

P.F. Zabrodskii, V.G. Lim. Reports of Military Sciences Academy. 2006. 3 (21). 154-156 (ISSN-1728-2454).

П.Ф. Забродский, В.Г. Лим. Доклады Академии Военных Наук. 2006. 3 (21). 154-156 (ISSN-1728-2454).

P.F. Zabrodskii, V.G. Lim

**THE EFFECTS OF ALCOHOLS AND CHLORINATED HYDROCARBONS ON THE
COLONY FORMING UNITS MIGRATION IN THE SPLEEN AND ON
LYMPHOCYTES COUNT IN BODIES OF IMMUNITY**

Abstract. Under the influence of alcohol and chlorinated hydrocarbons dose dependently reduced migration of colony forming units of bone marrow to the spleen . Acute poisoning with methanol and ethylene glycol lowers the content of T lymphocytes in the thymus and B cells in the spleen. Reduction of the number of B cells in the spleen maximally expressed under the influence of methanol. Chlorinated hydrocarbons reduce the content of T cells in the thymus, spleen, lymph nodes and B lymphocytes in the spleen, bone marrow and lymph nodes. Reducing the number of lymphocytes in the blood is only dichloroethane. In general, the degree of reduction indicators toxicants in order to increase the effect arranged in the sequence: ethanol, ethylene glycol, methanol , trichlorethylene, carbon tetrachloride , dichloroethane .

Keywords: *alcohols, chlorinated hydrocarbons, colony forming unit, T, B lymphocytes, bodies of immunity*

П. Ф. Забродский, В.Г. Лим

**ВЛИЯНИЕ СПИРТОВ И ХЛОРИРОВАННЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА
ИЗМЕНЕНИЕ МИГРАЦИИ КОЛОНИЕОБРАЗУЮЩИХ ЕДИНИЦ В СЕЛЕЗЕНКУ
И СОДЕРЖАНИЯ ЛИМФОЦИТОВ В ОРГАНАХ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА**

Резюме. Под влиянием спиртов и хлорированных углеводородов дозозависимо уменьшается миграция колониеобразующих единиц из костного мозга в селезенку. Острое отравление метанолом и этиленгликолем снижает содержание Т-лимфоцитов в тимусе и В-клеток в селезенке. Редукция числа В-клеток в селезенке максимально выражена под влиянием метанола. Хлорированные углеводороды уменьшают содержание Т-клеток в тимусе, селезенке, лимфатических узлах и В-лимфоцитов в селезенке, костном мозге и лимфатических узлах. Снижение количества лимфоцитов в крови вызывает только дихлорэтан. В целом по степени снижения показателей токсиканты в порядке увеличения эффекта располагаются в последовательности: этанол, этиленгликоль, метанол, трихлорэтилен, тетрахлорметан, дихлорэтан.

Ключевые слова: *спирты, хлорированные углеводороды, колониеобразующие единицы селезенки, Т, В-лимфоциты, органы иммунитета*

Одним из ведущих факторов демографического кризиса в России является рост потребления алкоголя. При этом смертность от случайных отравлений этанолом за последние годы неуклонно увеличивается [Кожемякин Л.А. и соавт., 1991; Нужный В.П. и соавт., 2004]. В последнее десятилетие частота смертельных исходов после острых интоксикаций хлорированными углеводородами (ХУ) дихлорэтаном и тетрахлорметаном составляет от 20 до 96% [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000]. Пациенты с отравлениями тетрахлорметаном составляют до 60% всех больных с токсическим поражением печени [Венгеровский А.И. и соавт., 1993]. Особую опасность дихлорэтан и тетрахлорметан могут представлять при аварийных ситуациях на химических объектах, когда в силу их высокой летучести, ингаляционным отравлениям может подвергаться большое количество людей.

Общим в токсикокинетике спиртов и хлорированных углеводородов является их способность метаболизироваться с образованием более токсичных соединений («летальный синтез») [Лужников Е.А., Костомарова Л.А., 2000; Маркизова Н.Ф. и соавт., 2004].

Не вызывает сомнения, что одной из причин танатогенеза при острых отравлениях спиртами и хлорированными углеводородами являются инфекционные заболевания и осложнения (постинтоксикационные пневмонии), обусловленные снижением иммунной защиты [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000; Забродский П.Ф. и соавт., 2004а, 2004б; Friedman H. et al., 2003]. При этом основные механизмы индуктивной фазы иммуногенеза - изменение миграции колониеобразующих единиц в селезенку, функциональное состояние тимуса и селезенки, содержание лимфоцитов в лимфоидных органах - в условиях острой интоксикации спиртами и хлорированными углеводородами в настоящее время изучен недостаточно [Забродский П. Ф., 2002; Descotes J., 1986; Friedman H. et al., 2003].

Целью исследования являлось изучение влияние острой интоксикации спиртами и хлорированными углеводородами на функциональное состояние тимуса и селезенки, функцию стволовых кроветворных клеток (СКК), содержание иммуноцитов в лимфоидных органах.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились на неинбредных крысах и беспородных белых мышах. Масса крыс и мышей составляла соответственно 180-240 и 18-25 г. Хлорированные

углеводороды и спирты вводили внутрь в растворе соответственно оливкового масла и воды (40% раствор) в дозах 0,25, 0,50 и 0,75 LD₅₀. Для оценки эффективности иммуностимуляторов токсиканты применяли в дозах 0,75 LD₅₀. Среднелетальные дозы М, ЭГ, Э, ДХЭ, ТХМ и ТХЭ для мышей составляли соответственно 7,2±1,1; 8,2±1,3; 10,3±1,4; 0,58±0,06; 8,3±0,7 и 2,6±0,3 г/кг, для крыс – соответственно 8,5±1,5; 9,8±1,6; 12,3±1,3; 0,97±0,08; 6,5±0,6 и 4,7±0,4 г/кг.

Функцию стволовых кроветворных клеток оценивали по миграции колониеобразующих единиц в селезенку (КОЕс) из костного мозга (КМ) методом эндогенного колониеобразования после летального облучения мышей в дозе 8 Гр при экранировании костного мозга задней конечности до уровня 1/2 голени. Через 30 мин после облучения животных им вводили токсикант. Через 8 сут извлекали селезенку, фиксировали ее в растворе Боуэна и подсчитывали число колониеобразующих единиц [Till J. E., Mc Culloch E. A., 1961; Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1972]. Массу тимуса и селезенки определяли гравиметрическим методом. Лимфоидный индекс (ЛИ) вычислялся общепринятым способом [Гольдберг Е. Д. и соавт., 1972; Тихонов В. Н., 1981; Германчук В.Г., 2000; Сидельникова Н. М., 2004; Василенко О.А., 2004] путем деления массы органа в мг на массу тела в г через 1-6 сут после отравления.

Содержание Т-клеток в тимусе крыс определяли общепринятым методом подсчета ядродержащих клеток в органе, учитывая то обстоятельство, что лимфоциты в вилочковой железе представлены практически только Т- популяцией [Петров Р. В., 1987; Ройт А., 1991; Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Лимфоциты в селезенке, лимфатических узлах (для изучения брали паховые лимфоузлы) и костном мозге (исследовали клетки костного мозга бедренной кости) подсчитывали, исходя из их относительного содержания в мазках данного органа, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Для определения содержания в лимфоидных органах лимфоцитов клеточные суспензии из тимуса, селезенки, костного мозга и паховых лимфоузлов мышей и крыс готовили после интоксикации ТХВ в дозе 0,75 ЛД₅₀ через 2 и 6 сут после отравления. Содержание лимфоцитов в крови животных после интоксикации ТХВ определяли общепринятым методом [Гембицкий Е.В. и соавт., 1987].

Полученные данные обрабатывались с использованием общепринятых статистических методов. При этом различия между средними значениями в опытной и контрольной группах считались значимыми при $p < 0,05$. В исследованиях использовались параметрические методы исследования с оценкой достоверности различий по t-критерию Стьюдента. Статистический анализ экспериментальных данных с небольшим числом

животных в сериях и при отсутствии нормального распределения показателей осуществлялся с помощью непараметрических методов (Вилкоксона-Манна-Уитни, χ^2). Расчеты проводились на персональном компьютере с использованием пакета программ Statgraphics.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Острое отравление спиртами и хлорированными углеводородами существенно уменьшают миграцию КОЕс из КМ в селезенку ($p < 0,05$), за исключением эффекта этанола, редуцирующее действие которого незначительное и статистически незначимое - $p > 0,05$ (рис.1). Снижение КОЕс под влиянием острой интоксикации этиленгликолем, метанолом, трихлорэтиленом, тетрахлорметаном и дихлорэтаном составляло соответственно 31,2; 41,3; 44,2; 50,7 и 52,9%. При этом в среднем спирты снижали показатель в 1,46 раза, а хлорированные углеводороды – в 1,96 раза ($p > 0,05$).

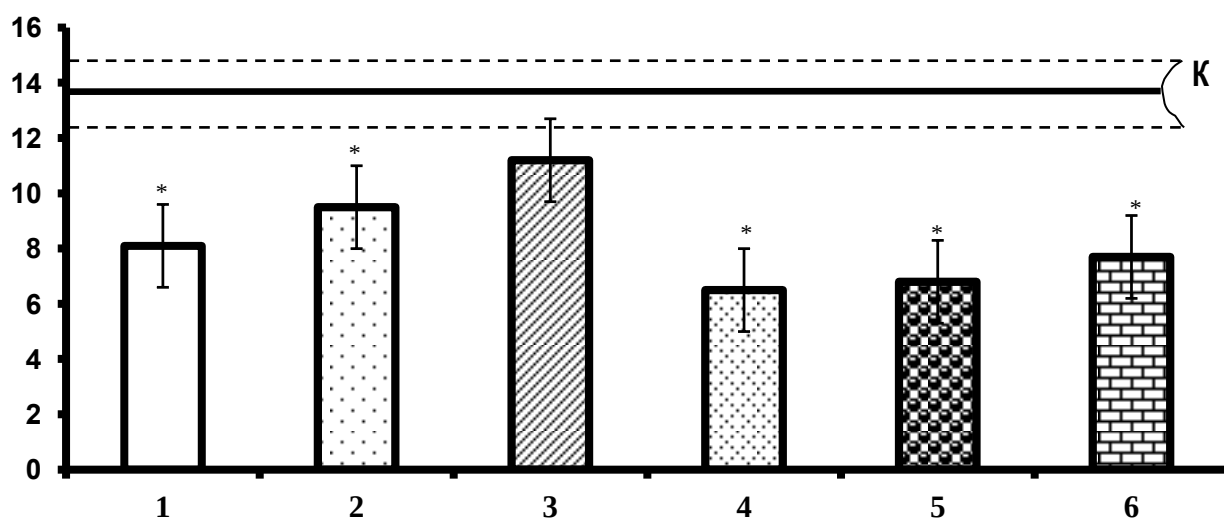


Рис. 1. Влияние острого отравления спиртами и хлорированными углеводородами ($0,75 \text{ ЛД}_{50}$) на число колониеобразующих единиц в селезенке мышей через 8 сут ($M \pm m$). По оси абсцисс: 1, 2, 3, 4, 5, 6 – М, ЭГ, Э, ДХЭ, ТХМ, ТХЭ соответственно; по оси ординат: число КОЕс; К – контроль ($n=40$); в каждой серии использовалось 9-10 животных; * - различие с контролем достоверно $p < 0,05$.

Исследование КОЕс после острого отравления метанолом и дихлорэтаном показало прямо связанное с дозой снижение данного параметра (рис. 2). Можно вполне

обоснованно полагать, что аналогичный характер дозозависимого эффекта присущ и другим спиртам и хлорированным углеводородам.

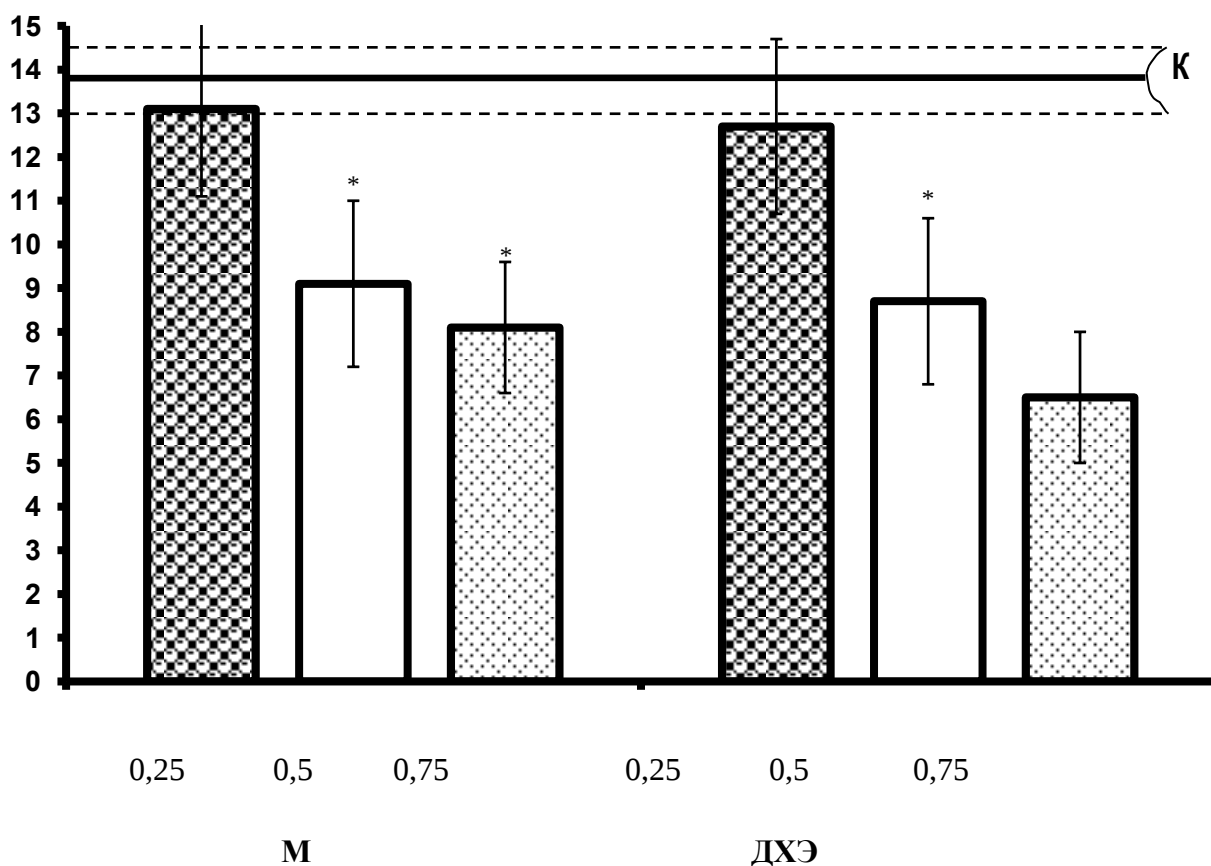


Рис. 2. Изменение число колониеобразующих единиц в селезенке мышей через 8 сут после острого отравления метанолом и дихлорэтаном в зависимости от дозы ($M \pm m$). По оси абсцисс: ЛД₅₀; по оси ординат: число КОЕ; К – контроль ($n=40$); в каждой серии использовалось 9-10 животных; * - различие с контролем достоверно $p < 0,05$.

Острое отравление спиртами и хлорированными углеводородами существенно уменьшало миграцию КОЕс из костного мозга в селезенку мышей ($p < 0,05$), за исключением эффекта этанола редуцирующее действие которого незначительное и статистически незначимое – $p > 0,05$. Снижение КОЕс под влиянием острой интоксикации этиленгликолем, метанолом, трихлорэтиленом, тетрахлорметаном и дихлорэтаном составляло соответственно 31,2; 41,3; 44,2; 50,7 и 52,9%. При этом в среднем спирты снижали показатель в 1,46 раза, а хлорированные углеводороды – в 1,96 раза ($p > 0,05$).

Исследование КОЕс после острого отравления метанолом и дихлорэтаном показало прямо связанное с дозой снижение данного параметра. Можно полагать, что аналогичный характер дозозависимого эффекта присущ другим спиртам и хлорированным углеводородам.

Таким образом, под влиянием острого отравления спиртами и хлорированными углеводородами снижается миграция КОЕс из костного мозга.

После острого отравления токсикантами через 1-3 сут ЛИ тимуса крыс существенно снижался ($p < 0,05$). Острая интоксикация спиртами и хлорированными углеводородами приводила через 1 сут к уменьшению ЛИ тимуса в 1,30 раза (этанол) и в 1,69 раза (дихлорэтан).

При действии спиртов и хлорированных углеводородов через 1 сут ЛИ селезенки крыс уменьшался в 1,16 раза (этанол) и в 1,42 раза (дихлорэтан). Аналогичное снижение параметра отмечалось и через 3 сут. Через 6 сут масса тимуса и селезенки после отравления токсикантами практически полностью восстанавливалась.

При исследовании влияния спиртов и хлорированных углеводородов в дозе 0,75 ЛД₅₀ на число лимфоцитов в костном мозге и лимфоузлах, редукцию показателя вызывают через 1-3 сут только хлорированные углеводороды (табл.).

Таблица

Изменение содержания лимфоцитов в костном мозге крыс под влиянием острого отравления спиртами и хлорированными углеводородами (0,75 ЛД₅₀) через 1-6 сут, 10⁶ (M $\pm$ m)

Токсиканты	Срок наблюдения, сут		
	1	3	6
Контроль	39,1 $\pm$ 1,9 (32)		
Метанол	35,3 $\pm$ 3,5	34,8 $\pm$ 3,2	39,1 $\pm$ 3,8
Этиленгликоль	34,0 $\pm$ 3,4	33,7 $\pm$ 3,5	40,2 $\pm$ 3,9
Этанол	36,5 $\pm$ 3,7	38,0 $\pm$ 3,1	38,5 $\pm$ 3,7
Дихлорэтан	30,6 $\pm$ 3,3*	21,0 $\pm$ 3,2*	37,5 $\pm$ 3,0
Тетрахлорметан	31,1 $\pm$ 3,0*	30,2 $\pm$ 3,3*	35,0 $\pm$ 3,5
Трихлорэтилен	33,2 $\pm$ 3,1**	34,1 $\pm$ 3,4	41,3 $\pm$ 4,0

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 7 до 10 крыс; *, ** - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$ (*; ** - для расчета достоверности различий использовали соответственно t –критерий Стьюдента и непараметрический критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни).

Снижение количества лимфоцитов в крови обуславливает только дихлорэтан. Для дихлорэтана характер снижения лимфоцитов в органах носит дозозависимый характер.

Установлено, что через 2 сут после острого действия спирты – метанол и этиленгликоль – снижают содержание Т-лимфоцитов в тимусе и В-клеток в селезенке мышей. Редукция числа В-клеток в селезенке максимально выражена под влиянием метанола. Этанол практически не влияет на содержание Т- и В-клеток в лимфоидных органах.

Хлорированные углеводороды уменьшают содержание Т-клеток в тимусе, селезенке и лимфатических узлах, и В-лимфоцитов в селезенке, костном мозге и лимфатических узлах через 2 сут. Через 6 сут содержание лимфоцитов в лимфоидных органах восстанавливается до контрольного уровня. Выраженное действие метанола на В-лимфоциты в отличие от эффектов других токсикантов обусловлено основным фолатзависимым метаболизмом формиата [Румянцев А.П. и соавт., 1981; Ройт А. и соавт., 2000].

Спирты и хлорированные углеводороды способны снижать массу тимуса и селезенки, а также содержание в них лимфоцитов в результате реализации стресс-реакции (действие гормонов коры надпочечников, в частности кортикостерона), уменьшая миграцию в эти органы лимфоцитов из костного мозга [Петров Р. В. и соавт., 1981; Забродский П.Ф., 1998], подавляя пролиферацию лимфоцитов в тимусе и селезенке [Петров Р. В., 1987], усиливая миграцию из тимуса и селезенки лимфоцитов в циркулирующую кровь (реализация перераспределения, вследствие действия кортикостероидов и катехоламинов) [Горизонтов П.Д., 1981; Dhabhar F. S. et al., 1996] и изменения характера холинергической иннервации лимфоидных органов при остром отравлении дихлорэтаном и тетрахлорметаном [Maslinski W. et al., 1992].

Таким образом, под влиянием спиртов и хлорированных углеводородов дозозависимо уменьшается миграция колониеобразующих единиц из костного мозга в селезенку. Острое отравление метанолом и этиленгликолем снижает содержание Т-лимфоцитов в тимусе и В-клеток в селезенке. Редукция числа В-клеток в селезенке максимально выражена под влиянием метанола. Хлорированные углеводороды уменьшают содержание Т-клеток в тимусе, селезенке, лимфатических узлах и В-лимфоцитов в селезенке, костном мозге и лимфатических узлах. Снижение количества лимфоцитов в крови вызывает только дихлорэтан. В целом по степени снижения показателей токсиканты в порядке увеличения эффекта располагаются в последовательности: этанол, этиленгликоль, метанол, трихлорэтилен, тетрахлорметан, дихлорэтан.

ЛИТЕРАТУРА

1. Василенко О.А. // Дисс. ... канд. мед. наук. – Саратов, СГМУ. - 2004. - 165 с.
2. Венгеровский А.И., Седых И.М., Саратиков А.С. // Эксперим. и клин. фармакол. - 1993. - Т.56, № 5. - С. 47-49.

3. Гембицкий Е.В., Кожемякин Л.А., Королюк А.М., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Оценка иммунного статуса организма в лечебных учреждениях СА и ВМФ. - М.: Изд. ЦВМУ МО СССР, 1987. – С.24-25.
4. Германчук В.Г. // Дисс. ... канд. мед. наук. – Саратов, СВРХБЗ. - 2000. - 121 с.
5. Гольдберг Е.Д., Штернберг И.Б., Михайлова Т.Н. // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1972. - №2. - С.67-686.
6. Горизонтов П. Д. // Физиол. журн. – Киев. - 1981а. - Т 27. - №3. - С.317-321.
7. Горизонтов П. Д. Гомеостаз. – М.: Медицина, 1981б. - С.538-573.
8. Забродский П.Ф. Иммунотропные свойства ядов и лекарственных средств. - Саратов: Изд. СГМУ, 1998. - 213 с.
9. Забродский П. Ф. // Общая токсикология под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. - М.: Медицина, 2002. – С. 352-384.
10. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Нодель М.Л., Василенко О.А., Ардаков А.Н. // Эксперим. и клин. фармакол. - 2004а. – Т. 67, №5. - С.28-30.
11. Забродский П. Ф., Киричук В.Ф., Германчук В.Г., Карпенко Н.И. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2004б. – Т.137, №1. - С.56-58.
12. Кожемякин Л.А., Бонитенко Ю.Ю., Иванова Л.И. // Воен.-мед. журн. - 1991. - №9. - С.36-39.
13. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления. - М.: Медицина, 2000. – 434 с.
14. Маркизова Н.Ф., Гребенюк А.Н., Башарин В.А., Бонитенко Е.Ю. Спирты. - СПб.: Изд. «Фолиант», 2004. - 112 с.
15. Нужный В.П., Савчук С.А., Тюрин И.А., Белов С.К. // Токсикол. вестн. - 2004. - №3. – С.7-13.
16. Петров Р.В., Хаитов Р.М. // Радиология. - 1972. - № 1. - С.69-76.
17. Петров Р. В. Иммунология. – М.; Медицина, 1987. - 416 с.
18. Ройт А. Основы иммунологии / Пер. с англ. - М.: Мир, 1991. - 327 с.
19. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология / Пер. с англ. - М.: Мир, 2000. – 582 с.
20. Румянцев А.П., Тиунова Л.В., Остроумова И.А. // Итоги науки и техники: Серия токсикология. - М.: ВИНТИ, 1981. – Т.12. – С.65-116.
21. Сидельникова Н. М. // Дисс. ... канд. мед. наук. – Саратов, СГМУ. - 2004. - 168 с.
22. Тихонов В. Н. // Гиг. и сан. – 1981. - №7. - С.58-59.
23. Хаитов Р. М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. – М.: Медицина, 2000. - 430 с.
24. Descotes J. Immunotoxicology of drugs and chemicals. – Amsterdam-N. Y-. Oxford: Elsvier, 1986. - 400 p.

25. Dhabhar F. S., Miller A. H., Mc Even B. S., Spenser R. L. // J. Immunol. - 1996. – Vol.157. - №4. - P.1638-1644.
26. Maslinski W., Laskowska –Bozek H., Ruzewski H. // J. Neurosci. Res. - 1992. - Vol.31, №2. - P.336-340.
27. Till J.E., McCulloch E.A. // Rad. Research. - 1961. -Vol.14, №2. -P. 213-222.