ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ ФОЛИНАТА КАЛЬЦИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОТОКСИЧНОСТИ МЕТАНОЛА

П. Ф. Забродский[1], В. Г. Лим[1], Н. М. Трошкин[2]

В экспериментах на неинбредных крысах установлено, что после острого отравления метанолом (0,5 $ЛД_{50}$) фолинат кальция частично снижает супрессию фагоцитарно-метаболической активности полиморфноядерных лейкоцитов, Т-зависимой гуморальной иммунной реакции, активности естественных клеток-киллеров, антителозависимой клеточной цитотоксичности, формирования гиперчувствительности замедленного типа и полностью восстанавливает функцию В-клеток, оцениваемую по Т-независимой антителопродукции.

Ключевые слова: метанол, иммунотоксичность, иммуностимуляция, фолинат кальция

ВВЕДЕНИЕ

Метанол (М, метиловый спирт) широко применяется для производства формальдегида и уксусной кислоты, а также в качестве органического растворителя и компонента некоторых моторных топлив. Его поступление в организм возможно любым путем, однако на практике абсолютно доминируют отравления при приеме внутрь. Отравления могут быть результатом нарушения техники безопасности при работе с метанолом, возникать при аварийной ситуации либо при использовании по ошибке метилового спирта в качестве спиртных напитков с целью опьянения [6, 7]. Острые отравления метанолом бывают крайне тяжелыми и нередко ведут к смертельным исходам, одной из причин которых могут являться инфекционные осложнения, связанные со снижением показателей иммунного статуса [3, 4]. Существуют основания полагать, что одним из способов профилактики и лечения возникающего при этом постинтоксикационного иммунодефицитного состояния может быть применение фолината кальция (ФК) для ускорения метаболизма высокотоксичного продукта биотрансформации метанола муравьиной кислоты, так как основной путь деградации данного соединения является фолат-зависимым [6, 9].

Целью исследования явилась оценка возможности снижения иммунотоксического действия метанола кальциевой солью фолиевой кислоты.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на беспородных белых крысах обоего пола массой 180 – 250 г. Метанол вводили в желудок в дозе 0,5 $ЛД_{50}$ ($ЛД_{50}$ 10,2 ± 2,7 мг/кг). Фолинат кальция в дозе 2 мг/кг вводили внутримышечно трехкратно с интервалом 12 ч. Первая доза ФК вводилась через 10 мин после введения М. Фагоцитарно-метаболическую активность полиморфноядерных лейкоцитов (ПЯЛ) определяли через трое суток после введения метанола. Поглотительную активность ПЯЛ оценивали по величинам фагоцитарного числа (ФЧ) и фагоцитарного индекса (ФИ), а кислородзависимые антиинфекционные системы ПЯЛ — по показателям спонтанного и индуцированного НСТ-теста (НСТсп, НСТинд) [10]. Гуморальную иммунную реакцию к Т-зависимому антигену (эритроцитам барана — ЭБ) определяли по титру антител, вызывающих гемолиз ЭБ в присутствии комплемента, выраженному в отрицательном двоичном логарифме (ОДЛ). Кроме того, гуморальный иммунный ответ к Т-зависимому и Т-независимому (тимус независимый Vi-антиген брюшнотифозной вакцины — Vi-Ag) антигенам оценивали через 5 сут по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке [1, 13] после введения исследуемых соединений с одновременной внутрибрюшинной иммунизацией крыс данными антигенами в дозах $2 \cdot 10^8$ клеток и 8 мкг/кг соответственно. Гуморальная иммунная реакция на введение ЭБ характеризует способность Т-хелперов типа 1 (Th_1) участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM. Активность естественных клеток — киллеров (ЕКК) определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) через трое суток после применения препаратов по методу [2]. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) исследовали через 5 сут после иммунизации (ЭБ в дозе 10^8 клеток) крыс, используя их спленоциты, спектрофотометрическим методом [5]. Формирование реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), отражающей функцию клеточного иммунного ответа (в частности, активность

[1] Саратовский государственный медицинский университет, Саратов, 410071, ГСП-71, ул. Большая Казачья,112.
[2] Саратовский военный институт радиационной, химической и биологической защиты, Саратов, 410037, ул. 50 лет Октября, 5.

© 2005 Коллектив авторов

Таблица 1. **Влияние фолината кальция (ФК) на фагоцитарно-метаболическую активность полиморфноядерных лейкоцитов крыс при остром отравлении метанолом (М)**

Серия	ФИ	ФЧ	$НСТ_{сп}$	$НСТ_{инд}$
Контроль	28,7 ± 2,5	1,4 ± 0,2	10,8 ± 1,4	20,5 ± 2,0
М	19,1 ± 2,2*	0,6 ± 0,2*	6,2 ± 0,7*	12,3 ± 1,5*
М + ФК	24,4 ± 2,0	1,0 ± 0,3	9,6 ± 0,9	16,7 ± 1,7

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 в каждой серии использовали 7 – 10 животных, * — отличия достоверны ($p < 0{,}05$) по сравнению с контролем.

Таблица 2. **Действие фолината кальция (ФК) на показатели гуморального иммунного ответа при остром отравлении крыс метанолом (М)**

Серия	Титр антител к ЭБ, $-\log_2$ титра	АОК к ЭБ, 10^3	АОК к Vi-Ag, 10^3
Контроль	5,2 ± 0,3	32,2 ± 3,3	22,7 ± 2,4
М	4,3 ± 0,2*	20,5 ± 2,1*	15,4 ± 2,0*
М + ФК	4,8 ± 0,3	27,1 ± 2,3**	25,8 ± 2,5**

Примечание. ** — отличия достоверны ($p < 0{,}05$) по сравнению с показателем после интоксикации метанолом.

Th_1), оценивали у крыс по приросту (в %) массы стопы задней лапы. При этом животных иммунизировали внутрибрюшинным введением 10^8 ЭБ. Разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут. Реакцию ГЗТ определяли через 24 ч. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Острое отравление метанолом вызывало снижение фагоцитарно-метаболической активности ПЯЛ крыс (табл. 1). Так, величины ФИ и ФЧ, показатели спонтанного и индуцированного НСТ-тестов уменьшались соответственно на 33,4; 57,1; 42,6 и 40,0 % ($p < 0{,}05$). Применение ФК приводило к увеличению данных показателей соответственно на 27,7; 66,6; 54,8 и 35,8 % ($p < 0{,}05$) по сравнению с параметрами при воздействии метанола, однако они оставались ниже контрольных значений.

Острая интоксикация метанолом вызывала снижение ОДЛ титра антител к ЭБ, редукцию гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и Т-независимому антигенам соответственно в 1,21; 1,57 и 1,47 раза ($p < 0{,}05$). Использование ФК приводило к увеличению данных параметров по сравнению с контрольными значениями соответственно в 1,12 ($p > 0{,}05$); 1,32 и 1,67 ($p < 0{,}05$) раза (табл. 2). При этом показатели, характеризующие Т-зависимую гуморальную иммунную реакцию, оставались меньше контрольных параметров, а Т-независимое антителообразование незначительно превышало контрольный уровень.

Метанол вызывал супрессию ЕЦ, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 1,3; 1,35 и 1,27 раза ($p < 0{,}05$). Применение фолината кальция увеличивало по сравнению с контролем активность ЕКК, АЗКЦ и реакцию ГЗТ соответственно в 1,12, 1,15 и 1,1 раза (табл. 3), однако данные параметры оставались меньше контрольных показателей ($p > 0{,}05$).

Механизм редукции фагоцитарно-метаболической активности ПЯЛ, гуморальных и клеточных иммунных реакций, видимо, обусловлен нарушением функции ПЯЛ и лимфоцитов, а также макрофагов, участвующих в реализации Т-зависимого антителообразования и реакции ГЗТ [8], в результате взаимодействия с сульфгидрильными и аминогруппами ферментов высокотоксичных продуктов биотрансформации метилового спирта — формальдегида и муравьиной кислоты, ингибированием тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [7, 11, 12].

Вероятно, более выраженное иммунопротективное (иммуностимулирующее) действие ФК в отношении Т-независимого антителообразования, обусловленного функцией В-клеток, объясняется тем обстоятельством, что биотрансформация высокотоксичного метаболита метанола муравьиной кислоты осуществляется основным фолат-зависимым путем [6, 9]. Существуют основания считать, что при этом метанол практически полностью потребляет фолиевую кислоту. Подобно антиметаболиту фолиевой кислоты иммунодепрессанту метотрексату, муравьиная кислота, по-видимому, снижает ресурсы дигидрофолатредуктазы. В результате реализуются такие же эффекты, как и у метотрексата — уменьшается образование тетрагидрофолиевой кислоты, ингибируется перенос метиловых групп, снижается синтез ДНК преимущественно в В-лимфоцитах, что вызывает супрессию их функций [8].

ВЫВОДЫ

1. При остром отравлении метанолом в дозе 0,5 $ЛД_{50}$ фолинат кальция частично восстанавливает фагоцитарно-метаболическую активность полиморфноядерных лейкоцитов, Т-зависимую гуморальную иммунную реакцию, активность естественных клеток-киллеров, антителозависимую клеточную цитотоксичность и реакцию гиперчувствительности замедленного типа.

2. Фолинат кальция после острого отравления метанолом полностью восстанавливает функцию В-клеток, оцениваемую по Т-независимой антителопродукции.

Таблица 3. **Влияние фолината кальция (ФК) на показатели клеточного иммунного ответа при остром отравлении крыс метанолом (М)**

Серия	ЕЦ, %	АЗКЦ, %	ГЗТ,%
Контроль	29,7 ± 2,4	13,2 ± 1,3	31,2 ± 2
М	22,9 ± 2,1*	9,8 ± 0,9*	24,5 ± 2,3*
М + ФК	25,7 ± 2,3	11,3 ± 1,2	27,0 ± 2,4

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. А. Белокрылов, В. Х. Хавинсон, В. Г. Морозов, *Ж. микробиол.*, № 3, 97 – 99 (1980).
2. С. М. Гордиенко, *Иммунол.*, № 1, 31 – 36 (1984).
3. П. Ф. Забродский, *Токсикол. вестн.*, № 2, 8 – 11 (1999).
4. П. Ф. Забродский, В. Г. Германчук, *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(5), 40 – 42 (2001).
5. Ю. И. Зимин, В. Ф. Ляхов, *Иммунол.*, № 1, 27 – 30 (1985).
6. Л. А. Кожемякин, Ю. Ю. Бонитенко, Л. Н. Иванова, *Воен.-мед. ж.*, № 9, 36 – 39 (1991).
7. Н. Ф. Маркизова, А. Н. Гребенюк, В. А. Башарин, Е. Ю. Бонитенко, *Спирты: Серия “Токсикология для врачей”*, ООО “Изд. ФОЛИАНТ”, СПб. (2004).
8. А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл, *Иммунология* (Пер. с англ.), Мир, Москва (2000).
9. А. П. Румянцев, Л. В. Тиунова, И. А. Остроумова, *Итоги науки и техники: Серия токсикология*, *ВИНИТИ*, **12**, 65 – 116 (1981).
10. Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, Х. И. Истамов, *Экологическая иммунология*, Изд-во ВНИРО, Москва (1995).
11. P. A. Gabon, *Annals of Internal Medicine*, **105**(1), 16 – 20 (1986).
12. D. Iokobsen, *Acta Med. Skand.*, **216**(3), 409 – 416 (1984).
13. N. K. Jerne, A. A. Nordin, *Science*, **140**(4), 405 (1963).

Поступила 16.11.04.

THE INFLUENCE OF CALCIUM FOLINATE ON THE IMMUNOTOXICITY OF METHANOL

P. F. Zabrodskii[1], V. G. Lim[1], and N. M. Troshkin[2]

[1] Saratov State Medical University, ul. Bol’shaya Kazach’ya 112, Saratov, 410710 Russia
[2] Saratov Military Institute of Radiation, Chemical, and Biological Defense, ul 50-Let Oktyabrya 5, Saratov, 410071 Russia

The experiments on non-inbred rats showed that calcium folinate administered upon acute poisoning ($0.5LD_{50}$) with methanol partly reduced the degree of suppression of the phagocyte metabolic activity of polymorphonuclear leukocytes, the T-dependent humoral immune response, the activity of natural killers, the antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, and the formation of the delay-type hypersensitivity, and completely restores the function of B-cells estimated using the T-independent antibody production.