

# Влияние вдыхания табачного дыма на фенотип альвеолярных макрофагов мышей разных генетических линий\*

Круглов С.В.<sup>1,2</sup>, Бахтина Л.Ю.<sup>2</sup>, Лямина С.В.<sup>1</sup>, Буданова О.П.<sup>2</sup>,  
Пшенникова М.Г.<sup>2</sup>, Шиманский Ш.Л.<sup>1</sup>, Веденикин Т.Ю.<sup>1</sup>, Малышев И.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет»

Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

<sup>2</sup> ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

*Определяющая роль табакокурения как фактора риска в развитии хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) в настоящее время не вызывает сомнений. В исследованиях in vivo проводилось моделирование ХОБЛ у мышей разных генетических линий (C57 и BALB/c). Были изучены фенотипы главных клеток системы врожденного иммунитета легких — альвеолярных макрофагов; в итоге выявлены генетическая и возрастная предрасположенности к развитию ХОБЛ у данных мышей. Показано: 1) существует определенная генетическая предрасположенность к действию табачного дыма, возможно, связанная с провоспалительным M1 фенотипом макрофагов; 2) увеличение возраста способствует трансформации фенотипа макрофагов в сторону противовоспалительного M2, более выраженного в макрофагах мышей с исходно генетически детерминированным M1 фенотипом (линия C57); 3) длительное вдыхание табачного дыма усиливает возрастную трансформацию макрофагов в сторону M2 фенотипа, также более выраженную в макрофагах мышей с генетически детерминированным M1 фенотипом (линия C57).*

**Ключевые слова:** ХОБЛ, факторы риска, фенотипы макрофагов

## Введение

Последние десятилетия практически во всех странах мира отмечается рост заболеваемости хронической обструктивной болезнью легких ХОБЛ. В России уже сегодня, по официальным данным Министерства здравоохранения страны, ХОБЛ занимает 4–5-е место среди всех причин летальности. По данным Национального института здоровья США, показатель смертности от ХОБЛ в старших возрастных группах входит в число основных причин [1, 2]. Особенно значимую роль в развитии и распространенности ХОБЛ играет табакокурение [4]. По данным ВОЗ, 73% смертности от ХОБЛ обусловлены именно курением [4].

ХОБЛ относится к мультикомпонентной системной патологии [5], при которой нарушение иммунного ответа в легких играет наиболее важную роль [6]. Развитие иммунного ответа, прежде всего, связано с основными клетками иммунобиологического надзора — макрофагами. Показано, что в зависимости от природы действующего патологического фактора, медиаторов и специфического микроокружения, макрофаги могут приобретать либо провоспалительный M1 фенотип, либо альтернативно противовоспалительный M2 фенотип [6,7].

Макрофаги M1 фенотипа продуцируют много провоспалительных цитокинов, таких, как IL-12 и TNF- $\alpha$  [7] по сравнению с макрофагами M2 фенотипа. M1 макрофаги вырабатывают много NO и активных форм кислорода [7], которые обуславливают бактерицидную активность макрофагов. Основными маркерами M1 являются повышенная, по сравнению с M2, продукция NO, округлая форма макрофагов и поверхностно-клеточные рецепторы, такие, как рецептор IL-2 и МАРКО-рецептор [7].

M2 макрофаги продуцируют много противовоспалительных цитокинов, таких, как IL-10 [7]. Маркерами M2 являются меньшая продукция NO по сравнению с M1, фибробластоподобная форма и поверхностно-клеточные рецепторы, такие, как маннозный рецептор и фагоцитарные рецепторы SR-A и M60 [7].

M1 макрофаги прежде всего способствуют развитию Th1 ответа, вследствие развития которого происходит уничтожение бактерий, вирусов и опухолевых клеток, тогда как M2 макрофаги, напротив, — Th2 ответа, реализация которого приводит к уничтожению экстраклеточных паразитов, а также способствует пролиферации поврежденных тканей, ангиогенезу и опухолевому росту [7].

Показано, что в ходе развития легочных заболеваний, макрофаги могут менять свой фенотип в ту или иную сторону, в зависимости от стадии заболевания [8]. Поэтому логично предположить, что нарушение иммунного ответа при ХОБЛ может быть связано с неадекватно формирующимся фенотипом макрофагов.

Важным открытием было то, что M1 и M2 фенотипы макрофагов могут быть генетически детерминированы. Например, мыши линии C57/BL6 имеют преимущественно M1 фенотип макрофагов, тогда как мыши линии BALB/c — M2 [9]. Эти представления позволили нам впервые поставить три важных вопроса, имеющих отношение к патогенезу ХОБЛ. Первый вопрос: при действии факторов риска ХОБЛ, способствует ли генетическая предрасположенность фенотипа макрофагов развитию легочной патологии? Второй вопрос: при действии факторов риска ХОБЛ, таких, как табакокурение, меняется ли фенотип альвеолярных макрофагов, и если да, то в какую сторону? При изучении этих вопросов надо иметь в виду, что ХОБЛ развивается в тече-

\* Авторы признательны сотрудникам кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО МГМСУ Минздравсоцразвития РФ — к.м.н. Наталье Александровне Швецу и заведующему кафедрой проф. Олегу Вадимовичу Зайратьянцу за помощь в проведении гистологических исследований.

Работа поддержана грантом ГК №П811 в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг.

ние длительного времени: нескольких лет у человека и нескольких месяцев у мышей. Поэтому возникает третий важный вопрос: каковы возрастные изменения фенотипа макрофагов и могут ли они способствовать развитию патологии легких при действии факторов риска ХОБЛ?

*Цель нашей работы* состояла в инициации изучения этих открытых вопросов проблемы ХОБЛ.

## Материалы и методы

### *Экспериментальные животные*

Мышь является наиболее подходящим экспериментальным животным для моделирования и изучения ХОБЛ *in vivo* [10]. Мыши 2-месячного возраста линий C57/BL6 (n=40) весом  $22,0 \pm 1,5$  г и Balb/c (n=40) весом  $23,5 \pm 2,0$  г были получены из вивария ГБОУ ВПО МГМСУ Минздрава России. После завершения моделирования ХОБЛ возраст мышей составлял 8 мес., мыши линии C57/BL/6 в контрольной группе весили  $23,5 \pm 1,5$  г, в группе экспериментальной ХОБЛ —  $24,0 \pm 1,5$  г; у мышей линии Balb/c вес в группе контроля на момент окончания эксперимента составлял  $25,0 \pm 1,5$  г, а в группе экспериментальной ХОБЛ —  $23,0 \pm 1,5$  г. Животные находились в стандартных условиях вивария. Мыши каждой линии были рандомизированы на две группы: 25 особей — экспериментальная и 15 — контрольная.

### *Методика моделирования ХОБЛ*

Моделирование экспериментальной ХОБЛ *in vivo* воспроизводили по протоколу хронического длительного вдыхания табачного дыма [10]. В соответствии с этим протоколом, животные ежедневно подвергались действию табачного дыма от двух сигарет, 3 раза в день, с интервалом между сеансами в 4 ч на протяжении 6 мес. в специальной курительной камере. Дым продуцировался курительным устройством из сигарет «Прима», Россия (смола — 1,3 мг, никотин — 0,8 мг, содержание СО 10 мг на сигарету). Группу мышей, подвергшейся процедуре длительного хронического действия табачного дыма, обозначали как группа «курильщиков».

Развитие патологии легких верифицировали путем гистологической регистрации хронического воспаления и ремоделирования в дыхательных путях органа. Для выделения легких выполняли срединную торакалотомию. Выделение легких производили, перерезав трахею, связки и сосуды. После этого легкие погружались в формалин. Гистологические препараты готовили согласно стандартному методу приготовления и окрашивания. Для окраски препаратов применялись красители гематоксилин и эозин. Основным признаком, по которому оценивали различия в гистологической картине между группами мышей, было наличие и степень выраженности эмфиземы легких. Для визуализации изменений был использован метод световой микроскопии. Изучение гистологических срезов проводилось на различных увеличениях от  $\times 10$  до  $\times 40$  для более детального изучения изменений в легких.

### *Культивирование макрофагов и оценка их фенотипа*

Мышей наркотизировали хлоралгидратом ( $32,5$  мг на  $100$  г массы тела, в/б). Альвеолярные макрофаги выделяли из бронхо-альвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) мышей. БАЛЖ с макрофагами центрифугировали при

$1000$  об./мин, 4 мин., при комнатной температуре. Супернатант отделяли, а осадок ресуспендировали в среде RPMI-1640 без сыворотки, взвесь клеток размещали в плоскодонные лунки 48-луночных культуральных планшетов из расчета  $0,5$  млн клеток на лунку в  $0,5$  мл среды. Через час среду заменяли новой средой RPMI 1640 с 10% сывороткой с  $100$  У/мл пенициллина и  $100$  мкг/мл стрептомицина и еще через 12 ч начинали процедуры определения фенотипа макрофагов. С этой целью к макрофагам добавляли липополисахарид (ЛПС) в концентрации  $500$  нг/мл. Через 24 ч культивирования с ЛПС оценивали продукцию NO макрофагами, спектрофотометрически по содержанию нитритов в культуральной среде с помощью реакции Грисса.

О приобретении макрофагами M1 фенотипа свидетельствовала высокая продукция NO при стимуляции ЛПС, а о приобретении M2 фенотипа, напротив — низкая продукция NO при стимуляции ЛПС [7].

## Результаты

### *1. Оценка нарушения структуры легких мышей разных генетических линий после длительного действия табачного дыма*

В группе контроля у мышей линии C57 (возраст 8 мес.) легкие были размером  $1,7 \times 1,8 \times 0,5$  см и имели серовато-розоватый цвет. На рис. 1 А видно, что в этой группе, микроскопически: воздушность легких сохранена и отмечается слабовыраженное полнокровие капилляров альвеолярных перегородок. Стенки бронхиол имеют обычное гистологическое строение. Выявляется единственный мелкий перибронхиальный лимфатический узел обычного гистологического строения. В группе контроля у мышей линии BALB (возраст 8 мес.) легкие имели такой же размер и цвет, как и легкие мышей C57. Микроскопически (рис. 1 Б), легкие контрольных мышей BALB/c также не отличались от контрольных мышей C57. Таким образом, значимых различий в макроскопической и гистологической картине легких мышей контрольных групп C57 и Balb/c не выявлено.

Фотографии, представленные на рис. 1 В, Г, позволяют оценить нарушения структуры легких мышей после длительного действия табачного дыма. В группе «курильщиков» мышей линии C57, легкие были немного меньше контроля и имели размер  $1,5 \times 1,0,5$  см и были серовато-розоватого цвета с очажками бледно-серого цвета до  $0,3$  см. Микроскопически (рис. 1 В), в отличие от контрольной группы, в группе «курильщиков» C57, выявлялась гистологическая картина периацинарной слабовыраженной эмфиземы легких с более выраженным полнокровием межальвеолярных сосудов. Также наблюдалась, незначительная бронхиолоэктазия, атония сосудов с истончением стенок и плазморрагия базальных мембран стенок вен.

В группе «курильщиков» мышей линии BALB/c, легкие были также немного меньше контроля и имели размер  $1,5 \times 1,3 \times 0,5$  см и были серовато-розоватого цвета. Микроскопически (рис. 1 Г), выявлялись центрлобулярная эмфизема, умеренное полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок. Бронхиолы были обычного вида, не эктазированы. Наблюдались также фокусы диапедезных кровоизлияний и мелкоочаговое субплевральное кровоизлияние.

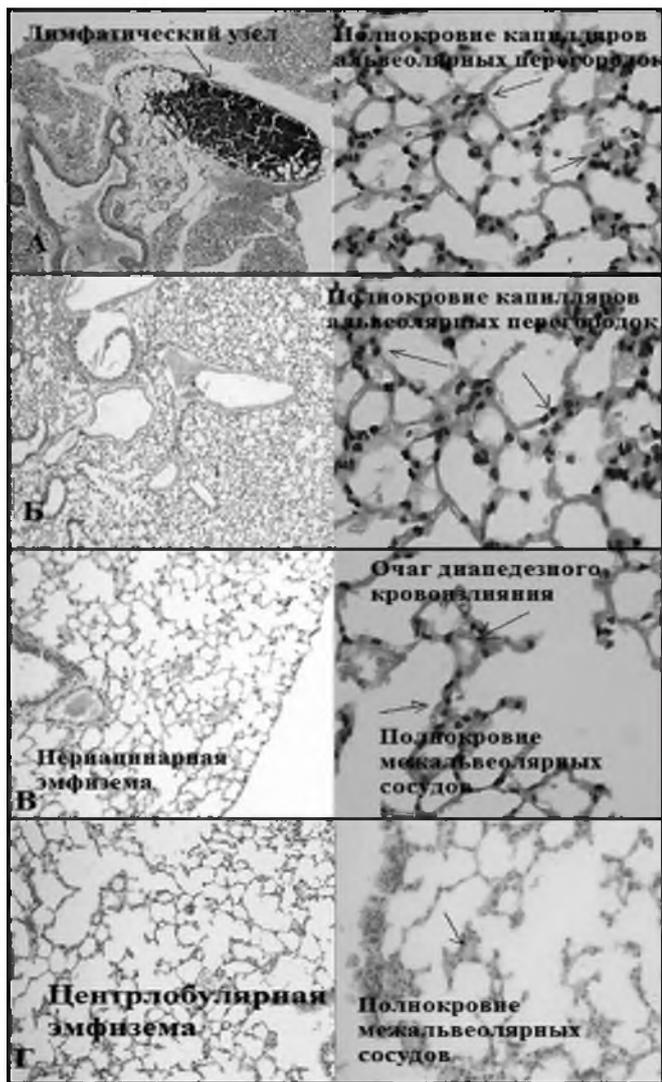


Рис. 1. Гистологические проявления нарушения структуры легких мышей разных генетических линий после длительного действия табачного дыма (описание в тексте).

А – группа контроля, мыши линии C57 (возраст 8 мес.);  
 Б – группа контроля, мыши линии BALB (возраст 8 мес.);  
 В – группа «курильщиков», мыши линии C57 (возраст 8 мес.);  
 Г – группа «курильщиков», мыши линии BALB/c (возраст 8 мес.);  
 А, Б – окраска гематоксилином и эозином; фрагмент слева – увеличение  $\times 10$ , фрагмент справа – увеличение  $\times 40$ ;  
 В, Г – окраска гематоксилином и эозином; фрагмент слева – увеличение  $\times 20$ , фрагмент справа – увеличение  $\times 40$

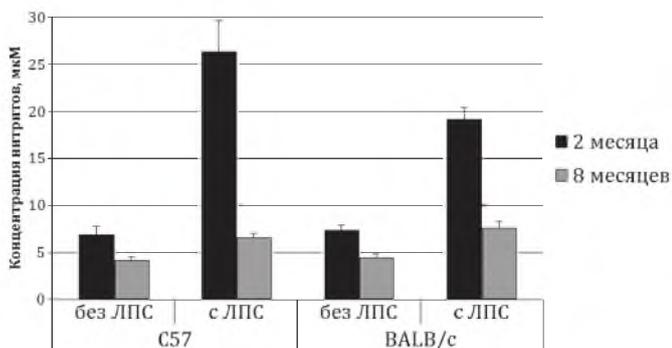


Рис. 2. Базальная и ЛПС-индуцированная продукция NO альвеолярными макрофагами мышей линии C57 и BALB/c в возрасте 2 и 8 мес. жизни

При сопоставлении гистологической картины легких мышей «курильщиков» C57 и BALB/c, видно, что в обеих группах отмечены признаки формирования эмфиземы, умеренного полнокровия сосудов межалвеолярных перегородок. Однако в группе линии C57 дополнительно присутствовали изменения в бронхиолах в форме бронхиолеоэктазии. Это указывает на более выраженные патологические изменения в легких у мышей линии C57 после длительного хронического действия табачного дыма, по сравнению с BALB/c.

## 2. Оценка возрастных изменений фенотипа альвеолярных макрофагов мышей разных генетических линий

Данные, представленные на рис. 2, позволяют оценить возрастные изменения фенотипа альвеолярных макрофагов у контрольных нормальных мышей за 6 мес. (время, в течение которого в экспериментальных группах мыши подвергались действию табачного дыма). Анализ этих данных позволяет выделить несколько интересных фактов в отношении продукции NO.

Во-первых, альвеолярные макрофаги молодых мышей (2 мес.) C57 и BALB/c не различались по базальной исходной продукции NO ( $6,91 \pm 0,92$  мкМ и  $7,37 \pm 0,51$  мкМ соответственно;  $p > 0,05$ ). В период со 2-го по 8-й месяц жизни мышей у макрофагов обеих линий произошло примерно одинаковое достоверное снижение базальной продукции NO: с  $6,91 \pm 0,92$  до  $4,13 \pm 0,39$  мкМ ( $p < 0,05$ ) у C57, и с  $7,37 \pm 0,51$  до  $4,51 \pm 0,35$  мкМ ( $p < 0,05$ ) у BALB/c.

Во-вторых, у альвеолярных макрофагов молодых мышей (2 мес.) линии C57 в ответ ЛПС продукция NO увеличилась значительно больше, чем у BALB/c. У макрофагов C57 она увеличилась почти в 4 раза, тогда как у BALB/c лишь в 2,6 раза. Эти данные соответствуют литературным данным о том, что макрофаги C57 продуцируют больше NO в ответ на ЛПС, и соответственно имеют более выраженный M1 фенотип, по сравнению с BALB/c [11]. Со 2-го по 8-й месяц жизни мышей у альвеолярных макрофагов обеих линий произошло достоверное снижение способности макрофагов индуцировать продукцию NO в ответ на ЛПС. При этом возрастное угнетение индуцированной продукции NO у макрофагов C57 было выражено сильнее, по сравнению с BALB/c. Так, у C57 она снизилась с  $26,40 \pm 3,2$  мкМ до  $6,60 \pm 0,45$  мкМ, т.е. в 4 раза, тогда как у BALB/c с  $19,21 \pm 1,20$  мкМ до  $7,57 \pm 0,72$  мкМ, т.е. лишь в 2,5 раза.

Таким образом, с возрастом в альвеолярных макрофагах происходит снижение как базальной, так и ЛПС-индуцированной продукции NO, однако в макрофагах C57 степень этого снижения выражена сильнее.

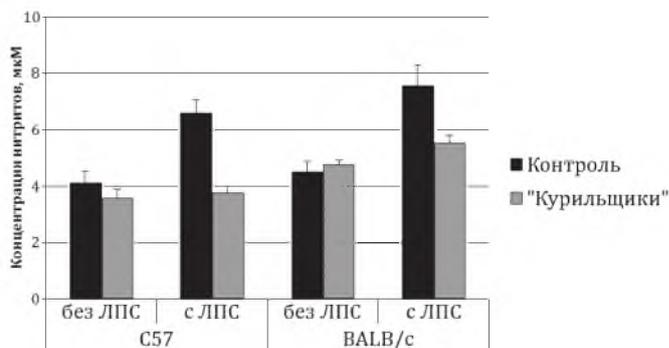


Рис. 3. Влияние хронического вдыхания табачного дыма на базальную и ЛПС-индуцированную продукцию NO альвеолярными макрофагами мышей линии C57 и BALB/c

### 3. Оценка влияния хронического длительного действия табачного дыма на фенотип альвеолярных макрофагов мышей разных генетических линий

На рис. 3 представлены данные о влиянии табачного дыма на NO-продуцирующую активность альвеолярных макрофагов мышей линий C57 и BALB/c. Анализ рис. 3 позволяет выделить несколько важных фактов.

1. Длительное вдыхание табачного дыма достоверно не повлияло на базальную продукцию NO альвеолярными макрофагами ни мышей линии C57, ни BALB/c;

2. Длительное вдыхание табачного дыма достоверно снизило ЛПС-индуцированную продукцию NO макрофагами обеих линий: у C57 с  $6,60 \pm 0,45$  мкМ до  $3,80 \pm 0,21$  мкМ ( $p < 0,05$ ), у BALB/c с  $7,57 \pm 0,72$  мкМ до  $5,53 \pm 0,29$  мкМ ( $p < 0,05$ ). Видно, однако, что в группе «курильщиков» степень снижения в макрофагах C57 была больше, по сравнению с BALB/c. В результате уровень индуцированной продукции NO макрофагами мышей «курильщиков» C57 оказался ниже, по сравнению с макрофагами мышей «курильщиков» BALB/c соответственно  $3,80 \pm 0,21$  против  $5,53 \pm 0,29$  мкМ ( $p < 0,05$ ).

#### Обсуждение

По результатам работы мы можем сделать ряд выводов.

1. При длительном хроническом вдыхании табачного дыма в легких животных с генетически детерминированным M1 фенотипом макрофагов, формируются более выраженные гистологические патологические изменения, по сравнению с животными с M2 фенотипом макрофагов. Они проявляются в дополнительном поражении бронхиол и развитием их эктазии в легких мышей C57 (исходный M1 фенотип), по сравнению с BALB/c (исходный M2 фенотип).

Таким образом, мы впервые показали, что существует определенная генетическая предрасположенность к действию факторов риска ХОБЛ (табакокурение), и то, что эта предрасположенность может быть связана с провоспалительным M1 фенотипом макрофагов.

2. Судя по существенному возрастному снижению продукции NO, маркера M2 фенотипа, в альвеолярных макрофагах мышей с возрастом происходит трансформация фенотипа в сторону противовоспалительного M2 фенотипа. При этом степень возрастного снижения продукции NO в макрофагах C57, по сравнению с BALB/c была выражена сильнее, т.е. была более сильной в генетически детерминированном фенотипе M1.

3. Длительное вдыхание табачного дыма снижает способность альвеолярных макрофагов к индуцированной продукции NO, и таким образом усиливает возрастную трансформацию макрофагов в сторону противовоспалительного M2 фенотипа. При этом, фенотип-трансформирующий эффект табачного дыма оказался более выражен в макрофагах мышей линии C57, которые исходно генетически имели фенотип M1, по сравнению с макрофагами линией BALB/c с фенотипом M2.

Таким образом, при длительном хроническом действии табачного дыма патология легких развивается на фоне существенного возрастного снижения индуцибельности систем генерации NO альвеолярных макрофагов, и вероятно трансформации их фенотипа в сторону M2. Эти эффекты табачного дыма более выражены у животных, которые имеют генетически детерминированный M1 фенотип макрофагов.

Интересно, что сама по себе возрастная трансформация фенотипа макрофагов и снижение продукции NO не приводили к какому-либо видимому гистологическому нарушению структуры легких, и только при дополнительном, хотя и небольшом, снижении продукции NO, и вероятно еще большей трансформации фенотипа в группах «курильщиков», в легких развивались патологические изменения. Можно предложить, три объяснения этого явления.

Во-первых, это может быть связано с тем, что при действии табачного дыма, дополнительное к возрастному, снижение NO-продуцирующей способности макрофагов переходит определенный порог, за которым NO перестает выполнять свои защитные функции. Действительно защитные функции NO в легких хорошо известны: Это способность NO ограничивать окислительный стресс, регулировать тонус сосудов легких и ингибировать адгезию лейкоцитов [12]. Также хорошо известно, что табачный дым может снижать продукцию NO в легких [13]. Наши данные подтвердили это, и впервые показали генетическую детерминированность этого эффекта.

Во-вторых, это может быть связано с тем, что основной вклад в развитие патологии легких вносит не столько индуцированная табачным дымом трансформация фенотипа макрофагов, сколько прямое токсическое действие компонентов дыма на легкие. К таким компонентам относятся никотин, смола, оксид углерода, полициклические ароматические углеводороды, нитрозамины, формальдегиды и ароматические амины [14]. Токсическое действие этих компонентов на ткани легкого доказаны в работах J.H. Owing et al. [14].

И, наконец, в-третьих, нельзя исключить, что оба фактора — и трансформация фенотипа макрофагов, и прямое токсическое влияние играют роль в развитии патологии легких при действии табачного дыма. Действительно, известно, что не у всех курильщиков людей даже при длительном курении развивается ХОБЛ. Не исключено, что эти люди имеют генетически более устойчивый к патологической трансформации фенотип макрофагов. Вероятно клинические исследования на курильщиках с большим стажем, имеющих и не имеющих ХОБЛ, могли бы ответить на этот вопрос.

Другой интересный момент состоит в том, как интерпретировать трансформацию фенотипа макрофагов в сторону M2 при длительном действии табачного дыма: как патогенетическую, или напротив, как защитную компенсаторную. Действительно, легко понять, почему животные с исходно генетически детерминированным на провоспалительный M1 фенотип макрофагами (линия C57) более уязвимы к действию факторов риска ХОБЛ. ХОБЛ является заболеванием с выраженным провоспалительным компонентом [6], поэтому понятно, что дополнительная генетическая предрасположенность иммунитета к провоспалительному ответу будет способствовать патологии легких при действии факторов риска ХОБЛ. Под этим углом зрения трансформацию фенотипа макрофагов в сторону противовоспалительного M2 фенотипа, очевидно, можно рассматривать как защитную реакцию иммунитета, направленную на ограничение воспаления при действии табачного дыма. Предположение о защитной роли трансформации макрофагов в M2 фенотип поддерживают данные настоящей работы, о том, у мышей BALB/c с M2 фенотипом макрофагов нарушение структуры легких было выражено меньше по сравнению с легкими мышей C57 с M1 фенотипом макрофагов.

Вместе с тем, во многих случаях развития самых разных заболеваний, чрезмерное развитие эндогенного защитного компонента трансформируется в звено патогенеза. Действительно, чрезмерная трансформация фенотипа макрофагов в M2 фенотип может привести к значительному снижению продукции NO в легких и угнетению NO-зависимых защитных механизмов [12]. Кроме того, хорошо известно, что M2 фенотип является проопухолевым фенотипом, который способствует ангиогенезу, инвазии и метастазированию опухолевых клеток и подавлению антиопухолевой иммунной защиты [7]. Не исключено, что этот механизм играет важную роль в развитии опухоли легких у больных ХОБЛ. Действительно показано, что среди осложнений ХОБЛ опухоли легких занимают не последнее место. В работе J.P. de Torres [15] показано, что у 10% больных с ХОБЛ в течение 5 лет развиваются опухоли легких.

Остается еще много нерешенных вопросов, например, для клиники важно знать, каковы возможности коррекции патологически измененного фенотипа, можно ли использовать фенотип макрофага в качестве диагностического и прогностического маркера при заболеваниях легких, и т.д. Вместе с тем, главное, что показала наша работа, то, что исследование роли фенотипической трансформации альвеолярных макрофагов может оказаться весьма перспективным направлением для решения теоретических и клинических проблем ХОБЛ и других заболеваний легких.

#### Список литературы

1. Global initiative for chronic obstructive lung disease. Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report: updated 2006.
2. Шмелев Е.И. Амбулаторное лечение больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких (результаты Всероссийской программы «Свобода») // Consilium medicum. — 2007. — Т. 10. — С. 30–35.

3. Синопальников А.И., Романовских А.Г. Инфекционное обострение хронической обструктивной болезни легких: современные подходы к диагностике и терапии // Справочник поликлинического врача. — 2007. — Т. 11. — С. 46–57.

4. Mannino D.M., Buist A.S. Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends // Lancet. — 2007. — Vol. 370(9589). — P. 765–773.

5. Авдеев С.Н. Хроническая обструктивная болезнь легких как системное заболевание // Пульмонология. — 2007. — Т. 3. — С. 7–12.

6. Малышев И.Ю., Лямина С.В., Шимшелашвили Ш.Л. Вассерман Е.Н. Функциональные ответы альвеолярных макрофагов, сурфактантный белок D и заболевания легких // Пульмонология. — 2011. — Т. 3. — С. 101–107.

7. Martinez F.O., Sica A., Mantovani A., Locati M. Macrophage activation and polarization // Front Biosci. — 2008. — Vol. 1(13). — P. 453–461.

8. Lofdahl J.M., Wahlstrom J., Skold C.M. Different inflammatory cell pattern and macrophage phenotype in chronic obstructive pulmonary disease patients, smokers and non-smokers // Clin. Exp. Immunol. — 2006. — Vol. 145(3). — P. 428–437.

9. Tumitan A.R., Monnazzi L.G., Ghiraldi F.R. et al. Pattern of macrophage activation in yersinia-resistant and yersinia-susceptible strains of mice // Microbiol. Immunol. — 2007. — Vol. 51(10). — P. 1021–1028.

10. Joos G.F. Cigarette smoke in mice, rats and guinea-pigs: value to the study of pathogenic factors involved in COPD // Experimental Models for COPD and Asthma. 15 ERC Copenhagen 2005. — P. 9–38.

11. Huang J., DeGraves F.J., Lenz S.D. et al. The quantity of nitric oxide released by macrophages regulates Chlamydia-induced disease // PNAS. — 2002. — Vol. 99(6). — P. 3914–3919.

12. Grisham M.B., Jourdain H., Wink D.A. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation // American Journal of Physiology. — 1999. — Vol. 276(2). — G315–G321.

13. Schilling J., Holzer P., Guggenbach M. et al. Reduced endogenous nitric oxide in the exhaled air of smokers and hypertensives // Eur. Respir. J. — 1994. — Vol. 7. — P. 467–471.

14. Zander D.S., Popper H.H., Jagirdar J. Molecular pathology of lung diseases // Springer Science + Business Media, LLC, 2008.

15. de Torres J.P., Marin J.M., Casanova C. et al. Lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease — incidence and predicting factors // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2011. — Vol. 184(8). — P. 913–919.

## Effect of inhalation of tobacco smoke on the phenotype alveolar macrophages mice of different genetic lines

Kruglov S.V.<sup>1,2</sup>, Bakhtin L.Y.<sup>2</sup>, Lyamina S.V.<sup>1</sup>, Budanov O.P.<sup>2</sup>, Pshennikova M.G.<sup>2</sup>, Szymanski Sh.L.<sup>1</sup>, Vedenikin T.Ju.<sup>1</sup>, Malyshev I.Yu.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> GBOU VPO «Moscow State Medical and Dental University», Department of Health and Social Development of the Russian Federation

<sup>2</sup> FGBU Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

*The defining role of tobacco smoking as a risk factor in the development of chronic obstructive pulmonary diseases (COPD) is of no doubt today. We performed in vivo experimental modeling of COPD in mice of different genetic strains (C57 and BALB/c). We studied phenotypes of the main cells of innate immunity system — alveolar macrophages, and revealed genetic and age predispositions in COPD development in experimental animals. It was shown: 1) there is a certain genetic predisposition to the influence of tobacco smoke, probably, associated with proinflammatory M1 phenotype of macrophages; 2) aging promotes macrophages phenotype transformation towards antiinflammatory M2 which is more expressed in macrophages of mice with initially genetically determined M1 phenotype (mice strain C57), and 3) long inhalation of tobacco smoke enhances age-dependent transformation of macrophages aside M2 phenotype, that is also more expressed in macrophages of mice with genetically determined M1 phenotype (C57).*

**Key words:** COPD, risk factors, macrophages phenotypes