

мирования моторных эффекторов тонкой кишки // Рос. физиолог. ж. — 1999. — Т. 85, №9. — С. 1278–1289.

7. Фридман Л.С. Наркология. Пер. с англ. 2-е изд. — М.: СПб.: Бином-Невский Диалект, 2000. — 320 с.

8. Яковлева Л.М., Любовева Л.А., Тимофеева М.Д., Кроткова О.С. Изменение структур толстой кишки, содержащих биогенные амины, под влиянием алкоголя // Морфология. — 2011. — Т. 139, №2. — С. 59–61.

9. Bayguinov P.O., Henning G.W., Smith T.K. Calcium activity in different classes of myenteric neurons underlying the migrating motor complex in the murine colon // J. Physiol. — 2010. — Vol. 588, N 3. — P. 399–421.

10. Falk B., Hillarp N.A., Thieme G., Torp A. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde // J. Histochem. Cytochem. — 1962. — N 10. — P. 348–354.

УДК 612.085.1: 612.112.91: 613.632.4: 615.9

E02

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ У КРЫС

Евгений Константинович Алёхин, Ляйсан Фагимовна Муфазалова*,
Наталья Альбертовна Муфазалова

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

Реферат

Цель. Изучить повреждающее воздействие острой интоксикации тетрахлорметаном в эксперименте на функциональное состояние нейтрофилов.

Методы. Эксперименты выполнены на 90 белых неинбредных крысах с массой тела 200–220 г, выделены две группы — опытная и контрольная (по 45 животных). Тетрахлорметан вводили опытной группе внутривентрикулярно (1,25 мл/кг 50% раствора в оливковом масле) на протяжении 4 сут. Определяли количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови, интенсивность кислородзависимого метаболизма (с помощью спонтанного и индуцированного теста с нитросиним тетразолием), поглотительную и антимикробную активность, содержание миелопероксидазы и катионных белков в нейтрофилах. Результаты регистрировали на 7-е, 14-е и 28-е сутки от окончания введения токсиканта.

Результаты. На 7-е сутки у крыс опытной группы зарегистрирована лейкопения за счёт снижения количества лимфоцитов, снизился индекс инактивации, что подтверждалось снижением количества миелопероксидаза-позитивных клеток и среднего цитохимического коэффициента; отмечено снижение поглотительной способности нейтрофилов. На 14-е сутки сохранялась лейкопения, обусловленная уже равномерным снижением количества нейтрофилов и лимфоцитов; при сохраняющемся снижении фагоцитарного индекса зарегистрировано увеличение числа клеток, участвующих в фагоцитозе. К 28-м суткам увеличивалось количество лимфоцитов на фоне нейтропении, сохранялось снижение доли миелопероксидаза-позитивных клеток и среднего цитохимического коэффициента в миелопероксидазной системе, снижение показателей индуцированного теста с нитросиним тетразолием и доли клеток, позитивных в отношении катионных белков.

Вывод. Острая интоксикация тетрахлорметаном приводит к глубоким нарушениям функционирования нейтрофилов (лейкопении, снижению поглотительной и микробицидной способности нейтрофилов, уменьшению активности миелопероксидазы и содержания катионных белков), которые не устраняются к 28-м суткам наблюдения.

Ключевые слова: тетрахлорметан, нейтрофилы, микробицидность.

FUNCTIONAL STATUS OF NEUTROPHILS DURING CARBON TETRACHLORIDE INTOXICATION IN RATS E.K. Alekhin, L.F. Mufazalova, N.A. Mufazalova. Bashkir State Medical University, Ufa, Russia. **Aim.** To study the damaging effect of acute carbon tetrachloride intoxication on the functional status of neutrophils in an experiment. **Methods.** The experiments were performed on 90 non-inbred white rats weighing 200–220 g; two groups were identified — experimental group and control group (45 animals in each). Carbon tetrachloride was administered intragastrically to the experimental group (1.25 ml/kg 50% solution in olive oil) for the duration of four days. Determined were the number of leukocytes, neutrophils and lymphocytes in the peripheral blood, the intensity of the oxygen-dependent metabolism (through spontaneous and induced nitro blue tetrazolium test), the absorption and antimicrobial activity, the content of myeloperoxidase and cationic proteins in neutrophils. The results were recorded on the 7th, 14th and 28th day from the end of the toxicant administration. **Results.** On the 7th day in rats of the experimental group leukopenia was registered in the form of reduction in the number of lymphocytes, the inactivation index decreased, which was confirmed by reduction of the number of myeloperoxidase-positive cells and of the mean cytochemical coefficient; noted was a decrease in the absorptive capacity of neutrophils. On the 14th day leukopenia persisted, which was now in the form of an even decrease in the number of neutrophils and lymphocytes; with the continued decrease in the phagocytic index an increase in the number of cells involved in phagocytosis was registered. By the 28th day the number of lymphocytes increased in the presence of neutropenia; the decrease in the number of myeloperoxidase-positive cells and of the mean cytochemical coefficient in the myeloperoxidase system, reduction of the indices of the induced test with nitro blue tetrazolium and of the proportion of cells positive for cationic proteins persisted. **Conclusion.** Acute intoxication with carbon tetrachloride leads to profound dysfunction of neutrophils (leukopenia, decreased absorption and microbicidal activity of neutrophils, reduced myeloperoxidase activity and the content of cationic proteins), which is not eliminated by the 28th day of observation. **Keywords:** carbon tetrachloride, neutrophils, microbicide activity.

Тетрахлорметан (ТХМ) широко используют в промышленности как растворитель масел, смол, битумов, полимеров, каучука, для экстрагирования жиров и алкалоидов, как обезжиривающее средство при обработке кож, чистке и обезжиривании одежды в быту и на производстве. ТХМ может поступать в организм через кожу, дыхательные пути, пищеварительный тракт. Отравления ТХМ относятся к наиболее частым видам интоксикаций различными ядовитыми жидкостями [6, 7]. Достаточно хорошо изучено гепатотоксическое действие ТХМ, однако высокая смертность при острых интоксикациях может быть также обусловлена формированием глубокого иммунодефицита [3-5, 9, 11].

В связи с этим целью исследования стало изучение влияния острой интоксикации ТХМ на функциональное состояние нейтрофилов.

Протоколы экспериментов и содержание животных были составлены в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медикобиологических исследований с использованием животных» (1985) и приказом Министерства Здравоохранения РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Эксперименты были выполнены на 90 белых неинбредных крысах с массой тела 200-220 г. Животные были разделены на две группы (по 45 животных в группе): контроль и опыт с внутрижелудочным введением ТХМ в дозе 1,25 мл/кг 50% раствора в оливковом масле на протяжении 4 сут [8].

Определяли количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови, интенсивность кислородзависимого метаболизма [спонтанный и индуцированный тест с нитросиним тетразолием (НСТ-тест)], поглотительную способность полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ), антимикробную активность ПМЯЛ в условиях функционирования и блокады (азидом натрия) кислородзависимых факторов микробицидности в отношении грибов *Candida albicans*, активность миелопероксидазы (МПО) и содержание катионных белков (КБ) в нейтрофилах [2, 10]. Активность МПО и КБ оценивали по интенсивности окраски, пользуясь 5-балльной шкалой по методу L.S. Karlow, вычисляли процент активных клеток в мазке и средний цитохимический коэффициент (СЦК):

$$\text{СЦК} = (1a + 2b + 3c + 4d) / 100,$$

где 1-4 – интенсивность окраски; а, в, с, d –

количество ПМЯЛ с соответствующей интенсивностью окраски [10].

Результаты регистрировали на 7-е, 14-е и 28-е сутки от окончания введения токсиканта. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием методов вариационной статистики [1], пакета программ «Statistica 6.0». Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Вилка. При нормальности распределения признака оценку значимости различий проводили с использованием t-критерия Стьюдента, достоверными считали различия при уровне статистической достоверности $p < 0,05$.

Установлено, что на 7-е сутки после окончания введения токсиканта развилась лейкопения: количество лейкоцитов составило 66,1% ($p < 0,01$) аналогичного показателя в контрольной группе за счёт снижения числа лимфоцитов до 62,1% ($p < 0,001$). Это сопровождалось глубоким угнетением как оксидантных, так и неоксидантных факторов микробицидности ПМЯЛ. Так, интенсивность кислородзависимого киллинга снизилась почти в 2 раза, индекс инактивации (ИИ) составил 59,1% ($p < 0,001$), что цитохимически подтверждалось снижением количества МПО-позитивных клеток до 67,9% ($p < 0,001$) и СЦК до 67,8% ($p < 0,001$) значения в контроле. Зарегистрировано повышение активности кислородзависимого метаболизма ПМЯЛ в спонтанном НСТ-тесте. В то же время в условиях индукции отмечено снижение интенсивности оксидантного метаболизма ПМЯЛ (индуцированный НСТ-тест).

В условиях блокады оксидантных механизмов микробицидности азидом натрия ИИ снизился более чем в 4 раза (24,8%, $p < 0,001$), а цитохимически было выявлено снижение доли КБ-позитивных клеток до 36,3% ($p < 0,001$), а СЦК – до 38,8% ($p < 0,001$) контрольного показателя. Отмечено снижение поглотительной способности нейтрофилов: фагоцитарный индекс (ФИ) составил 76,4% ($p < 0,001$).

На 14-е сутки сохранялась индуцированная ТХМ лейкопения, обусловленная уже равномерным снижением количества как нейтрофилов, так и лимфоцитов до 59,1% ($p < 0,02$) и 65,9% ($p < 0,001$) соответственно. Активность кислородзависимых механизмов киллинга ПМЯЛ оставалась сниженной (ИИ 61,3%, $p < 0,001$), как и активность МПО: процент МПО-позитивных клеток

составил 72,2% ($p < 0,001$), а СЦК – 72,8% ($p < 0,001$). Также сохранялось снижение оксидантного метаболизма ПМЯЛ (индуцированный НСТ-тест).

На фоне блокады оксидантных механизмов фунгицидность ПМЯЛ несколько повышалась (по сравнению с 7-ми сутками), хотя и не достигала уровня интактных животных (ИИ 60,5%, $p < 0,01$). Это сочеталось с 2-кратным (по сравнению с 7-ми сутками) повышением содержания КБ в нейтрофильных гранулоцитах: процент КБ-положительных клеток составил 66,3% ($p < 0,001$), а СЦК – 67,1% ($p < 0,001$). При сохраняющемся снижении поглотительной активности ПМЯЛ (ФИ 78,5%, $p < 0,05$) происходило увеличение количества клеток, участвующих в фагоцитозе (до 131,0%, $p < 0,01$).

К 28-м суткам выраженность лейкопении несколько уменьшалась за счёт увеличения числа лимфоцитов (80,5%, $p < 0,05$) при сохранявшейся нейтропении (60,9%, $p < 0,001$). Микробицидность ПМЯЛ повышалась, но не восстанавливалась: в условиях функционирования и блокады кислородзависимых механизмов ИИ составил 76,0% ($p < 0,02$) и 78,1% ($p < 0,01$) соответственно. Это согласовалось с сохраняющимся снижением доли МПО-позитивных клеток до 74,1% ($p < 0,001$) и СЦК до 74,3% ($p < 0,01$) в МПО-системе ПМЯЛ, интенсивности кислородзависимого метаболизма ПМЯЛ (индуцированный НСТ-тест) и доли КБ-позитивных клеток до 71,6% ($p < 0,001$), СЦК до 72,6% ($p < 0,001$) в КБ-системе ПМЯЛ. Число нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, уменьшалось (по сравнению с 14-ми сутками) до уровня интактных животных при сохраняющемся снижении их поглотительной активности (ФИ 86,6%, $p < 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. Полученные данные свидетельствуют о том, что острая интоксикация ТХМ приводит к глубоким нарушениям функционирования нейтрофилов: снижается активность пероксидазозависимых и перок-

сидазозависимых оксидантных факторов микробицидности, кислороднезависимых механизмов киллинга, поглотительная способность клеток.

2. Указанные нарушения не устраняются к 28-м суткам наблюдения, что, безусловно, требует изыскания возможных путей их фармакологической коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гареев Е.М. Основы математико-статистической обработки медико-биологической информации. – Уфа: Башгосмедуниверситет Розддрава, 2009. – 346 с.
2. Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Савочкина А.Ю. Нейтрофильные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. – М.: Издательство РАМН, 2009. – 208 с.
3. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Киричук В.Ф., Карпенко Н.И. Влияние тетрахлорметана на показатели иммунной системы // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – Т. 137, №1. – С. 56–58.
4. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Лим В.Г. Изменение цитокинового профиля и редукция функции субпопуляций лимфоцитов при подостром отравлении тетрахлорметаном // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2009. – Т. 147, №1. – С. 55–57.
5. Лемза С.В., Ажунова Т.А., Монадодов А.Г. Фармакотерапевтическая эффективность комплексного растительного средства «гепатон» при экспериментальном повреждении печени // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – №2. – С. 181–184.
6. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления. Руководство для врачей. – М.: Медицина, 2000. – 434 с.
7. Мышкин В.А., Ибатуллина Р.Б., Бакиров А.Б. Поражения печени химическими веществами. (Функционально-метаболические нарушения, фармакологическая коррекция.) – Уфа: Гилем, 2007. – 177 с.
8. Саратиков А.С., Венгеровский А.И. Влияние гепатопротекторов, содержащих фосфолипиды, на зависимость от цитохрома Р450 антиоксидантную функцию печени при экспериментальном токсическом гепатите // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1999. – Т. 127, №4. – С. 392–394.
9. Степовая Е.А., Петина Г.В., Жаворонок Т.В. Роль тиолдисульфидной системы в механизмах изменений функциональных свойств нейтрофилов при окислительном стрессе // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2010. – Т. 150, №8. – С. 161–165.
10. Ягода А.В., Локтева Н.А. Клиническая цитохимия. – Ставрополь: СтГМА, 2005. – 485 с.
11. Янгиров И.В., Нартайлаков М.А., Мингазов Р.С. Стимуляция регенеративных процессов в цирротически изменённой печени введением аллогенного диспергированного биоматериала и фетальной ткани // Мед. вестн. Башкортостана. – 2006. – №1. – С. 156–160.