

---

# БИОЛОГИЯ

---

УДК 581.17:57.043

## ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ПЕРЕГРЕВАНИЯ ОРГАНИЗМА<sup>1</sup>

**С. В. Надеждин, М. З. Федорова, Н. А. Павлов, Е. В. Зубарева**

Белгородский государственный университет, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85  
e-mail: nadezhdin@bsu.edu.ru

Экзогенная гипертермия является стресс-фактором, вызывающим типичные для общего адаптационного синдрома изменения со стороны надпочечников. Однако при кратковременном действии высокой внешней температуры преобладающими являются специфические изменения физиологической активности лейкоцитов: повышение фагоцитарной и миграционной активности нейтрофилов, осмотической стойкости и эффективности осморегуляторных реакций гранулоцитов и лимфоцитов. Активация функций белых клеток крови происходит на фоне нейтропении и лимфоцитоза за счет высокой “цены” адаптации к действующему фактору.

Ключевые слова: лейкоциты, гипертермия стресс-реакция, адаптация.

Согласно классическому определению Г. Селье “стресс есть неспецифический ответ организма на любое предъявленное ему требование” [1]. С этой точки зрения острое перегревание организма является фактором, вызывающим тепловой стресс. Вместе с тем, увеличение температуры тела может возникать за счет эндогенных (нервных и гуморальных) механизмов для повышения эффективности иммунных реакций [2]. То есть гипертермия в значительной степени специфическое явление. На основе многочисленных исследований последних десятилетий достаточно полно описана общая картина изменений, происходящих в организме при остром перегревании: выявлены нервные и эндокринно-метаболические механизмы нарушений функций различных систем [3, 4, 5, 6]. Имеются обобщающие работы по реакциям системы крови на тепловую нагрузку [7]. Опубликованные данные о сдвигах гормональных показателей, изменениях лейкоцитарной формулы и некоторых физиологических характеристик белых клеток крови в условиях высоких внешних температур противоречивы и не всегда могут быть оценены как подтверждающие стрессорную природу экзогенного перегревания организма.

Целью проведенного исследования было уточнение “вклада” специфического и неспецифического компонента интенсивного теплового воздействия в изменения функциональных свойств и реактивности лейкоцитов крови при кратковременной интенсивной тепловой нагрузке.

---

<sup>1</sup> Работа выполнена в рамках тематического плана Федерального агентства по образованию РФ.

### Методы исследования

Опыты проведены на лабораторных белых крысах-самцах линии Вистар весом 300–350 г, поделенных на две группы. Первая – интактная, служившая контролем; вторая – экспериментальная. Животных второй группы нагревали в камере объемом 0.8 м<sup>3</sup> с температурой 38°C, автоматизированным воздухообменом и относительной влажностью 50–60% в течение 120 мин [8]. Кровь для исследований брали сразу по окончании теплового воздействия путем декапитации после дачи легкого эфирного наркоза. В качестве антикоагулянта использовали гепарин (10 ед./мл). В цельной крови определяли количество и соотношение различных форм лейкоцитов унифицированным методом [9]. Для получения суспензии лейкоцитов кровь центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин, собирали лейкоцитарное кольцо. Примесь эритроцитов разрушали 0.83% раствором хлорида аммония [10, 11]. Клетки дважды отмывали изотоническим буферным раствором. Суспензию лейкоцитов использовали для изучения основных этапов фагоцитарного процесса (локомоционная активность, адгезия и поглотительная способность), осмотической стойкости, определения мембранного резерва и регуляции объема.

Локомоционную активность оценивали в тест-системе миграции под агарозой [12, 13]. Адгезионные свойства изучали по методу, описанному ранее [14]. Для оценки адгезионных свойств лейкоциты инкубировали в капилляре при 37°C в течение 60 мин. Затем капилляр перфузировали изотоническим раствором при напряжении сдвига 30 Н/м<sup>2</sup>. Подсчитывали число клеток в исходной суспензии и в смыве после инкубации (неадгезировавшие клетки). В мазках лейкоцитов, изготовленных из исходной суспензии и смыва определяли соотношение нейтрофилов и лимфоцитов [14]. Исследование поглотительной способности вели с использованием дрожжевых клеток [15]. С целью получения данных по осмотической стойкости, резервным возможностям мембраны и осморегуляции использовали комплексный метод в нашей модификации [16]. Критерием развития стресс-реакции были морфологические изменения в надпочечниках [17].

Дополнительно определяли процентное содержание лейкоцитов в красном костном мозге [18].

Степень достоверности различий оценивали по критерию Стьюдента, наличие связей между отдельными признаками – по коэффициенту линейной корреляции.

### Результаты исследования

Экзогенное перегревание животных приводило к повышению ректальной температуры в среднем на 1°.

Количество и соотношение различных типов лейкоцитов у интактных крыс не отличались от полученных другими авторами [19]. Интенсивное тепловое воздействие сопровождалось существенным уменьшением числа циркулирующих в крови лейкоцитов, лимфоцитозом и нейтропенией (табл. 1). Аналогичные изменения зарегистрированы в клеточном составе костного мозга: содержание лимфоцитов у животных экспериментальной группы увеличивалось до  $44.2 \pm 1.4\%$  (контрольная группа –  $21.2 \pm 1.2\%$ ,  $p < 0.01$ ), нейтрофилов – снижалось до  $52.5 \pm 0.7\%$  (контрольная группа –  $65.8 \pm 1.3\%$ ,  $p < 0.01$ ). В условиях экзогенной гипертермии выявлено увеличение толщины коркового вещества надпочечников ( $77 \pm 0.7\%$ , у контрольной группы –  $71 \pm 0.7\%$ ,  $p < 0.01$ ) и диаметра ядер клеток пучковой зоны ( $5.5 \pm 0.01$  мкм, у контрольных животных –  $5.1 \pm 0.01$  мкм,  $p < 0.01$ ). При этом митотический индекс снижался до 0 (у интактных животных –  $0.12 \pm 0.005\%$ ). Изменения со стороны надпочечников характеризуют развитие стресс – реакции.

При остром перегревании организма возрастала функциональная активность нейтрофилов: увеличивалось число фагоцитирующих клеток и площадь ареала при спонтанной и стимулированной миграции. В качестве тенденции проявлялось повышение адгезионных свойств и снижение миграционной активности в присутствии хемоаттрактанта (табл. 1).

Таблица 1

**Изменения лейкоцитарной формулы и функциональных свойств белых клеток крови в условиях экзогенной гипертермии**

Группа	Содержание лейкоцитов и лейкоцитарная формула					
	лейкоциты, тыс./мкл	лимфоциты, %	нейтрофилы, %	моноциты, %	эозинофилы, %	базофилы, %
контрольная	17.9±0.6	69.2±1.2	28.2±1.1	2.0±0.1	0.4±0.05	0.2±0.03
перегревание	9.2±1.1*	78.5±0.9*	18.2±0.9*	2.5±0.1*	0.±0.06	0.3±0.05
Группа	Функциональные свойства лейкоцитов					
	ФА, %	ФИ, отн.ед.	S сп., мм <sup>2</sup>	S ст., мм <sup>2</sup>	ΔS, %	Ад., %
контрольная	12.7±0.9	1.09±0.03	4.8±0.3	8.8±0.2	84±8	34±6
перегревание	20.0±1.0*	1.12±0.03	6.7±0.2*	11.5±0.2*	76±1	38±8

*Примечание:* ФА – фагоцитарная активность; ФИ – фагоцитарный индекс; S сп. – площадь распространения клеток при спонтанной миграции; S ст. – площадь распространения клеток при стимулированной миграции; ΔS – изменение площади распространения клеток при стимулированной миграции по сравнению со спонтанной; Ад. – доля адгезировавших клеток с высокой силой сцепления; \* – достоверность различий по сравнению с контролем по критерию Стьюдента ( $p < 0.01$ ).

Применение функциональной гипоосмотической нагрузки показало, что в условиях экзогенной гипертермии повышается общая осмотическая резистентность лейкоцитов ( $84 \pm 5\%$ ; интактные животные –  $69 \pm 4\%$ ,  $p < 0.05$ ), а использование мембранного резерва как нейтрофилами, так и лимфоцитами в сильногипотонической среде (0.2% раствор хлорида натрия) примерно одинаково. В умеренногипотоническом растворе (0.45%) более выраженное увеличение объема характерно для клеток “перегретых” животных. В условиях высокой внешней температуры более эффективно происходит восстановление исходного размера клеток (табл. 2).

Таблица 2

**Геометрические показатели лейкоцитов, инкубированных в растворах хлорида натрия разной осмолярности**

Группа	Геометрические показатели	Концентрация раствора, время инкубации							
		0,9%		0,2%, 60 с		0,45%, 60 с		0,45%, 1 ч	
		лимфоциты	нейтрофилы	лимфоциты	нейтрофилы	лимфоциты	нейтрофилы	лимфоциты	нейтрофилы
контрольная	диаметр, мкм	6.2±0.4	7.6±0.6	8.3±0.5 • (35%)	11.0±0.5 • (46%)	6.8±0.5 • (10%)	8.6±0.5 • (14%)	6.5±0.2 • (7%)	8.1±0.2 • (10%)
	объем, мкм <sup>3</sup>	131±24	247±50	314±57	713±94	172±35	348±73	148±16	280±24
перегревание	диаметр, мкм	5.7±0.2	7.2±0.2	7.9±0.3 • (39%)	10.5±0.4 • (47%)	7.0±0.4 • (22%)	8.8±0.3 • (24%)	5.8±0.2 ° (2%)	7.2±0.1 °* (10%)
	объем, мкм <sup>3</sup>	101±13	193±16	269±34	615±70	186±30	356±38	106±13	193±9

*Примечание:* в скобках даны различия с диаметром клеток в изотоническом растворе; • – достоверность различий по сравнению с 0.9% хлорида натрия; ° – достоверность различий по сравнению с 0.45% раствором, 60 с; \* – достоверность различий по сравнению с контролем (критерий Стьюдента,  $p < 0.05$ ).

### Обсуждение результатов

Состояние организма, возникающее в ответ на однократную интенсивную тепловую нагрузку, может быть охарактеризовано как экстремальное. В наших предыдущих работах [8] показано, что со 120-й минуты теплового воздействия отмечаются случаи гибели животных, а после прекращения эксперимента и помещения крыс в условия вивария, часть из них умирает в течение первых суток. При действии на организм экстремальных факторов среды компенсаторные реакции сопряжены с максимальным напряжением специфических и неспецифических механизмов, т.е. характеризуются направленной соответствующим фактором активацией функций и проявлением стресс – реакции [6].

Согласно классическим представлениям экзогенная гипертермия может соответствовать стадии “тревоги” общего адаптационного синдрома [1] или острого стресса [20]. Стрессорная природа кратковременных интенсивных тепловых нагрузок подтверждается повышением содержания в плазме кортизона и катехоламинов [7,21,22]. В проведенном нами исследовании свидетельством стрессорного характера воздействия является гиперплазия и снижение митозов в коре надпочечников. Вместе с тем, сдвиги в лейкоцитарной формуле крови и костного мозга, такие как нейтропения и лимфоцитоз, противоположны регистрирующимся при общем адаптационном синдроме и могут быть отнесены к числу специфических проявлений гипертермии. Близкие результаты были получены другими авторами в экспериментах на крысах, кроликах и собаках [4].

Данные об изменениях функциональной активности белых клеток крови при тепловом воздействии противоречивы. Результаты исследований А. С. Соловьева [23,24] свидетельствуют о подавлении клеточного и гуморального иммунитета при интенсивном хроническом перегревании. Однако в работах Е. А. Корневой, Э. К. Шхинек [25,26] отмечается, что повышение уровня глюкокортикоидов, вызываемое стрессорами неантигенной природы, не всегда приводит к угнетению иммунных реакций. На усиление защитных свойств организма при повышении температуры указано также в исследованиях Л. Г. Прокопенко, Ю. А. Яхонтова [27] и С. Б. Милакина [28]. В качестве основной причины повышения функциональной активности лейкоцитов при тепловой нагрузке выступает модификация мембран, а именно, структурные перестройки липидного бислоя и увеличение активности интегральных мембранных ферментов [29,30,31,32]. Полученные нами данные также указывают на ведущую роль цитоплазматической мембраны в усилении функциональной активности фагоцитов. Повышение миграционной и поглотительной способности нейтрофилов – функций, обеспечиваемых в значительной степени плазмалеммой, коррелирует с увеличением осмотической резистентности и эффективности осморегуляторных реакций.

Повышение физиологической активности нейтрофилов при уменьшении их абсолютного и относительного содержания в крови происходит на фоне высокой напряженности функций. Об этом свидетельствует появление сильных ( $r > 0.8$ ) достоверных ( $p < 0.05$ ) статистических взаимосвязей между изученными показателями в группе “гипертермия”: отрицательной корреляционной зависимости между количеством лейкоцитов в крови и площадью распространения клеток при спонтанной и стимулированной миграции и положительных связей между адгезионной способностью и фагоцитарной активностью.

Изменения физиологических свойств лейкоцитов можно считать реакциями срочной адаптации организма на уровне системы крови. Это не противоречит устоявшимся представлениям о том, что кратковременная адаптация происходит за счет “готовых” физиологических механизмов и не может быть достаточно эффективной [33]. Изменения в коре надпочечников, трактуемое как проявление стресс – реакции также отражают высокую напряженность функционирования организма. По мнению В. В. Виноградова [17] причиной угнетения митозов является смена направленности потока энергозатрат с пластического обмена, обеспечивающего элементарные проявления жизнедеятельности, на функциональный обмен, осуществляющий специфические для данных клеток функции при блокировании восстановительных процессов.

### Заключение

Однократная интенсивная тепловая нагрузка вызывает увеличение функциональной активности нейтрофилов крови, повышение лабильности плазмалеммы и эффективности регуляции объема гранулоцитов и лимфоцитов. Активация клеточных функций происходит за счет высокой физиологической “цены” на фоне неспецифических (стрессорных) изменений со стороны надпочечников и направленных тепловым воздействием сдвигам клеточного состава периферической крови и костного мозга. Кратковременное повышение температуры для лейкоцитов, выполняющих в организме защитные функции, является специфическим (адекватным) сигналом, стимулирующим физиологическую активность. Выраженный лимфоцитоз, скорее всего, есть проявление готовности к реализации иммунных реакций. Таким образом, в условиях острого перегревания организма доминирующим является специфический компонент изменений функциональной активности лейкоцитов.

### Список литературы

1. Селье Г. Стресс без дистресса. – М.: Прогресс, 1979. – 126 с.
2. Марьянович А.Т., Цыган В.Н., Лобзин Ю.В. Терморегуляция: от физиологии к клинике. – СПб.: ВМедА, 1997. – 62 с.
3. Ажаев А.Н. Физиолого-гигиенические аспекты действия высоких и низких температур // Проблемы космической биологии. – 1979. – Т. 38. – 264 с.
4. Горизонтов П.Д. Сиротинин Н.П. Патологическая физиология экстремальных состояний. – М.: Медицина, 1973. – 276 с.
5. Козлов Н.Б. Гипертермия: биохимические основы патогенеза, профилактики, лечения. – Воронеж, 1990. – 102 с.
6. Новиков В.С., Горанчук В.В., Шустов Е.Б. Физиология экстремальных состояний. – СПб.: Наука, 1998. – 247 с.
7. Васильев Н.В., Захаров Ю.М., Коляда Т.И. Система крови и неспецифическая резистентность в экстремальных климатических условиях. – Новосибирск. Наука, 1992. – 257 с.
8. Федорова М.З., Левин В.Н., Горичева В.Д. Функциональная активность и механические свойства лейкоцитов крови крыс при внешней тепловой нагрузке // Российский физиологический журнал им. И.С. Сеченова. – 2000. – № 12. – С. 1624-1629.
9. Медицинские лабораторные технологии / Под ред. Карпищенко А.И. – СПб.: Итермедика, 2002. – Т. 1. – 408 с.
10. Дуглас С.Д., Куи П.Г. Исследование фагоцитоза в клинической практике: Пер. с англ. – М.: Медицина, 1983. – 112 с.
11. Зимин Ю.И., Редькин А.П. Угнетение нестимулированными лимфоцитами спонтанной миграции лейкоцитов под агаром // Иммунология. – 1987. – № 1. – С.71-73.
12. Федорова М.З., Левин В.Н. Спонтанная миграция нейтрофилов крови в смешанной популяции лейкоцитов и ее изменения под влиянием веществ аутоплазмы при различных функциональных состояниях организма // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – №5. – С.16-19.
13. Nelson R.D., Quie P.G, Simmons R.L. Chemotaxis under agarose: a new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes // J. Immunol. – 1975. – Vol. 115. – P.1650-1656.
14. Mege J.-L., Eon B., Saux P., Martin C., Lenoble., Foa C., Bongrand P. Inhibition of granulocyte adhesion by pentoxifylline // Pentoxifylline and analogues: Effects of leukocyte function. Proceedings of the workshop. Saint Paul – de-Vence, France. – 1989. – P.17-23.

15. Коган А.Х., Стремоухов А.А., Болевич С., Гадаев И. Ю., Лаптева О.Н. Способ определения фагоцитарной активности лейкоцитов. Патент. №2143693 от 27.12.1999.
16. Федорова М.З., Левин В.Н. Метод комплексного исследования геометрии, площади поверхности, резервных возможностей мембраны и осморегуляции лейкоцитов крови // Клиническая лабораторная диагностика. – 1997. – №11. – С.44-46.
17. Виноградов В.В. Стресс: Морфобиология коры надпочечников. – Мн.: Белорусская наука, 1998. – 319 с.
18. Алексеев Н.А. Клинические аспекты лейкопений, нейтропений и функциональных нарушений нейтрофилов. – СПб.: Фолиант, 2002. – 416 с.
19. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. – М.: Медицина, 1983. – 239 с.
20. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. – Ростов-на-Дону. Издательство Ростовского университета, 1990. – 224 с.
21. Кульбаев И.С., Костюшина Н.В. Микрогемодинамика и лимфоток в тонкой кишке при действии гистамина на фоне водной нагрузки и гипертермии у собак // Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1992. – Т.78, – №.5. – С.54-59.
22. Петрова Т.В., Васин М.В., Разинкин С.М., Шаньгин О.Г. Влияние гипертермии на некоторые гормональные и иммунные показатели человека // Физиология человека. – 1991. – №.3. – С.94-97.
23. Соловьев А.С. Влияние высокой внешней температуры на состояние клеточного иммунитета // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1992. – №10. – С.382-383.
24. Соловьев А.С. Исследование иммунологических реакций при адаптации организма к дозированному тепловому фактору // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1994. – №5. – С.502-504.
25. Корнева Е.А., Шхинек Э.К. Физиологические механизмы влияния стресса на иммунную систему // Вестник АМН СССР. – 1985. – №8. – С.44-50.
26. Корнева Е.А., Шхинек Э.К. Гормоны и иммунная система. – Л.: Наука, 1988. – 251 с.
27. Прокопенко Л.Г., Яхонтов Ю.А. Механизм стимуляции иммунного ответа при действии на организм высокой температуры // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1981. – №6. – С.62-66.
28. Милакин С.Б. Структурное состояние мембран и функциональная активность лимфоцитов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1989. – 19 с.
29. Браун А.Д., Моженок Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. – Л.: Наука, 1987. – 232 с.
30. Варыпаева Л.П., Захаров Ю.М. Об особенностях порфиринового обмена и показателей красной крови при тепловом воздействии // Физиологический журнал СССР. – 1983. – Т.69. – №10. – С.1365-1368.
31. Варыпаева Л.П., Захаров Ю.М. О взаимосвязи морфофункциональных характеристик эритрона и активности гемсинтезирующих ферментов при тепловом воздействии // Физиологический журнал СССР. – 1985. – Т.71. – № 5. – С.625-630.
32. Рустамов Ф.А., Горанчук В.В. Влияние гипертермии на активность Na, K-АТФазы в эритроцитах человека // Тезисы докладов XVII съезда Всероссийского физиологического общества им. И.П. Павлова. – Ростов-на-Дону. 1998. – С.169-169.
33. Меерсон Ф.З. Физиология адаптационных процессов. – М.: Наука, – 1986. – С.10-76.



## **THE CHANGE OF LEUKOCYTES' ACTIVE PROPERTIES IN CONDITIONS OF ORGANISM ACUITY OVERHEATING**

**S.V.Nadezhdin, M.Z. Fyodorova, N.A. Pavlov, E.V. Zubareva**

Belgorod State University, 85 Pobeda Str., Belgorod, 308015  
nadezhdin@bsu.edu.ru

Exogenous hyperthermia is a stressor bringing on the changes typical of general adaptation on the side of epinephroses. Nevertheless, by transitory exogenous thermal action the specific changes of physiological leukocytes' activity predominate, i.e.: the increase of phagocytic and migration activity of neutrophils, osmoticresistance and effectiveness of osmoregulatory reactions of granulocytes and lymphocytes. The activation of white blood cells' functions takes place on the background of granulocytopenia and lymphocytosis at the expense of high "price" of adaptation to the active factor.

Key words: leukocytes, hyperthermia, stress-reaction, adaptation.