

4. Клочков Н. Д. Гистион как элементарная морфофункциональная единица // Морфология. 1997. Т. 112. № 5. С. 87–88.
5. Кузин М. И., Костюченко Б. М. Раны и раневая инфекция. М.: Медицина, 1990.
6. Нузов Б. Г., Стадников А. А., Нузова О. Б. Оптимизация репаративной регенерации тканей. М.: Медицина, 2012.
7. Одинцова И. А. Закономерности процессов регенерационного гистогенеза в кожно-мышечной ране // Анатомия и военная медицина: материалы науч. конф. СПб. : ВМедА, 2003. С. 41–43.
8. Жукова О. В. и др. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи // Клиническая дерматология и венерология. 2009. Т. 3. № 4. С. 4–9.
9. Алипов В. В. и др. Экспериментальное обоснование сочетанного применения наночастиц меди и низкоинтенсивного лазерного облучения при хирургическом лечении инфицированных ожоговых ран кожи // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2013. Т. VI, № 4 (21). С. 411–417.
10. Somasundaram P. et al. Mast cell tryptase may modulate endothelial cell phenotype in healing myocardial infarcts // J. Pathol. 2005. Vol. 205(1). P. 102–111.

Антоненкова Е. В., Ерофеев А. И., Коваль А. А.

ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

*Кафедра нормальной физиологии (заведующий – член-корр. РАН, проф. В. О. Самойлов)
Военно-Медицинской академии им. С. М. Кирова,
Санкт-Петербург, e-mail: evavta@mail.ru*

При гипоксии происходит изменение функционирования ряда органов и систем организма, в том числе системы иммунитета [5]. Важную роль в определении вектора развития адаптивного иммунного ответа при недостатке кислорода играют эффекторные клетки. Среди эффекторных клеток особое место принадлежит макрофагам, обеспечивающим реализацию реакций неспецифической и специфической резистентности. Эти клетки в силу своих физиологических особенностей и органной принадлежности сталкиваются с условиями гипоксии наиболее часто и, соответственно, обладают механизмами коррекции своих функций и адаптации. Одним из критериев, отражающих изменение реактивности макрофагов под действием экстремальных факторов, является оценка динамики кислород-зависимых процессов и генерации активных форм кислорода (АФК) [2]. АФК, включая супероксидный радикал, относятся к продуктам нормального клеточного метаболизма, но ослабление или чрезмерное усиление их синтеза, особенно при недостаточности систем антиоксидантной защиты, чреваты неблагоприятными последствиями для организма, включая нарушения иммунитета [1].

Целью исследования явилось изучение влияния острой нормобарической гипоксической гипоксии на интенсивность клеточного дыхания и уровень

продукции супероксидного радикала альвеолярными и перитонеальными макрофагами крыс.

Работа выполнена на 30 беспородных белых крысах массой 200 г. Животные были разделены на 2 группы: контрольную и опытную. Контрольная группа животных находилась в условиях атмосферного воздуха, крысы опытной группы однократно подвергались гипоксической нагрузке. Гипоксическую нагрузку проводили, помещая животных на 90 мин. в камеру с проточной вентиляцией, через которую пропускали воздух с 5 % содержанием кислорода. Газовую смесь получали с помощью гипоксикатора «Эверест». Макрофаги для исследования выделяли у наркотизированных животных обеих групп: альвеолярные макрофаги – при промывании раствором Хенкса трахеобронхиального древа, перитонеальные макрофаги – при промывании тем же раствором брюшной полости. Конечная концентрация клеток – 106 в 1 мл.

Функциональную активность макрофагов оценивали по их способности генерировать АФК методом хемилюминесценции (ХЛ), поскольку образование свободных радикалов в ходе так называемых реакций цепного типа сопровождается сверхслабым свечением. Хемилюминесцентный анализ позволяет получать информацию о нативном состоянии клеток, а также исследовать клеточный ответ при воздействии физиологических и патологических агентов [4]. Для усиления свечения применяли люцигенин [Бис(N-метилакридиний)] («Sigma»), обладающий свойством окисляться под влиянием супероксидного радикала и генерировать квант света, что существенно повышает уровень и чувствительность реакции. При регистрации ХЛ ответа на приборе «Хемилум-1» (Россия) определяли максимальную амплитуду свечения (Амах) и интегральную интенсивность ХЛ или суммарный выход АФК по площади под кинетической кривой (S). Результаты выражали в % от контроля, где показатели ХЛ принимали за 100 %.

Активность процессов метаболизма макрофагов определяли и по интенсивности их клеточного дыхания с помощью флуориметрического анализа, используя специальную установку на базе люминесцентного микроскопа. Данный метод основан на способности некоторых клеточных компонентов под действием ультрафиолетового облучения флуоресцировать. Регистрировались собственное свечение восстановленных НАДН и окисленных флавопротеидов (ФП). По изменению интенсивности свечения данных веществ судили об их количестве, о скорости переноса электронов по дыхательной цепи и, следовательно, об активности клеточного дыхания [3].

Достоверность различий между группами оценивали по t – критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

Установлено, что острая нормобарическая гипоксия заметно стимулирует выработку супероксидного радикала альвеолярными макрофагами. При этом интенсивность ХЛ клеток повысилась более чем в 4 раза (до 421,36 %), а амплитудный максимум свечения увеличился почти на 30 % по сравнению с контролем (100 %). В среде перитонеальных макрофагов после гипоксической нагрузки выявлен противоположный эффект: достоверно снизились от контрольных значений как величина показателя S (на 67 %), отражающего уровень наработки супероксида снизилась, так и величина Амах (в 2 раза). Следовательно, воздействие острой

гипоксии на крыс привело к активации супероксидпродуцирующей способности альвеолярных макрофагов и ее торможению у перитонеальных макрофагов.

Исследование клеточного дыхания альвеолярных макрофагов показало, что гипоксическая нагрузка привела к усилению флуоресценции и окисленных ФП (на 144,76 %), и восстановленных НАДН (на 172,26 %) по сравнению с показателями у интактных животных (100 %). При этом восстановленных продуктов образовалось больше, чем окисленных, что свидетельствует о невысокой эффективности клеточного дыхания. В перитонеальных макрофагах при острой гипоксии зарегистрировано достоверное увеличение свечения НАДН (на 22,87 %) на фоне снижения свечения ФП (до 64,98 %). Выявленное уменьшение уровня окисленных и повышение уровня восстановленных компонентов дыхательной цепи характеризует выраженное уменьшение скорости переноса электронов по транспортной цепи в митохондриях перитонеальных макрофагов.

Таким образом, показана разнонаправленность изменений показателей функциональной активности альвеолярных и перитонеальных макрофагов при острой нормобарической гипоксической гипоксии у крыс. Полученные данные свидетельствуют, что альвеолярные макрофаги при их низкой чувствительности к гипоксии, проявляют высокий адаптационный потенциал. Перитонеальные макрофаги наоборот, обладают высокой чувствительностью к кислородной недостаточности и небольшими адаптивными резервами. Результаты исследования могут помочь при разработке перспективных методов коррекции биологических и патогенных эффектов острой гипоксии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Величковский Б. Т.* Экологическая пульмонология (роль свободнорадикальных процессов). — Екатеринбург: Издание ЕМ НЦ ПОЗРПП Минздрава России, 2003.
2. *Владимиров Ю. А., Проскурина Е. В.* Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // *Успехи биологической химии*, 2009. Т. 49. С. 341–388.
3. *Карнаухов В. Н.* Люминесцентный спектральный анализ клетки. — М.: Наука, 1978.
4. *Маянский А. Н., Маянский Д. Н.* Очерки о нейтрофиле и макрофаге. — Новосибирск: Наука, 1989.
5. *Николаев С. Б.* Фармакологическая коррекция иммунометаболических нарушений в условиях гипоксии (экспериментально-клиническое исследование): Автореферат дис. ... докт. мед. наук. — Курск, 2011.