

ВОПРОСЫ АЛКОГОЛИЗМА

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА И 4-МЕТИЛПИРАЗОЛА НА ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОТОКСИЧНОСТИ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

П. Ф. Забродский, В. Г. Германчук, В. Г. Лим¹

В экспериментах на крысах Вистар установлено, что острая интоксикация этиленгликолем (1 ЛД₅₀) вызывает снижение неспецифической резистентности организма (увеличение летальности животных от экспериментальной инфекции, уменьшение среднелетальной дозы *E. Coli*, среднеэффективного времени жизни крыс), редукцию антителообразования преимущественно к тимусзависимому антигену, естественной и антителозависимой клеточной цитотоксичности, реакции гиперчувствительности замедленного типа. Этанол в большей степени, чем 4-метилпиразол, усиливает иммунотоксические эффекты этиленгликоля.

Ключевые слова: этиленгликоль, этанол, 4-метилпиразол, неспецифическая резистентность организма, иммунотоксичность

ВВЕДЕНИЕ

Этиленгликоль (ЭГ, гликоль, этандиол-1,2) — двухатомный спирт, применяющийся для приготовления охлаждающих низкотемпературных жидкостей — антифризов, а также в качестве жидкого диэлектрика. Острые отравления ЭГ происходят чаще всего вследствие употребления его как суррогата алкоголя. Известны массовые отравления этим веществом, сладковатый вкус которого позволял выдавать его за ликер. Основные иммунотропные эффекты ЭГ при остром отравлении на неспецифическую резистентность организма (НРО) и систему иммунитета исследованы [3 – 5]. Однако при разработке способов профилактики и лечения постинтоксикационного иммунодефицитного состояния, сопровождающегося различными инфекционными осложнениями, важно знать характер модуляции иммунных реакций этанолом и 4-метилпиразолом, которые являются антидотами ЭГ. Данный вопрос в настоящее время практически не изучен. В связи с этим целью исследования являлась оценка НРО, изменений гуморальных и клеточных иммунных реакций при лечении острого отравления ЭГ этанолом и 4-метилпиразолом (4-МП).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на крысах Вистар массой 180 – 250 г. ЭГ вводили в желудок в дозе 1 ЛД₅₀ (ЛД₅₀ – 15 ± 3,5 г/кг). Этанол и 4-метилпиразол [“ICN Pharmaceuticals, Inc.”] вводили внутрибрюшинно в дозах 1,5 мл/кг (15 % раствор) и 20 мг/кг соответственно через 10 мин после введения ЭГ и в последующем через каждые 6 ч в течение суток. Состояние НРО оце-

нивали по летальности (через 24 ч), ЛД₅₀ *E. Coli*, Et₅₀ животных при экспериментальной инфекции. Суспензию суточной культуры *E. Coli* в дозе 1,5; 2 и 2,5 · 10⁹ микробных тел вводили внутрибрюшинно трем группам крыс соответственно через 24 ч после применения ЭГ или ЭГ с антидотами ЛД₅₀ *E. Coli* и Et₅₀ вычисляли методом пробит-анализа. Активность естественных клеток – киллеров определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) через 24 ч после применения препаратов по методу [2].

Гуморальный иммунный ответ к тимусзависимому (эритроцитам барана — ЭБ) и Т-независимому (Vi – Ag) антигенам оценивали через 5 сут по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке [1, 10] после введения исследуемых соединений с одновременной внутрибрюшинной иммунизацией крыс данными антигенами в дозах 2 · 10⁸ клеток и 8 мкг/кг соответственно. Гуморальная иммунная реакция на введение ЭБ характеризует способность Т-хелперов типа 1 (Th₁) участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) исследовали через 5 сут после иммунизации (ЭБ в дозе 10⁸ клеток) крыс, используя их спленоциты, спектрофотометрическим методом [6]. Формирование реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), отражающей функцию клеточного иммунного ответа (в частности, активность Th₁), оценивали у крыс по приросту (в %) массы стопы задней лапы. При этом животных иммунизировали введением 10⁸ ЭБ внутрибрюшинно. Разрешающую дозу ЭБ (5 · 10⁸) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут. Реакцию ГЗТ определяли через 24 ч. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия достоверности Стьюдента и χ^2 .

¹ Саратовский военный институт радиационной, химической и биологической защиты, Саратов, 410037.

Таблица 1. Влияние этанола и 4-метилпиразола (4-МП) на НРО при остром отравлении этиленгликолем (ЭГ)

Серии опытов	Летальность, %	ЛД ₅₀ <i>E. Coli</i> , 10 ⁹ м.т.	Et ₅₀ , ч	ЕЦ ₅₀ , %
1. Контроль	35,0 ± 10,7 (20)	2,16 ± 0,20 (20)	18,5 ± 1,9 (20)	34,1 ± 3,2 (9)
2. ЭГ	55,0 ± 13,3 (14)	1,60 ± 0,17 (14)	12,1 ± 1,3 (14)	18,1 ± 2,3 (6)
3. ЭГ + этанол	70,0 ± 14,5 (10)	1,16 ± 0,13 (10)	7,4 ± 1,7 (10)	10,6 ± 2,7 (6)
4. ЭГ + 4-МП	62,5 ± 17,1 (8)	1,37 ± 0,19 (8)	10,9 ± 1,6 (14)	15,2 ± 2,8 (6)
5. 4-МП	42,8 ± 13,2 (14)	1,75 ± 0,18 (14)	14,5 ± 1,4 (14)	24,5 ± 2,5 (6)
Уровень достоверности <i>p</i> < 0,05	1 – 2 (χ^2), 1 – 3, 1 – 4 (χ^2)	1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 2 – 3	1 – 2, 1 – 3, 2 – 3, 3 – 5	1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 2 – 3, 3 – 5, 4 – 5

Примечание. В скобках — число животных. ЕЦ — естественная цитотоксичность.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После острого отравления ЭГ (табл.1) увеличивается летальность крыс от экспериментального перитонита, вызванного *E. Coli* (контроль — 35,0 ± 10,7) в 1,57 раза (*p* > 0,05). Этанол вызывает достоверное увеличение летальности по сравнению с контролем в 2 раза (*p* < 0,05), что свидетельствует о снижении антиинфекционной НРО. Под влиянием ЭГ происходит статистически значимое (*p* < 0,05) снижение ЛД₅₀ *E. Coli*, уменьшение Et₅₀ и ЕЦ (*p* < 0,05). При применении антидота ЭГ этанола — конкурентного ингибитора алкогольдегидрогеназы — все описанные сдвиги были более выражены, причем по сравнению с изолированным действием ЭГ комбинация яда и антидота приводила к достоверному (*p* < 0,05) снижению ЕЦ и Et₅₀. Применение антидота ЭГ 4-МП — неконкурентного ингибитора алкогольдегидрогеназы — после острой интоксикации ЭГ оказывало менее выраженное супрессирующее действие на показатели НРО по сравнению с действием ЭГ в комбинации с этанолом. Изолированное применение 4-МП вызывало меньшую редукцию показателей НРО, чем эффект острого отравления ЭГ. Полученные результаты свидетельствуют, что в целом комбинированное действие ЭГ и 4-МП характеризуется аддитивным эффектом (суммацией эффектов) менее выраженным, чем при остром отравлении ЭГ с применением этанола. Следует отметить, что этанол и 4-МП снижали летальность крыс при остром отравлении ЭГ на 28,6 и 42,8 % соответственно.

При исследовании влияния этанола и 4-МП при острой интоксикации ЭГ на клеточное звено иммунитета установлено (табл. 2), что этанол усиливал супрессию АЗКЦ и реакцию ГЗТ. Под влиянием острой интоксикации ЭГ происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому (ЭБ) и Т-независимому (Vi – Ag) антигенам. Этанол после применения ЭГ вызывал более выраженную супрессию этих параметров (*p* < 0,05). Применение 4-МП после острого отравления ЭГ вызывало меньшую супрессию показателей системы иммунитета, чем действие острого отравления ЭГ с применением этанола. Изолированное воздействие 4-МП оказывало меньшую редукцию гуморального и клеточного иммунного ответа, чем действие ЭГ.

Механизм супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций *in vivo* под влиянием ЭГ, видимо, обусловлен нарушением функции иммуноцитов в результате взаимодействия с сульфгидрильными и аминокислотными группами ферментов высокотоксичных продуктов биотрансформации ЭГ (гликолевого альдегида, гликолевой, глиоксиловой, щавелевой кислот), ингибированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [7, 11]. Одной из возможных причин иммунотоксических эффектов ЭГ, вероятно, является связывание Ca²⁺ щавелевой кислотой в иммунокомпетентных клетках, что может приводить к уменьшению активации Т- и В-лимфоцитов вследствие снижения синтеза цГМФ, цАМФ и продукции ИЛ-2 Т-клетками [8, 9]. Нельзя исключить влияние на реализацию иммунных реакций после острой интоксикации ЭГ изме-

Таблица 2. Влияние этанола и 4-метилпиразола (4-МП) на гуморальные и клеточные иммунные реакции при остром отравлении этиленгликолем (ЭГ)

Серии опытов	АОК к ЭБ, 10 ³	АОК к Vi-Ag, 10 ³	АЗКЦ, %	ГЗТ, по приросту массы стопы, %
1. Контроль	30,1 ± 3,0	23,5 ± 2,8	11,7 ± 1,3	33,4 ± 3,1
2. ЭГ	17,5 ± 3,1	15,5 ± 1,9	6,2 ± 1,1	23,2 ± 2,5
3. ЭГ + этанол	11,4 ± 2,5	10,0 ± 1,7	4,1 ± 0,8	19,0 ± 1,6
4. ЭГ + 4-МП	20,4 ± 2,3	18,6 ± 1,6	8,3 ± 0,9	25,0 ± 2,1
5. 4-МП	23,4 ± 3,1	21,0 ± 2,0	9,0 ± 1,0	29,2 ± 2,6
Уровень достоверности <i>p</i> < 0,05	1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 3 – 4, 3 – 5	1 – 2, 1 – 3, 2 – 3, 3 – 4, 3 – 5	1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 3 – 4, 3 – 5	1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 3 – 4, 3 – 5

Примечание. В каждой серии использовали 7 – 10 животных.

нения состояния нейроэндокринной системы, а также действие на иммунocyты неметаболизированной молекулы ЭГ [5].

Полученные данные позволяют полагать, что при комбинированном действии ЭГ и этанола суммация иммунотоксических эффектов спиртов и их метаболитов обеспечивает более выраженное иммунотоксическое воздействие, чем острая интоксикация ЭГ с применением 4-МП [5]. Это связано с практически полным отсутствием редуцирующего действия высокотоксичных метаболитов ЭГ и этанола. Известно, что при действии антидота 4-МП при отравлении ЭГ блокируется “летальный синтез” этиленгликоля до гликолевого альдегида, гликолевой, глиоксиловой и щавелевой кислот. При этом проявляется иммунотоксическое действие ЭГ в комбинации с иммуносупрессивным эффектом 4-МП, которое обусловлено, вероятно, ингибированием не только алкогольдегидрогеназы, но и различных энзимов иммунокомпетентных клеток, определяющих их функцию.

Выявленное усиление иммунотоксичности ЭГ этанолом и 4-метилпиразолом предполагает обязательное включение иммуностимуляторов в схему лечения острых интоксикаций.

ВЫВОДЫ

1. При остром отравлении этиленгликолем — ЭГ (1 ЛД₅₀) его антидоты этанол и 4-метилпиразол в терапевтических дозах существенно снижают основные показатели неспецифической резистентности организма (НРО).

2. Этанол и 4-метилпиразол при использовании их в качестве антидотов при остром отравлении ЭГ снижают Т-зависимый и Т-независимый иммунный ответы и функцию К-клеток в реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности.

3. При остром отравлении ЭГ этанол усиливает супрессию НРО и основных гуморальных и клеточных иммунных реакций в большей степени, чем 4-метилпиразол.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. А. Белокрылов, В. Х. Хавинсон, В. Г. Морозов, *Ж. микробиол.*, **3**, 97 – 99 (1980).
2. С. М. Гордиенко, *Иммунология*, **1**, 31 – 36 (1984).
3. П. Ф. Забродский, *Общая токсикология*, Б. А. Курляндского, В. А. Филова (ред.), Медицина, Москва (2002), сс. 352 – 384.
4. П. Ф. Забродский, В. Г. Германчук, *Бюл. exper. биол.*, **130**(10), 415 – 417 (2000).
5. П. Ф. Забродский, В. Ф. Киричук, О. В. Осипов, *Бюл. exper. биол.*, **133**(5), 301 – 303 (2002).
6. Ю. И. Зимин, В. Ф. Ляхов, *Иммунол.*, № 1, 27 – 30 (1985).
7. Л. А. Кожемякин, Ю. Ю. Бонитенко, Л. Н. Иванова, *Воен.-мед. ж.*, № 9, 36 – 39 (1991).
8. R. G. Coffey and J. W. Hadden, *Red. Proc.*, **44**(1), 112 – 117 (1985).
9. H. Holte, P. Torjesen, H. Blomhoff, et al., *Eur. J. Immunol.*, **18**(9), 1359 – 1366 (1988).
10. N. K. Jerne and A. A. Nordin, *Science*, **140**(4), 405 (1963).
11. M. F. Parry and M. D. Wallach, *Amer. J. Med.*, **57**(1), 143 – 150 (1974).

Поступила 21.11.03

EFFECT OF ETHANOL AND 4-METHYLPYRAZOLE ON THE IMMUNOTOXICITY OF ETHYLENE GLYCOL

P. F. Zabrodskii, V. G. Germanchuk, and V. G. Lim

Saratov Military Institute of Radiation, Chemical, and Biological Defence, Saratov, Russia

The results of experiments on Wistar rats showed that acute poisoning with 1.0 LD₅₀ of ethylene glycol decreased the nonspecific resistance of the organism (manifested by increased lethality caused by experimental infection, decreased average lethal dose of *E. coli*, and decreased mean effective lifetime of experimental animals) and reduced the antibody formation to predominantly a thymus-dependent antigen, natural and antibody-dependent cell cytotoxicity, and delayed type hypersensitivity reaction. 4-Methylpyrazole and (to a greater extent) ethanol potentiated the immunotoxic action of ethylene glycol.