

© САЛМИН В. В., СКОМОРОХА Д. П., РЕУШЕВ М. Ю., ФРОЛОВА О. В., МАЛИНОВСКАЯ Н. А., ЛОПАТИНА О. Л., САЛМИНА А. Б.

УДК: 57.047; 535-31

ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНОГО УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ

В. В. Салмин, Д. П. Скомороха, М. Ю. Реушев, О. В. Фролова, Н. А. Малиновская, О. Л. Лопатина, А. Б. Салмина
ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого
Министерства здравоохранения РФ, ректор — д. м. н. проф. И. П. Артюхов; кафедра медицинской и биологической
физики, зав. — д. ф.-м. н. В. В. Салмин; кафедра биохимии с курсами медицинской, фармацевтической
и токсикологической химии, зав. — д. м. н., проф. А. Б. Салмина; НИИ молекулярной медицины и патобиохимии;
руководитель — д. м. н. проф. А. Б. Салмина.

Цель исследования. Оценка влияния ультрафиолетового лазерного излучения на функциональную активность макрофагов, изучение дозозависимых эффектов, сравнение отклика на облучение перитонеальных и селезеночных макрофагов.

Материалы и методы. Облучение суспензий перитонеальных и селезеночных макрофагов мышей осуществлялось импульсно-периодическим азотным лазером с длиной волны 337 нм при различных экспозиционных дозах. Оценка функциональной активности макрофагов производилась с помощью стандартной методики с использованием окрашивания нитросиним тетразолием (НСТ-тест). В качестве отрицательного контроля использовались значения активности для необлученных клеток.

Результаты. Выявлено влияние облучения излучением азотного лазера перитонеальных и селезеночных макрофагов на их функциональную активность. Выявлено стимулирующее действие низких и ингибирующее действие больших доз облучения. Обнаружены особенности реагирования макрофагов различного происхождения на действие эквивалентных доз облучения. Построена зависимость относительной активности перитонеальных и селезеночных макрофагов от дозы облучения.

Заключение. Использование модельной системы (макрофаги) позволило установить, что основной молекулой-мишенью для действия ультрафиолетового излучения с длиной волны 337 нм является НАДФН-оксидаза. При низких дозах облучения (160 мкДж/мл) регистрируется стимуляция, при высоких (3840 мкДж/мл) — подавление активности фермента, причем перитонеальные макрофаги проявляют более высокую активность в ответ на облучение, чем селезеночные. Полученные результаты могут быть использованы при прогнозировании последствий флуоресцентной оптической биопсии с использованием ультрафиолетового излучения, ПУВА-фототерапии.

Ключевые слова: макрофаги, НСТ-тест, доза-эффект, ультрафиолетовое излучение, азотный лазер.

THE EFFECTS OF ULTRAVIOLET LASER RADIATION ON MACROPHAGES FUNCTIONAL ACTIVITY

V. V. Salmin, D. P. Skomorokha, M. Yu. Reushev, O. V. Frolova, N. A. Malinovskaya, O. L. Lopatina, A. B. Salmina
Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasensky

The aim of the research. To assess the effects of UV laser radiation on macrophages functional activity. Plotting the dose-response curves characterizing effects of UV laser radiation on the activity of peritoneal and splenic macrophages in vitro; comparing the response of peritoneal and splenic macrophages to UV irradiation.

Materials and Methods. Irradiation of mouse peritoneal and splenic macrophages in vitro has been performed with the pulsed Nitrogen laser ($\lambda=337$ nm) at various doses. Assessment of macrophages functional activity was done with the standard NMT-test. Non-irradiated cells have been used as a negative control.

Results. We found that UV laser radiation affected functional activity of peritoneal and splenic macrophages in vitro with the stimulatory effect of low and inhibitory effect of high doses of radiation. Macrophages of peritoneal cavity and spleen demonstrated heterogeneity in their response to the action of similar radiation doses. The "dose-response" curve to characterize the UV-induced effects on peritoneal and splenic macrophages was plotted.

Conclusion. Using of the model system (macrophages) allowed demonstrating that NADPH-oxidase is the main molecular target for the action of UV laser radiation ($\lambda=337$ nm). Lower doses of radiation (160 mJ/ml) stimulate the activity of macrophages, while higher doses (3840 mJ/ml) suppress it, and peritoneal macrophages are more sensitive to the stimulatory effect of UV laser radiation. Our findings could be used to predict the effects of UV-based fluorescent optical biopsy or PUVA-therapy.

Key words: macrophages, NBT-test, dose-response, ultraviolet radiation, nitrogen laser.

Введение

В последние годы использование излучения ближней ультрафиолетовой области (400 нм – 315 нм) УФ-А нашло широкое применение в таких областях, как ПУВА-терапия (псорален опосредованная УФ фототерапия) и флуоресцентная спектроскопическая диагностика. УФ-индуцированная флуоресцентная спектроскопия *in vivo* позволяет исследовать практически все тканевые флуорофоры [13]. Несмотря на значительный экспериментальный опыт применения флуоресцентной спектроскопической диагностики мало изученными остаются вопросы безопасности и возможных побочных эффектов. Различные данные по спектру действия УФ-излучения на ткани и клеточные культуры указывают на значительный рост генотоксичности и цитотоксичности излучения коротковолновой части поддиапазона УФ-А (<320 нм) [11]. Имеются данные о том, что импульсное УФ-А излучение наносекундной длительности при равных экспозиционных дозах оказывает более выраженное генотоксическое действие при облучении с высокой интенсивностью (через световод), чем при облучении широким пучком, что авторы связывают с влиянием двухквантовых эффектов [2]. Продвижение в длинноволновую часть УФ-А диапазона (>380 нм) позволяет, с одной стороны, существенно снизить фототоксическое действие УФ излучения, однако с другой стороны, понизит информативность метода оптической биопсии из-за недостаточности энергии кванта света для возбуждения ряда значимых флуорофоров [7]. Исследования ряда авторов указывают на предпочтительность выбора в качестве УФ источника возбуждения аутофлуоресценции тканей излучения азотного лазера ($\lambda = 337,1$ нм). Необходимо отметить, что в большинстве работ по прижизненному исследованию аутофлуоресценции биологических тканей используется именно этот лазер. Связано это прежде всего с тем, что основной вклад в аутофлуоресценцию тканей вносят такие флуорофоры, как НАДН и НАДФН, имеющие пик поглощения на длине волны 340 нм. Излучение азотного лазера характеризуется наносекундной и субнаносекундной длительностью что позволяет использовать его также в методиках анализа флуоресценции с временным разрешением.

Основная роль коферментов НАДН и НАДФН в клетке – участие в окислительно-восстановительных реакциях. Соответственно, при УФ облучении указанные коферменты, являясь мишенью для фотохимических реакций и фотофизических процессов, способны приводить к изменениям в протекании окислительно-восстановительных реакций в клетке. Поэтому для изучения фотобиологических эффектов, связанных с поглощением света коферментами НАДН и НАДФН в клеточном окружении, целесообразно использовать такие модельные системы, в которых эффекты НАД(Ф)Н проявляются наиболее «ярко». К такой модельной системе можно, безусловно, отнести НАДФН-оксидазу макрофагов, проявляющую себя в таком феномене, как «дыхательный взрыв» при фагоцитозе. Именно этот фермент вносит наибольший вклад в активированных фагоцитирующих клетках в продукцию супероксидного анион-радикала, однако влияние других НАДН-зависимых процессов в митохондриях не может быть исключено [3].

Изучение влияния УФ-А-излучения на функциональную активность макрофагов проводится достаточно давно, и интерес к этой области исследования связан с развитием методов и понимании механизмов ПУФА-терапии, влияния солнечной радиации на «фотостарение» кожи. Однако данные о «знаке» эффекта облучения противоречивы. Так, в работах [9] показано, что при облучении функциональная активность макрофагов снижается, причем эффект от облучения нарастает с увеличением дозы. Однако в работе А. Bredberg, А. Forsgren [4], где активность макрофагов после облучения исследовалась методом хемилюминесценции, показан рост активности после облучения. Нами методом хемилюминесцентного анализа был ранее продемонстрирован иммуномодулирующий эффект от облучения цельной крови излучением азотного лазера [14] проявляющийся в том, что при равных дозах облучения отклик зависит от уровня исходной активности клеток. Однако дозо-зависимые эффекты изучены не были.

Цель исследования: оценка влияния ультрафиолетового лазерного излучения на функциональную активность макрофагов, изучение дозо-зависимых эффектов, сравнение отклика на облучение перитонеальных и селезеночных макрофагов.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на нелинейных белых мышах-самцах массой 20±25 г (n = 7). Получение культуры перитонеальных и селезеночных макрофагов (ПМ и СМ соответственно) и их идентификация проводились по стандартной методике. После выделения клеток их помещали в раствор Хенкса и ресуспензировали. Концентрация клеток доводилась до значения $0,2 \cdot 10^6$ мл⁻¹. 1 мл суспензии помещались в пластиковые пробирки объемом 2 мл для облучения. От каждого животного формировалось 6 проб для каждого типа макрофагов. Одна проба не облучалась, а 5 облучались при различных дозах. Облучение суспензий клеток осуществлялось с помощью излучения оригинального азотного лазера с длиной волны 337 нм [12]. Облучение производили без каких-либо фокусирующих оптических элементов через открытую поверхность суспензии с помощью поворотного зеркала. Средняя мощность на частоте следования 200 Гц составляла 8 мВт. Мощность измерялась с помощью измерителя мощности ИМО-2Н (СССР, Россия). Мы использовали времена облучения 20, 60, 120, 240, 480 с, удельные экспозиционные дозы составили, соответственно, 160 мкДж/мл, 480 мкДж/мл, 960 мкДж/мл, 1920 мкДж/мл, 3840 мкДж/мл. При диаметре лазерного пятна 3 мм и длительности импульса генерации 2 нс оцениваемая импульсная интенсивность излучения не превышала 300 кВт/см². Контролем (К) служили клетки, не подвергшиеся облучению. Функциональная активность макрофагов оценивалась в НСТ-тесте по методике согласно Е. Д. Гольдбергу с соавт. [1] Жизнеспособность макрофагов (до и после инкубации) оценивалась в тесте с нейтральным красным индикатором, захватываемым лизосомами живых клеток, микроскопическим методом (x 900). Жизнеспособность клеток после облучения достоверно не менялась, что соответствовало отсутствию прямого цитотоксического эффекта тестируемых доз облучения.

Для количественных критериев описание представлено в виде доли окрашенных клеток от общего их количества, а также стандартной ошибкой среднего арифметического доли окрашенных клеток ($P \pm \Delta P$). Нормальность распределения доли окрашенных клеток в выборках проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Значение параметра p во всех выборках было не менее $p > 0,7$.

Значимость различий в выборках определялась с помощью непарного t -критерия Стьюдента для долей P . Статистически значимым принималось значение t -теста $< 0,1$. Выбор уровня значимости $0,1$ обусловлен малостью выборки ($n = 7$) и попадание в интервал $0,05-0,1$ являлось указанием на продолжение измерений с целью увеличения выборки.

Расчеты проводились с помощью пакета STATISTICA 10. Полученные экспериментальные зависимости доли окрашенных клеток P от логарифма удельной дозы облучения D аппроксимировались функциональной моделью «доза-эффект». Для построения линий тренда методом нелинейной регрессии и определения параметров линии тренда использован пакет Origin 8.5.

Результаты и обсуждение

Данные, полученные в ходе проведения экспериментов, приведены в табл. 1, в которой уровни функциональной активности клеток представлены долей окрашенных клеток $P \pm \Delta P$. Значимость изменений активности макрофагов по отношению к контрольной группе представлено значением t -тест критерия. Последняя колонка табл. 1 представляет значимость гипотезы по t -тесту равенства средних значений активности между перитонеальными и селезеночными макрофагами. Как видно из представленных данных, наблюдается значимое увеличение активности макрофагов обоого типа по отношению к контрольной группе при малых экспозиционных дозах, а также значимое снижение активности при действии высоких доз.

Таблица 1

Активность макрофагов (P) при различных дозах облучения (D)

D [мкДж/ мл]	lg(D)	Перитонеальные		Селезеночные		t-тест ПМ-СМ
		$P \pm \Delta P$ [отн.ед]	t-тест Обл-К	$P \pm \Delta P$ [отн.ед]	t-тест Обл-К	
0	-	0,17±0,03	-	0,17±0,03	-	0,49
160	2,204	0,31±0,02	<0,001	0,31±0,02	<0,001	0,44
480	2,681	0,31±0,03	<0,001	0,33±0,06	<0,001	0,32
960	2,982	0,27±0,02	<0,001	0,23±0,02	<0,01	<0,1
1920	3,283	0,17±0,02	0,47	0,16±0,04	0,27	0,27
3840	3,584	0,12±0,01	<0,01	0,12±0,02	<0,01	0,38

Примечание: t -тест Обл-К – значимость различий значений НСТ-теста для облученных и контрольных групп, t -тест ПМ-СМ значимость различий значений НСТ-теста для облученных перитонеальных (ПМ) и селезеночных (СМ) макрофагов при равных дозах облучения.

Как следует из приведенных в табл. 1 данных, при равных значениях поглощенной дозы прослеживается тенденция к более высокой активности ПМ по сравнению с СМ, что достигает уровня значимости $\alpha = 7\%$ при удельной дозе 960 мкДж/мл. По данным активности построены диаграммы (рис. 1). Аппроксимация экспериментальных точек осуществлялась с помощью модельной функции «доза-эффект»:

$$y = A_1 + \frac{A_2 - A_1}{1 + 10^{((x-x_0)^*p)}}$$

где A_1 и A_2 – нижняя и верхняя асимптоты, x_0 – положение центра кривой «доза-эффект», p – коэффициент Хилла.

Параметры линий тренда представлены в табл. 2. Как следует из параметров линий тренда, несмотря на равенство асимптот для обоих типов макрофагов, положение центров кривых x_0 доза-эффект значимо отличается, что указывает на более высокую активность ПМ при равных дозах облучения. Также регистрируются более высокие значения коэффициента Хилла, что указывает на более выраженный кооперативный эффект реакции с участием НАДФН-оксидазы ПМ по сравнению с СМ.

Таблица 2

Зависимость активности перитонеальных и селезеночных макрофагов от удельной экспозиционной дозы излучения

	ПМ	СМ
R^2	0,996	0,972
A_1	0,107±0,007	0,108±0,024
A_2	0,315±0,006	0,318±0,013
x_0	3,167±0,022	3,058±0,073
p	2,879±0,432	2,596±1,386

Полученные линии тренда использованы для построения зависимости относительной активности ПМ и СМ от удельной дозы облучения (рис. 2), с использованием следующего уравнения:

$$\eta = 2 * \frac{P_{П} - P_{С}}{P_{П} + P_{С}}$$

Из параметров линии тренда определена оптимальная удельная доза облучения, при которой активность ПМ максимально отличается от активности СМ. Величина указанной дозы составляет 1380 мкДж/мл.

Зарегистрированные нами изменения параметров НСТ-теста в клетках, облученных УФ излучением, свидетельствуют о том, что основной молекулой-мишенью для действия азотного лазера является клеточный пул НАДФ(Ф)Н. С учетом того, что НСТ-тест регистрирует внутриклеточную продукцию супероксид-анион радикала не только НАДФН-оксидазой, но, хотя и в значительно меньшей степени, НАДФН-зависимыми ферментами митохондрий [3] нельзя исключить возможность того, что высокие дозы УФ излучения стимулируют процесс формирования активных форм кислорода при работе дыхательной цепи, и потому чувствительность ПМ к индуцирующему влиянию УФ лазерного излучения может быть связана с их относительно большей зрелостью, проявляющейся большим количеством функционально активных митохондрий [5]. Вместе с тем, в активированных фагоцитах основным «потребителем» НАДФН и источником супероксидного анион-радикала, несомненно, является НАДФН-оксидаза.

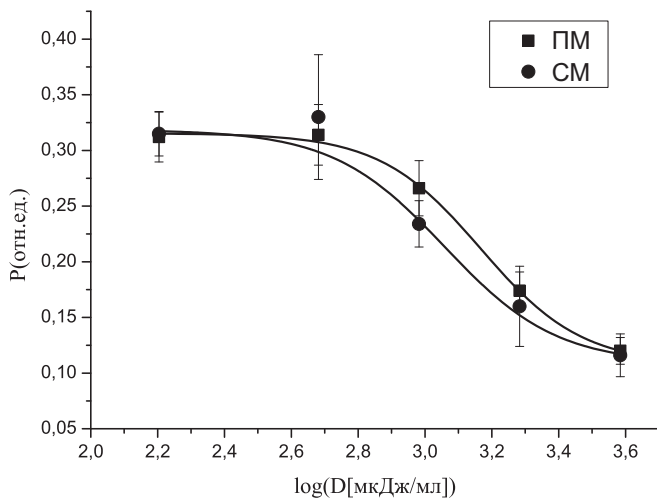


Рис. 1. Зависимость активности перитонеальных и селезеночных макрофагов от удельной экспозиционной дозы излучения.

НАДФН-оксидаза является основной молекулой-мишенью для действия УФ излучения с длиной волны около 340 нм в НАДФН-оксидаза-экспрессирующих клетках [6]. Мы предполагаем, что в основе обнаруженных нами эффектов лазерного излучения лежит интенсификация фотохимического механизма переноса протона и электронов в реакции, катализируемой мембран-связанной НАДФН-оксидазой, и приводящей к продукции свободных радикалов. Известно, что для предотвращения неблагоприятных последствий активации макрофаги строго контролируют внутриклеточную локализацию, процесс сборки и время функционирования комплекса НАДФН-оксидазы [10]. Поэтому интересным представляется обнаруженный нами факт дифференциальной чувствительности перитонеальных и селезеночных макрофагов к действию УФ излучения. В литературе есть данные о том, что ПМ и СМ отличаются по степени зрелости, экспрессии поверхностных антигенов, фагоцитарной активности, в частности, ПМ являются более морфологически зрелыми клетками и обладают большей фагоцитарной активностью [15], но СМ проявляют большую иммуногенность, цитотоксичность и способность к продукции NO и ряда цитокинов при стимуляции [8, 15]. Таким образом, регистрируемая нами большая чувствительность ПМ к действию высоких доз УФ излучения является отражением больших резервов НАДФН-оксидаза-зависимых процессов фагоцитоза в макрофагах брюшной полости по сравнению с макрофагами селезенки.

Каков механизм влияния УФ лазерного излучения на спонтанную генерацию активных форм кислорода НАДФН-оксидазой? В наших экспериментальных условиях наиболее вероятным объяснением представляется происходящая при комнатной температуре фотохимическая активация молекулы НАДФН, облегчающая ее связывание с ключевым компонентом НАДФН-оксидазного комплекса – цитохромом b_{558} . Последующее повышение температуры до $+37^{\circ}\text{C}$ способствует интенсификации процесса сборки молекулярной машины – НАДФН-оксидазного комплекса в мембранах фагосом, что имеет своим результатом увеличение цитохром b_{558} -зависимого трансфера электронов от НАДФН на молекулярный кислород и продукции супероксид-анион

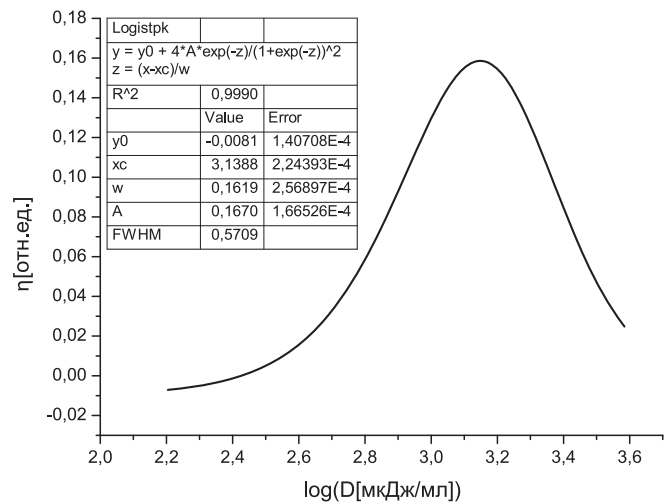


Рис. 2. Зависимость от удельной дозы облучения относительной активности перитонеальных и селезеночных макрофагов.

радикала. При дальнейшем увеличении экспозиционной дозы лазерного излучения возможно значительное смещение баланса между внутриклеточными пулами НАДФ и НАДФН, причем НАДФН не регенерирует, активность фермента падает, что находит отражение в снижении параметров НСТ-теста.

Заключение

Использование модельной системы (макрофаги) позволило установить, что основной молекулой-мишенью для действия УФ излучения с длиной волны 337 нм является НАДФН-оксидаза. При низких дозах облучения (160 мкДж/мл) регистрируется стимуляция, при высоких (3840 мкДж/мл) – подавление активности фермента, причем перитонеальные макрофаги проявляют более высокую активность в ответ на облучение, чем селезеночные. Полученные результаты могут быть использованы при прогнозировании последствий флуоресцентной оптической биопсии с использованием УФ излучения, ПУВА-фототерапии.

Литература

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. – Томск: изд-во Томского государственного университета, 1992. – 272 с.
2. Салмин В.В., Скомороха Д.П., Реушев М.Ю., Фролова О.В., Пигарева Ю.Н., Кожевникова Т.А. Оценка генотоксичности импульсного УФ-лазерного излучения при аутофлуоресцентной оптической биопсии // Сибирское медицинское обозрение. – 2014. – № 1. – С 39-43.
3. Berridge M.V., Herst P.M., Tan A.S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction // Biotechnology Annual Review: Elsevier. – 2005. – Vol. 11. – P. 127-152.
4. Bredberg A., Forsgren A. Long wavelength UV radiation affects chemiluminescence of human polymorphonuclear leucocytes // Photochemistry and Photobiology. – 1985. – Vol. 41, № 3. – P. 337-341.
5. Daigneault M., Preston J.A., Marriott H.M., Whyte M.K., Dockrell D.H. The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages // PLoS One. – 2010. – Vol. 5, № 1. – P. e8668.

6. Jiang Q., Zhou C., Healey S., Chu W., Kouttab N., Bi Z., Wan Y. UV radiation down-regulates Dsg-2 via Rac/NADPH oxidase-mediated generation of ROS in human lens epithelial cells // *Int. J. Mol. Med.* – 2006. – Vol. 18, № 2. – P. 381-388.

7. Koenig K., Schneckenburger H. Laser-induced autofluorescence for medical diagnosis // *Journal of Fluorescence.* – 1994. – Vol 4, № 1. – P. 17-40.

8. Liu G., Xia X.P., Gong S.L., Zhao Y. The macrophage heterogeneity: difference between mouse peritoneal exudate and splenic F4/80+ macrophages // *J. Cell Physiol.* – 2006. – Vol 209, № 2. – P. 341-352.

9. McLoone P., Norval M. Adaptation to the UV-induced suppression of phagocytic activity in murine peritoneal macrophages following chronic exposure to solar simulated radiation // *Photochem Photobiol Sci.* – 2005. – Vol. 4, № 10. – P. 792-797.

10. Nunes P., Demaurex N., Dinauer M.C. Regulation of the NADPH oxidase and associated ion fluxes during phagocytosis // *Traffic.* – 2013. – Vol 14, № 11. – P. 1118-1131.

11. Oriowo O.M., Cullen A.P., Chou B.R., Sivak J.G. Action Spectrum and Recovery for In Vitro UV-Induced Cataract Using Whole Lenses // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2001. – Vol. 42, № 11. – P. 2596-2602.

12. Provorov A.S., Salmin V.V. Compact N₂ laser with magnetic pulse compression // *Quantum Electronics.* – 1993. – Vol. 23, № 6. – P. 527-529.

13. Provorov A.S., Salmin V.V., Salmina A.B., Fursov A.A., Stepanenko A.V., Sokolovich A.G., Lazarenko V.I., Rebenkova A.A., Popov A.Y., Testov A.A., Trusova E.Y., Mikhutkina S.V., Lopatina O.L., Olovyannikova R.Y. Pulsed Gas Lasers with Longitudinal Discharge and Their Application in Medicine // *Laser Physics.* – 2005. – Vol. 15, № 9. – P. 1299-1302.

14. Pukhova I.I., Salmin V.V. The effect of N₂-laser radiation on the kinetics of the generation of active forms of oxygen by the granulocytic-macrophagal cells in a whole-blood system // *Radiatsionnaya biologiya, radioecologiya / Rossiiskaia akademiya nauk.* – 1995. – Vol. 35, № 2. – P. 286-291.

15. Wang C., Yu X., Cao Q., Wang Y., Zheng G., Tan T.K., Zhao H., Zhao Y., Wang Y., Harris D. Characterization of murine macrophages from bone marrow, spleen and peritoneum // *BMC Immunology.* – 2013. – Vol 14, № 1. – P. 6.

References

1. Goldberg E.D., Dygai A.M., Shakhov V.P. *Tissue Culture Methods in Haematology.* – Tomsk: Publishing house of Tomsk State University in 1992. – 272 p.

2. Salmin V.V., Skomorokha D.P., Reushev M.Yu., Frolova O.V., Pigareva Yu.N., Kozhevnikova T.A. Evaluation of genotoxicity of pulsed UVA laser radiation at autofluorescent optical biopsy // *Siberian Medical Review.* – 2014. – № 1. – P. 39-43.

3. Berridge M.V., Herst P.M., Tan A.S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction // *Biotechnology Annual Review: Elsevier.* – 2005. – Vol. 11. – P. 127-152.

4. Bredberg A., Forsgren A. Long wavelength UV radiation affects chemiluminescence of human polymorphonuclear leucocytes // *Photochemistry and Photobiology.* – 1985. – Vol. 41, № 3. – P. 337-341.

5. Daigneault M., Preston J.A., Marriott H.M., Whyte M.K., Dockrell D.H. The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages // *PLoS One.* – 2010. – Vol. 5, № 1. – P. e8668.

6. Jiang Q., Zhou C., Healey S., Chu W., Kouttab N., Bi Z., Wan Y. UV radiation down-regulates Dsg-2 via Rac/NADPH oxidase-mediated generation of ROS in human lens epithelial cells // *Int. J. Mol. Med.* – 2006. – Vol. 18, № 2. – P. 381-388.

7. Koenig K., Schneckenburger H. Laser-induced autofluorescence for medical diagnosis // *Journal of Fluorescence.* – 1994. – Vol 4, № 1. – P. 17-40.

8. Liu G., Xia X.P., Gong S.L., Zhao Y. The macrophage heterogeneity: difference between mouse peritoneal exudate and splenic F4/80+ macrophages // *J. Cell Physiol.* – 2006. – Vol 209, № 2. – P. 341-352.

9. McLoone P., Norval M. Adaptation to the UV-induced suppression of phagocytic activity in murine peritoneal macrophages following chronic exposure to solar simulated radiation // *Photochem Photobiol Sci.* – 2005. – Vol. 4, № 10. – P. 792-797.

10. Nunes P., Demaurex N., Dinauer M.C. Regulation of the NADPH oxidase and associated ion fluxes during phagocytosis // *Traffic.* – 2013. – Vol 14, № 11. – P. 1118-1131.

11. Oriowo O.M., Cullen A.P., Chou B.R., Sivak J.G. Action Spectrum and Recovery for In Vitro UV-Induced Cataract Using Whole Lenses // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2001. – Vol. 42, № 11. – P. 2596-2602.

12. Provorov A.S., Salmin V.V. Compact N₂ laser with magnetic pulse compression // *Quantum Electronics.* – 1993. – Vol. 23, № 6. – P. 527-529.

13. Provorov A.S., Salmin V.V., Salmina A.B., Fursov A.A., Stepanenko A.V., Sokolovich A.G., Lazarenko V.I., Rebenkova A.A., Popov A.Y., Testov A.A., Trusova E.Y., Mikhutkina S.V., Lopatina O.L., Olovyannikova R.Y. Pulsed Gas Lasers with Longitudinal Discharge and Their Application in Medicine // *Laser Physics.* – 2005. – Vol. 15, № 9. – P. 1299-1302.

14. Pukhova I.I., Salmin V.V. The effect of N₂-laser radiation on the kinetics of the generation of active forms of oxygen by the granulocytic-macrophagal cells in a whole-blood system // *Radiatsionnaya biologiya, radioecologiya / Rossiiskaia akademiya nauk.* – 1995. – Vol. 35, № 2. – P. 286-291.

15. Wang C., Yu X., Cao Q., Wang Y., Zheng G., Tan T.K., Zhao H., Zhao Y., Wang Y., Harris D. Characterization of murine macrophages from bone marrow, spleen and peritoneum // *BMC Immunology.* – 2013. – Vol 14, № 1. – P. 6.

Сведения об авторах

Салмин Владимир Валерьевич – доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой медицинской и биологической физики, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка г. 1; тел. (391)2217274; e-mail: vsalmin@gmail.ru.

Скомороха Диана Павловна – преподаватель кафедры медицинской и биологической физики, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка г. 1; тел. (391)2217274; e-mail: silverselena@list.ru.

Реушев Михаил Юрьевич – кандидат физико-математических наук, доцент кафедры медицинской и биологической физики, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка г. 1; тел. (391)2217274; e-mail: reuqem@mail.ru.

Фролова Ольга Васильевна – научный сотрудник НИИ медицинской и биологической физики, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка г. 1; тел. (391)2280769; e-mail: frolova_olga86@mail.ru.

Малиновская Наталья Александровна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник НИИ медицинской и биологической физики, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка г. 1; тел. (391)2280769; e-mail: kopsuelo81@mail.ru.

Лопатина Ольга Леонидовна – доцент кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка г. 1; тел. (391)2280769; e-mail: ol.lapatina@gmail.com.

Салмина Алла Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка г. 1; тел. (391)2280769; e-mail: allasalmina@mail.ru.

© КУРТАСОВА Л. М., ЛУБНИНА Т. В.

УДК 616.155.34:616.322-007.61-053.2

ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ГИПЕРТРОФИЕЙ ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ

Л. М. Куртасова¹, Т. В. Лубнина²

¹ ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения РФ, ректор – д. м. н., проф. И. П. Артюхов; кафедра клинической иммунологии, зав. – д. м. н., проф. Н. И. Камзалакова; ² КГБУЗ Красноярский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД, гл. врач – д. м. н. С. Е. Скударнов.

Цель исследования. Изучение фагоцитарной активности и параметров кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов периферической крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины.

Материалы и методы. Обследовано 115 детей с гипертрофией глоточной миндалины в возрасте 1-6 лет. Тесты для определения фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа проводили с частицами латекса. Оценку люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови осуществляли по методу De Sole et al. (1983).

Результаты. У детей с гипертрофией глоточной миндалины на фоне снижения количества активно фагоцитирующих клеток отмечается сохранение нейтрофилами крови поглотительной способности. Изменения параметров хемилюминесцентного ответа нейтрофилов крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины зависели от возраста обследованных детей и оказались более существенными в возрастной группе 4-6 лет.

Заключение. Полученные данные, вероятно, необходимо учитывать при разработке иммунокорректирующих мероприятий у детей с патологическим увеличением глоточной миндалины.

Ключевые слова: глоточная миндалина, нейтрофилы, фагоцитоз, хемилюминесценция.

CHANGES IN THE FUNCTIONAL-METABOLIC ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD NEUTROPHILS IN CHILDREN WITH HYPERTROPHY OF THE PHARYNGEAL TONSIL

L. M. Kurtasova¹, T. V. Lubnina²

¹ Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky;

² Center of AIDS Prophylaxis, Krasnoyarsk.

The aim of the research. To study the phagocytic activity and parameters of oxygen-dependent metabolism of peripheral blood neutrophils in children with pharyngeal tonsil.

Materials and Methods. Were studied 115 children with hypertrophy of the pharyngeal tonsil in age of 1 - 6 years old. The tests for determination the phagocytic index and phagocytic number were carried out with latex particles. Evaluation of luminol-dependant chemiluminescence of blood neutrophils was performed by the method of De Sole et al. (1983).

Results. In children with hypertrophy of the pharyngeal tonsils due to lower number of actively phagocytizing cells was noted the persistence of blood neutrophils absorbency. The changes in the parameters of the chemiluminescence response of blood neutrophils in children with hypertrophy of the pharyngeal tonsil were depended on the age of the examined children and were more significant in the age group of 4 - 6 years old.

Conclusion. The received data are likely to consider when designing immunocorrecting measures in children with abnormal increase of the pharyngeal tonsil.

Key words: pharyngeal tonsil, neutrophils, phagocytosis, chemiluminescence.