

Копия Визы
государственный секретарь
Ф.Ф. И. И. 18. 685
Содержательный
Д.И.

УДК: 616-09:615:777.9:616-08



Балабекова Марина Казыбаевна
Зав. кафедрой патологической физиологии, доцент
КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова
ул. Толе би 94 Алматы
balabekovamarina@mail.ru

Поиск новых путей коррекции нарушений, вызванных комбинированным влиянием ванадия и хрома

Под влиянием тяжелых металлов, в т.ч. ванадия и хрома угнетается иммунологическая реактивность организма. Экспериментальным путем дана морфологическая оценка тимуса и изучена хелперно-супрессорная активность лимфоцитов у крыс, затравленных ванадием и хромом. Результаты показали, что под влиянием ванадия и хрома в тимусе крыс отмечается уменьшение площади коркового вещества и снижение корково-мозгового индекса. В периферической крови снижается хелперная активность лимфоцитов и повышается супрессорная активность, что в целом приводит к уменьшению иммунорегуляторного индекса. Под влиянием рувина эти изменения были значительно скорректированы.

Ключевые слова: ванадий, хром, тимус, лимфоциты, рувим, иммунологическая реактивность.

Balabekova Marina

Finding new ways correction disturbances caused by compounds of vanadium and chromium

Under the influence of heavy metals, including vanadium and chromium suppressed immunological reactivity. Given by the experimental morphological assessment of the thymus and to study the helper-suppressor activity of lymphocytes in rats poisoned with vanadium and chromium. The results showed that under the influence of vanadium and chromium in the thymus of rats marked decrease in the area of the cortex and reduced cortical-cerebral index. In peripheral blood lymphocytes decreased helper activity and increased suppressor activity, which generally leads to a decrease of immunoregulatory index. Under the influence of these changes ruvimina were significantly corrected by.

Keywords: vanadium, chromium, thymus, lymphocytes, ruvimin, immunological reactivity.

В связи со сложной экологической ситуацией в мире отмечается угнетение естественных защитных сил организма и реактивности иммунной системы под воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды.

Необходимость изучения состояния иммунной системы диктуется прежде всего ее важностью для поддержания генетического постоянства организма и риском возникновения патологических состояний инфекционной и неинфекционной природы при нарушении функционирования иммунной системы [1]. Так, многочисленные исследования комбинированного влияния химических веществ на организм теплокровных животных свидетельствуют о повышении токсического эффекта на фоне иммунодефицита [2-4]. В исследованиях на животных и наблюдениях на людях подтверждается взаимосвязь между угнетением иммунитета под воздействием химических веществ и повышением риска развития онкологических заболеваний и роста инфекционных болезней [5,6].

интерес-рувим 7

В последние годы в экспериментальных и клинических условиях при лечении патологии разных органов и систем, вызванных факторами различного происхождения, препараты корня солодки показали существенные иммуномодулирующие эффекты [7-11]. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение иммунокорректирующих свойств рувина при ванадий- и хроминдуцированных нарушениях иммунологической реактивности организма.

Материал и методы исследования

Эксперименты выполнены на 90 белых крысах-самцах массой 180-220 г., содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе.

Проведены 3 серии экспериментов 1 серия – экспериментальное воспаление у контрольных животных; 2 серия – животные с воспалением на фоне интоксикации ванадатом аммония (ВА) и бихроматом калия (БК); 3 серия - животные с асептическим воспалением, вызванным на фоне интоксикации солями металлов, и леченные рувином. У опытных животных (2 и 3 группы) интоксикацию солями металлов вызывали введением ВА и БК в дозе по 5 мг/кг м.т. перорально в течение двух недель. По окончании двухнедельной затравки ВА и БК у животных вызывали асептическое воспаление путем подкожного введения 0,3 мл скипидара на вазелиновом масле в межлопаточную область [12], после чего начинали лечение рувином в дозе 50 мг/кг, растворяя в физиологическом растворе и, вводя перорально в объеме 0,5 мл в течение недели. Контрольные животные получали равный объем 0,9% раствора NaCl. Исследования проводили на 7, 14, 30 сутки от начала введения скипидара.

Полученные цифровые данные математически обработаны по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования активности CD3+, CD4+ и CD8+-лимфоцитов у интактных и опытных крыс с экспериментальным воспалением после лечения рувином представлены в таблице 1.

Таблица 1. Хелперно-супрессорная активность лимфоцитов у интактных и у опытных крыс с экспериментальным воспалением, вызванным на фоне интоксикации солями ванадия и хрома и лечения рувином

Серии	CD3+		CD4+		CD8+		ИРИ (CD4+/ CD8+)
	абс	%	абс	%	абс	%	
Через 1 сутки							
1.К+С	1,1±0,1*	57,5±2,08*	0,4±0,04*	33,6±1,27*	0,3±0,03*	24,6±0,98*	1,38±0,05*
2.ВА+БК+С	0,5±0,04 *(***)	50,7±1,88 *(***)	0,2±0,02 *(***)	28,7±1,29 *(***)	0,1±0,01 *(***)	22,4±0,78*	1,28±0,05*
3.М+С+Р	2,9±0,14 *(****)	58,4±1,14 *(***) ****	0,96±0,06 *(****)	33,6±1,1 *(****)	0,7±0,04 *(****)	25,8±0,7 *(****)	1,32±0,05*
Через 7 суток							
1.К+С	2,3±0,17 *(**)	55,6±1,97*	0,8±0,06 *(**)	32,3±1,41*	0,6±0,06 *(**)	24,2±0,96*	1,35±0,06*
2.ВА+БК+С	1,4±0,11 *(***)***	52,9±1,96*	0,4±0,05 *(***)***	29,9±1,06*	0,3±0,04 *(***)***	23,1±1,14*	1,31±0,05*

3.М+С+Р	3,4±0,34 *(***) ****	58,6±1,14 *(****)	1,2±0,12 *(***) ****	34,7±0,8 *(***) ****	0,8±0,1 *(***) ****	24,4±0,84 *	1,44±0,05 *(****) ****
Через 14 суток							
1.К+С	3,3±0,27 *(**)	62,0±1,87 *(**)	1,2±0,11 *(**)	36,2±1,41 *(**)	0,9±0,09 *(**)	26,4±0,8 *	1,37±0,05 *
2.ВА+БК+С	2,4±0,11 *(**)* **	57,2±1,49 *(***)	0,8±0,05 *(**)* **	32,3±1,03 *(***)	0,6±0,03 *(**)* **	25,6±0,82 *	1,27±0,05 *
3.М+С+Р	3,7±0,18 *(**) (****)	70,4±1,66 *(****)	1,6±0,11 *(**) ****	42,8±1,46 *(****)	1,1±0,07 *(**) ****	28,9±1,02 *	1,5±0,06 ****
Через 30 суток							
1.К+С	3,9±0,46 *	68,9±0,92 *(**)	1,6±0,2 *	41,0±1,05 *(**)	1,1±0,13 *	28,5±0,86 *	1,46±0,08 *
2.ВА+БК+С	2,8±0,24 *(****)	64,2±1,7 *(**)* **	1,1±0,12 *(**)* **	37,0±1,28 *(**)* **	0,8±0,08 *(**)* **	28,0±0,82 *(**)	1,33±0,05 *
3.М+С+Р	5,4±0,28 **(***) ****	73,6±1,09 **(***) ****	2,5±0,2 **(***) ****	45,3±1,43 **(***) ****	1,6±0,07 **(***) ****	29,4±1,15 **(***) ****	1,58±0,09 ****
Через 45 суток							
1.К+С	3,3±0,11 *	69,3±0,76 *	1,4±0,08 *	41,4±1,54 *	0,9±0,03 *	28,4±1,07 *	1,49±0,11 *
2.ВА+БК+С	2,8±0,13 *(****)	64,3±1,41 *(****)	1,0±0,06 *(****)	37,3±1,08 *(****)	0,8±0,05 *(****)	27,2±0,88 *	1,38±0,06 *
3.М+С+Р	3,8±0,19 *(***) ****	69,7±1,39 *(****)	1,6±0,11 *(****)	41,7±1,04 *(****)	1,1±0,07 *(***) ****	29,4±0,78 ****	1,42±0,04 *
Примечание: 1 * - $p \leq 0,05$ по отношению к контрольным данным 2 ** - $p \leq 0,05$ по отношению к предыдущим данным 3 *** - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю со скипидаром 4 **** - $p \leq 0,05$ по отношению к металлу со скипидаром							

Результаты исследований хелперно-супрессорной активности лимфоцитов, представленных в таблице 1, показали, что у крыс с экспериментальным воспалением через 1 сутки происходило достоверное снижение CD3+ - лимфоцитов. Так, процентное содержание, также как и абсолютное содержание CD3+ - лимфоцитов по отношению к контролю отставало на 22,1% и 80,4% соответственно. Снижение CD4+ - и CD8+ - лимфоцитов носило приблизительно одинаковый характер и составило для их относительного содержания 24,5% и 17,5%, а для абсолютного – 84% и 82,4% соответственно. ИРИ отставал от контроля на 8,6%.

Исследования через 7 суток показали двукратное увеличение абсолютного содержания лимфоцитов с кластерами дифференцировки CD3+, CD4+ и CD8+, носившее достоверный характер как по отношению к контролю, так и к предыдущему сроку исследования, тогда как их процентное содержание, а также ИРИ оставались практически без изменений (таблица 56).

Только к 14 суткам исследования относительное содержание CD3+ и CD4+ - лимфоцитов наравне с их абсолютными значениями достоверно нарастало как по сравнению с контролем, так и по отношению к предыдущему сроку исследования. Повышение ИРИ к этому сроку исследования было менее выраженным.

Наращение изученных лимфоцитов достигало своего пика к 30 суткам исследований и, лишь ИРИ, к 45 суткам максимально возрастал, заметно приближаясь к контролю.

Таким образом, у интактных крыс с асептическим воспалением уже в первые сутки исследования обнаружилось пятикратное снижение CD3+ -, CD4+ - и CD8+ лимфоцитов, нарастание которых отмечалось в последующие сроки исследований. Однако контрольного уровня их значения так и не достигали.

Исследования, проведенные через 1 сутки после введения скипидара опытным крысам и представленные в таблице 1, показали, что в крови у опытных животных отмечалось резкое уменьшение абсолютного содержания CD3+, CD4+ и CD8+ - лимфоцитов, тогда как их процентное содержание отставало от контроля на 31,3%, 35,5% и 24,8% соответственно. ИРИ от контрольных величин был снижен на 15%.

Последовавшее через 7 суток повышение на 180% общего количества CD3+-лимфоцитов происходило за счет трехкратного увеличения супрессорной активности лимфоцитов, тогда как хелперная активность лимфоцитов нарастала только в 2 раза. Через 14 суток за счет преимущественного увеличения CD4+ - лимфоцитов ИРИ оставался в два раза меньше контрольного уровня.

Несмотря на продолжавшееся нарастание всех изученных параметров, изменения, отмечавшиеся через 30 суток, показали, что отставание от контроля абсолютного содержания CD3+, CD4+ и CD8+ - лимфоцитов составляло почти 50%, а их относительное содержание, впрочем, как и абсолютное, отличалось достоверно низкими значениями в сравнении с контролем и контролем со скипидаром.

Таким образом, течение экспериментального воспаления у крыс, затравленных ВА и БК, во все сроки исследований сопровождалось дефицитом хелперно-супрессорной активности лимфоцитов.

Через 1 сутки после воздействия скипидара у опытных животных, также как и у остальных опытных серий отмечалось достоверное снижение CD3+ -, CD4+ - и CD8+ - лимфоцитов по сравнению с контрольным уровнем. Однако по сравнению с данными опытных животных без лечения абсолютное количество изученных лимфоцитов под влиянием рувимина было в 5-7 раз выше. В течение последующих 14 суток это нарастание продолжалось и к 30 суткам эксперимента содержание CD3+ -, CD4+ - и CD8+ - лимфоцитов полностью восстановилось, превышая данные нелеченных животных в 2 и более раза. К концу эксперимента у этих животных содержание в периферической крови изученных лимфоцитов по сравнению с предыдущим сроком исследования и с контролем достоверно понижалось.

Таким образом, под влиянием рувимина происходило существенное повышение хелперно-супрессорной активности лимфоцитов в периферической крови опытных крыс с экспериментальным воспалением, вызванным на фоне воздействия ванадия и хрома.

Морфологическими исследованиями тимуса установлено, что при введении скипидара интактным крысам расширение коркового вещества тимуса за счет плотно упакованных лимфоцитов отмечалось как на первой, так и на второй неделе исследований. При этом мозговое вещество тимуса оставалось тонким, с четкой границей с корковым веществом, вследствие чего корково-медуллярный индекс повышался.

Через 1 месяц дольки тимуса оставались крупными, но корковое вещество было неравномерно истончено за счет уменьшения количества лимфоцитов (делимфатизации). Мозговой слой расширен, объем стромы увеличен чем в предыдущих сроках. Ретикулоэндотелиоциты крупные, светлые, количество макрофагов увеличено. Тельца вилочковой железы единичные, но крупные, в центре их много дистрофически измененных эпителиальных клеток.

В отличие от интактных крыс со скипидаром Несмотря на то, что у опытных крыс с асептическим воспалением, также, как и у интактных животных через 1 неделю корковый слой тимуса был широким с увеличением количества мелких средних лимфоцитов, а КМИ был увеличен, через 2 недели уже отмечалась неравномерная толщина коркового вещества по сравнению с первым сроком. Толщина коркового слоя была уменьшена, а

КМИ несколько снижался за счет увеличения относительной толщины мозгового вещества, что свидетельствовало об истощении тимуса.

Через 1 месяц истончение коркового вещества продолжалось, в нем было мало лимфоцитов, количество лимфоцитов в мозговом веществе было больше, чем в корковом (инверсия слоев), в связи с этим мозговое вещество окрашивалось в более темный цвет (инверсия окрашивания). Границы между корковым и мозговым веществом нечеткие. Корково-мозговой индекс снижался. Среди телец вилочковой железы преобладали дистрофические изменения, в некоторых тельцах отмечалось отложение солей извести. Появлялись кистозно измененные формы с истончением слоя эпителиальных клеток, накопление макрофагов в этих кистах.

Таким образом, уже ко второй неделе исследований в тимусе крыс с асептическим воспалением, вызванным на фоне воздействия ванадия и хрома, появлялись признаки акцидентальной инволюции тимуса.

Морфологическое исследование тимуса у опытных животных, проведенное через 7 суток от начала воздействия скипидара и коррекции при помощи рувина, показало, что толщина коркового вещества соответствовала норме. Отмечалась четкая граница между корковым и мозговым слоями. Корково-медулярный индекс по сравнению с контролем достоверно не отличался.

Через 14 суток толщина коркового вещества тимуса была снижена из-за перехода лимфоцитов в мозговой слой (рисунок 1). Граница между корковым и мозговым слоями была нечеткой. В мозговом слое тимоцитов было больше, чем в корковом слое (инверсия слоев). В мозговом слое отмечалось увеличение количества макрофагов, происходила активация ретикулоэпителиоцитов. Количество телец вилочковой железы было увеличено, среди эпителиальных клеток встречались дистрофически измененные клетки.

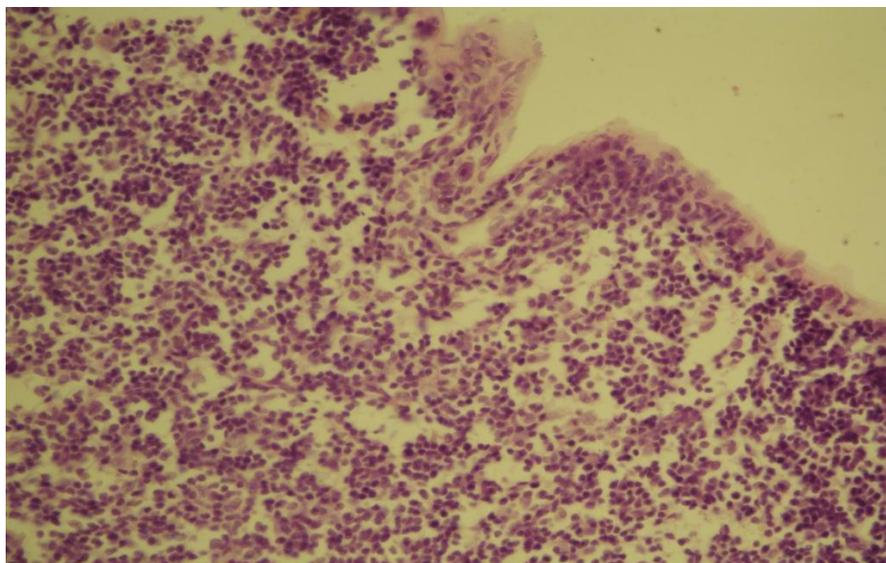


Рис. 1. Микроскопическая картина тимуса через 14 суток после введения скипидара опытным крысам и лечения рувином. Снижение количества лимфоцитов в корковом слое с переходом на мозговой слой (инверсия слоев). Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 200.

Через 30 суток под влиянием рувина в тимусе опытных крыс отмечалось утолщение коркового вещества по сравнению с контролем, восстановление количества лимфоцитов коркового вещества за счет мелких лимфоцитов. В мозговом веществе снижалось содержание макрофагальных элементов. Количество

телец вилочковой железы, без дистрофических изменений эпителиальных клеток, по сравнению с предыдущим сроком было увеличено.

Морфометрическими исследованиями, проведенными через 7 суток, установлено, что в тимусе опытных животных, подвергавшихся воздействию скипидара и лечению рувином, площадь коркового вещества по сравнению с данными нелеченых животных увеличивалась в 1,8 раза, тогда как площадь мозгового вещества – в 1,6 раза, благодаря чему КМИ повышался на 26% (таблица 2).

Однако через 14 суток в тимусе этих животных наметилась тенденция к уменьшению ширины и площади коркового вещества, в последующий срок присоединилось уменьшение ширины и площади мозгового вещества по сравнению с нелечеными животными, что в конечном итоге приводило к снижению КМИ ниже уровня опыта без лечения.

Таблица 2. Морфометрическое исследование тимуса крыс с экспериментальным воспалением, вызванным на фоне интоксикации ВА и БК и лечения рувином ($M \pm m$).

Серии	Ширина коркового вещества, (мкм ²)	Ширина мозгового вещества, (мкм ²)	Площадь коркового вещества, (мкм ²)	Площадь мозгового вещества, (мкм ²)	КМИ (у.е.)
Через 7 суток					
1.К+С	82,6±6,14	137,1±7,47	126912±42716	74925±23429	1,64±0,15
2.ВА+БК+С	102,5±8,23*	205,3±13,61*	236631±55535	159331±49970	1,59±0,21
3.М+С+Р	166,1±18,9 *(***)	388,2±28,86 *(***)	435356±49194 *(***)	255476±41275 *	2,0±0,62
Через 14 суток					
1.К+С	83,6±7,96	106,3±13,37**	122556±44418	77287±38464	2,1±0,57
2.ВА+БК+С	81,4±3,77**	187,0±9,12*	176071±42087	131447±37659	1,57±0,33
3.М+С+Р	80,4±7,34 **	350,7±43,04 *(***)	146725±36990 **	161015±75606	1,81±0,63
Через 30 суток					
1.К+С	91,6±7,18	251,9±16,7**	177702±24512	177687±60853	1,34±0,34
2.ВА+БК+С	156,9±10,89 *(**)	331,2±14,23 *(**)	271796±50220	164659±49515	2,05±0,4
3.М+С+Р	86,3±7,71 ***	266,2±25,08 ***	122521±36458 ***	81445±27471	1,85±0,57
Примечание: 1 * - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю со скипидаром 2 ** - $p \leq 0,05$ по отношению к предыдущим данным 3 *** - $p \leq 0,05$ по отношению к металлу со скипидаром					

Таким образом, в результате морфологических и морфометрических исследований установлено, что под влиянием рувина у опытных крыс с асептическим воспалением в течение двух недель отмечалось уменьшение ширины и площади коркового слоя тимуса из-за перехода лимфоцитов в мозговой слой, что приводило к снижению КМИ. Благодаря восстановлению количества мелких лимфоцитов на 30 сутки эксперимента отмечалось утолщение коркового вещества.

Список литературы:

1. Петров Р.В. Иммунология. —М.: Медицина, 1987. —416 с.

2. Гришанин В.А., Николаевич М.С. Состояние неспецифической резистентности организма у лиц, подвергшихся воздействию малых доз ионизирующего излучения
// Медицина труда и пром. экология. —1993. —N 910. —С. 23—25.
3. Добровольский М.А. Хроническое действие малых доз цезия¹³⁷ и ДДТ на репродуктивную функцию и их гигиеническая оценка // Актуальные проблемы влияния ионизирующего излучения на репродуктивную функцию. Тез. докл. конф. СНГ. —Обнинск: Медицинский радиолог. научн. центр, 1992. —С. 24—26.
4. Хагиров Дж., Магомедов М.Г. Репродуктивная функция при сочетанном действии малых доз ионизирующей радиации и ядохимикатов // Актуальные проблемы влияния ионизирующего излучения на репродуктивную функцию. Тез. докл. конф. СНГ. —Обнинск: Медицинский радиолог. научн. центр, 1992. —С. 70—73.
5. Miller K. Review. Immunotoxicology // Clin. exp. immunol. —1995. —61, N 2. —P. 219—223.
6. Repetto R., Baliga S.S. Pesticides and the immune system: The Public Health Risks. — World Resources Institute, 2001. —P. 858.
7. Ордабаева С.К., Арыстанова Т.А., Рахимов К.Д. и др. Компоненты корня солодки как природные субстраты для получения лекарственных средств. //Здоровье семьи
— XXI век: Материалы XIV Международной научной конференции. Часть II — Пермь: ОТ и ДО, 2010. — С. 341-342.
8. Оболенцева Г.В., Литвиненко В.И., Аммосов А.С. и др. Фармакологические и терапевтические свойства препаратов солодки (обзор). //Хим.-фармац. журнал. — 1999. - № 8. — С. 24-31.
9. Шукирбекова А.Б. Перспективы использования компонентов корня солодки в разработке противовирусных лекарственных препаратов. //Фармация Казахстана. — 2006. - № 2. — С. 38039.
10. Хайруллина З.С. Сравнительный анализ фармако-экономической эффективности применения масла солодки в комплексном лечении больных бронхиальной астмой.
//Астана мед. журналы. — 2007. - № 1 (37). — С. 60-62.
11. Арыстанова Т.А., Ордабаева С.К., Дуйсебаева С.С. Фармакологические свойства биологически активных соединений корня солодки и их производных. // Астана мед. журналы. — 2004. - № 2 — С. 22-28.
12. Руководство к практическим занятиям по патологической физиологии // Под редакцией Лосева Н.И. Москва. — Медицина. 1985. С. 198.