

СОВРЕМЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ВЕСТНИК

ISSN 1661-6886


Научно-теоретический и практический журнал



№56 (196) 2013

СЕРИЯ:

*Медицина
Ветеринария*



Содержание

МЕДИЦИНА

Грибачева И.А., Попова Т.Ф., Фонин В.В., Начаров Ю.В., Дергилев А.П. ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ С СОСУДИСТЫМИ КОГНИТИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЗАКРЫТОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ	5
Фонин В.В., Домрачева Е.В., Грибачева И.А., Попова Т.Ф., Дергилев А.П. АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КРОВОИЗЛИЯНИЙ В МОЗГ И ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА ПАЦИЕНТОВ И ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ.....	15
Маркова В.В., Соловьёва О.В., Шамуров Ю.С. ФИБРОМИАЛГИЯ, АЛЛОДИНИЯ И ГОЛОВНАЯ БОЛЬ – КЛИНИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ	23
Ниженковская И.В., Афанасенко О.В. ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО СТРОЕНИЯ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ РОЗМАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ КАК КОМПОНЕНТА ЛИСТЬЕВ SALVIA OFFICINALIS.....	30
Дуйсенов Н.Б. ЛЕЧЕНИЕ ВРОЖДЕННОЙ СИНДАКТИЛИИ МЕТОДОМ КРОНИНА.....	39
Маракушин Д.И., Жуков В.И. СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ ОКСИЭТИЛИРОВАННЫХ НОНИЛФЕНОЛОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ.....	45
Жуков В.И, Наконечная О.А., Стеценко С.А., Багмут И.Ю., Максимова И.Г. ВЛИЯНИЕ ОЛИГОЭФИРЦИКЛОКАРБОНАТА И ОЛИГОЭФИРМОНО-ЭПОКСИДА НА СТРУКТУРНО- МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН В ПОДОСТРОМ ОПЫТЕ ...	51
Коккозов Т.М., Мясникова Г.А., Момункулова Ж.Б., Алтаева А.М. ОСОБЕННОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ РЕЦИДИВОВ ТУБЕРКУЛЕЗА У ЛИЦ С ОСТАТОЧНЫМИ ПОСТТУБЕРКУЛЕЗНЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ.....	60

К. мед.н., доц. Маракушин Д.И., д. мед.н., проф. Жуков В.И.
Харьковский национальный медицинский университет, Украина

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ ОКСИЭТИЛИРОВАННЫХ НОНИЛФЕНОЛОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Аннотация. Изучено состояние клеточного звена иммунной системы у крыс в условиях хронического влияния оксиэтилированных нонилфенолов и их производных – натриевых солей карбоксиметилатов. Исследуемые ксенобиотики в условиях длительного воздействия в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ₅₀ приводят к нарушению функционирования Т-клеточного звена иммунной системы крыс, о чем свидетельствует развитие лейкопении, снижение процентного содержания Т-лимфоцитов за счет Т-хелперов и Т-супрессоров.

Ключевые слова: оксиэтилированные нонилфенолы, натриевые соли карбоксиметилатов, Т-хелперы, Т-супрессоры, клеточное звено иммунитета.

1. Введение

В настоящее время весьма актуальной является проблема негативного влияния химических факторов окружающей среды на состояние здоровья человека. Поступление чужеродных химических веществ может прямо или косвенно привести к напряжению, срыву защитных функций и адаптационных резервов организма, что сопровождается, как правило, развитием острых и хронических патологических процессов [1, 2]. Изучение механизмов действия химических веществ, разработка научно обоснованных диагностических программ и выявление объективных прогностических критериев течения патологических процессов становится одной из приоритетных задач современной медицинской науки. К химическим веществам, с которыми тесно контактирует население в быту и производственных условиях, относятся оксиэтилированные нонилфенолы (ОЭНФ) и их производные – натриевые соли карбоксиметилатов ОЭНФ, которые по физико-химическим свойствам и особенностям строения молекул относятся к ионогенным детергентам. Эти вещества характеризуются значительным объемом синтеза, широким использованием в различных отраслях народного хозяйства (как основа промышленного выпуска пластмасс, пенопластов, полиуретанов, моющих средств, эмульгаторов, антикоррозийных препаратов, гидравлических и охлаждающих смесей), поступлением в источники питьевого водоснабжения населения и возможным влиянием на организм человека

[3, 4]. Регламентация их содержания в объектах окружающей среды осуществляется на использовании временных расчетных нормативов. Механизмы биологического действия ОЭНФ и их производных изучены недостаточно, а именно их раскрытие является основанием для адекватной регламентации и обоснования профилактических мероприятий по защите здоровья населения. На воздействие экстремальных факторов окружающей среды одной из первых, как правило, реагирует иммунная система. Нарушение ее состояния может проявляться усилением или супрессией иммунных функций организма [5, 6]. Отсутствие в научной литературе данных о действии ОЭНФ и их производных на состояние иммунной системы теплокровных животных обуславливает актуальность проведения такого рода исследований.

II. Постановка задачи

Целью данной работы было изучение длительного воздействия ОЭНФ и их производных в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 ДЛ₅₀ на состояние клеточного звена иммунной системы крыс путем определения содержания в периферической крови общего числа лейкоцитов и субпопуляций лимфоцитов CD3, CD4, CD8.

Материал и методы исследования. В работе использованы образцы веществ с регламентированными физико-химическими характеристиками: ОЭНФ с числом оксиэтилированных групп 4, 6, 8, 10, 12, 25 (ОЭНФ₄₋₂₅) и их производных – натриевых солей карбоксиметилатов ОЭНФ (КМ-ОЭНФ) с числом оксиэтилированных групп 4, 5, 6, 10 (КМ-ОЭНФ₄₋₁₀). Эксперименты проведены на половозрелых белых крысах-самцах линии WAG, массой (180-220) г. Все экспериментальные манипуляции с лабораторными животными проводили в соответствии с нормами Европейской конвенции по биоэтике. Животные содержались в стационарных условиях вивария при постоянной температуре и естественном освещении в пластиковых клетках на сбалансированном пищевом рационе. Их подвергали пероральной заправке с помощью зонда водными растворами веществ ежедневно однократно в течение 45 суток в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 ДЛ₅₀. Среднесмертельные дозы (ДЛ₅₀) составляют для ОЭНФ₄ – 5,8 г/кг; ОЭНФ₆ – 4,2 г/кг; ОЭНФ₈ – 5,1 г/кг; ОЭНФ₁₀ – 4,3 г/кг; ОЭНФ₁₂ – 3,4 г/кг; ОЭНФ₂₅ – 9,0 г/кг; КМ-ОЭНФ₄ – 6,1 г/кг; КМ-ОЭНФ₅ – 2,8 г/кг; КМ-ОЭНФ₆ – 2,2 г/кг; КМ-ОЭНФ₁₀ – 3,2 г/кг массы тела. Животным контрольной группы вводили соответствующие объемы воды. Исследование показателей осуществляли на 45-е сутки после начала эксперимента. Забой животных проводили путем декапитации с предварительной анестезией тиопенталом натрия.

Общее количество лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови крыс оценивали общепринятыми гематологическими методами [7]. Определение субпопуляций лимфоцитов проводили с помощью тест-систем на основе моноклональных антител против антигенов (НПЛ «Гранум», Украина) по методике производителя. Метод основан на реакции розеткообразования с эритроцитами, на которых адсорбированы моноклональные антитела против рецепто-

ров CD3 (общая популяция Т-лимфоцитов), CD4 (Т-хелперы/индукторы), CD8 (Т-цитотоксические лимфоциты/супрессоры), CD19 (В-лимфоциты). Статистический анализ данных проводили с помощью компьютерного пакета прикладных программ для обработки статистической информации Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., США). Первичную обработку результатов начинали с проверки гипотезы о соответствии распределения полученных выборок закону нормального распределения с помощью критерия Шапиро-Вилка. Дополнительно правильность положительного вывода относительно нормальности распределения выборок контролировали с помощью коэффициентов асимметрии и эксцесса. Количественные тенденции, имеющие нормальное распределение, описывали параметрическими характеристиками – средним значением (M) и средним квадратичным отклонением (s), в случае отсутствия нормального распределения непараметрическими – медианой (Me) и интерквартильным разбросом. Для сравнения двух нормальных распределений применяли t -критерий Стьюдента. Если одно из распределений не было нормальным, то для сравнения независимых выборок применяли ранговый критерий Манна-Уитни. За критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали $p < 0,05$.

III. Результаты

Длительное воздействие исследуемых веществ на организм крыс сопровождался однонаправленными изменениями со стороны общего количества белых клеток крови – лейкоцитов (табл. 1). На 45-е сутки действия ОЭНФ и их производных в дозе $1/10$ ДЛ₅₀ наблюдалось, по сравнению с контролем, их статистически значимое ($p < 0,001$) снижение, в том числе и лимфоцитов, особенно в случае ОЭНФ₁₀ и натриевых солей карбоксиметилатов оксизетилированных изонилфенолов КМ-ОЭНФ₅, КМ-ОЭНФ₆ и КМ-ОЭНФ₁₀ (в среднем в 3 раза). Такая же тенденция, но менее выраженная, отмечалась и при ежедневном пероральном введении веществ в течение 45 суток в дозе $1/100$ ДЛ₅₀. При этом наиболее сильное воздействие оказывали ОЭНФ₁₀ и КМ-ОЭНФ₁₀ (снижали в среднем в 2,5 раза, $p < 0,001$), наименее – ОЭНФ₄ и КМ-ОЭНФ₄ (снижали в 1,6 раза, $p < 0,006$). Действие ОЭНФ и их производных в дозе $1/1000$ ДЛ₅₀ в общем плане не проявляло статистически значимых различий со стороны общего содержания лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови крыс по сравнению с контролем. Но в случае воздействия этой дозы отмечалось незначительное, но достоверное, увеличение общего количества лейкоцитов для ОЭНФ₈ ($p = 0,015$) и уменьшение лимфоцитов для ОЭНФ₁₀ ($p = 0,018$), КМ-ОЭНФ₅ ($p = 0,029$).

Таблица 1 Общее количество лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови крыс на 45-е сутки воздействия оксиэтилированных нонилфенолов и их производных ($\times 10^9/\text{л}$; $n=15$; Me [25%; 75%] или $M\pm s$)

Вещество	Лейкоциты			Лимфоциты		
	Доза, ДЛ50					
	1/10	1/100	1/1000	1/10	1/100	1/1000
ОЭНФ ₄	7,2±1,55 p<0,001	9,1±1,57 p=0,004	10,9±2,22 p=0,686	5,4 [4,3; 6,8] p<0,001	6,3±2,04 p=0,015	8,1±1,52 p=0,431
ОЭНФ ₆	6,5 [4,0; 7,7] p<0,001	7,4±1,98 p<0,001	11,3±2,81 p=0,937	4,6±1,23 p<0,001	5,6±1,45 p<0,001	7,0 [6,5; 8,9] p=0,302
ОЭНФ ₈	6,3 [4,5; 8,9] p<0,001	8,3±1,70 p<0,001	13,3±2,24 p=0,015	4,8±1,33 p<0,001	6,7±1,31 p=0,024	7,9±1,73 p=0,836
ОЭНФ ₁₀	4,9±1,92 p<0,001	6,8±2,02 p<0,001	9,4±1,84 p=0,048	3,9±1,02 p<0,001	5,0 [3,7; 6,8] p<0,001	6,2 [5,3; 7,9] p=0,028
ОЭНФ ₁₂	5,4±1,35 p<0,001	7,5±1,86 p<0,001	10,4 [7,7; 13,4] p=0,561	4,1±1,20 p<0,001	5,1±1,19 p<0,001	8,05±1,54 p=0,709
ОЭНФ ₂₅	7,6±1,53 p<0,001	8,1±1,79 p<0,001	10,9±2,23 p=0,782	6,1±1,43 p=0,003	7,1±1,56 p=0,301	8,4±1,28 p=0,340
КМ-ОЭНФ ₄	7,1±1,62 p<0,001	8,9±2,21 p=0,006	11,6 [9,5; 13,4] p=0,852	4,8 [3,8; 6,0] p<0,001	6,2±2,25 p=0,02	7,9 [6,3; 9,7] p=0,917
КМ-ОЭНФ ₅	4,5±0,93 p<0,001	6,6±2,43 p<0,001	9,8±2,41 p=0,078	2,9 [2,2; 3,9] p<0,001	4,0±1,33 p<0,001	6,4 [5,2; 7,7] p=0,029
КМ-ОЭНФ ₆	3,6±0,67 p<0,001	4,7±1,14 p<0,001	10,1±2,97 p=0,244	2,5 [1,9; 3,7] p<0,001	3,3±0,91 p<0,001	6,7 [5,8; 8,2] p=0,120
КМ-ОЭНФ ₁₀	4,1±0,96 p<0,001	5,6±1,22 p<0,001	13,2 [10,5; 14,4] p=0,740	3,2±1,12 p<0,001	3,9±1,30 p<0,001	9,8 [6,0; 11,4] p=0,431
Контроль	11,2±2,08			7,7 [7,2; 8,2]		

Примечание: p – уровень значимости по сравнению с контролем

На фоне выявленного уменьшения общего количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови крыс отмечались изменения со стороны относительного содержания субпопуляций лимфоцитов. Так, на 45-е сутки наиболее токсичные, по предыдущим результатам, ОЭНФ₁₀ и натриевые соли карбоксиметилатов оксиэтилированных изононилфенолов КМ-ОЭНФ₅, КМ-ОЭНФ₆ и КМ-ОЭНФ₁₀ в действующей дозе 1/100 ДЛ₅₀ приводили к статистически значимому снижению в среднем в 1,3 раза (p<0,009), по сравнению с контролем, уровня Т-лимфоцитов (CD3) (табл. 2).

Таблица 2 Относительное содержание субпопуляций лимфоцитов в периферической крови крыс на 45-е сутки воздействия оксигтилированных нонилфенолов и их производных в дозе 1/100 ДЛ50 (%; n=15; Me [25%; 75%] або M±s)

Вещество	CD3	CD4	CD8
ОЭНФ ₁₀	49,1±6,56; p=0,002	33,0±5,81; p<0,001	19 [12; 24]; p=0,068
КМ-ОЭНФ ₅	47,1±8,49; p<0,001	28 [24; 35]; p<0,001	15 [10; 18]; p<0,001
КМ-ОЭНФ ₆	43 [30; 50]; p<0,001	26 [23; 37]; p<0,001	12 [9; 17]; p<0,001
КМ-ОЭНФ ₁₀	52 [43; 54]; p=0,009	30,5±7,18; p<0,001	17,1±2,80; p=0,004
Контроль	60,1±10,28	41,5±4,76	22,9±6,42

Примечание: p – уровень значимости по сравнению с контролем

Полученные результаты отражают дефицит Т-клеточных механизмов защиты, осуществляющих иммунологический надзор за антигенным гомеостазом в организме. Со стороны иммунорегулирующих субпопуляций Т-лимфоцитов также наблюдалось достоверное, относительно контроля, уменьшение Т-хелперов (p<0,001) и Т-супрессоров (p<0,068) в среднем в 1,5 раза.

В условиях длительного действия КМ-ОЭНФ₆ и КМ-ОЭНФ₅ в дозе 1/100 ДЛ50 определялось статистически значимое увеличение (p=0,0045 и p=0,024 соответственно) иммунорегуляторного индекса – соотношение CD4/CD8 – до (2,3±1,21) и (2,2±1,32) у.ед. относительно контроля (1,8±0,93) у.ед. Для ОЭНФ₁₀ и КМ-ОЭНФ₁₀ не выявлено достоверно значимых различий (p>0,05) со стороны иммунорегуляторного индекса по сравнению с контрольной группой животных.

В целом полученные результаты свидетельствуют о нарушении Т-клеточного звена иммунитета крыс при длительном воздействии исследуемых веществ в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ₅₀, что проявляется снижением общего количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови, процентного содержания зрелых Т-лимфоцитов за счет Т-хелперов-индукторов и Т-супрессоров/цитотоксичных клеток. Изменение общего количества лейкоцитов отражает, как правило, состояние кроветворных органов и их реакцию на вредные воздействия. Уменьшение числа белых клеток крови – лейкопения – может быть следствием угнетения функции кроветворных органов, их истощения или повышенного распада лейкоцитов. Снижение количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций также подтверждает недостаточность клеточного звена иммунитета и снижение резистентности организма к действию ксенобиотиков. Повышение иммунорегуляторного индекса в случае наиболее токсичных веществ КМ-ОЭНФ₅ и КМ-ОЭНФ₆ в дозе 1/100 ДЛ₅₀ свидетельствует о преимущественном угнетении продукции CD8-лимфоцитов.

IV. Выводы

1. Исследуемые оксигетилированные нонилфенолы и их производные – натриевые соли карбоксиметилатов оксигетилированных изононилфенолов в условиях длительного воздействия в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ₅₀ приводят к нарушению функционирования Т-клеточного звена иммунной системы крыс, о чем свидетельствует развитие лейкопении, снижение процентного содержания Т-лимфоцитов за счет Т-хелперов и Т-супрессоров. 2. Нарушение функционирования Т-клеточного звена возможно происходит за счет непосредственного воздействия веществ на организм экспериментальных животных или опосредованного через медиаторы или гуморальные факторы иммунитета. В дальнейших исследованиях актуальным будет изучение гуморального звена иммунитета.

Литература

1. Аманжол И.А. Реакция организма на воздействие вредных производственных факторов: оценка профессионального риска / И.А. Аманжол, З.Т. Мухаметжанова, Д.С. Абитаев. – Lambert Academic Publishing, 2013. – 116 с.
2. Оценка воздействия химического загрязнения окружающей среды как фактора риска для здоровья человека: аналитический обзор / Н.Ю. Келина, Н.В. Безручко, Г.К. Рубцов [и др.] // Вестник Томского государственного педагогического университета. – 2010. – № 3. – С. 156-161.
3. Детергенти сучасності: технологія виробництва, екологія, економіка використання / В.А. Бурлака, Г.Б. Руденко, І.Г. Грабар, А.Д. Біба. – Ж.: ЖДТУ, 2004. – 745 с.
4. Научные основы обоснования прогноза потенциальной опасности детергентов в связи с регламентацией в воде водоемов / [Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Щербань Н.Г., Евдокимов В.И. и др.]. – Белгород, 2001. – 442 с.
5. Забродский П.Ф. Иммунотоксикология ксенобиотиков / П.Ф. Забродский, В.Г. Мандыч. – Саратов: СВИБХБ, 2007. – 420 с.
6. Казмірчук В.Є. Клінічна імунологія і алергологія / В.Є. Казмірчук, Л.В. Ковальчук. – Вінниця: Нова книга, 2006. – 528 с.
7. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / [В.В. Меньшиков, В.В. Делекторская, Л.Н. Золотницкая и др.]. – М., 1987. – 368 с.