

АНЕСТЕЗИОЛОГИЯ И РЕАНИМАТОЛОГИЯ

УДК 616.89-008.441.13:612.112.94]:612.017-074/-078(043.3)

Оригинальная статья

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИИ TH1- И TH2- ЛИМФОЦИТОВ И ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

А.А. Свистунов – проректор по общим вопросам ГОУ ВПО Московский ГМУ им. И.М. Сеченова Росздрава, профессор, доктор медицинских наук; **П.Ф. Забродский** – Саратовский военный институт биологической и химической безопасности, заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры технологии уничтожения химического оружия и токсичных веществ, доктор медицинских наук; **В.Г. Лим** – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, профессор кафедры психиатрии и наркологии, доктор медицинских наук; **В.А. Гришин** – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, ассистент кафедры психиатрии и наркологии.

CHANGE IN FUNCTION OF TH1- AND TH2-LYMPHOCYTES AND CYTOKINE PROFILE AT CHRONIC INTOXICATION OF ETHANOL

A.A. Svistunov – Pro-rector on Common Matters of Moscow medical University n.a. I.M. Sechenov, Professor, Doctor of Medical Science; **P.F. Zabrodsky** – Saratov Military Institute of Biological and Chemical Safety, Department of Technology of Destruction of Chemical Weapon and Toxic Substances, Professor, Doctor of Medical Science; **V.G. Lim** – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Psychiatry and Narcology, Professor, Doctor of Medical Science; **V.A. Grishin** – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Psychiatry and Narcology, Assistant.

Дата поступления – 20.03.10 г.

Дата принятия в печать – 15.06.2010 г.

А.А. Свистунов, П.Ф. Забродский, В.Г. Лим, В.А. Гришин. Изменение функции th1- и th2- лимфоцитов и цитокинового профиля при хронической интоксикации этанолом. Саратовский научно-медицинский журнал, 2010, том 6, № 2, с. 307-309.

В экспериментах на неинбредных белых крысах установлено, что хроническая интоксикация этанолом (30 сут, суммарная доза – 1,0 DL₅₀) существенно снижает концентрацию в крови цитокинов (ИФН-γ, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10), уменьшает соотношение ИФН-γ/ИЛ-4 по сравнению с контролем, супрессирует иммунные реакции, что свидетельствует о большем поражении Th1-клеток по сравнению с Th2-лимфоцитами.

Ключевые слова: этанол, иммунотоксичность, цитокины, Th1, Th2-лимфоциты.

A.A. Svistunov, P.F. Zabrodsky, V.G. Lim, V.A. Grishin. Change in function of th1 – and th2-lymphocytes and cytokine profile at chronic intoxication of ethanol. Saratov Journal of Medical Scientific Research, 2010, vol. 6, № 2, p. 307-309.

It has been established during the experiments carried on noninbred rats that chronic intoxication of ethanol (30 days, total dose – 6,0 LD₅₀) essentially reduces concentration of cytokines (IFNγ, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10) in blood, reduces interrelation of IFNγ/IL-4 in comparison with the control, suppresses immune reactions, indicating the greater lesion of Th1-cells in comparison with Th2-lymphocytes.

Keywords: ethanol, immunotoxicity, cytokines, Th1, Th2- lymphocytes.

Введение. Этанол (Э, этиловый спирт) в медицинской практике применяется как антисептик и консервант, употребляется при приготовлении настоек и экстрактов в фармацевтической промышленности и в быту. С техническими целями Э используется как антиобледенитель в авиации, растворитель для моющих, полиур, клея и т.п. Анализ причин демографического кризиса в России свидетельствует о том, что к числу ведущих факторов, обуславливающих это явление, относится рост потребления алкоголя, который за последние 5 лет увеличился на 32-38%, при этом смертность от случайных отравлений этанолом возросла на 25% и в последние годы неуклонно прогрессирует. Летальность после интоксикаций Э может быть связана с инфекционными осложнениями и заболеваниями, обусловленными снижением показателей иммунного статуса. Знание иммунопатогенеза действия Э необходимо для обоснования фармакологической коррекции постинтоксикационного нарушения иммунного гомеостаза с целью профилактики различных инфекционных осложнений и заболеваний [1, 2].

От особенностей поражения антигенпредставляющих клеток, популяций Т-лимфоцитов, В-клеток Э зависит характер формирования вторичного им-

мунодефицитного состояния, и, следовательно, способы коррекции нарушений иммунного статуса [1, 3]. Известно, что Т-лимфоциты желперы неоднородны и состоят из лимфоцитов Th0-, Th1-, Th2-, Th3-типа [2]. Лимфоциты Th0- типа синтезируют ИЛ-2, который стимулирует пролиферацию В-клеток. Кроме того, они выделяют многочисленные цитокины, продуцируемые Th1-, Th2-клетками (и другими клетками), за исключением ИЛ-12, который выделяют только Th2-лимфоциты [3]. Th1-клетки продуцируют γ-интерферон (ИФН-γ), участвуя в реализации клеточных иммунных реакций [2, 3, 4], кроме того, они обеспечивают синтез В-лимфоцитами (плазмócитами) IgM и IgG2a [4]. Th2-лимфоциты, синтезируя ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-13, способствуют активации, пролиферации и дифференцировке В-клеток, синтезу плазмócитами основных классов и подклассов иммуноглобулинов (IgG1-4, IgA1, IgA2, IgE и IgD). ИЛ-4 и ИЛ-13 ингибируют продукцию провоспалительных цитокинов макрофагами, а ИЛ-10, продуцируемый Th0-, Th2- клетками и макрофагами, снижает синтез цитокинов Th1-лимфоцитами [2, 3, 4].

В формировании аллергических и анафилактических реакций также участвуют лимфоциты Th1- и Th2-типа. Контактные (кожные) аллергические реакции связаны с функцией Th1-лимфоцитов, а респираторные аллергические реакции – с активностью Th2-лимфоцитов (синтез IgE) [1, 3, 4]. От соотношения активности лимфоцитов Th1-, Th2-типа (парадигма

Ответственный автор – Забродский Павел Францевич
410000, Саратов, а/я 10.
Тел.(845-2) 22-76-25, сот. 8(905)3232751,
E-mail: pz@renet.com.ru

двух видов хелперов - Th1/Th2) [5] может зависеть вероятность возникновения соответственно вирусных или микробных инфекций [6], также формирование контактной или респираторной гиперчувствительности [7].

Целью исследования являлась оценка иммунных реакций, отражающих функцию Th1- и Th2-лимфоцитов и цитокинового профиля (содержание в крови ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-10) при хронической интоксикации этанолом.

Методы. Опыты проводили на неинбредных белых крысах обоего пола массой 180-240 г. Этанол вводили per os в 40% водном растворе в дозе 0,2 DL₅₀ в течение 30 сут (DL₅₀ этанола составляла 12,3±1,3 г/кг). Контрольная группа животных получала перорально соответствующий объем воды. Показатели системы иммунитета оценивали общепринятыми методами в экспериментальной иммунологии и иммунологии [1, 3]. Гуморальную иммунную реакцию к тимусзависимому антигену (эритроцитам барана – ЭБ), характеризующую способность Th1-лимфоцитов участвовать в продукции плазматическими клетками IgM, определяли по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке через 4 сут^п после иммунизации (пик продукции IgM), которую проводили внутрибрюшинно в дозе 2·10⁸ на 26 сут. после первого введения этанола. Функцию Th1-лимфоцитов оценивали по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Формирование ГЗТ исследовали у животных по приросту массы стопы задней лапы в %. Разрешающую дозу ЭБ (5·10⁸) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут^п после иммунизации, которую проводили внутрибрюшинно на 26 сут после первого введения Э. Реакцию ГЗТ оценивали через 24 ч. Функцию Th2-лимфоцитов исследовали по числу АОК, синтезирующих IgG к ЭБ, в селезенке на пике продукции данного иммуноглобулина (через 14 суток после иммунизации) методом непрямого локального гемолиза в геле [3]. При этом крыс иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе 2·10⁸ клеток на 17 суток после первого введения Э. Таким образом, при оценке всех иммунных реакций животные получали суммарную эквивалентную дозу Э, составляющую 6,0 DL₅₀.

Концентрацию цитокинов ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-10 исследовали в плазме крови крыс через 30 сут после первой инъекции Э методом ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA), используя наборы (ELISA Kits) фирмы BioSource Int. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия достоверности Стьюдента.

Результаты. При воздействии Э в течение 30 суток (табл. 1) отмечалось уменьшение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому антигену (по числу АОК в селезенке), характеризующему синтез IgM В-клетками и функцию Th1-лимфоцитов, по сравнению с контрольным уровнем в 3,04 раза ($p < 0,05$). При хронической интоксикации Э отмечалась существенная супрессия реакции ГЗТ (функция Th1-клеток) в 2,96 раза ($p < 0,05$), а функция Th2-лимфоцитов (оцениваемая по числу АОК, синтезирующих IgG к ЭБ), – в 2,10 раза ($p < 0,05$).

Характеризующие иммунные реакции и связанную с ними функцию Th1-лимфоцитов параметры при действии Э в среднем снижались в 3,00 раза, а показатели, связанные с функцией Th2-клеток, – в 2,10 раза. Установлена значительно меньшая редукция иммунного ответа, который обеспечивается функцией Th2-лимфоцитов (и В-клеток), при отравлении Э (соответствующая редукция числа АОК, синтезирующих IgG). Полученные данные свидетельствуют о том, что функция Th1-лимфоцитов под влиянием хронической интоксикации Э снижается в большей степени по сравнению с супрессией активности Th2-лимфоцитов.

Снижение активности Th1-клеток Э может быть обусловлено увеличением в крови концентрации кортикостерона вследствие хронической интоксикации Э [1], к которому в большей степени чувствительны лимфоциты Th1-типа по сравнению с Th2-лимфоцитами [3].

При исследовании концентрации цитокинов в плазме крови крыс (табл. 2) установлено уменьшение содержания ИФН- γ и ИЛ-4 через 30 суток при хроническом действии Э соответственно в 3,82 и 2,85 раза ($p < 0,05$). Очевидно, что снижение соотношения ИФН- γ /ИЛ-4 под влиянием Э в 5,6 раза по сравнению с контролем (7,5) свидетельствует о большей

Таблица 1

Влияние хронической интоксикации этанолом на функцию Th1- и Th2- лимфоцитов у крыс (M±m, n = 9-11)

Серия опытов	Функция Th1-лимфоцитов		Функция Th2-лимфоцитов
	АОК к ЭБ (IgM), 103	ГЗТ, %	АОК к ЭБ (IgG), 103
Контроль	43,5±3,1	38,8±3,3	52,8±5,4
Этанол	14,3±1,5*	13,1±1,4*	25,1±2,4*

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таблица 2

Влияние хронической интоксикации этанолом на содержание цитокинов в плазме крови крыс, пг/мл (M±m, n = 7)

Цитокины	Контроль	Этанол
ИФН- γ	1032±98	270±25*
ИЛ-4	137±14	48±5*
ИФН- γ /ИЛ-4	7,5±0,7	5,6±0,6
ИЛ-2	1369±98	442±32*
ИЛ-6	58±7	28±3*
ИЛ-10	383±39	205±19*

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

супрессии ($p < 0,05$) активности лимфоцитов Th1-типа по сравнению с функцией Th2-клеток [1].

Концентрации ИЛ-2, ИЛ-6 и ИЛ-10 после хронической интоксикации Э снижались соответственно в 3,1; 2,05 и 1,87 ($p < 0,05$).

Обсуждение. Снижение в плазме крови под влиянием этанола ИЛ-2 свидетельствует как о супрессии его продукции Т-лимфоцитами (как $CD4^+$, относящимися к лимфоцитам Th0-типа), так и некоторыми $CD8^+$, редуции пролиферации Т- и В-клеток (синтеза J-цепи молекулы иммуноглобулина), активности естественных клеток-киллеров (ЕКК) [2,3].

Уменьшение в крови ИЛ-6 (провоспалительного цитокина) характеризует редуцию синтеза его Th2-лимфоцитами (и клетками Th0-типа), макрофагами и лимфоидными дендритными клетками покровных тканей в очаге внедрения патогена, а также супрессию активации В-клеток [2, 3, 4].

Концентрация ИЛ-10 (антивоспалительный цитокин, продуцируемый Th0-, Th2-лимфоцитами, моноцитами, макрофагами и В-клетками и снижающего секрецию ИФН- γ Th1-лимфоцитами [4, 8]), снижалась при действии Э приблизительно также, как и ИЛ-6. Этот эффект характерен для тяжелых металлов [9], динитрохлорбензола, формальдегида и других токсикантов [10]. Снижение синтеза ИЛ-6 и ИЛ-10 в меньшей степени, чем ИФН- γ , подтверждает установленный нами больший поражающий эффект Э в отношении Th1-лимфоцитов. Относительно небольшая редуция ИЛ-10, вероятно, обусловлена значительным снижением синтеза ИФН- γ этанолом, что, вероятно, исключает регулирующее повышение Th0-, Th2-лимфоцитами, моноцитами, макрофагами и В-клетками продукции ИЛ-10, который способен усилить супрессию функции Th1-лимфоцитов в еще большей степени.

Заключение.

1. Хроническая интоксикация этанолом существенно снижает концентрацию в крови цитокинов ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-4 и в меньшей степени – ИЛ-6, ИЛ-10.

2. Хроническое действие этанола вызывает большее поражение Th1-клеток по сравнению с Th2-лимфоцитами и уменьшает соотношение ИФН- γ /ИЛ-4 по сравнению с контролем.

Библиографический список

1. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г. Иммунотоксикология ксенобиотиков: Монография. Саратов: СВИБХБ, 2007. 420 с.
2. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина, 2002. 536 с.
3. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. 582 с.
4. Georgiev V.St., Albright J.E. Cytokines // Immunomodulation drugs 1993. Vol. 685. P. 284-602.
5. Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm // Immunol. Today. 1997. Vol. 18. № 6. P. 263-266.
6. Asquith B., Zhang Y., Mosley A.J. In vivo T lymphocyte dynamics in humans and the impact of human T-lymphotropic virus 1 infection // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. Vol. 104. № 19. P. 8035-8040.
7. Corsini E., Kimber I. Factors governing susceptibility to chemical allergy // Toxicol. Lett. 2007. Vol.168. №3. P. 255-299.
8. Kim H.S., Eom J.H., Cho H.Y. Evaluation of immunotoxicity induced by pirimiphos-methyl in male Balbc mice following exposure to for 28 days // J. Toxicol. Environ. Health. 2007. Vol. 70. № 15-16. P. 1278-1287.
9. Chen G.J., Huang D., Watzl B. Changes in T lymphocyte subsets and plasma Th1/Th2 cytokine levels in patients with occupational chronic lead poisoning // Life Sci. 2007. Vol. 52, № 3. P. 1319-1326.
10. Urlrich P., Grenet O., Bluemel J. Cytokine expression profiles during murine contact allergy: T helper 2 cytokines are expressed irrespective of the type of contact allergen // Arch. Toxicol., 2001. Vol. 75. № 8. P. 470-479.

УДК616.36-072.7

Оригинальная статья

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОГО И ГАЛАКТОЗОТОЛЕРАНТНОГО ТЕСТОВ В ДИНАМИКЕ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Я.В. Тишкова – Смоленская государственная медицинская академия, ассистент кафедры патофизиологии; **О.В. Молотков** – Смоленская государственная медицинская академия, зав. кафедрой патофизиологии, профессор, доктор медицинских наук.

USE GLUCOSE TOLERANCE AND GALACTOSE TOLERANCE TESTS IN DYNAMICS OF ACUTE EXPERIMENTAL INJURY OF THE LIVER

J.V. Tishkova – Smolensk state medical academy, the assistant to chair патофизиологии; **O.V. Molotkov** – Smolensk state medical academy, the manager. Chair патофизиологии, the professor, the doctor of medical sciences.

Дата поступления – 10.12.09 г.

Дата принятия в печать – 15.06.2010 г.

Я.В. Тишкова, О.В. Молотков. Использование глюкозотолерантного и галактозотолерантного тестов в динамике острого экспериментального токсического поражения печени. Саратовский научно-медицинский журнал, 2010, том 6, № 2, с. 309-313.

У половозрелых крыс с экспериментальным токсическим поражением печени различной тяжести, вызванного введением четырёххлористого углерода в дозе 0.25 мл и 0.5 мл на 100 г массы, изучено ее функциональное состояние с помощью глюкозотолерантного (ГТТ) и галактозотолерантного (ГалТТ) тестов. Выявлено, что наиболее информативным для оценки функции печени был 1 час от начала ГТТ и ГалТТ. Использование коэффициента, отражающего соотношение концентрации глюкозы в крови в конце первого часа при проведении ГТТ и ГалТТ, позволяет повысить диагностические возможности нагрудочных тестов.

Ключевые слова: токсическое поражение печени, глюкозотолерантный тест, галактозотолерантный тест.

J.V. Tishkova, O.V. Molotkov. Use glucose tolerance and galactose tolerance tests in dynamics of acute experimental injury of the liver. Saratov Journal of Medical Scientific Research, 2010, vol. 6, № 2, p. 309-313.

At adult rats are caused experimental toxic liver injury of the various severity by introduction of carbon tetrachloride in a dose of 0.25 ml and 0.5 ml on 100 g of weights. It is investigated the functional condition of the liver with use glucose tolerance test (GTT) and galactose tolerance test (GalTT). It is revealed, the most informative for the investigation of liver function was the end of the first hour from beginning GTT and GalTT. Use of the coefficient, reflecting a correlation of glucose concentration in blood at the end of the first hour of GTT and GalTT, makes it possible to raise diagnostic value of tolerance tests.

Keywords: toxic injury of the liver, glucose tolerance test, galactose tolerance test.