фагоцитарной активности и биоцидного потенциала легочных макрофагов у 60 крыс-самцов линии Вистар, которые предварительно были однократно подвергнуты общей гипертермии. Отмечалось повышение биоцидной и фагоцитарной активности макрофагов.

**Ключевые слова:** общая гипертермия, макрофаги, фагоцитарная активность, биоцидная активность, бронхоальвеолярная лаважная жидкость.

В настоящее время гипертермия, как локальная, так и общая, находится в центре внимания врачей различного профиля [1–3]. Сегодня в клинической практике применяются различные варианты активного физического согревания организма в диапазоне температур от 40 до 44 °С, которые рассматриваются многими исследователями как один из перспективных методов профилактики и терапии ряда заболеваний. Гипертермия чаще всего применяется при лечении больных онкологического профиля в комбинации с традиционными методами и средствами, в частности с химиотерапией и/или лучевой терапией, что способствует повышению показателя 5-летней выживаемости пациентов в 2–2,5 раза. Кроме того, обращают на себя внимание данные об эффективности применения общей гипертермии как дополнительного средства терапии пациентов с целым рядом неонкологических заболеваний. Так, например, имеются данные о применении гипертермии при лечении пациентов с бронхиальной астмой, абстинентным синдромом при наркомании, при хронических бактериальных и вирусных инфекциях [4–6].

При проведении общей гипертермии существенное значение имеет состояние системы мононуклеарных фагоцитов. В современных условиях еще мало изучена роль фагоцитирующих клеток в формировании патогенетических и саногенетических реакций после проведения общей гипертермии. Большой интерес представляет изучение влияния общей гипертермии на функциональную активность макрофагов. Методами оценки функционального состояния макрофагов является

определение их фагоцитарной активности (фагоцитарный индекс, фагоцитарное число) и способности генерировать активные метаболиты кислорода (хемилюминесцентный ответ) [7]. Реактивные свойства фагоцитов отражает индекс стимуляции, который является соотношением спонтанного и зимозан-индуцированного хемилюминесцентного ответа.

Цель исследования — изучить динамику фагоцитарной активности и биоцидного потенциала макрофагов бронхоальвеолярной жидкости в различные сроки после проведения общей гипертермии.

### Материал и методы

Эксперименты проводились на 60 крысах-самцах линии Вистар массой 220–230 г. Для опыта использовались животные, содержавшиеся в условиях вивария. Уход за экспериментальными животными и их содержание в условиях вивария были стандартными и соответствовали требованиям приказов «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев» № 1045-73 от 06.04.1973, а также № 1179 от 10.10.1983 МЗ СССР, № 267 от 19.06.2003 МЗ РФ, «Правилам по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утвержденным МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977), принципам Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинкской декларации всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). Кормление животных осуществлялось согласно установленному рациону с применением комбикорма для лабораторных крыс и мышей «ПроКорм» производства

*Самсонов А.В.* — аспирант кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии,  
e-mail: andrey-samsonov@mail.ru

*Долотина Н.В.* — аспирант кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии,  
e-mail: n.dolotina@mail.ru

акционерного общества «БиоПро» (заводской артикул Р-22, ГОСТ Р 50258-92, Россия). Разогревание животных проводилось в соответствии со «Способом экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных» [8]. Животных забивали методом декапитации под эфирным наркозом на 1-е, 3-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки после общей гипертермии. В группу контроля вошли 7 интактных крыс этой же породы. Бронхоальвеолярный лаваж получали по методу Q.N. Murgvik [9].

Для оценки способности фагоцитов набирать активные формы кислорода (потенциальной биоцидной активности фагоцитирующих клеток) использовали метод люминол-зависимой (Serva, США) хемилюминесценции, измерения проводились на биохемилюминометре «СКИФ-0301» (Россия). Результаты выражали в количестве импульсов, испускаемых в течение 30 мин регистрации 1000 клеток ( $\times 10^3$  импульсов/ $10^3$  клеток). С целью оценки реактивности фагоцитирующих клеток использовали дополнительный стимул — дрожжевой полисахарид зимозан А (Serva, США). Реактивность макрофагов бронхоальвеолярной лаважной жидкости оценивали по индексу стимуляции (ИС), который вычисляли как соотношение спонтанного и зимозан-индуцированного хемилюминесцентного ответа. Для оценки фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови использовали фагоцитарный индекс Гамбургера (процентное число фагоцитов, поглотивших частицы латекса) и фагоцитарное число Райта (среднее число частиц латекса, поглощенных одним фагоцитом).

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение ( $M$ ), ошибку среднего арифметического значения ( $m$ ), и представляли в виде  $M \pm m$ . Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

По основным биохимическим параметрам макрофаги не имеют принципиальных отличий от других клеток, однако характерной особенностью их метаболизма является способность активации под влиянием различных стимулирующих факторов экзогенного (бактериальные антигены и токсины, ксенобиотики органической и неорганической природы) и эндогенного (лимфокины, компоненты комплемента, циркулирующие иммунные комплексы) происхождения. В процессе активации происходит резкое увеличение интенсивности метаболических процессов, получившее образное название «метаболический взрыв», повышаются уровни синтеза и секреции монокинов, активность лизосомных ферментов, экспрессия поверхностных рецепторов и антигенов, что в функциональном отношении проявляется усилением фагоцитарной активности, цитотоксичности и микробицидности макрофагов. В момент максимальной активации энергетического обмена макрофаги генерируют высокоактивные нестабильные продукты восстановления кислорода: супероксид-анион, гидроксильный радикал, синглетный кислород, перекись водорода, обладающие мощным антимикробным и цитотоксическим действием. В табл. 1 приведены результаты исследования спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции клеток бронхоальвеолярной лаважной жидкости, оцениваемой в различные сроки после общей гипертермии.

Интенсивность спонтанной хемилюминесценции клеток бронхоальвеолярной лаважной жидкости у крыс после гипертермии вначале существенно повышалась с максимумом на 7-е сутки, в последующем резко уменьшалась, становясь достоверно ниже контрольных значений на 14-е и 21-е сутки. Аналогичным образом изменялась величина индуцированной хемилюминесценции.

Достоверное изменение величины индекса стимуляции у животных после общей гипертермии зафиксировано на 7-е сутки (см. табл. 1). В осталь-

**Таблица 1**

*Динамика изменения интенсивности хемилюминесценции клеток бронхоальвеолярной лаважной жидкости после применения общей гипертермии у экспериментальных животных ( $\times 10^3$  импульсов/ $10^3$  клеток)*

Срок исследования	Спонтанная хемилюминесценция		Индукцированная хемилюминесценция		Индекс стимуляции	
	$M \pm m$	% от контроля	$M \pm m$	% от контроля	$M \pm m$	% от контроля
Контроль	2,66 $\pm$ 0,31		3,71 $\pm$ 0,42		1,39 $\pm$ 0,11	
1-е сутки	4,71 $\pm$ 0,39*	+77	6,47 $\pm$ 0,58*	+74	1,37 $\pm$ 0,10	–1,5
3-е сутки	3,61 $\pm$ 0,27*	+35	5,83 $\pm$ 0,49*	+57	1,61 $\pm$ 0,14	+16
7-е сутки	4,92 $\pm$ 0,41*	+84	10,57 $\pm$ 0,87*	+184	2,14 $\pm$ 0,19*	+54
14-е сутки	1,21 $\pm$ 0,09*	–55	1,88 $\pm$ 0,11*	–50	1,55 $\pm$ 0,13	+11,5
21-е сутки	1,74 $\pm$ 0,19*	–35	2,41 $\pm$ 0,18*	–35	1,38 $\pm$ 0,09	–0,8

Примечание: здесь и в табл. 2 звездочкой (\*) отмечены величины, достоверно отличающиеся от контроля ( $p < 0,05$ ).

ные сроки наблюдения значения показателя не отличались от контрольных значений.

Система мононуклеарных фагоцитов издавна рассматривается как своеобразный биологический фильтр крови и лимфы, удаляющий из них микроорганизмы, опухолевые и инфицированные вирусами клетки, токсины, различные метаболиты, лекарственные вещества и циркулирующие иммунные комплексы. Снижение эффективности фагоцитарного фильтра приводит к ослаблению резистентности организма, активация позволяет ускорить процесс элиминации из организма токсинов, иммунных комплексов, опухолевых клеток, микроорганизмов. Величина фагоцитарного индекса (табл. 2) макрофагов бронхоальвеолярной жидкости у животных после общей гипертермии достоверно увеличивалась, достигая максимального значения на 3-и сутки наблюдения. В период с 7-х по 21-е сутки фагоцитарный индекс снижался, но оставался выше контрольного значения. Фагоцитарное число изменялось аналогичным образом, хотя и не превышало значения соответствующего показателя в контроле на 1-е сутки эксперимента. Таким образом, в 1-е сутки после проведения общей гипертермии отмечается снижение фагоцитарной активности макрофагов бронхоальвеолярной жидкости. Это может быть объяснено с позиций развития «стресс-синдрома» в ответ на общую гипертермию, уменьшением синтеза молекул клеточной адгезии, повышенной выработкой глюкокортикоидов и снижением фагоцитарной активности. В последующем, до окончания наблюдения отмечалось достоверное повышение фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови.

#### Заключение

Таким образом, общая гипертермия способствует повышению биоцидной и фагоцитарной активности легочных макрофагов, что может быть использовано при лечении хронических бактериальных инфекций системы внешнего дыхания.

**Таблица 2**

*Динамика изменения фагоцитарной активности макрофагов бронхоальвеолярной лаважной жидкости после применения общей гипертермии у экспериментальных животных ( $M \pm m$ )*

Срок исследования	Фагоцитарный индекс, %	Фагоцитарное число, абс. ед.
Контроль	$32,16 \pm 0,86$	$6,63 \pm 0,33$
1-е сутки	$36,83 \pm 1,04^*$	$6,48 \pm 0,27$
3-е сутки	$77,17 \pm 2,10^*$	$13,27 \pm 0,43^*$
7-е сутки	$54,3 \pm 1,41^*$	$9,88 \pm 0,65^*$
14-е сутки	$48,0 \pm 1,29^*$	$8,52 \pm 0,43^*$
21-е сутки	$41,33 \pm 1,12^*$	$7,90 \pm 0,39^*$

При этом не происходит истощения биоцидного потенциала фагоцитов.

#### Список литературы

1. Баллюзек Ф.В., Баллюзек М.Ф., Виленский В.И. и др. Управляемая гипертермия. СПб.: Невский Диалект, 2001. 123.  
Ballyuzek F.V., Ballyuzek M.F., Vilensky V.I. et al. Controlled hyperthermia. SPb.: Nevskii Dialekt, 2001. 123.
2. Карев И.Д., Родина А.А., Карева А.И. Непосредственные и отдаленные результаты общей электромагнитной гипертермии с химиотерапией при саркомах мягких тканей // Рос. онкол. журн. 2003. 6. 29–32.  
Karev I.D., Rodina A.A., Kareva A.I. Immediate and remote results of the overall electromagnetic hyperthermia with chemotherapy at soft tissue sarcoma // Ros. onkol. zhurn. 2003. 6. 29–32.
3. Hara Y., Kawasaki T.A. A case of unresectable gallbladder cancer responding to combination therapy with hyper-thermia and local chemotherapy // Gan. To Kagaku Ryoho. 2000. 27 (1). 117–120.
4. Пат. 2142762 РФ. Способ купирования абстинентного синдрома у наркоманов / Сувернев А.В., Писарев А.А., Пенягин А.Н. и др.; опубл. 20.12.99.  
Patent 2142762 RF. Method of cupping abstinence syndrome of drug addicts / Suvernev A.V., Pisarev A.A., Penyagin A.N. et al.; published 20.12.99.
5. Пат. 2173971 РФ. Способ лечения бронхиальной астмы / Сувернев А.В., Писарев А.А., Пенягин А.Н. и др.; опубл. 27.09.01.  
Patent 2173971 RF. The method of treatment of bronchial asthma / Suvernev A.V., Pisarev A.A., Penyagin A.N. et al.; published 27.09.01.
6. Vereschagin E.I., Souvernev A.V. Whole body hyperthermia (43,5–44,0 °C) as method of intensive care of infectious diseases // Abstracts of XXIV Int. Congress on Clinical Hyperthermia. Rome, 2001. 134–135.
7. Маянский Д.Н., Цырендоржиев Д.Д., Макарова О.П. Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. Ч. 2. Определение биоцидности лейкоцитов. Метод. рекомендации. Новосибирск, 1996. 47 с.  
Mayanskii D.N., Tsyrendorzhiev D.D., Makarov O.P. Diagnostic value of leukocyte tests. Part 2. Definition of leukocytes biocidity. Methodical recommendations. Novosibirsk, 1996. 47.
8. Пат. 2165105 РФ. Способ экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных / Ефремов А.В., Пахомова Ю.В., Пахомов Е.А. и др.; опубл. 22.12.1999.  
Patent 2165105 RF. The method of experimental simulation of general hyperthermia in small laboratory animals / Efremov A.V., Pakhomov Yu.V., Pakhomov E.A. et al.; published 22.12.1999.
9. Myrvik Q.N., Leake E.S., Farris B. Studies on pulmonary alveolar macrophages from the normal rabbits, a technique to procedure them in high state of purity // J. Immunol. 1961. 86. 128–132.

## **FUNCTIONAL STATE OF LUNG MACROPHAGES IN EXPERIMENTAL ANIMALS AFTER THE USE OF A COMMON HYPERTHERMIA**

**Andrey Victorovich SAMSONOV, Natalia Vladimirovna DOLOTINA**

*Novosibirsk State Medical University of Roszdrav  
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

---

The determination of the phagocytic activity and biocycle capacity of pulmonary macrophages in 60 male rats Wistar, which had been previously subjected once to general hyperthermia, has been conducted in the present study. The increase in biocycle and phagocytic activity of macrophages has been observed.

---

**Keywords:** hyperthermia, macrophages, phagocytic activity, biocycle activity, bronchoalveolar lavage fluid.

***Samsonov A.V.** — postgraduate student of the chair for physiopathology and clinical physiopathology,  
e-mail: andrey-samsonov@mail.ru*

***Dolotina N.V.** — postgraduate student of the chair for physiopathology and clinical physiopathology,  
e-mail: n.dolotina@mail.ru*