

П.Ф. Забродский, А.Н. Чуев

**Иммунопатология сочетанного действия
диметилдихлорвинилфосфата и механической
травмы**

МОНОГРАФИЯ

© П.Ф. Забродский, 2012

© А. Н. Чуев, 2012

ISBN 978-5-91272-254-66

УДК 612.014.46:616-012
ББК 52.84+52.54+52.8 Я 2
з-114

САРАТОВ-2012

ОГЛАВЛЕНИЕ

стр.

Перечень сокращений

Введение

Глава 1. Нарушения физиологической регуляции антиинфекционной неспецифической резистентности организма и иммуногенеза при действии фосфорорганических соединений и механической травмы

- 1.1. Общая характеристика фосфорорганических веществ
- 1.2. Токсикологические свойства диметилдихлорвинилфосфата
- 1.3. Нарушения физиологической регуляции иммунного гомеостаза при остром отравлении фосфорорганическими соединениями
- 1.4. Изменение неспецифической резистентности организма, иммуногенеза, функции Т- и В-звена иммунитета при травматическом повреждении
- 1.5. Предполагаемые нарушения физиологических механизмов регуляции иммунного гомеостаза при сочетанном действии острого отравления диметилдихлорвинилфосфата и механической травмы

Глава 2. Материал и методы исследований

- 2.1. Объект исследования и применяемые препараты
- 2.2. Исследование интегрального состояния антиинфекционной неспецифической резистентности организма при сочетанном действии ДДВФ и механической травмы
- 2.3. Определение параметров неспецифической резистентности организма

- 2.3.1. Сывороточная активность лизоцима
 - 2.3.2. Тромбоцитарный катионный белок сыворотки крови (β -лизин)
 - 2.3.3. Определения фагоцитарной активности нейтрофилов
 - 2.4. Определение колониеобразующих единиц в селезенке
 - 2.5. Исследование функционального состояния лимфоидных органов
 - 2.5.1. Оценка лимфоидного индекса тимуса и селезенки
 - 2.5.2. Определение содержания Т-лимфоцитов в тимусе и лимфоцитов в селезенке, лимфатических узлах, костном мозге и циркулирующей крови
 - 2.6. Оценка кооперации Т- и В- лимфоцитов *in vitro*
 - 2.7. Исследование гуморального звена иммунного ответа
 - 2.8. Исследование клеточного звена иммунного ответа
 - 2.8.1. Оценка функции Т-лимфоцитов
 - 2.8.2. Исследование реакции гиперчувствительности замедленного типа
 - 2.8.3. Исследование антителозависимой клеточной цитотоксичности
 - 2.8.4. Исследование естественной цитотоксичности (активности естественных клеток-киллеров - ЕКК)
 - 2.9. Оценка активности эстераз Т-лимфоцитов
 - 2.10. Исследование концентрации кортикостероидов в плазме крови
 - 2.11. Методы статистической обработки результатов исследований
- Глава 3. Действие острого отравления ДДВФ в сочетании с механической травмой на интегральное состояние неспецифической и иммунологической резистентности организма и факторы неспецифической защиты
- 3.1. Изменение антиинфекционной неспецифической и иммунологической резистентности организма при экспериментальном перитоните
 - 3.2. Изменение неспецифической и иммунологической

резистентности организма при экспериментальном пневмонии

- 3.3. Влияние острого отравления ДДВФ в сочетании с травматическим повреждением на обсемененность селезенки и циркулирующей крови
- 3.4. Сывороточная активность лизоцима при остром отравлении ДДВФ в сочетании с травмой
- 3.5. Сывороточная активность тромбоцитарного катионного белка при остром действии ДДВФ в сочетании с травмой
- 3.6. Фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов при острой интоксикации ДДВФ в сочетании с травмой

Резюме

Глава 4. Сочетанное действие острого отравления ДДВФ и механической травмы на основные клеточные иммунные реакции

- 4.1. Оценка функции Т-лимфоцитов
- 4.2. Исследование реакции гиперчувствительности замедленного типа
- 4.3. Изучение антителозависимой клеточной цитотоксичности
- 4.4. Определение функции естественных клеток-киллеров

Резюме

Глава 5. Сочетанное действие острого отравления ДДВФ и механической травмы на гуморальный иммунный ответ

- 5.1. Влияние на тимусзависимые гуморальные иммунные реакции
 - 5.1.1. Действие на динамику антителообразования к тимусзависимому антигену
 - 5.1.2. Исследование действия на число антителообразующих клеток
 - 5.1.3. Оценка числа РОК в селезенке
 - 5.1.4. Нарушение кооперации Т- и В-клеток при формировании антителообразования *in vitro*
- 5.2. Исследование тимуснезависимого гуморального иммунного ответа
 - 5.2.1. Оценка антителопродукции к тимуснезависимому антигену

в динамике по титру антител в крови

- 5.2.2. Исследование содержания антителообразующих клеток
в селезенке к тимуснезависимому антигену

Резюме

Глава 6. Сочетанное действие острого отравления ДДВФ и механической травмы на функциональное состояние тимуса, селезенки, перераспределение лимфоцитов в органах системы иммунитета

- 6.1. Изменение лимфоидных индексов тимуса и селезенки
6.3. Содержание лимфоцитов в органах системы иммунитета
6.3.1. Оценка содержания лимфоцитов в тимусе и селезенке
6.3.2. Содержание лимфоцитов в костном мозге и лимфоузлах
6.3.3. Исследование содержания лимфоцитов в циркулирующей крови

Резюме

Глава 7. Оценка функции коры надпочечников и активности эстераз в иммуноцитах при остром отравлении ДДВФ в сочетании с механической травмой

- 7.1. Исследование содержания кортикостерона
7.2. Определение активности эстераз иммуноцитов

Резюме

ГЛАВА 8. Коррекция нарушений физиологической регуляции иммунного гомеостаза при сочетанном действии острого отравления ДДВФ и механической травмы на основные показатели системы иммунитета

- 8.1. Обоснование эффективной иммунокоррекции нарушений физиологической регуляции иммунного гомеостаза после травмы, острого отравления ДДВФ и их сочетанного эффекта
8.2. Влияние дипироксима, Т-активина и миелопида на НРО и основные показатели гуморального иммунного ответа
8.3. Влияние дипироксима, Т-активина и миелопида на основные показатели клеточного иммунного ответа

Резюме

Заключение

Выводы

Практические рекомендации

Литература

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

- АЗКЦ** - антителозависимая клеточная цитотоксичность
- АОК** - антителообразующие клетки
- БОВ** – боевые отравляющие вещества
- ГГНС** - гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система
- ГЗТ** - гиперчувствительность замедленного типа
- ГМ-КСФ** – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
- ДНК** - дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЕКК** - естественные клетки-киллеры
- ЕЦ** - естественная цитотоксичность
- ИКК** – иммунокомпетентные клетки
- ИЛ-1 (2 и т.д.)** - интерлейкин-1 (2 и т.д.)
- К-клетки** – клетки-киллеры (лимфоциты, определяющие АЗКЦ)
- КА** - катехоламины
- КМ** - костный мозг
- КОЕ** - колониеобразующая единица
- КОЕс** - колониеобразующая единица селезенки
- КонаА** - конканавалин А
- КС** - кортикостероиды
- ЛИ** – лимфоидный индекс
- НИРО** - неспецифическая и иммунологическая резистентность организма
- НРО** - неспецифическая резистентность организма
- ОДЛТА** – отрицательный двоичный логарифм титра антител
- П-СКК** – примитивная стволовая кроветворная клетка
- ПЯЛ** – полиморфноядерные лейкоциты
- РНК** – рибонуклеиновая кислота

PTMЛ – реакция торможения миграции лейкоцитов

СВО - системный воспалительный ответ

СКК - стволовая кроветворная клетка

ТКБ – тромбоцитарный катионный белок

ТХВ - токсичные химические вещества

Th1 – Т-лимфоциты- хелперы типа 1

Th2 – Т-лимфоциты- хелперы типа 2

ФГА – фитогемагглютинин

ФОВ – фосфорорганические вещества

ФОС - фосфорорганические соединения

СКК - стволовые клетки крови

ЦНС - центральная нервная система

ЭБ - эритроциты барана

ЭК - эритроциты кур

Ig - иммуноглобулин

LD50 - средняя смертельная доза, вызывающая смертельный исход у 50%
отравленных

Vi-антиген (Vi-Ag) - тимуснезависимый Vi - антиген брюшнотифозной
вакцины

ВВЕДЕНИЕ

Изучение влияния химических ксенобиотиков на иммунный гомеостаз представляет интерес для физиологов, токсикологов и иммунологов в связи со следующими обстоятельствами: во-первых, в настоящее время происходит колоссальное загрязнение окружающей среды различными соединениями, извращающими иммунные реакции и вызывающими связанные с нарушением иммунного статуса различные заболевания; во-вторых, врачи различных специальностей осознают необходимость коррекции нарушений иммунного гомеостаза как в случае хронических интоксикаций, так и при острых отравлениях, связанных с авариями на химических предприятиях, несчастных случаях на производстве, в быту, при транспортировке, хранении и уничтожении запасов отравляющих веществ [Забродский П. Ф., 1998; Descotes G., 1986]. Наиболее важно изучение влияния ФОС на нарушение регуляции иммунного гомеостаза в связи с возможностью аварий на химических объектах, занимающихся уничтожением огромных запасов боевых отравляющих веществ (БОВ). Особую актуальность эта проблема приобрела в связи с тем, что в последнее время любая химическая авария сопровождается не только отравлением, но и патологическими нарушениями, обусловленными механическими травмами и ожогами [Леков Д.С. и соавт., 1990; Сергеев Г.В., Нечаев Э.А., 1990; Янковская А.Е. и соавт., 1992]. Загрязнение окружающей среды ФОС снижает гуморальный и клеточный иммунный ответ, обуславливает различные инфекционные, онкологические и аллергические заболевания [Шубик 1976; Каган Ю.С., 1977; Хайтов Р. М. и соавт., 1995; Забродский П. Ф., 1998; Loose L.D., 1985; Miller K., 1985; Descotes J., 1986; Luster M. I. et al., 1987]. Из ТХВ, способных вызвать массовые отравления, ФОС (особенно диметилдихлорвинилфосфат) наиболее опасны [Саватеев Н.В., Куценко С.А., 1983]. Поражения данными ядами характеризуются высокой смертностью

отравленных. Из числа больных, поступивших в лечебные учреждения, погибает 20-25% [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000]. Несомненно, что в танатогенезе при отравлениях ФОС (особенно в сочетании с механической травмой) существенную роль играет нарушение регуляции иммуногенеза, снижение функции Т- и В-системы иммунитета [Забродский П.Ф., 1993; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001]. В связи с этим, одной из актуальных проблем патологической физиологии в настоящее время является оценка нарушения состояния неспецифической резистентности организма (НРО) и системы иммунитета после острых отравлений фосфорорганическими соединениями [Забродский П.Ф., 1993; 1998; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001; Descotes G., 1986; Luster M. J. et al., 1987; Sullivan J. B., 1989] при их сочетании с тяжелой механической травмой.

Проблема изучения сочетанного действия острого отравления ФОС в сочетании с механической травмой на иммунный гомеостаз актуальна также в связи с тем, что в настоящее время при возможных террористических актах применение ФОС наиболее вероятно и, как правило, поражения данными соединениями будут сочетаться с механическими повреждениями, обуславливающими травматическую болезнь с выраженным иммунодефицитом [Кожевников В.С и соавт., 1991]. Описано отравление зарином 600 человек в Мацумото (Япония) 27 июня 1994 года в результате террористического акта [Morita H. et al., 1995]. Общеизвестна газовая атака зарином, проведенная сектой «Аум Сенрике» в Токийском метро в марте 1995 году, в результате которой пострадало 5000 человек [Masuda N. Et al., 1995]. У части лиц, пострадавших при данных террористических актах, острое отравление сочеталось с различными механическими травмами. В настоящее время формирование иммунодефицитного состояния при сочетанном действии ФОС и механической травмы практически не исследованно.

Исследование основных нарушений иммунного гомеостаза при

сочетанном остром отравлении ФОС и механической травме имеет важное значение для целенаправленного применения иммуномодуляторов из большого арсенала известных сейчас веществ данного класса для профилактики инфекционных осложнений и заболеваний. Следует подчеркнуть, что вопрос о фармакологической коррекции нарушений иммунного гомеостаза под влиянием механической травмы в сочетании с острым отравлением ФОС в постинтоксикационном периоде до сих пор практически не исследован и нуждается в изучении. Существенное улучшение способов профилактики и лечения постинтоксикационного иммунодефицитного состояния при действии ФОС в сочетании с травмой позволит значительно снизить инфекционные осложнения и заболевания.

Таким образом, учитывая достаточно широкое распространение и использование ФОС, в частности, диметилдихлорвинилфосфата в сельском хозяйстве и быту, возможность аварий при уничтожении БОВ, относящихся к фосфорорганическим антихолинэстеразным соединениям, высокую смертность при отравлении ими, недостаточно изученные особенности их действия на систему иммунитета, возможное сочетание острых отравлений с механической травмой при авариях, катастрофах и террористических актах следует заключить, что проблема изучения нарушения иммунного статуса в постинтоксикационный период (посттравматический период) с целью разработки способов их коррекции для профилактики инфекционных осложнений и заболеваний актуальна и важна как в теоретическом, так и в практическом отношении.

Цель исследования: изучение нарушения регуляции иммунного гомеостаза при сочетанном действии острого отравления ФОС диметилдихлорвинилфосфата в сочетании с тяжелой механической травмой в условиях эксперимента на животных и обосновать способы коррекции выявленных сдвигов различных параметров системы иммунитета.

ГЛАВА 1

НАРУШЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ АНТИИНФЕКЦИОННОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА И ИММУНОГЕНЕЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

1.1. Общая характеристика фосфорорганических веществ

ФОС представляют собой большую группу токсичных химических веществ (ТХВ), обладающих антихолинэстеразным эффектом, с реализацией которого связана характерная картина острой интоксикации [Саватеев Н.В., 1978; Мошкин Е.А. и соавт., 1980; Лужников Е.А., 1982; Лудевиг Р., Лос К., 1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000; Бадюгин И.С. и соавт., 1992; Маркова И.В. и соавт., 1998].

Основной механизм действия ФОС на системы и органы организма – ингибирование ацетилхолинэстеразы. Это вызывает накопление ацетилхолина в центральной нервной системе (ЦНС), мозговом веществе надпочечников, ганглиях вегетативной нервной системы, а также в синаптической щели нервных окончаний парасимпатического отдела нервной системы, подходящим к м-холинорецепторам внутренних органов. Кроме того, ацетилхолин выделяется из пресинаптической мембраны нервных окончаний симпатической нервной системы, иннервирующей потовые железы, и соматической нервной системы (синапсы скелетных мышц). В результате действия ацетилхолина реализуется мускариноподобное, никотиноподобное и центральное действие ФОС [Лудевиг Р., Лос К., 1983; Могуш Г., 1984; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000]. Неантихолинэстеразным

механизмами действия ФОС [Прозоровский В.Б., Саватеев Н.В., 1976] является их способность фосфорилировать некоторые белки, действовать на м- и н-холинорецепторы (курареподобный эффект), взаимодействовать с протеолитическими ферментами, оказывать воздействие на адренергические структуры, способствующее увеличению секреции ацетилхолина из нервных окончаний) [Прозоровский В.Б., Саватеев Н.В., 1976; Саватеев Н.В., 1978; Виноградов В.М. и соавт. 1985; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000].

При острых отравлениях ФОС возникают поражения многочисленных органов и систем, что проявляется психоневрологическими симптомами, нарушением функции дыхания, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, печени, почек и других органов и систем [Голиков С.Н., 1968; Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 1989, 2000]. Наиболее частыми осложнениями тяжелых отравлений ФОС являются пневмонии, поздние интоксикационные психозы и полиневриты [Лужников Е.А., Костомарова Л.Г., 2000].

Существуют основания полагать, что одной из причин постинтоксикационной пневмонии является нарушение механизмов физиологической регуляции системы иммунитета [Забродский П.Ф., 1998]. Возможны и другие инфекционные осложнения и заболевания после острого отравления ФОС, а также патологические нарушения, тесно связанные с изменением регуляции иммунного гомеостаза: мутагенное, канцерогенное, демиелизирующий эффект и аллергические реакции [Каган Ю.С., 1977].

1.2. Токсикологические свойства диметилдихлорвинилфосфата

ДДВФ (вапона, винилфосфат, дихлофос, перкола, нуван, геркол) является эфиром эфиры алкилфосфорной кислоты (О,О-диметил-О,2,2-дихлорвинилфосфат). ДДВФ является бесцветной, прозрачной жидкостью с

неприятным запахом. Молекулярный вес составляет 220,99 Да; точка кипения – 120°C при давлении 3 мм рт. ст. и 74°C при - 3 мм рт. ст. Летучесть равна 145 мг/кг при 20° и 350 мг/кг – при 30°C. В воде растворимость ДДВФ составляет 10 г/л [Каган Ю.С., 1977]. Дихлофос быстро разрушается во внешней среде. При 20°C в воде гидролизуется 50% ДДВФ в течение 61,5 сут, а при температуре 70°C – за 25 мин.

Используется для уничтожения малярийных комаров, эффективен против растительноядных клещей, щитовок, мух, минирующей моли, практически всех видов насекомых, дезинсекции транспортных самолетов и складов. В сельском хозяйстве используется в виде 50% эмульсии [Голиков С.Н., 1968; Каган Ю.С., 1977; Лудевиг Р., Лос К., 1983].

Являясь высокотоксичным соединением, ДДВФ в экспериментальных исследованиях может использоваться для моделирования иммуотропных эффектов боевых ФОВ [Забродский П.Ф., 1993; 1995; 1998; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001].

Острое отравление ДДВФ характеризуется типичной клинической картиной проявления интоксикации ФОС. В опытах на крысах показано, что ЛД₅₀ для данного вида животных составляет при внутрижелудочном введении 25-60 мг/кг. При нанесении на кожу ЛД₅₀ ДДВФ равно 107 мг/кг для самцов и 75 мг/кг для самок крыс [Голиков С.Н., 1968]. По данным С.Д. Ковтуна (1980) ЛД₅₀ ДДВФ для белых крыс составляет 32-40 мг/кг при внутрибрюшинном введении. [С.Д. и соавт., 1980], а при поступлении внутрь - [Западнюк И.П. и соавт., 1983]. Для морской свинки, белых крыс и кролика при внутрижелудочном поступлении ЛД₅₀ дихлофоса составляет соответственно 80,0±11,8 и 56,0±5 и 15 мг/кг [Западнюк И.П. и соавт., 1983].

Среднелетальная доза ДДВФ для белых крыс при подкожном введении яда составляет 65,0± 2,5 мг/кг [Беликов В.Г., 2000] По данным Забродского П.Ф. и Линючева М.Н. (1993) ЛД₅₀ ДДВФ для мышей обоего пола при

внутрибрюшинном и пероральном введении составляет $40,0 \pm 0,8$ и $126,0 \pm 5,7$ мг/кг соответственно. В организме хлорофос метаболизируется, образуя ДДВФ, поэтому признаки отравления этих ФОС очень похожи. В концентрации $8,2 \cdot 10^{-7}$ М ДДВФ ингибирует активность холинэстеразы эритроцитов крупного рогатого скота на 50% [Голиков С.Н, 1968].

Таким образом, LD_{50} ДДВФ для неинбредных белых мышей и крыс составляет при различных путях введения от 25 до 126 мг/кг. Самцы крыс более устойчивы к действию дихлофоса. Наиболее чувствительны к ДДВФ кролики. Учитывая вполне закономерную вариабельность при оценке токсикометрических параметров, данные литературы не позволяют однозначно утверждать о существенном отличии LD_{50} мышей и крыс при различных путях введения яда.

1.3. Нарушения физиологической регуляции иммунного гомеостаза при остром отравлении фосфорорганическими соединениями

Неспецифические факторы защиты (или резистентности) организма (НРО) тесно связаны с иммунной системой. Иммунный гомеостаз обеспечивается не только специфическими реакциями, включающими функцию Т- и В-систем иммунитета, но и комплексом неспецифических факторов: фагоцитарной активностью, системами комплемента и пропердина, системами интерферонов, лизоцима, тромбоцитарного катионного белка (β -лизина), белков острой фазы, эндогенных пептидов антибиотиков и др. [Descotes J., 1986; и соавт., 2000]. Данные факторы одни авторы определяют, как пассивный иммунитет [Ройт А., 1991], другие считают их доиммунными биологическими механизмами резистентности к инфекциям [Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Описано непосредственное действие ФОС (диизопропилфторфосфата и других соединений) на мембрану лейкоцитов, в результате чего изменяется

концентрация калия, натрия и кальция в клетках [Woodin A.M., Wieneke A.A., 1969; Taurog J.D., et al., 1979]. Это приводит к снижению хемотаксиса лейкоцитов [Woodin A.M., Wieneke A.A., 1969; Woodin A.M., Harris A., 1973], уменьшению секреции гистамина, серотонина, β -глюкоронидазы и лизоцима из лейкоцитов, причем определенную роль в данном процессе играет снижение активности неспецифических эстераз данных клеток [Becker E.L., et al., 1967]. Существуют основания считать, что ацетилхолин при острой интоксикации ФОС легкой и средней степени тяжести способен оказывать противоположный эффект [Dulis V.H. et al., 1979].

При хронической интоксикации фосфорорганическими пестицидами происходит снижение фагоцитарной активности нейтрофилов [Золотникова Г.П., 1980; Перельгин В.М. и соав., 1971; Hermanowicz A., Kossman S., 1984]. С уменьшением этого показателя под влиянием ФОС связывают повышенную частоту заболеваний верхних дыхательных путей у лиц, контактирующих с фосфорорганическими инсектицидами [Золотникова Г.П., 1980; Hermanowicz A., Kossman S., 1984]. В начальном периоде хронической интоксикации (2-3 месяца) фагоцитарная активность нейтрофилов повышается, затем наступает ее существенное снижение [Перельгин В.М. и соав., 1971]. Острая интоксикация карбофосом приводит к снижению функции лейкоцитов [Пирцхалава А.В., 1989] и перитонеальных макрофагов [Жамсаранова С.Д. и соавт., 1988]. Использование модели экспериментальной сальмонеллезной инфекции у мышей позволило выявить снижение неспецифической резистентности организма под действием фосфамида и альбуша при дозе, в 10 раз меньшей по сравнению с общепринятыми показателями. Фосфамид и альбуш воздействовали на сопротивляемость организма к инфекции в одинаковой степени. Установлена также количественная зависимость между заболеваемостью населения кишечными инфекциями и интенсивностью применения агрохимикатов [Чугунихина Н.В., Хасанова М.И., 1994].

Существуют основания считать, что снижение неспецифических факторов резистентности организма при увеличении ФОС (армина) в диапазоне доз от 0,75 до 1,0 ЛД₅₀ по сравнению с активирующим эффектом меньших доз [Забродский П.Ф., 1987], видимо, связано с инактивацией эстераз нейтрофилов [Хейхоу Ф.Г.Дж, Кваглино Д., 1983] и лимфоцитов [Ferluga J. et al., 1972]. При этом повышающий антиинфекционную неспецифическую резистентность организма. Эффект ацетилхолина (и обусловленное его действием увеличение концентрации в крови кортикостероидов [Денисенко П.П., 1980]) при интоксикации ФОС в относительно малых дозах, видимо, превышает супрессирующее действие, связанное с ингибированием эстераз клеток крови [Забродский П.Ф., 1987; 1995].

Повышение под влиянием холинергической стимуляции (ацетилхолина) функции естественных клеток-киллеров [Wietrowt R.W. et al., 1978; Grabczewska E. et al., 1990], возможно, являющихся одним из основных факторов, определяющих антиинфекционную неспецифическую резистентность организма под влиянием острого действия ФОС [Забродский П.Ф., 1986, 1987, 1993].

Данные литературы позволяют считать, что нарушение неспецифической резистентности организма (НРО) под влиянием ФОС могут быть обусловлены нарушением функции нейрогуморальных механизмов [Корнева Е.А., 1990], увеличением в плазме крови гормонов гипофиза, глюкокортикоидов и биогенных аминов [Кузьминская У.А. и соавт., 1980; Забродский П.Ф., 1993; Szot R.J., Murphy S.D., 1970], действием ацетилхолина на холинорецепторы нейтрофилов [Dulis V.H. et al., 1979], изменением в клетках крови содержания циклических нуклеотидов [Henson P.M., Oades Z.G., 1976], ингибированием эстераз нейтрофилов и моноцитов [Забродский П.Ф., 1993; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001; Хейхоу Ф.Г.Дж, Кваглино Д., 1983; Ferluga J. et

al, 1972] и системы комплемента [Becker E.Z. et al., 1956, 1964, 1966, 1967, 1971, 1976].

Изучение действия ФОС на гуморальный иммунный ответ началось в начале 60-х годов прошлого столетия. В этом период исследования были сосредоточены в основном на эффектах, обусловленных хроническим воздействием фосфорорганических инсектицидов (ФОИ) [Феерман И.С. и соавт., 1964; Штенберг А.И., Джунусова Р.М., 1968; Фризман Г.И., 1970]. Было установлено, что фосфорорганические вещества вызывают снижение антителообразования. При последующем изучении функции гуморального иммунного ответа после хронического воздействия метилмеркаптофоса, хлорофоса, циклофоса и других ФОС эти результаты были в целом подтверждены с помощью различных методов исследования гуморальной иммунной реакции [Николаев А.И. и др., 1972; Диноева С.К., 1974; Забродский П. Ф. , 1986; Жминько П.Г., 1986; Присяжнюк Т.Н. и соавт., 1986; Desi I., Varga L., 1983]. Было установлено, что при ежедневном поступлении хлорофоса в диапазоне доз от 5 до 100 мг/кг в организм крыс с водой через 1 месяц увеличивалось количество лимфоцитов в периферической крови, затем содержание этих клеток в тимусе и селезенке уменьшалось пропорционально суточной дозе яда [Иванов В.В., 1986]. У лиц, работающих с ФОС, изменялись корреляционные связи внутри пула лимфоцитов и нейтрофилов, зависимость между содержанием В-лимфоцитов и общим количеством лимфоцитов [Федоров С.М. и соавт., 1988]. Несущественное уменьшение антителопродукции под влиянием метилпаратиона сопровождалось существенной редукцией лимфоидного индекса селезенки. При хронической пероральной интоксикации роннелом (фенхлорфосом) отмечали снижение лимфоидного индекса тимуса в зависимости от дозы и экспозиции в 1,4 - 2 раза. [Rodica G., Srefania M., 1973].

Нарушение иммунного гомеостаза людей при острых интоксикациях ФОИ до сих пор практически не изучено, что обусловлено определенными методическими трудностями и отсутствием у клиницистов единого подхода к получению и анализу лабораторных данных. Ряд публикаций свидетельствуют о том, что у больных через 1 сутки после отравления ФОС снижается содержание иммуноглобулинов в крови, а через 7-10 сут отмечается увеличение IgG и IgA. При этом содержание IgM не изменяется [Ананченко В.Г. и соавт. 1987; Решетова Н.В. и соавт., 1987].

У людей, подвергшихся воздействию ФОС, значительно чаще встречаются лимфопролиферативные заболевания. ФОС тормозят активность эстераз в моноцитах, цитотоксических Т-лимфоцитах, интактных и активированных лимфокинами естественных киллеров. Эти эффекты ФОС ослабляют иммунологический контроль и эффекторные функции, опосредуемые данными видами клеток. Развитие лимфомы часто связано с присутствием вируса Эпштейна-Барра и человеческого герпесвируса-6, иммунитет к которым опосредуется моноцитами, Т-лимфоцитами и естественными киллерами. Выдвигается гипотеза, что торможение активности эстераз иммунокомпетентных клеток, вызываемое ФОС, ослабляет процесс эстеразозависимой детоксикации, в результате чего способствует развитию процесса лимфомогенеза. Кроме того, снижение активности эстераз подавляет иммунитет к таким патогенам, способствующим развитию лимфом, как герпесвирусы [Newcombe D.S. ,1991].

Формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) при пероральном поступлении в течение двух месяцев у крыс Вистар снижал форматион в дозе 0,01 ЛД₅₀. Авторы связывали это только (не совсем, на наш взгляд, обоснованно) с увеличением содержания в крови кортикостерона (КС) [Хусинов А.А. и соавт., 1991]. Зависимость антителопродукции от концентрации в циркулирующей крови КС после интоксикации ДДВФ

[Забродский П.Ф., 1993] и от ряда других более значимых факторов в последующем была подтверждена [Забродский П.Ф., Германчук В.Г. 2000; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001].

При изучении иммунотоксических свойств метилпаратиона зарегистрировано существенное уменьшение реакции ГЗТ на туберкулин у кроликов после получения ими пестицидов в различных дозах в течение 10 и 24 суток. Снижение формирования ГЗТ прямо зависело от дозы и времени интоксикации. Так, метилпаратион в дозах от 0,04 до 1,50 мг/кг, получаемых ежедневно, через 24 дня уменьшал реакцию на повторные введения туберкулина от 1,2 до 2,8 раз. На 10-е сутки после ежедневного получения пестицидов дозозависимый эффект для метилпаратиона и большинства исследованных пестицидов отсутствовал [Street J.C., Sharma R.P., 1975]. Курение и потребление алкоголя потенцировали, вызываемые метилпаратионом повреждения лимфоцитов [Sunil K. K.V, 1993], что, вероятно, обусловлено более выраженным повреждением структуры ДНК лимфоцитов [Москалева Е.Ю. и соавт., 1993].

В опытах на крысах и мышах показано [Забродский П.Ф., Мышкина А.К., 1989], что при применении ФОС (армина) за 1 ч до введения разрешающей дозы антигена существенно уменьшалось формирование ГЗТ. Снижение иммуногенности спленоцитов в опытах по изучению формирования ГЗТ при различных моделях может быть связано с ингибированием ФОС эстераз иммунокомпетентных клеток [Ferluga J. et al., 1972]. Показано, что под влиянием холинергической стимуляции равновероятны два процесса: относительное увеличение в селезенке количества либо Т-эффекторов и Т-хелперов, либо клеток-супрессоров. На эти процессы существенное влияние оказывает стимуляция м-холинорецепторов ацетилхолином [Richman D.P., Arnason B.G.W., 1979], концентрация которого после действия ФОС в синапсах и циркулирующей крови повышается. Результаты проведенных опытов

позволили авторам заключить, что ФОС (армин) в дозе 0,7 ЛД₅₀ изменял формирование реакции ГЗТ, характер проявления которой на разных моделях в основном связан с особенностями миграции Т-лимфоцитов из селезенки. При рассмотрении иммуотропных эффектов ФОС следует учитывать, что дифференцировка и созревание Т-лимфоцитов регулируется имеющимися на эпителиальных клетках тимуса никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторы [Tomimasa K. et al., 1989], а также (как уже указывалось) наличием м- и н-холинорецепторов на лимфоцитах [Richman D.P., Arnason B.G.W., 1979; Masini et al., 1985; Rossi A. et al., 1989].

При хроническом воздействии фосфорорганических инсектицидов на рабочих отмечалось ингибирование Т-клеточного эффекта на митогенную стимуляцию фитогемагглютинином и уменьшение содержания Е-РОК в крови [Золотникова Г.П., 1978; Кащенко Л.А., и соавт. 1981].

Хлорофос существенно снижал реакцию трансплантат против хозяина и фагоцитарное число [Жамсаранова С.Д. и соавт., 1990]. J.C. Street и Sharma R.P. (1975) установили, что угнетение клеточного иммунитета при интоксикации ФОС сопровождается изменением иммунной структуры лимфатических фолликулов селезенки, в частности, уменьшением тимусзависимых зон в этом органе с атрофией коры тимуса.

Сопоставление иммуотоксичности антихолинэстеразных препаратов, относящихся к ФОС, и производных карбаминовой кислоты, обладающих антихолинэстеразным эффектом, показало различное действие дитиокарбаматов на ряд иммунологических параметров *in vitro* и на выживаемость *in vitro* лимфоцитов самок мышей. Эффект зависел от дозы, отмечалось различное влияние на массу тимуса и селезенки, активность естественных клеток-киллеров (ЕКК). Диэтилдитиокарбамат и этилен-бис-дитиокарбамат в отличие от метилдитиокарбамата при введении в желудок в дозах 200, 225 и 300 мг/кг в сутки в течение 7 дней не влияли на киллерную

активность клеток селезенки [Padget E.L. et al., 1992]. Обработка карбаматов постмитохондриальным супернатантом не оказывала влияния на их цитотоксичность [Rodgers K.E. et al., 1986в]. Полученные данные свидетельствуют о том, что антихолинэстеразный эффект в реализации иммунотоксичности ФОС не является решающим.

В опытах на мышах установлено, что малатион *in vitro* при концентрациях 75 мкг/мл и выше существенно снижает образование зрелых форм цитотоксических Т-лимфоцитов под влиянием клеток аллогенной опухоли Р815. Аналогичный эффект при меньших дозах вызывали этилпаратион, метилпаратион, фенитропион и фентиол, которые подавляли генерацию цитотоксических Т-лимфоцитов в дозе 5 -10 мкг/мл. [Rodgers K.E. et al., 1985а]. Преинкубация ФОС с постмитохондриальным супернатантом печени крыс, приводящая к их биотрансформации, значительно ослабляет этот эффект. Карбофуран существенно не влияет на активность цитотоксических Т-клеток, а карбанил подавляет ее в дозе 50-100 мкг/мл. Длительное введение малатиона (0,1 ЛД₅₀) в течение двух недель вызывало у мышей уменьшение количества Т-клеток в тимусе. Острая интоксикация данным пестицидом (0,5 ЛД₅₀) вызывала увеличение пролиферации Т-лимфоцитов при их стимуляции конканавалином А [Devens B.H. et al., 1985]. Отмечается супрессия выработки Т-ростковых факторов у мышей под влиянием ФОС [Арипова Т. У. и соавт., 1991].

Установлено, что многие иммуносупрессивные эффекты малатиона связаны с действием О,О,S-триметилтиофосфата, обладающего крайне слабой антихолинэстеразной активностью и появляющегося при хранении этого ФОС в условиях повышенной температуры [Devens B.H. et al., 1985; Rodgers K.E. et al., 1985а, 1985б, 1985в, 1986а, 1986б, 1986в; Thomas I.K., Imamura T., 1986; Rodgers K.E. et al., 1987]. Острая интоксикация малатионом в дозе 0,5 ЛД₅₀ через 5 суток приводила к увеличению антителообразующих клеток в

селезенке после иммунизации эритроцитами барана (ЭБ) [Rodgers K.E. et al., 1985a]. Отмечалось увеличение пролиферации лимфоцитов в ответ на их стимуляцию липополисахаридом и конканавалином А. При этом количество лимфоцитов в тимусе и селезенке не изменялось. Отсутствие супрессии гуморального иммунного ответа, вероятно, можно объяснить тем обстоятельством, что при применении малатиона в дозе 0,5 ЛД₅₀ не отмечалось признаков интоксикации и изменения холинэстеразной активности плазмы. Повышение активности В-системы иммунитета может быть связано с повышением продукции иммуностимулирующих интерлейкинов. Патогенез данного эффекта пока не выяснен. В то же время, установлено снижение функции лейкоцитов и макрофагов под влиянием острой интоксикации карбофосом [Жамсаранова С.Д. и соавт., 1988; Пирцхалава А.В., 1989]. Неочищенный малатион в опытах *in vitro* тормозил иммунный ответ на тимусзависимый и тимуснезависимый антигены, подавлял способность макрофагов представлять антиген [Thomas I.K., Imamura T., 1986a, 1986b, 1986в].

Предполагают, что в реализации механизма ФОС, ингибирующего цитотоксичность Т-лимфоцитов, существенное значение имеет связанная с эстеразной активностью проницаемость мембраны клетки-эффектора для ионов кальция и магния. В свою очередь электролитный обмен этой клетки сопряжен с внутриклеточным содержанием циклических нуклеотидов. Показано, что диизопропилфторфосфат уменьшает АЗКЦ при концентрациях от 0,5 до 4 мМ на 5-80% вследствие нарушения электролитного обмена клетки и изменения соотношения цАМФ/цГМФ [Trinchiev G., M. de Marchi, 1976].

Дихлофос при хроническом воздействии в ежедневных дозах от 0,025 до 0,100 ЛД₅₀ снижал функцию В-звена иммунитета у кроликов на брюшнотифозную вакцину [Desi I. et al., 1970]. Аналогичный эффект оказывал паратион, который в дозе 0,1 ЛД₅₀ при ежедневном

пероральном поступлении в течение 8 суток уменьшал содержание антителообразующих клеток в селезенке у мышей на 35% [Wietrowt R.W. et al., 1978]. Отмечали угнетение гуморальной иммунной реакции при пятикратном введении мышам карбофоса в дозах от 0,05 до 0,01 DL₅₀ [Жамсаранова С.Д. и соавт., 1990].

В ряде случаев установлено, что ФОС могут не вызывать снижения антителообразования. Например, при действии лептофоса при концентрациях в пище от 10 до 500 ppm, отмечалось уменьшение активности холинэстеразы сыворотки крови в 1,5-8,8 раз через 12 недель, но при не было отмечено существенного влияния этого ФОС на количество антителообразующих клеток селезенки при первичном и вторичном гуморальном иммунном ответе [Koller L.D. et al., 1976]. Не отмечено изменения концентрации иммуноглобулинов в крови рабочих, связанных с использованием ФОС [Desi I. et al., 1986]. Установлено казалось бы парадоксальное явление: хлорофос при хроническом отравлении течение 100 дней (0,05 ЛД₅₀) приводил к увеличению антителопродукции к брюшнотифозному O- и Vi-антигену [Шафеев М.Ш., 1976]. Аналогичный феномен был установлен при действии ФОС в отношении иммуноглобулинов M и G. При этом в сыворотке крови снижалось только содержание иммуноглобулинов A [Kossmann S. et al., 1985]. Доза метомидофоса, составляющая 0,05 ЛД₅₀, оказывала активирующее влияние на гуморальную иммунную реакцию [Tiefenbach B., Wichner S., 1985].

Противоречивость данных в отношении влияния ФОС на В-систему иммунитета у людей и животных может быть обусловлена особенностями токсикодинамики и токсикокинетики, определяющих иммунотоксичность этих соединений [Lee T.P. et al., 1979; Audre F. et al. 1983], проведением экспериментов в различное время суток, характеризующееся различной концентраций в плазме крови кортикостероидов [Иванова С.С., 1998; Dhabhar F. S. et al., 1996] и другими причинами, в частности, характером изменения

внутриклеточного содержания цГМФ под влиянием ацетилхолина [Денисенко П.П., 1980; Абрамов В.В. и соавт., 1986; Калинкович А.Г., и соавт., 1988; Garoroy M.R. et al., 1975; MacManus J.P. et al, 1975]).

Острая интоксикация мышей паратионом в дозе 1,0 ЛД₅₀ в продуктивной фазе иммунного ответа (интоксикация через 2 суток после иммунизации эритроцитами барана -ЭБ) приводила к редукции антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей более, чем в 3 раза. На индуктивную фазу иммунного ответа (при введении паратиона одновременно с иммунизацией ЭБ) данное ФОС существенного влияния не оказывало [Wietrowt R.W. et al., 1978]. В целом такие же результаты получены при остром отравлении и другими фосфорорганическими инсектицидами - малатионом, дихлофосом, метамидофосом [Rodgers K.E. et al., 1986a; Thomas I.K., Imamura T. 1986]. Паратион в дозе 16 мг/кг, вызывающей выраженную холинергическую стимуляцию и гибель 20% мышей, более чем в 2 раза снижал число плазмоцитов в селезенке, продуцирующих Ig M. Использование его через 2 сут после иммунизации (оценка иммунного ответа проводилась на 4-е сутки после иммунизации) доза 4 мг/кг, не вызывающая симптомов интоксикации, не влияла на формирование иммунной реакции [Casale G.P. et al., 1984]. Установлено существенное снижение синтеза антител фозалоном [Алимова М. Т. и соавт., 1991]. Редукция гуморальной иммунной реакции под влиянием ФОИ сопровождалась снижением лимфоидных индексов тимуса и селезенки, уменьшением активности холинэстеразы в плазме крови и мозге, увеличением концентрации кортизола и глюкозы в крови, активности трансаминазы в печени [Tiefenbach V., Lange P., 1980; Casale G.P. et al., 1983; Tiefenbach V., Wichner S., 1985]. При этом установлена обратная корреляция между активностью холинэстеразы в плазме крови и мозге и угнетением антителообразования [Tiefenbach V. et al., 1983]. Предполагают, что супрессия иммунного ответа связана с увеличением содержания в крови под влиянием

ФОС кортикостероидов, так как применение преднизолона в дозе 100 мг/кг вызывает аналогичный эффект, а адреналэктомия иммунотоксическое действие антихолинэстеразных ядов устраняет [Tiefenbach V. et al., 1983; Tiefenbach V., Wichner S., 1985]. В опытах на крысах Вистар было показано, что введение внутрь форматиона в дозе 0,01 ЛД₅₀ в течение 2 мес вызывает повышение кортикостерона в крови, коррелирующее со снижением гуморального иммунитета [Хусинов А.А. и соавт., 1991]. Следует отметить, что выводы авторов не вполне корректны и не учитывают других механизмов, обуславливающих иммунотоксичность ФОС [Забродский П.Ф., 1993; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001]. В экспериментах *in vitro* показано, что индуцированная антииммуноглобулинами подвижность В-лимфоцитов, существенно подавляется под влиянием диизопропилфторфосфата [Becker E.L., Unanue E.R., 1976]. Это не дает оснований признать роль глюкокортикоидов в супрессии функции В-клеток под влиянием ФОС основной.

Восстановление содержания лимфоцитов в тимусе и селезенке при интоксикации диметоатом происходило через 72 часа. Атропин в дозе 75 мг/кг не оказывал защитного действия на синтез антител [Tiefenbach V., Lange P., 1980]. В последующем было доказано, что он даже усиливал проявление иммуносупрессии [Забродский П.Ф., 1995].

Редукция антителообразования была выявлена не только при дозах, вызывающих выраженную холинергическую стимуляцию [Casale G.P. et al., 1983; 1984], но и при воздействии относительно малой дозы метомидофоса (0,1 ЛД₅₀).

Данные литературы позволяют считать, что в реализации действия ФОС существенное значение имеют неспецифические и специфические механизмы [Алимова М. Т. и соавт., 1991; Гуцин Н.В. и соавт. 1991, Хусинов А.А. и соавт., 1991, Забродский П.Ф., 1993]. Показано [Забродский П.Ф., 1993], что

под влиянием ДДВФ в прямой зависимости от дозы происходит усиление миграции стволовых кроветворных клеток (СКК) из костного мозга (КМ) в селезенку. Аналогичное действие характерно и для ацетилхолина, а стрессорное воздействие и гидрокортизон вызывают обратный эффект. Полученные результаты свидетельствуют о том, что увеличение выхода СКК из КМ связано с действием ацетилхолина, причем этот специфический эффект при необратимом ингибировании ацетилхолинэстеразы ДДВФ преобладает над торможением миграции СКК, вызываемым повышением концентрации в крови кортикостерона (неспецифический механизм). Торможение миграции СКК из КМ при стимуляции коры надпочечников известно [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1981]. По-видимому, патогенез индукции ацетилхолином миграции СКК аналогичен описанному при изучении подвижности В-лимфоцитов данным медиатором [Адо А.Д. и соавт., 1983]. При увеличении вводимой дозы ДДВФ происходило прямо связанное с ней уменьшение Т-клеток в тимусе. Таким же образом действовали стрессорный фактор, гидрокортизон и ацетилхолин. Видимо, инволюция тимуса при действии ФОС связана преимущественно с выходом тимоцитов из органа под влиянием кортикостероидов (неспецифический механизм) и активацией м-холинорецепторов тимоцитов ацетилхолином - специфический эффект [Maslinski W. et al., 1983], и в меньшей степени - с цитотоксическим действием гормонов коры надпочечников [Heideman M., Bentgson A. , 1985]. Данные литературы позволяют ожидать усиления неспецифических эффектов острого отравления ДДВФ и травмы вследствие активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС).

Сочетанный эффект механической травмы и острой интоксикация ФОС, вероятно, способны реализовать аддитивное или потенцирующее иммуносупрессивное действие кортикостероидов, синтез которых при отравлении и травме может существенно увеличиться.

В экспериментах на крысах Вистар установлено, что при остром отравлении ДДВФ (0,5 ЛД₅₀) реализуются два специфических противоположных эффекта: ингибирование ацетилхолинэстеразы Т-лимфоцитов, приводящее к супрессии тимусзависимого антителообразования (данный эффект преобладает), и действие ацетилхолина (действие данного медиатора моделировалось введением его в дозе 5 мг/кг двукратно ежедневно в течение 3 сут через 1 сут после иммунизации), вызывающее стимуляцию антителопродукции. В интактных Т-клетках ацетилхолин увеличивает активность ацетилхолинэстеразы. Следует отметить, эффект ацетилхолина зависит от его концентрации в крови, лимфоидных органах и в области холинорецепторов иммунокомпетентных клеток (ИКК), а также от изучаемого параметра системы иммунитета [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001]. Результаты проведенных экспериментов дают основание полагать, что, возможно, существует не известная до сих пор функция ацетилхолинэстеразы Т-лимфоцитов, регулирующая их активность не только путем гидролиза избытка ацетилхолина.

Данные литературы по иммунотоксическому действию ДДВФ позволяют полагать, что патогенез его иммунотоксического эффекта в сублетальных дозах определяется эффектом гормонов надпочечников [Забродский П.Ф., 1993; Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2000], ингибированием эстераз Т-хелперов, моноцитов, нейтрофилов, системы комплемента [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001; Becker E.Z. et al., 1957, 1964, 1966, 1967, 1971], действием высоких концентраций ацетилхолина на м-холинорецепторы иммуноцитов [Richman D.P., Arnason V.G.W., 1979]. Реализация описанных механизмов может приводить к редукции Т- и В- звена иммунитета.

Несмотря на обширные данные литературы в отношении иммунотоксических эффектов ФОС, существует целый ряд неисследованных вопросов в отношении нарушения физиологических механизмов регуляции при

острой интоксикации ДДВФ. О сочетанном действии ДДВФ и механической травмы можно говорить только гипотетически.

Фармакологическая коррекция нарушений иммунного гомеостаза под влиянием ДДВФ в постинтоксикационном периоде нуждается в дальнейшем изучении [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001].

Получение новых результатов исследований в отношении иммунотоксичности ДДВФ, его изучение сочетанного эффекта дихлофоса и травмы, влияния на характер постинтоксикационной и посттравматической иммуносупрессии антидота ФОС дипироксима позволит обосновать адекватную характеру нарушений иммунного гомеостаза возможность применения наиболее перспективных и приемлемых иммуностимулирующих средств для профилактики постинтоксикационных инфекционных осложнений и заболеваний.

1.4. Изменение неспецифической резистентности организма, иммуногенеза, функции Т- и В-звена иммунитета при травматическом повреждении

Многочисленные публикации в последнее десятилетие свидетельствуют, что иммунологические проблемы травмы чрезвычайно актуальны и включает в себя три основных аспекта, связанных с причиной, сущностью и терапией посттравматической иммуносупрессии. Вклад различных факторов травмы в развитие вторичного иммунодефицитного состояния. до настоящего времени недостаточно выяснен. Влияние на течение посттравматической иммуносупрессии острых интоксикаций различными токсикантами практически не исследовано. Актуальность изучения данного аспекта травмы и токсикологии несомненно актуальна, так как при террористических актах, авариях на химических предприятиях, в частности, занимающихся хранением и уничтожением боевых фосфорорганических соединений (ФОС), изолированное

действие химического и физического факторов будет отмечаться в крайне малом проценте случаев (за исключением действия на население токсичного химического облака). В основном врачи при оказании медицинской помощи будут иметь дело с сочетанным действием острого отравления ФОС и механической травмы.

Рост промышленного, транспортного, бытового травматизма, а также травматических повреждений, полученных в боевых условиях в последние годы не уменьшается [Гуманенко Е.К. и соавт., 1999]. По данным ВОЗ, только на дорогах мира ежегодно гибнет 250 тысяч человек и более 10 миллионов получают ранения [Гвоздев М. П. и соавт., 1978]. Эти показатели в настоящее время существенных изменений не претерпели, более того, они увеличились [Чеснокова И.Г., 2000]. По частоте механическая травма среди всех травм занимают третье место, а в некоторых развитых странах - второе, уступая лишь ожоговой травме. Травма служит одной из наиболее частых причин временной утраты трудоспособности, а лечение больных, получивших механические повреждения, является наиболее трудоемким и дорогостоящим [Григорьев М. Г., 1977; Долгушин И. И. и соавт., 1989; Чеснокова И.Г., 2000].

Токсемия и септикопиемии, обусловленные постинтоксикационным иммунодефицитным состоянием, приводят к тому, что до 80% больных с механическими травмами умирает [Колкер И.И. и соавт., 1974; Гуманенко Е.К. и соавт., 1999]. В генезе ранней токсемии существенную роль играет эндотоксин кишечной палочки, который обнаруживается в крови уже в первые сутки после нанесения повреждения [Лемус В. Б., Давыдов В.В., 1974; Кабан С. Т. и соавт., 1976; Берток Л.Б. и соавт., 1978; Зурочка А. В., 1984]. Кроме того, развитие посттравматической токсемии обуславливают высокопатогенные микроорганизмы и условно-патогенные представители нормальной микрофлоры [Колкер И. И., 1977; Стручков В. И., 1978; Гуманенко Е.К. и соавт., 1999].

Тяжесть течения посттравматического процесса определяется преимущественно состоянием иммунной реактивности организма. В настоящее время наряду с совершенствованием антисептических методов борьбы с посттравматической инфекцией ведется разработка эффективных способов профилактики и лечения посттравматических иммунодефицитных состояний [Абрамовская Л. В., 1985; Бабаева А. Г. , 1985; Кожевников В.С. и соавт., 1991; Блинков Ю.А., 1997; Dawson S. W., 1982; Gelfand J. A., 1984; Ayala A., Chaudry I., 1995].

Характер нарушений иммунного гомеостаза (патогенетическая гетерогенность иммунодефицитов) зависит от характера факторов, вызывающих травму [Кожевников В.С. и соавт., 1991]: термического [Колкер И. И. И соавт., 1974] или механического [Кузин М. И., 1981]. Без сомнения характер иммунодефицита при травме будет существенно зависеть от ее сочетания с действием токсичных химических веществ (ТХВ).

Травматический шок, рассматривающийся рядом авторов как вариант развития травматической болезни [Гвоздев М. П., 1978; Кулагин В. К., 1978], при действии ТХВ может существенно изменить характер формирования посттравматического иммунодефицитного состояния [Гуманенко Е.К. и соавт., 1999].

Острые нарушения гемодинамического, биохимического, структурного и других компонентов гомеостаза при травматическом шоке могут являться одной из причин инициации каскада многочисленных биохимических реакций, приводящих к иммунодефицитному состоянию. Ряд авторов рассматривают эти сдвиги преимущественно, как постстрессорные [Масютин В.А., 1994; Идова Г.В., Чейдо М.А., 1996; Mikhova et.al., 1991; Hassig A. et al., 1996]. При этом роль кортикостероидов (особенно при сочетании травмы и острой интоксикации) в формировании нарушений Т- и В-звена системы иммунитета,

снижения активности естественных клеток-киллеров (ЕКК) в полной мере не выяснена.

Повреждение при механической травме приводит к нарушению целостности элементов соединительной ткани и капилляров, вызывающих индукцию цепи гистологических изменений. Происходит последовательное накопление в ране тромбоцитов, затем нейтрофилов, макрофагов и лимфоцитов и, наконец, фибробластов и эндотелиальных клеток – основных участников процессов соответственно гемостаза, воспаления и репарации [Кузин М.И., Шимкевич Л.А., 1981; Кожевников В.С. и соавт., 1991].

Нарушения синтеза различных гормонов, в частности, активация секреции кортикостероидов (как и при остром действии ДДВФ [Забродский П.Ф., 1993, 1998]), разнообразных метаболических и функциональных расстройств, возникающих на фоне воздействия травмы ведут к различным нарушениям неспецифической резистентности организма (НРО), функции ЕКК, Т- и В-звена иммунитета. Совокупность указанных сдвигов получила название травматической болезни [Чеснокова И.Г., 2000; Лебедев В.Ф., Рожков А.С., 2001].

Среди активированных в процессе свертывания крови цитокинов β - трансформирующий ростовой фактор (ТРФ β) обладает выраженным иммуносупрессивным действием, ингибирующим процессы активации, пролиферации и дифференцировки Т- и В-клеток, а также активность ЕКК, которое проявляется локально в месте повреждения. Следует отметить, что для взаимодействия ТРФ β с клетками-мишенями необходимо его дополнительное расщепление, которое обеспечивается в катаболической фазе травматической болезни протеазами, индуцируемыми многими факторами травмы, в том числе ИЛ-1 и α -фактом некроза опухоли (ФНО α) [Кожевников В.С. и соавт., 1991].

При травматической болезни активируется продукция гистамина тромбоцитами, который модулирует выделение ИЛ-2 Т-клетками, изменяется

синтез ИЛ-1 макрофагами, ИЛ-6 Т-лимфоцитами, моноцитами и фибробластами, продукция α - и β -факторов некроза опухоли макрофагами, Т- и В-лимфоцитами, ЕКК и нейтрофилами, простагландина E_2 и других цитокинов [Кожевников В.С. и соавт., 1991; Хаитов Р.М. и соавт, 2000; Ройт А. и соавт, 2000]. Данные цитокины, а также простагландин и гистамин существенно изменяют физиологическую регуляцию иммунного гомеостаза и, как правило, индуцируют формирование вторичного иммунодефицитного состояния. Необходимо заметить, что простагландин ограничивает агрегацию тромбоцитов, возникающую при стресс-реакции [Чеснокова И.Г., 2000; Munster A. M., 1986].

Нарушение физиологической регуляции иммунного гомеостаза после травмы может инициировать возникновение аутоиммунных реакций - эффект токсинов тканевого и микробного происхождения, микроорганизмов, продуктов тканевого распада, обладающих антигенными свойствами [Кулагин В. К., 1978; Ашмарин И. П., 1982; Вагнер Е. А., 1984; Пашутин С. Б., 1984; Кожевников В.С. и соавт., 1991; Блинков Ю.А., 1997; Kurz R., 1980; ; Bjorson A., 1981; Mikhova et.al., 1991; Hassig A. et al., 1996]. Биологическая роль аутосенсibilизации при травме может быть двойкой. С одной стороны, эти процессы направлены на привлечение в очаг тканевой деструкции фагоцитирующих клеток и сенсibilизирующих лимфоцитов, на изоляцию и отторжение разрушенной ткани и, как следствие, на заживление раны. С другой стороны, сенсibilизация организма к антигенам нормальных тканей может привести к развитию аутоагрессии [Гвоздев М. П., 1978; Кожевников В.С. и соавт., 1991].

Травма является классическим примером стрессорного воздействия на организм (как и острое отравление ФОС, в частности ДДВФ [Забродский П.Ф., 1993, 1998, Забродский П.Ф., Германчук В.Г., 2000]), сопровождающегося не только развитием травматической болезни в различных ее проявлениях, но и формированием стресс-лимитирующих систем - эндогенных антистрессорных центральных и периферических механизмов [Долгушин И.И. и соавт., 1989].

Роль выраженного стресса заключается не столько в редукции иммунных клеточных эффекторных функций, сколько в индукции дополнительной супрессии гуморального иммунного ответа [Кожевников В.С. и соавт., 1991].

Проявления посттравматической стресс-реакции тесно сопряжены с центральными и периферическими антистрессорными механизмами (в частности, антиоксидантной системой), которые ограничивают действие катехоламинов и предупреждают постстрессорные повреждения [Munster A. M., 1976; Гуманенко Е.К. и соавт., 1999]. Антистрессорные центральные и периферические механизмы тесно связаны с системой иммунитета [Забродский П.Ф., 1998; Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Ройт А. и соавт., 2000; Mikhova et al., 1991; Hassig A. et al., 1996], обеспечивая сохранение гомеостаза, реализация большинства из них приводит к снижению посттравматической иммуносупрессии [Богдашин И.В. и соавт., 1991; Забродский П.Ф., 1998].

Иммунодефицит после травматического повреждения оказывает существенное влияние на изменение функции систем и органов организма в период ранних, переходных и поздних осложнений [Кузин М. И., 1981; Лебедев В.Ф., Рожков А.С., 2001; Tunn U., 1977]. Возникают местные и генерализованные инфекционные процессы, а также токсемия микробного и тканевого происхождения [Колкер И. И. и соавт., 1974; Кузин М. И., Заец Т.Л., 1981; Стручков В. И. и соавт., 1978; Гуманенко Е.К. и соавт., 1999; O'Mahony J. V. et al., 1985]. После периода инфекционных осложнений проявление иммуносупрессии может существенно усиливаться [Кочетыгов В. Н., 1973; Долгушин И. И. и соавт., 1989].

На формирование посттравматического иммунодефицитного состояния значительное влияние оказывают токсичные среднемолекулярные пептиды, выделенные из ишемизированной конечности [Ашмарин И. П. и соавт., 1982]. Они вызывают нарушение микроциркуляции, обмена веществ, угнетают функции клеточного звена иммунитета [Галактионов С.Г. и соавт., 1984].

Основательным доводом в пользу развития иммунодефицита у перенесших травму людей является подверженность их инфекциям [Ягмуров О.Д., Огурцов Р.П., 1996; Лебедев В.Ф., Рожков А.С., 2001; Renk C. M., 1982; Ayala A., Chaudry I., 1995]. Значение различных иммунокомпетентных клеток (ИКК) в реализации патологии иммунной системы в литературе освещена недостаточно. Не вполне понятно, какие факторы определяют преимущественное нарушение Т- или В-звена системы иммунитета при травматической болезни. Данные различных авторов в отношении типа иммунодефицитного состояния при травме противоречивы [Кожевников В.С. и соавт., 1991]. Доказано снижение факторов НРО (комплемента и пропердина) у больных с повреждением опорно-двигательного аппарата [Голубев Г.Ш., Поляк А.И., 1985]. Выраженность редукции активности пяти компонентов и общей комплементарной активности зависела от степени тяжести травматического повреждения [Голосова Т.В. и соавт., 1985].

Установлено, что число поврежденных областей тела и характер травматических повреждений достоверно коррелируют с особенностями инфекционных осложнений [Гуманенко Е.К., 1992; Гуманенко Е.К. и соавт., 1999]. Благодаря выявлению закономерностей изменений показателей системы иммунитета, метаболизма и адаптационных процессов при различных вариантах течения травматической болезни показано, что фазовые изменения гомеостаза (показателей иммунитета, системы протеолиза, обменных процессов), сопровождающие развитие инфекционных осложнений у пострадавших с тяжелыми механическими повреждениями, отличаются от динамики этих показателей при инфекционных хирургических заболеваниях. Установленная зависимость иммуногенеза от состояния обменных процессов позволяет отнести изменения показателей иммунного статуса к проявлениям общей катаболической реакции организма на травму, формирующую раннюю иммунную несостоятельность [Дерябин И.И., Рожков А.С., 1984; Дерябин И.И.,

Насонкин О.С. 1987; Ерюхин И.А., Шашков Б.В., 1995; Лебедев В.Ф. Рожков А.С., 2001; Cerra F., 1987; Fry D.E., 1988].

Современная клиническая иммунология внесла в патогенез травматической болезни новые представления, связанные с концепцией системного воспалительного ответа. Суть этого патофизиологического процесса заключается в универсальности механизмов развития в ответ на любое экстремальное воздействие. Основой данного процесса является цитокиновая концепция регуляции иммунореактивности, которую В. Bone и W. Ertel ввели в клиническую практику в начале 90-х годов прошлого столетия [Гуманенко Е.К. и соавт., 1999].

Ключевую роль в регуляции иммунного гомеостаза после травмы играет последовательная продукция цитокинов, которой сопровождается системный воспалительный ответ (СВО). На первой стадии ответа на раздражитель макрофаги продуцируют α -фактор некроза опухоли, ИЛ-1 и ИЛ-6, вторая стадия характеризуется привлечением в очаг воспаления циркулирующих гранулоцитов, лимфоцитов и тромбоцитов и формированием регионального адаптивного иммунитета за счет мобилизации зрелых клеточных элементов и эффекторных молекул региональных лимфоидных образований, инициацией острофазовой реакции, контролируемой балансом провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Вторая стадия подолжается до завершения местного инфекционного процесса и восстановления гомеостаза. При обширном разрушении тканей СВО переходит в третью стадию, характеризующуюся активацией провоспалительных цитокинов и формированием, так называемого, цитокинового «взрыва». Эта фаза проявляется как сепсис или септический шок (стадия генерализации воспалительной реакции) [Лебедев В.Ф., Рожков А.С., 2001].

Первая стадия СВО является так называемым доиммунным воспалением, а вторая стадия обеспечивает формирование адаптивного иммунитета.

Доиммунное воспаление, которое реализуется в результате действия факторов неспецифической защиты организма (НРО), соответствует фазе срочной адаптации на повреждение. Переход организма в фазу устойчивой, долговременной адаптации предполагает включение механизмов преиммунного ответа с последовательным формированием адаптивного иммунитета при адекватном сопряжении названных фаз. Невозможность такого перехода приводит к посттравматической дисфункции иммунной системы, развивающейся в первые часы после травмы [Дерябин И.И., Рожков А.С., 1984; Самохвалов И.М., 1984].

Характер проявления посттравматического иммунодефицита обусловлен тяжестью повреждения, глубиной органной и клеточной гипоксии, активностью регуляторных цитокинов, в частности, ИЛ-2, и другими факторами. Дисрегуляция и последующая дезорганизация иммунной системы в этой ситуации оказывается ведущим звеном в развитии сепсиса и других инфекционных осложнений [Лебедев В.Ф., Рожков А.С., 2001].

Показано, что травма костей оказывает ингибирующее влияние на развитие ГЗТ с пиком эффекта через 0,5 ч после перелома вследствие повышения активности клеток-супрессоров [Аскалонов А.А. и соавт., 1985], снижает эффекторную и регуляторную активность мононуклеарных фагоцитов и естественных киллерных клеток [Гордиенко С.М. и соавт., 1987].

Установлено [Александров В. Н., 1983], что на тяжелую травму реагируют практически все звенья иммунной системы. Активность одних из них угнетается, других усиливается. Интегральным выражением реакции иммунной системы на травму является развитие вторичного посттравматического иммунодефицита, развивающегося стадийно. В первые 7 суток формируется стадия явного иммунодефицита - происходит угнетение гуморального иммунного ответа, вследствие ингибирования кооперации Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, активации супрессорных лимфоцитов. Спустя 7 суток после травмы

развивается стадия скрытого иммунодефицита, типичными проявлениями которой является стимуляция иммунного ответа на фоне функциональной неполноценности кооперации Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, предшественников В-клеток. Переход стадии явного иммунодефицита в скрытый опосредуется через включение приспособительных реакций: повышение способности макрофагов к индукции гуморального иммунного ответа, усиление способности мигрировавших в костный мозг Т-лимфоцитов изменять дифференцировку стволовых кроветворных клеток в миелоидном направлении, усиление миграции стволовых клеток из костного мозга в лимфоидные органы. Тяжелая механическая травма приводит к ингибированию накопления АОК в первые 4 сут и стимуляцию на 8 сут. Морфологическим эквивалентом отмеченных различий в реакции гуморального компонента иммунного ответа на травму разной тяжести являются своеобразны для каждой травмы изменения массы и клеточности лимфоидных органов. После легкой травмы масса тимуса и селезенки уменьшается в 1-4 сут и восстанавливается к восьмым. При легкой травме снижается содержание клеток преимущественно в тимусе (проявление стресс-реакции [Забродский П.Ф., 1998]) в отличие от тяжелой, для которой характерно преимущественное уменьшение клеточности селезенки [Александров В. Н., 1982,1983].

Анализ источников литературы за последние 5 лет позволяет выделить две основные группы факторов, влияющих на развитие посттравматического иммунодефицитного состояния: причинные факторы, исключение которых ведет к отмене иммуносупрессии (гистамин, простагландин E_2 , иммуноциты-супрессоры, большинство нейропептидов, повышенное содержание в крови кортикостероидов), и моделирующие факторы, исключение которых не отменяет развитие иммунодефицита, но моделирует степень его выраженности, что зависит от вида, тяжести травмы и индивидуальных особенностей организма [Кожевников В.С., 1991; Гуманенко Е.К. и соавт., 1999].

Экспериментальные исследования в области иммунопатологии травматической болезни позволяют считать, что травма сопровождается двумя типами иммунодефицита – клеточным, который характеризуется угнетением клеточных эффекторных функций и имеет санатогенное значение в плане стимуляции репаративных процессов защиты от бактериальной инфекции за счет сохранения (или стимуляции) гуморальных иммунных реакций, и сочетанным, который характеризуется угнетением Т- и В-звена иммунитета и имеет патогенетическое значение в развитии инфекционных осложнений. Существует и третий тип иммунодефицита – гуморальный, который характеризуется преимущественным угнетением гуморального иммунитета и стимуляцией клеточных эффекторных функций и имеет патогенетическое значение не только в развитии инфекции, но и в различных посттравматических осложнениях реакций [Кожевников В.С., 1991; Чеснокова И.Г., 2000]. По всей видимости, сочетанное иммунодефицитное состояние (супрессия гуморального и клеточного звена иммунитета) может проявляться в зависимости от вида травмы и других факторов снижением преимущественно Т- или В-зависимых иммунных реакций. При этом редукция гуморального иммунного ответа, вероятно, обусловлена высоким постстрессорным синтезом кортикостероидов и действием их на синтез IgM, IgG и IgA.

Увеличить риск возникновения генерализованной инфекции при травматической болезни могут острые и хронические интоксикации, сопровождающиеся иммунодефицитными состояниями [Долишний В.Н. , 1999].

Анализ приведенных данных позволяет постулировать, что профилактика и лечение посттравматических и постинтоксикационных инфекций не может быть обеспечена без учета состояния иммунного гомеостаза и использования иммуномодуляторов [Муразян Р. И., 1984; Долгушин И. И. и соавт., 1989; Кожевников В.С., 1991; Козлов В.К. и соавт., 1992; Чеснокова И.Г., 2000].

Таким образом, данные литературы свидетельствуют, что исследование состояния иммунной системы после травматического воздействия, и в частности, при сочетанном действии механической травмы и ФОС, в частности, высокотоксичного представителя этих соединений ДДВФ, крайне необходимы и актуальны, так как позволят обеспечить профилактику и лечения инфекционных осложнений и заболеваний, связанных с формированием посттравматического и постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. Роль ГГНС в формировании иммунодефицита при действии ФОС и механической травмы, а также особенности формирования нарушений иммунного гомеостаза после травматического повреждения на фоне активации холинергической системы организма не ясна.

1.5. Предполагаемые нарушения физиологических механизмов регуляции иммунного гомеостаза при сочетанном действии острого отравления диметилдихлорвинилфосфата и механической травмы

Данные литературы, содержащие результаты исследований различных авторов изолированного действия ФОС и механической травмы на иммунный гомеостаз позволяет предположить ряд гипотез о сочетанном эффекте ДДВФ и механической травмы на Т- и В-звено иммунитета, ЕКК и НРО. Теоретически возможны следующие типы сочетанных эффектов при действии механической травмы и острого отравления ДДВФ [Nelson В.К., 1994].

1. Сочетанное действие ФОС и травмы может приводить к независимым иммуносупрессивным эффектам этих факторов.
2. Сочетание ДДВФ и механического повреждения может оказывать аддитивное действие на иммунный гомеостаз.

3. Сочетанный эффект ДДВФ и травматической болезни способен обеспечить эффекты синергизма, потенцирования или антагонизма в отношении иммунной системы.

Существуют основания для утверждения, что снижение Т-клеток в тимусе при действии ФОС (ДДВФ) и травмы может зависеть как от активации их миграции ацетилхолином, действующим на м-холинорецепторы тимоцитов, так и от эффекта глюкокортикоидов, концентрация которых в крови при действии ФОС и механического повреждения (стресс-реакции) увеличивается [Забродский П.Ф., 1993; Maslinski W., 1983; Maslinski W. et al., 1987; 1989].

Принимая во внимание способность ФОС активировать ГГНС [Забродский П.Ф., 1993; 1998; Szot R.J., Murphy S.D., 1970] можно предположить, что при сочетании ДДВФ и механической травмы иммуносупрессивный эффект будет определяться суммацией действия химического и механического факторов в основном вследствие практически одновременной реализации неспецифических механизмов, обусловленных стресс-реакцией и связанных с действием гормонов коры надпочечников.

Таким образом, современные теоретические положения, изложенные в многочисленных научных трудах, позволяют предположить, что иммуносупрессивное действие ФОС (ДДВФ) и тяжелой механической травмы будет обусловлен суммацией их неспецифических эффектов. Для подтверждения изложенной гипотезы необходимы исследования, которые определены целью и задачами данной работы

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Объект исследования и применяемые препараты

Исследования проводились на 935 крысах-самцах Wistar и на 79 беспородных белых мышах-самцах. Масса крыс и мышей составляла соответственно 180-240 и 18-22 г.

ДДВФ вводили подкожно в дозе 0,8 LD₅₀ (LD₅₀ для крыс и для мышей составляла 70,0±4,5 и 58,5±6,3 мг/кг соответственно). Опыты на мышах в связи с особенностями экспериментальной модели проводили при исследовании миграции колониеобразующих клеток из костного мозга в селезенку и оценке нарушения кооперации Т- и В-клеток под влиянием ДДВФ, травмы и их сочетанного эффекта.

Дипироксим в дозе 10 мг/кг применяли 3 раза в течение суток - непосредственно после введения ДДВФ и через 2 и 24 часа. При моделировании сочетанного действия травматического повреждения и острой интоксикации ДДВФ через 5 мин с момента травматического воздействия. Эксперименты проводили в светлое время суток (с 9.00. до 15.00 ч), характеризующееся минимальным содержанием кортикостерона (КС) в плазме крови крыс [Dhabhar F. S. et al, 1985].

В качестве иммуностимуляторов использовали Т-активин и миелопид. Дозы Т-активина и миелопида для животных обоснованы данными литературы [Янковский О.Г., Захарова Л.А., 1990; Кириллова и соавт., 1991] и расчетными методами по Ю.Р.Рыболовлев (1982). Т-активин и миелопид вводили внутримышечно в дозах 5 мкг/кг и 2 мг/кг соответственно ежедневно в течение 4 сут. Первую инъекцию иммуностимулятора животные получали через 30 мин после изолированного или сочетанного воздействия ФОС и физического фактора.

Кровь для исследования титра антител получали из подъязычной вены животных. Лимфоидные органы извлекали у животных после цервикальной дислокации в различные сроки после интоксикации.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с требованиями Женевской конвенции "International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals" (Geneva, 1990).

2.2. Исследование интегрального состояния антиинфекционной неспецифической резистентности организма при сочетанном действии ДДВФ и механической травмы

Интегральное состояние неспецифической резистентности организма определяли по показателям течения экспериментальной инфекции, вызванной внутрибрюшинным введением крысам суспензии суточной культуры *E. Coli* в дозах 1,5; 2,0; 2,5 млрд микробных тел. Данная культура использовалась в связи с тем, что значение условнопатогенной флоры в возникновении различных инфекционных осложнений не уменьшается [Бельцкий С. М., Снастина Г. И., 1985; Гуманенко Е.К. и соавт., 1999; Рожков А.С., 2001].

Антиинфекционную НРО определяли по летальности крыс в течении 36 ч от экспериментальной инфекции по среднелетальной дозе *E. Coli* (LD_{50}) и среднеэффективному времени жизни животных (Et_{50}) в опытной и контрольной группах, рассчитанных методом пробит-анализа [Беленький М.Л., 1961]. Введение условно-патогенных микроорганизмов производили через 24 ч после введения нитрилов, моделирования травмы и их сочетанного действия. Аналогичные инфекционные защитные тесты предлагаются в качестве первичной скрининговой модели для оценки иммунотоксичности химических веществ [Забродский П. Ф., 1987, 1994; Mc Grath J., Wong S., 1987].

НРО определяется несколькими факторами защиты организма, к основным из которых относятся бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), системы комплемента и пропердина, сывороточная активность тромбоцитарного катионного белка - ТКБ (β -лизина), лизоцима, интерфероны и фагоцитоз. К факторам НРО относятся также биологические барьеры (кожные и слизистые оболочки), бактерицидные субстанции тканей, гидролитические ферменты, лактопероксидаза, лактоферин [Горизонтов П.Д., 1981а, 1981б; Петров Р.В., 1987; Кузник Б.И., Васильев Н. В., Цыбиков Н. Н., 1989; Ледванов М. Ю., Киричук В.Ф., 1996].

Обсемененность крови и селезенки бактериями является одним из параметров, характеризующим состояние неспецифической и иммунологической резистентности организма после воздействия химических ксенобиотиков [Забродский П. Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000].

Влияние ДДВФ и его сочетания с травматическим повреждением на обсемененность селезенки и циркулирующей крови *E.Coli* проводили общепринятыми методами [Ремезов А. И., Башмаков Г. А. , 1976]. Суточную культуру *E.Coli* в дозе $1,5 \cdot 10^9$ микробных тел вводили через 30 мин после химического воздействия и его сочетания с нанесением травмы.

2.3. Определение параметров неспецифической резистентности организма

2.3.1. Сывороточная активность лизоцима

Лизоцим (мурамидаза) - один из важных факторов неспецифической защиты организма. Он был открыт в 1909 г. П.К.Лашенковым и изучен в 1922 г. А.Флемингом. Источником лизоцима являются нейтрофильные гранулоциты и моноциты. [О.В.Бухарин и Васильев Н.В., 1974; Гембицкий Е.В. и соавт., 1987]. Использование показателя лизоцимной активности для оценки неблагоприятного действия химических факторов на организм свидетельствуют о высокой чувствительности данного теста [Измеров Н.Ф., и

соавт., 1977; Бухарин О. В. и соавт., 1985; Генес В. С. и соавт., 1981; Забродский П. Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000]. Как правило, химические соединения вызывают снижение лизоцимной активности сыворотки крови [Забродский П.Ф., 1999; 2000]. Однако свидетельством отрицательного воздействия ксенобиотиков на организм может являться также и повышение содержания лизоцима в крови. Некоторые иммунологические реакции связаны с активностью лизоцима. Так, комплекс "IgA-антиген" проявляет антибактериальную и нейтрализующую активность после активации комплементом только в присутствии мурамидазы [Nouragargh S., Holt J.R.S., 1986].

Содержание сывороточного лизоцима определяли методом О. В. Бухарина (1971) [Ремезов П.И., Башмаков Г.А., 1976], основанным на способности лизоцима растворять индикаторный микрококк (*Micrococcus lysodeicticus*), измеряя при этом оптическую плотность опытной и контрольной суспензии микроорганизмов. Взвесь суточной агаровой культуры микрококка на 1/15 М фосфатном буфере (рН 6,2) стандартизировали по левому барабану ФЭК до оптической плотности 0,66. В опытную пробирку вносили 0,4 мл фосфатного буфера, 0,1 мл исследуемой сыворотки и 2 мл стандартной взвеси микрококка, Смесь выдерживали при 37⁰ С 30 мин, после чего измеряли ее оптическую плотность на ФЭК по правому барабану в кювете №2 с зеленым светофильтром. Для количественной характеристики лизоцима в исследуемой сыворотке с использованием кристаллического лизоцима строили калибровочную кривую, исходя из активности фермента 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 50 мкг в пробе. Во все пробирки с различным содержанием лизоцима вносили с интервалом 30 с по 2 мл стандартизированной суспензии микрококка. Смесь инкубировали при 37⁰ С 30 мин и в каждой пробирке, начиная с первой, измеряли оптическую плотность. Каждое последующее измерение выполняли через 30 с после предыдущего. С помощью калибровочной кривой находили количества лизоцима в исследуемой

сыворотке, выраженное в абсолютных единицах. Для удобства расчетов зависимость между оптической плотностью микробной взвеси в опыте и контроле, а также содержанием лизоцима в исследуемой сыворотке использовали таблицу [Ремезов П. И., Башмаков Г. А., 1976].

2.3.2. Тромбоцитарный катионный белок сыворотки крови (β -лизин)

Одним из факторов сохранения и поддержания неспецифической резистентности организма является тромбоцитарный катионный белок сыворотки крови, ранее известный как β -лизин [Бухарин О. В и соавт., 1977; 1985; 1998]. β -лизин - бактерицидное вещество сыворотки крови, избирательно активное в отношении грамположительных микроорганизмов и спорообразующих бацилл. Открыт в 1886 г. G. Nuttal и изучен в 1926 г. A. Pettersson, назван β -лизином в отличие от α -лизина (комплемента). β -лизин обнаружен в сыворотке крови, слюне, секрете слезных желез и других жидкостях организма. Источником β -лизина являются тромбоциты. Существует гипотеза, согласно которой активность β -лизина регулируется гипоталамо-гипофизарной системой [Бухарин О.В., Васильев Н.В., 1977]. Механизм действия β -лизина обусловлен изменением проницаемости мембран микроорганизмов и блокадой их окислительного метаболизма. Как правило, отмечается угнетение активности данного фактора НРО при острой и хронической интоксикациях.

Метод определения активности β -лизина основан на избирательной чувствительности к его бактерицидному действию индикаторной культуры - *V. subticis*. Тромбоцитарный катионный белок сыворотки крови (β -лизин) определяли фотонейфелометрическим ускоренным методом по О.В. Бухарину, Б.А. Фролову и А.П. Луда (1972) [Ремезов П.И., Башмаков Г. А., 1976],

учитывая изменение оптической плотности раствора сахарозы при росте в ней индикаторной культуры. Учет результатов проводили по формуле:

$$\% \text{ лизиса} = \frac{D_1 - D_2}{D_2} \times 100, \text{ где}$$

D_1 - оптическая плотность опытных проб до инкубации;

D_2 - оптическая плотность опытных проб после инкубации.

Определение оптической плотности проводили на фотоэлектроколориметре (ККФ - 2 - УФЛ 4,2).

2.3.3. Определения фагоцитарной активности нейтрофилов

Фагоцитоз относится к клеточному фактору НРО. Процесс фагоцитоза осуществляется микрофагами (гранулоцитами) и макрофагами (моноцитами крови, клетками пульпы селезенки, эндотелия кровеносных сосудов, полибластами, гистиоцитами и др.) [Solberg С. О., 1984]. В настоящее время фагоцитоз рассматривается как сложный многоступенчатый процесс, начинающийся с захвата фагоцитом чужеродной субстанции и кончающийся ее перевариванием (хемотаксис; адгезия; пиноцитоз; формирование фагосомы; слияние фагосомы с гранулами цитоплазмы, приводящее к активированию гидролаз, пироксидаз, протеиназ; гибель и переваривание объекта фагоцитоза, выброс продуктов деградации) [Хайтов Р.Я., Пинегин Б.В., 1995; Ледванов М. Ю., Киричук В. Ф., 1996; Киричук В. Ф., 1999; Hong R. , 1984]. Помимо действия ферментов уничтожение чужеродной клетки может осуществляться путем "дыхательного" (кислородного) взрыва [Nogueira N., 1984]. В настоящее время получены данные, свидетельствующие о том, что в фагоцитарной реакции активное участие принимает радикал оксида азота (NO^{\cdot}), макрофаги продуцируют ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и $\text{TNF-}\alpha$ (α -фактор некроза опухоли),

простагландины, лейкотриен В₄ (LTB₄), фактор, активирующий тромбоциты. Нейтрофилы синтезируют и выделяют в кровь TNF-α и ИЛ-12, а также хемокин ИЛ-8 [Хаитов Р. М. и соавт., 2000].

Использованный нами метод оценки фагоцитарной активности нейтрофилов основан на восстановлении поглощенного фагоцитом растворимого красителя нитросинего тетразолия (НСТ) в нерасстворимый диформазаан под влиянием супероксиданиона, образующегося в НАДФ-Н-оксидазной реакции. НСТ-тест, как уже указывалось, интегрально характеризует кислородзависимые антиинфекционные системы фагоцита [Маянский Д. Н., 1986; Segal A. W., 1974; Elsbach P., Weise J., 1985]. В исследованиях применялся цитохимический вариант этого метода [Измайлова Ф.А., 1985; Park B.H., 1971]. Учет результатов проводился путем подсчета в каждом мазке 100 нейтрофилов, среди которых определялся процент клеток, содержащих отложения диформазаана (НСТ - позитивные нейтрофилы). Далее рассчитывался индекс активности нейтрофилов (ИАН) по формуле:

$$\text{ИАН} = \frac{A \times 0 + B \times 1 + C \times 2 + D}{100}, \text{ где}$$

A - количество клеток, не содержащих диформазаановых отложений или содержащих их в виде пылевидных немногочисленных включений;

B - количество клеток, в которых площадь отложений диформазаана не превышает 1/3 площади ядра;

C - количество клеток, в которых названные отложения занимают от 1/3 до всей величины площади ядра;

D - количество клеток с диформазаановыми отложениями, по площади превосходящими площадь ядра.

2.4. Определение колониобразующих единиц в селезенке

Длительное время в качестве стволовых кроветворных клеток (СКК) рассматривали клетки, дающие колонии в селезенке облученных мышей – КОЕс. Однако в последние годы такое предположение было экспериментально опровергнуто. Прimitивные СКК (П-СКК) в культуре созревают до стадии КОЕс за 4-6 нед. Несмотря на то, что ни КОЕс и ни одна из категорий клеток, способных к колониобразованию в культуре, не относятся к классу П-СКК [Чертков И.Л. и соавт.,1990], тем не менее, согласно теории клональной саксессии (последовательная смена кроветворных клонов в результате последовательного созревания одной за другой СКК) число КОЕс, мигрировавших из КМ в селезенку, отражает функциональное состояние клона кроветворных клеток и, следовательно, функцию СКК, продуцирующей этот клон. Кроме того, по числу КОЕс можно судить и о функции лимфоидных стволовых клеток, обеспечивающих иммунопоз [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1981].

До последнего времени в литературе [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1972; Петров Р.В. и соавт.,1981; Корнева Е.А., 1990; Забродский П.Ф., 1993; 1998; 2000; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 1997] описывают содержание КОЕ в селезенке после летального облучения мышей с экранированием $\frac{1}{2}$ голени, как отражение функции стволовых кроветворных клеток.

Действие ДДВФ, травмы и их сочетанного эффекта на функцию СКК оценивали путем определения миграции КОЕс из КМ в селезенку оценивали методом эндогенного колониобразования после летального облучения мышей в дозе 8 Гр при экранировании костного мозга задней конечности до уровня $\frac{1}{2}$ голени. Через 30 мин после облучения животных их подвергали изолированному или сочетанному действию химического и физического фактора. Через 8 сут извлекали селезенку, фиксировали ее в растворе Боуэна и подсчитывали число

колониеобразующих единиц [Till J. E., Mc Culloch E. A., 1961; Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1972].

2.5. Исследование функционального состояния лимфоидных органов

2.5.1. Оценка лимфоидного индекса тимуса и селезенки

Массу тимуса и селезенки определяли гравиметрическим методом. Лимфоидный индекс (ЛИ) вычислялся общепринятым способом [Гольдберг Е. Д. и соавт., 1972; Тихонов В. Н., 1981, Германчук В.Г., 2000; Беликов В.Г., 2001] путем деления массы органа в мг на массу тела в г. Данные показатели являются косвенными критериями оценки состояния иммунной системы и могут отражать ее функциональное состояние в целом [Александров В. Н., 1983].

ЛИ тимуса и селезенки определяли после острого отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) травматического повреждения конечности крысы и их сочетания через 1, 3, 6 и 8 сут. В период до 3 сут при острых воздействиях токсикантов на животных и других экстремальных воздействиях, как правило, происходит снижение ЛИ данных органов системы иммунитета [Александров В. Н., 1982; 1983; Забродский П.Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000; Descotes J., 1986].

2.5.2. Определение содержания Т-лимфоцитов в тимусе и лимфоцитов в селезенке, лимфатических узлах, костном мозге и циркулирующей крови

Содержание лимфоцитов в лимфоидных органах после различных воздействий отражает, во-первых, процесс их перераспределения между органами системы иммунитета в основном вследствие изменения функционального состояния симпатического, парасимпатического отделов вегетативной нервной системы и ГГНС [Горизонтов П.Д., 1981а, 1981б; Ройт А., 1991], во-вторых, их апоптоз (запрограммированную гибель), на который

оказывают влияние кортикостероиды и различные химические ксенобототикии [Хаитов Р.М. и соавт., 1995; 2000; Claman H. N., 1972].

Содержание Т-клеток в тимусе крыс определяли общепринятым методом подсчета ядросодержащих клеток в органе, учитывая то обстоятельство, что лимфоциты в вилочковой железе представлены в основном их Т- популяцией (до 90%) [Гольдберг Д. И., Гольдберг Е. Д., 1980; Петров Р. В., 1987; Ройт А., 1991; Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Лимфоциты в селезенке, лимфатических узлах (для изучения брали паховые лимфоузлы) и костном мозге (исследовали клетки костного мозга бедренной кости) подсчитывали, исходя из их относительного содержания в мазках данного органа, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Для определения содержания в лимфоидных органах лимфоцитов клеточные суспензии из тимуса, селезенки, костного мозга и паховых лимфоузлов крыс готовили после интоксикации ДДВФ, действия травмы и их сочетания через 2 и 6 сут. Содержание лимфоцитов в крови крыс определяли через 2 и 8 сут после воздействия факторов и их сочетания общепринятыми методами [Гембицкий Е.В. и соавт., 1987].

2.6. Оценка кооперации Т- и В- лимфоцитов *in vitro*

Кооперацию Т- и В-лимфоцитов исследовали после их выделения через 1 сут у животных подвергшихся действию ДДВФ, механической травмы и их сочетания. Контролем являлись клетки, полученные от интактных животных. Для получения Т-клеток использовали метод фильтрования селезеночной суспензии через нейлоновую вату (“Нитрон”) [Ширшев С.В., 1998]. Для выделения В-лимфоцитов применяли реакцию комплементзависимого масс-цитоллиза. В качестве цитотоксической сыворотки использовали моноклональные антитела против Thy 1.2 антигенов Т-лимфоцитов мыши (Cedarlane Laboratories Limited; London, Canada) [Marshak-Rothstein A. et al.,

1979]. Из суспензии спленоцитов макрофаги удаляли методом негативной селекции, используя их способность прилипать к стеклянной поверхности [Ширшев С.В., 1998]. Жизнеспособность клеток оценивали в тесте с трипановым синим (она составляла 95-98%). Инкубируемая по методу J. K. Thomas, T. Imamura (1986), культура содержала 10^6 и $5 \cdot 10^5$ В- и Т-клеток соответственно, 10^7 эритроцитов барана в 0,15 мл среды Хенкса. Т- и В-лимфоциты с целью обеспечения сингенности клеток для каждого опыта получали из суспензии спленоцитов одной мыши. Антителообразующие клетки (АОК) подсчитывали в инкубационных камерах через 4 сут [Thomas J. K., Imamura T., 1986]. Данный тест отражает синтез IgM В-клетками селезенки при участии Т-хелперов типа 1 (Th1-лимфоцитов).

2.7. Исследование гуморального звена иммунного ответа

Для оценки гуморальных иммунных реакций в качестве антигенов применяли эритроциты барана (ЭБ) и брюшнотифозный Vi-антиген (Vi-Ag). Использование данных антигенов позволяет рассмотреть влияние химического, физического фактора и их сочетанного эффекта на тимусзависимый или тимуснезависимый иммунный ответ, а также оценить роль Т-хелперов в реализации гуморального звена иммунного ответа [Утешев Б. С., 1984; Descotes J., 1986]. Данный подход широко используется для оценки действия различных факторов соединений на систему иммунитета [Плецитый К. Д., 1985; Ройт А., 1991; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., 2000].

Исследование показателей тимусзависимого гуморального иммунного ответа проводили через 5, 8 и 13 суток после острой интоксикации. Иммунизацию эритроцитами барана проводили путем их внутрибрюшинного введения в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток в 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия. Титры антител к ЭБ определяли в реакции гемолиза эритроцитов в присутствии

комплемента. Все реакции проводились на стерильных пластиковых микропланшетах. Гуморальный иммунный ответ оценивали по отрицательному двоичному логарифму титра антител (ОДЛТА). Данный тест отражает способность органов системы иммунитета синтезировать Ig M через 5 сут и Ig G через 8 и 13 сут [Ройт А., 1991; Casale G.P. et al., 1983].

Гуморальную иммунную реакцию к тимусзависимому и тимуснезависимому антигенам оценивали также через 5 суток по числу АОК в селезенке [Белокрылов Г. А. и соавт., 1980; Jerne N. K., Nordin A. A., 1963] после воздействия ДДВФ, травмы и их сочетания, с одновременной внутрибрюшинной иммунизацией крыс ЭБ в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток в 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия и Vi-Ag в дозе 8 мкг/кг (использованный тест отражал синтез Ig M В-клетками селезенки). АОК, характеризующие продукцию иммуноглобулинов G, определяли в селезенке методом непрямого локального гемолиза в геле [Jerne N. K., Nordin A. A., 1963; Whisler R. L., Stobo J.D., 1976].

Для определения АОК к Vi-антигену последний нагружали на ЭБ при температуре 37^0 С в течении 1,5 часов. Конечная концентрация антигена в растворе составляла 20 мкг/мл. С целью освобождения от несвязавшегося с эритроцитами Vi-антигена эритроциты отмывали изотоническим раствором хлорида натрия на менее 8 раз. Кроме того, при оценке тимусзависимого антителообразования по числу АОК в селезенке животных подвергали воздействию исследованных факторов и их сочетания через 1 и 3 сут после иммунизации. При этом практически одновременное введение ДДВФ (воздействие травмы, ее сочетанного эффекта с ядом) с ЭБ и через 1 сут после иммунизации позволяло оценить их влияние на индуктивную фазу гуморального иммунного ответа, а через 3 сут – продуктивную [Корнева Е. А., 1978; 1986; Ройт А. и соавт., 2000; Deskotes J., 1986].

2.8. Исследование клеточного звена иммунного ответа

2.8.1. Оценка функции Т-лимфоцитов

Исследование функции Т-лимфоцитов проводили по реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) периферической крови в присутствии конконавалина А (КонА). РТМЛ основана на способности сенсibilизированных Т-лимфоцитов в реакциях с антигеном или митогенами (ФГА, КонА) *in vitro* выделять биологически активные субстанции – лимфокины, в том числе фактор, ингибирующий миграцию лейкоцитов (один из лимфокинов воспаления) [Фримель Х. и Брок Й, 1986].

Для исследования РТМЛ кровь у крыс получали из подъязычной вены через 2 и 5 сут после интоксикации. В капилляры для определения С - реактивного белка набирали с часового стекла смесь, состоящую из гепаринизированной крови (0,2 мл) исследуемых крыс (опыт и контроль) и раствора КонА (0,5 мл). Концентрация митогена (КонА) в растворе составляла 100 мкг/мл. Капилляры запаивали с одного конца парафином и центрифугировали 5 мин при 1500 об/мин, затем в вертикальном положении их инкубировали 24 ч в термостате при температуре 37⁰ С. Учет реакции проводили путем измерения длины зоны миграции основной массы лейкоцитов от границы эритроцитарного осадка в контроле и опыте [Гембицкий Е.В. и соавт., 1987]. Результат реакции оценивали в виде индекса миграции (ИМ), выраженного в процентах:

Длина зоны миграции с КонА

$$\text{ИМ} = \frac{\text{Длина зоны миграции с КонА}}{\text{Длина зоны миграции в контроле}} \times 100$$

Длина зоны миграции в контроле

Величина ИМ обратно пропорциональна функции Т-клеток.

2.8.2. Исследование реакции гиперчувствительности замедленного типа

Оценка формирования гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) после острого действия травмы, НАК их сочетания в модели, не связанной с переносом клеток, позволяет установить их действие на клеточный иммунитет, в частности на функцию Th1 и продукцию ими ИЛ-1, ИЛ-3, γ -интерферона, β -фактора некроза опухоли и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) лимфоцитов [Georgiev V.St., Albright J.E., 1993], а также на участвующие в реализации гиперчувствительности IV типа Т-клетки памяти и макрофагов [Ройт А., 1991]. В адоптивных реакциях (связанных с переносом клеток) существует возможность оценить действие спиртов на вторичный клеточный иммунный ответ и формирование Th1-лимфоцитов и Т-супрессоров в селезенке.

Для оценки влияния ДДВФ, травмы и их сочетанного действия на формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) использовали модель данной реакции, в которой не используется перенос сингенных иммуноцитов, и адоптивные модели [adopt (англ.) – принимать, усваивать], связанные с введением ИКК животным-реципиентам. ГЗТ оценивали у крыс Вистар после иммунизации внутривенным введением $2 \cdot 10^8$ эритроцитов барана (ЭБ) в 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия одновременно с действием ДДВФ, физического фактора или их сочетания. Разрешающую (вызывающую реакцию) дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$ в 0,05 мл изотонического раствора хлорида натрия) вводили под апоневроз задней лапы через 4 сут после иммунизации. Оценку реакции осуществляли через 24 часа по приросту массы стопы задней лапы крыс по сравнению с контрольной [Брюхин Г.В. и соавт., 1990]. Данный тест отражал функцию Th1 лимфоцитов и способность их к продукции ИЛ-1, ИЛ-3, γ -интерферона, β -фактора некроза опухоли - лимфотоксина и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) [Georgiev V.St., Albright J.E., 1993; Kimber I., 1996].

Локальную адоптивную ГЗТ оценивали у крыс-реципиентов после введения им под апоневроз стопы смеси ЭБ ($5 \cdot 10^8$) и спленоцитов ($4 \cdot 10^8$) от сингенных интактных крыс (отрицательный контроль), животных, иммунизированных 10^8 ЭБ (положительный контроль) и крыс, получавших внутривенно такое же количество ЭБ одновременно с применением исследованных факторов и их сочетанного действия (опытные серии). Селезенку для получения клеток извлекали у доноров через 4 сут после иммунизации. Суспензию спленоцитов готовили на среде Хенкса.

При исследовании формирования ГЗТ у крыс-реципиентов после переноса им спленоцитов ($5 \cdot 10^8$), иммунизированных 10^8 ЭБ сингенных доноров, реципиентов через 1 ч сенсibilизировали внутривенным введением 10^8 ЭБ. Через 4 сут под апоневроз стопы реципиентов вводили разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) с последующей оценкой реакции через 24 ч. Спленоциты получали через 5 сут после иммунизации доноров. В данном эксперименте формирование ГЗТ отражало влияние ДДВФ, травмы и их сочетанного эффекта на вторичный иммунный ответ в модели адоптивной реакции, связанной с переносом иммунных спленоцитов крысам-реципиентам. Доноры подвергались воздействию ДДВФ, травмы и их сочетания через 30 мин после иммунизации

Исследование формирования ГЗТ у крыс при переносе супрессорных клеток проводили аналогично описанному опыту. Влияние токсикантов на формирование спленоцитов-супрессоров исследовали путем практически одновременного введения ДДВФ, моделирования травмы (и ее сочетания с токсикантом) и ЭБ в толерогенной дозе (вызывающей значительное снижение или полное отсутствие иммунной реакции на антиген) крысам-донорам [Фролов и соавт., 1985; Забродский П.Ф., Мышкина А.К., 1990; Германчук В.Г., 2000].

2.8.3. Исследование антителозависимой клеточной цитотоксичности

Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ), характеризующую функцию К-клеток (клеток-киллеров, относящихся к так называемым «нулевым» лимфоцитам [Фримель Х. и Брок Й., 1986] определяли по методу Ю. И. Зимина, В. Ф. Ляхова (1985), через 5 сут после иммунизации, осуществляемой через 30 мин после введения ФОС, моделирования травмы и ее сочетания с ядом (оценка действия факторов и их сочетанного эффекта в индуктивной фазе иммуногенеза). Кроме того, химический и физические факторы, а также их сочетание, применяли через 3 сут после иммунизации ЭБ (оценка действия ФОС, травмы и их сочетания в индуктивной фазе иммуногенеза). Кроме того, карбофос вводили через 3 сут после иммунизации ЭБ (оценка действия яда в продуктивной фазе иммуногенеза).

В настоящее время доказано, что К-клетки - это ЕКК, использующие для усиления реакции антитела [Ройт А., 1991; Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. При этом антитела (IgG) привлекают своим Fc-хвостом ЕКК, имеющие для этого соответствующий FcγRIII. Возникает комплекс клетка-мишень – антитело – ЕКК, в котором ЕКК реализует свою киллерную функцию в отношении клетки-мишени. Субпопуляция CD56^{мало}/ CD16⁺ в АЗКЦ является эффекторной [Хаитов Р. М. и соавт., 2000].

Крыс иммунизировали ЭБ ($5 \cdot 10^8$ клеток в 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия), ДДВФ, травматическое воздействие и их сочетание применяли через 2 сут после иммунизации. Через 5 сут извлекали селезенку и тимус, готовили клеточные суспензии в растворе Хенкса, который затем фильтровали через капроновую сетку. Суспензии клеток дважды отмывали изотоническим раствором хлорида натрия по 10 мин при 400 g. Жизнеспособность клеток определяли методом суправитальной окраски 0,1 % раствором трипанового синего. В качестве клеток-мишеней использовали трижды отмытые по 10 мин

при 400 г ЭБ, которые в 2,5 % суспензии смешивали с равным объемом гипериммунной антисыворотки кролика в субагглютинирующем разведении (1:5000). Смесь инкубировали 30 минут при 37°C, а затем отмывали 3 раза раствором Хенкса и доводили до необходимой(1:5000). Смесь инкубировали 30 минут при 37°C, а затем отмывали 3 раза раствором Хенкса и доводили до необходимой концентрации. Используемую антисыворотку предварительно инактивировали в течении 30 минут при 56°C. Спленоциты (тимоциты) смешивали с ЭБ в соотношении 20 : 1 (абсолютные значения составляли соответственно $20 \cdot 10^6$ и $1 \cdot 10^6$) в 2 мл раствора Хенкса без фенолового красного и инкубировали 4 ч при 37°C. После инкубации смесь клеток центрифугировали 20 минут при 200 г, собирали супернатант. Цитопатогенность киллеров оценивали спектрофотометрическим методом по выходу гемоглобина из лизированных эритроцитов. Контролем служили пробы, содержащие эффекторы и интактные ЭБ. Измерения оптической плотности проводили при длине волны 412 нм на спектрофотометре СФ-46. Уровень АЗКЦ оценивали по индексу цитотоксичности (ИЦ) по формуле:

$$\text{ИЦ} = \frac{E_0 - E_k}{E_{\max}} \times 100, \text{ где}$$

E_0 - оптическая плотность проб, содержащих эффекторные клетки и сенсibilизированные клетки мишени;

E_k - оптическая плотность супернатантов проб, содержащих эффекторные клетки и интактные эритроциты;

E_{\max} - оптическая плотность при максимальном гемолизе соответствующего числа эритроцитов (гемолиз проводили дистиллированной водой).

Действие факторов оценивали при их воздействии в индуктивной и продуктивной фазах иммуногенеза (одновременно с иммунизацией и через 2 сут после нее), а эффекты иммуностимуляторов и антитов ФОС после интоксикации ДДВФ, а также, травмы и ее с ФОС сочетания - в продуктивной фазе иммуногенеза.

2.8.4. Исследование естественной цитотоксичности (активности естественных клеток-киллеров - ЕКК)

К ЕКК, открытым в 1976 году, относятся клетки, не имеющие антигенных маркеров Т- и В-лимфоцитов (так называемые, О-клетки). Предполагают, что ЕКК происходят из предшественников Т-лимфоцитов [Ройт А., 1991]. Поверхность ЕКК имеет маркерные молекулы CD16, CD56, CD57 и CD94 (преимущественно ЕКК представлены клетками с маркерами CD16 и CD56) [Хайтов Р.М. и соавт., 2000]. При контакте с клетками опухоли и клетками, пораженными вирусами или паразитами, ксеногенными клетками ЕКК способны уничтожать их. ЕКК не обладают способностью к фагоцитозу [Петров Р.В., 1983; Ройт А., 1991].

Цитолиз клетки-мишени осуществляется проникновением ферментов из гранул ЕКК в цитоплазму клетки-мишени (порообразование перфорином). [Хайтов Р. М. и соавт., 2000; Nogueira N., 1984]. Кроме того, ЕКК способны обеспечивать уничтожение чужеродной клетки путем реализации "дыхательного взрыва" (поражение активными радикалами кислорода, гидроксильного радикала и т.п.), а также индукцией апоптоза. Активность ЕКК повышается интерферонами, интерлейкинами (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13) [Хайтов Р. М. и соавт., 2000; Kimber I., More M., 1985; Marx J.L., 1986].

Активность ЕКК может существенно снижаться при действии большого числа токсикантов [П.Ф.Забродский, 1993, 1997, 2000; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., 1998; Fergula J. et al., 1972].

Оценка естественной цитотоксичности осуществлялась нерадиометрическим методом [Гордиенко С. М., 1983, 1984], где клетками-эффекторами служили спленоциты крыс, а клетками-мишенями - эритроциты кур (ЭК) [Белокрылов Г. А. и соавт., 1980]. Очищенную взвесь лимфоцитов получали, удаляя прилипающие клетки инкубацией в колонках с нейлоновой ватой. Эффекторные клетки взвешивали в концентрации 10^7 клеток в 1 мл питательной среды следующего состава: среда № 199 с добавлением до 10% истощенной ЭК эмбриональной телячьей сыворотки, L-глутамина (300 мкг/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) и пенициллина (100 Ед/мл). В ходе опыта обеспечивали соотношение эффектор - мишень 10:1, Ед/мл). В ходе опыта обеспечивали соотношение эффектор - мишень 10:1, при этом концентрация клеток-мишеней (ЭК) составляла 10^6 в 1 мл питательной среды. Цитотоксический тест ставили в пластиковых камерах «Linbro» (76-013-05) с круглым дном. Результаты реакции учитывали по спектрофотометрическому определению концентрации гемоглобина, выделившегося из неразрушенных ЭК. В опытные лунки добавляли по 0,1 мл взвеси эффекторных клеток и по 0,1 мл взвеси ЭК. Проводили 3 контроля: эффекторные клетки в питательной среде без ЭК; питательная среда; взвесь ЭК в питательной среде без эффекторов. В конце инкубации содержимое лунок осторожно ресуспендировали и камеры центрифугировали 5 мин при 100g. 0,2 мл надосадка переносили в другие свободные ряды микропластины, а к осадку приливали 0,2 мл 0,25% раствора додецилсульфата натрия (ДСН) для лизиса ЭК, оставшихся неразрушенными входе цитотоксической реакции. Оптическую плотность осадков измеряли в специально изготовленных микрокуветах с длиной оптического пути 1 см и объемом 0,1 мл на СФ-46 при

длине волны 413 нм. Определяли количество гемоглобина, выделившегося из неразрушенных ЕКК ЭК, путем лизиса осадка 0,25% ДСН. Индекс цитотоксичности (ИЦ) определяли по формуле:

$$\text{ИЦ} = \frac{E_k - E_0}{E_k} \times 100, \text{ где}$$

E_k - оптическая плотность лизированного осадка ЭК контрольной пробы без эффекторов против лизирующего раствора;

E_0 - оптическая плотность лизированных оставшихся в осадке опытной пробы неразрушенных ЭК против лизированного осадка эффекторных клеток без ЭК;

Функцию ЕКК оценивали через 1, 3 и 8 сут после интоксикации ДДВФ, действия травмы и их сочетанного эффекта.

2.9. Оценка активности эстераз Т-лимфоцитов

Неспецифические эстеразы, как и кислые фосфатазы, являются лизосомальными ферментами и играют важную роль в реализации киллерной функции Т-лимфоцитов [Ледванов М. Ю., Киричук В. Ф., 1996; Ferluga J. et al., 1972; Li C. Y. et al., 1973]. Изменение эстеразной активности в клетках отражает, с одной стороны, функциональную активность иммуноцитов, с другой - может служить количественным критерием Т-клеток в циркулирующей крови [Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д., 1983].

Активность α -нафтил-AS-ацетатэстеразы и α -нафтил-бутиратэстеразы спленоцитов крысы (Т-клеток органа) изучали гистохимическим методом [Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д., 1983]. Принцип метода основан на том, что эстеразы, вступая во взаимодействие с субстратом в присутствии красителя прочного синего, окрашивают эстерапозитивные клетки.

Активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в Т-лимфоцитах крысы определяли методом G.M. Ellman et al. (1961), выделяя клетки путем фильтрования селезеночной суспензии через нейлоновую вату (“Нитрон”) [Ширшев С.В., 1998]. 1,5 мл суспензии, содержащей $5 \cdot 10^8$ клеток в 1 мл 0,1 молярного фосфатного буфера (рН–8,0), добавляли 20 мкл 0,075 моль ацетилхолин-иодида и 50 мкл 0,01 моль дитио-бис-нитробензойной кислоты. После 20 мин инкубации при 25⁰ С реакция останавливалась добавлением 100 мкл 1,5–дифтор-2,4-динитробензола и регистрировали увеличение оптической плотности спектрофотометрически (420 нм) [Szelenyi J.G. et al., 1982]. За единицу активности АХЭ принимали мкмоль ацетилхолина, гидролизованного за 1 мин в мл суспензии, содержащей 10⁹ Т-лимфоцитов [Kutty K. M. et al., 1976].

Активность эстераз определяли через 3 сут после отравления ДДВФ, действия травмы и их сочетания.

2.10. Исследование концентрации кортикостероидов в плазме крови

Состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) после действия ФОС, травмы и их сочетания оценивали путем измерения массового индекса надпочечников у крыс Вистар и оценкой уровня кортикостерона в плазме крови крыс флюорометрическим методом. Определяли уровень неконъюгированных 11-оксикетостероидов [Moore P., de et al., 1962; 1976], в частности, кортикостерон (КС) через 2, 12 и 24 ч после интоксикации ДДВФ, воздействия травмы и их сочетания.

Экстракция кортикостерона из анализируемых образцов плазмы крови проводилась четыреххлористым углеродом. Для удаления пигментов плазмы и нестероидных соединений экстракты промывались с помощью 0,1% раствора NaOH и дистиллированной воды. Затем верхний слой, включающий в себя кортикостерон, переносился, выпаривался и повторно экстрагировался 6 мл метилхлорида или хлороформа. Для образования флюоресцентных комплексов использовалась смесь

концентрированной серной кислоты и этанола в соотношении 3:1. После развития флюоресценции растворы исследовались на флюориметре с использованием интерферентных фильтров: первичного с пропусканием волн длиной 470 нм и вторичного – 540 нм.

2.11. Методы статистической обработки результатов исследований

Полученные данные обрабатывались с применением общепринятых статистических методов [Сепетлиев Д. Н., 1968; Урбах В. Ю., 1975; Гублер Е. В., 1978; Лакин Г. Ф., 1980]. При этом различия между средними значениями в опытной и контрольной группах считались значимыми при $p < 0,05$. Расчеты

Полученные данные обрабатывались с использованием общепринятых статистических методов [Сепетлиев Д. Н., 1968; Урбах В. Ю., 1975; Гублер Е. В., 1978; Лакин Г. Ф., 1980]. При этом различия между средними значениями в опытной и контрольной группах считались значимыми при $p < 0,05$. Расчеты среднелетальных доз нитрилов проводили по методу Миллера и Тейтнера [Беленький М. А., 1963].

В исследованиях использовались параметрические методы исследования с оценкой достоверности различий по t-критерию Стьюдента.

Статистический анализ экспериментальных данных с небольшим числом животных в сериях и при отсутствии нормального распределения показателей осуществлялся с помощью непараметрических методов (Уилкинсон-Манни-Уитни, χ^2). Расчеты проводились на персональном компьютере с использованием пакета программ Statgraphics.

ГЛАВА 3

ДЕЙСТВИЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ДДВФ В СОЧЕТАНИИ С МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМОЙ НА ИНТЕГРАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ И ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА И ФАКТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ

3.1. Изменение антиинфекционной неспецифической и иммунологической резистентности организма при экспериментальном перитоните

В процессе проведенных нами экспериментальных исследования установлено, (табл. 3.1), что механическая травма (перелом бедренной кости), острое отравление ДДВФ, а также их сочетанное действие с травматическим повреждением приводят к увеличению летальности крыс от экспериментальной инфекции (перитонита). Так, по сравнению с контролем, составляющим $12,5 \pm 5,1\%$, этот показатель увеличивался после травмы, острой интоксикации ДДВФ, а также действию ФОС в сочетании с травмой соответственно на 25,0; 16,1 и 37,5% ($p < 0,05$).

Увеличение летальности животных от экспериментальной инфекции было сопряжено с уменьшением LD_{50} E. Coli и Et_{50} . Это вполне закономерно, так показатель летальности и LD_{50} E. Coli и Et_{50} находятся в обратном соотношении. После травмы, острого действия ДДВФ и их сочетания LD_{50} E. Coli уменьшалась соответственно в 1,66; 1,53 и 2,18 раза ($p < 0,05$), а Et_{50} – соответственно в 1,55; 1,37 и 1,92 раза ($p < 0,05$).

При анализе изменений исследованных показателей после травмы, отравления и их сочетанного эффекта видно, что изменение интегральных показателей неспецифической и иммунологической резистентности организма (НИРО) более выражено после травматического повреждения по сравнению с

действием ДДВФ, а при сочетанном воздействии факторов происходит суммация супрессирующих эффектов.

Таблица 3.1

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) в сочетании с механической травмой на летальность от экспериментального перитонита (E. Coli), ЛД₅₀ E. Coli, и Et₅₀ у крыс после иммунизации (M+m)

Серии опытов	Летальность, %	ЛД ₅₀ E. Coli, 10 ⁹ микр. тел	Et ₅₀
Контроль	12,5±5,1 (40)	8,3±1,1 (40)	38,7±4,5 (40)
Травма	37,5±12,0** (16)	5,0±0,6* (16)	25,0±3,1* (16)
ДДВФ	28,6±9,8** (21)	5,4±0,8* (21)	28,2±2,8* (21)
ДДВФ + травма	50,0±11,8**° (18)	3,8±1,1* (18)	20,1±2,2* (18)

Примечание: в скобках - число животных в серии; *, ** - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$ (** - χ^2); ° - различие достоверно по сравнению с действием ДДВФ - $p < 0,05$ (χ^2).

Таким образом, после острого отравления ФОС ДДВФ, действия травмы, а также их сочетания происходит увеличение летальности животных от экспериментального перитонита после предварительной иммунизации, снижение ЛД₅₀ E. Coli и среднеэффективного времени жизни животных, что свидетельствует о редукции под влиянием токсикантов и их сочетанного действия с травмой неспецифической и иммунологической резистентности организма. Сочетанное действие травмы и ДДВФ приводит к суммации эффектов действующих факторов.

3.2. Изменение неспецифической и иммунологической резистентности организма при экспериментальном пневмонии

Эксперименты, проведенные нами на крысах показали (табл. 3.2), что травматическое повреждение, острое отравление ФОС, а также их сочетанное действие приводят к увеличению летальности крыс от экспериментальной пневмонии, вызванной *P. vulgaris*. Так, по сравнению с

Таблица 3.2

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) в сочетании с механической травмой на летальность от экспериментальной пневмонии (*P. vulgaris*), ЛД₅₀ *P. vulgaris* и Et₅₀ у крыс после иммунизации (M+m)

Серии Опытов	Летальность, %	ЛД ₅₀ <i>P.</i> <i>vulgaris</i> , 10 ⁹ микр. тел	Et ₅₀
Контроль	23,3±7,7 (30)	4,8±0,5 (30)	48,4±4,7 (30)
Травма	56,2±12,4* (16)	2,8±0,5* (16)	29,4±3,1* (16)
ДДВФ	48,0±10,0* (25)	3,2±0,4* (25)	33,5±3,8* (25)
ДДВФ + травма	71,4±11,5** (21)	2,3±0,3* (25)	25,1±2,6* (25)

Примечание: в скобках - число животных в серии; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ** - различие достоверно по сравнению с контролем и действием ДДВФ - $p < 0,05$ (χ^2).

контролем, составляющим 23,3±7,7%, этот показатель увеличивался после травматического перелома бедренной кости, острого отравления ДДВФ и их сочетанного действия соответственно на 32,9; 24,7 и 48,1% ($p < 0,05$).

Увеличение летальности животных от экспериментальной инфекции закономерно сопровождалось уменьшением ЛД₅₀ *P. vulgaris* и Et₅₀. При травматическом повреждении, остром отравлении ДДВФ и их сочетанном

действии LD_{50} *P. vulgaris* уменьшалась соответственно в 1,71; 1,50 и 2,09 раза ($p < 0,05$), а Et_{50} – соответственно в 1,65; 1,44 и 1,93 раза ($p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что травма вызывает большее снижение НИРО, чем воздействие острого отравления ДДВФ. При сочетанном действии травмы и ФОС отмечался аддитивный эффект (эффект суммации).

Таким образом, после острого отравления ФОС ДДВФ, действия травматического повреждения, а также их сочетания происходит увеличение летальности животных от экспериментальной пневмонии после предварительной иммунизации, снижение LD_{50} *P. vulgaris* и среднеэффективного времени жизни животных, что свидетельствует о супрессии под влиянием токсикантов и их сочетанного действия с травмой неспецифической и иммунологической резистентности организма. Сочетанное действие травмы и ДДВФ приводит к суммации эффектов действующих факторов.

3.3. Влияние острого отравления ДДВФ в сочетании с травматическим повреждением на обсемененность селезенки и циркулирующей крови

В ходе эксперимента исследовалось количество микробных тел *E. Coli* в крови и селезенке беспородных крыс при изолированном воздействии ФОС ДДВФ ($0,8 LD_{50}$) и в сочетании с травмой через сутки после введения микроорганизмов. Нами установлено (табл. 3.3), что после травмы, острого отравления ФОС и их сочетанного действия количество микробных тел *E. Coli* в крови статистически значимо возрастает в 2,78; 2,34 и 3,56 раза соответственно ($p < 0,05$), а в селезенке – соответственно в 4,03; 4,57 и 7,34 раза ($p < 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что травма вызывает большее увеличение микробных тел *E. Coli* в крови и селезенке, чем действие ДДВФ, что подтверждает ее больший супрессирующий эффект на НИРО по

сравнению с острым отравлением ФОС. При сочетанном действии травмы и ФОС отмечалась суммация эффектов.

Таблица 3.3

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на содержание E. Coli в крови и селезенке крыс через 6 сут (M±m)

Серии опытов	Обсемененность	
	Периферическая кровь (0,05 мл)	Селезенка (10 ²)
Контроль	21,2±9,5 (10)	17,4±5,3 (10)
Травма	58,9±10,8* (9)	68,9±11,2* (9)
ДДВФ	49,7±9,1* (8)	78,2±12,2* (8)
ДДВФ + травма	75,5±10,7* (8)	125,6±14,0** (8)

Примечание: в скобках - число животных в серии; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ** - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием ДДВФ и травмы - $p < 0,05$.

Полученные экспериментальные данные позволяют утверждать, что травматическое повреждение при остром отравлении ФОС приводит к усилению редукции факторов, определяющих НИРО.

Таким образом, при остром отравлении ДДВФ в дозе 0,8 LD₅₀, травматическом повреждении и их сочетании происходит увеличение содержания числа микробных тел E. Coli в циркулирующей крови и селезенке крыс после их введения по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении неспецифической и иммунологической резистентности организма. Сочетанное действие травмы и ФОС приводит к суммации их эффектов.

3.4. Сывороточная активность лизоцима при остром отравлении

ДДВФ в сочетании с травмой

Нами установлено, что после травмы, острого действия ДДВФ в дозе 0,8 LD₅₀ и их сочетанного эффекта (табл.3.4) через 6 сут происходит уменьшение сывороточной активности лизоцима соответственно в 1,70; 1,57 и 2,12 раза ($p < 0,05$). Через 12 сут после действия химического и физического фактора и их сочетания зарегистрирована несущественная супрессия синтеза лизоцима, которая составила 17,6; 8,2 и 18,8% соответственно ($p > 0,05$), что свидетельствует о практически полном восстановлении исследованного показателя.

Таблица 3.4

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на активность лизоцима сыворотки крови крыс, мг/л (M±m)

Серии опытов	Срок наблюдения, сут	
	6	12
Контроль	8,5±0,8 (30)	
Травма	5,0±1,5* (13)	7,0±1,4 (12)
ДДВФ	5,4±1,2* (15)	7,8±1,7 (15)
ДДВФ + травма	4,0±0,7* (15)	6,9±1,6 (15)

Примечание: в скобках - число животных в серии; * - различие с контролем достоверно $p < 0,05$.

Таким образом, после действия травмы, ДДВФ и сочетанного их эффекта через 6 сут отмечается снижение активность лизоцима сыворотки крови с практически полным восстановлением показателя к 12 сут. Отмечается более

выраженный эффект при сочетанном действии факторов по сравнению с их изолированным влиянием.

3.5. Сывороточная активность тромбоцитарного катионного белка при остром действии ДДВФ в сочетании с травмой

Оценка активности ТКБ сыворотки крови после травмы, острого действия ДДВФ и их сочетанного эффекта показала (табл. 3.5), что через 6 сут отмечается снижение показателя соответственно в 1,30; 1,19 и 1,44 раза ($p < 0,05$). Через 12 сут после действия ФОС, травмы и их сочетания происходило полное восстановление исследованного показателя.

Таблица 3.5

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на активность тромбоцитарного катионного белка сыворотки крови крыс, % (M±m)

Серии Опытов	Срок наблюдения, сут	
	6	12
Контроль	65,3±2,5 (25)	
Травма	50,4±3,5* (16)	60,2±2,8 (12)
ДДВФ	55,0±4,4* (15)	67,9±4,8 (14)
ДДВФ + травма	45,5±4,3* (15)	69,0±5,0 (14)

Примечание: в скобках - число животных в серии; * - различие с контролем достоверно $p < 0,05$.

Полученные результаты показывают, что действие травмы вызывает несколько большее снижение синтеза ТКБ, чем отравление ДДВФ. При сочетанном действии травмы и ФОС отмечалась суммация эффектов.

Таким образом, после действия травмы, ДДВФ и их сочетанного эффекта через 6 сут отмечается снижение ТКБ сыворотки крови с полным восстановлением показателя к 12 сут. Отмечается более выраженный эффект при сочетанном действии травмы и ДДВФ по сравнению с их изолированным влиянием.

3.6. Фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов при острой интоксикации ДДВФ в сочетании с травмой

Исследование фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов после острого действия ДДВФ, травмы и их сочетанного эффекта показало (табл. 3.6), что через 6 сут отмечается снижение показателя соответственно в 1,79; 1,40 и 2,33 раза ($p < 0,05$). Через 12 сут после действия ФОС, травмы и их сочетания происходило полное восстановление исследованного показателя.

Таблица 3.6

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на фагоцитарную активность нейтрофилов крыс (индекс активности нейтрофилов) [M±m]

Серии Опытов	Срок наблюдения, сут	
	6	12
Контроль	0,28±0,02 (25)	
Травма	0,16±0,03* (15)	0,29±0,03 (14)
ДДВФ	0,20±0,03* (15)	0,25±0,02 (15)
ДДВФ + травма	0,12±0,02* (15)	0,30±0,03 (15)

Примечание: в скобках - число животных в серии; * - различие с контролем достоверно $p < 0,05$.

Из данных, приведенных в табл. 3.6, видно, что действие травмы вызывает несущественно большее снижение фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов, чем острое отравление ДДВФ. При сочетанном действии травмы и ФОС отмечалась суммация эффектов.

Таким образом, после действия травмы, ДДВФ и их сочетанного эффекта через 6 сут отмечается снижение фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов с полным восстановлением показателя к 12 сут. Отмечается аддитивный эффект при сочетанном действии травмы и ФОС.

Резюме

Полученные нами результаты исследований показали, что после острого отравления ФОС ДДВФ, действия травматического повреждения, а также их сочетания происходит увеличение летальности животных от экспериментальной пневмонии после предварительной иммунизации, снижение LD_{50} *P. vulgaris* и среднеэффективного времени жизни животных, что свидетельствует о супрессии под влиянием ДДВФ и их сочетанного действия с травмой неспецифической и иммунологической резистентности организма. Сочетанное действие травмы и ДДВФ приводит к суммации эффектов действующих факторов.

Нами установлено, что при остром отравлении ДДВФ в дозе $0,8 LD_{50}$, травматическом повреждении и их сочетании происходит увеличение содержания числа микробных тел *E. Coli* в циркулирующей крови и селезенке крыс после их введения по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении неспецифической и иммунологической резистентности организма. Сочетанное действие травмы и ФОС приводит к суммации их эффектов.

После действия травмы, ДДВФ и сочетанного их эффекта через 6 сут отмечается снижение активности лизоцима, ТКБ сыворотки крови, фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов с практически полным

восстановлением показателя к 12 сут. Отмечается более выраженный эффект при сочетанном действии факторов по сравнению с их изолированным влиянием.

Выявленные изменения НИРО, а также факторов неспецифической защиты организма под влиянием ДДВФ, вероятно, обусловлены ингибированием неспецифических эстераз клеток крови [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983; Забродский П. Ф., 1987]. При этом, вероятно, помимо снижения продукции неспецифических факторов защиты организма, уменьшается также устойчивость клеток тканей к микроорганизмам и их токсинам [Горизонтов П. Д., 1981]. Не исключено, что помимо ингибирования эстераз макрофагов, моноцитов и ЕКК редукция НРО обусловлена снижением процессов тканевого дыхания в митохондриях этих клеток, вызванного ФОС [Ротенберг Ю.С.1980] и связанным с ними уменьшением окислительного фосфорилирования (синтеза АТФ) в лейкоцитах, обеспечивающих НРО, и других клетках организма, что приводит к снижению их устойчивости к развитию воспаления брюшины и сепсису. Возможно, снижение НИРО обусловлено также мембранотоксическим действием ФОС на полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ) и тромбоциты [Голиков С.Н. и соавт., 1986].

Снижение сывороточной активности ТКБ может быть связано с действием ДДВФ на его синтез и выделение тромбоцитами [Бухарин О.В., 1974, 1985; Забродский П.Ф., 1999].

Усиление эффектов ДДВФ травмой, вероятно, обусловлено большей активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) и более выраженным иммуносупрессивным действием кортикостерона [Claman H.N., 1972, 1993], а также увеличение супрессорной активности лимфоцитов [Аскалонов А.А. и соавт., 1985].

ГЛАВА 4

СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ДДВФ И МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ НА ОСНОВНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ

4.1. Оценка функции Т-лимфоцитов

Исследование острого действия механической травмы, ДДВФ их сочетания на функцию Т-лимфоцитов проводили по реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) периферической крови крыс в присутствии КонА через 1, 3 и 6 сут после воздействия изолированного и сочетанного воздействия исследованных факторов. Данная реакция обусловлена действием лимфокина воспаления [Фримель Х. и Брок Й, 1986].

В экспериментальных исследованиях нами установлено (табл. 4.1), что

Таблица 4.1

**Влияние острого отравления ДДВФ
(0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на функцию
Т-лимфоцитов крыс, % (M±m)**

Серии опытов	Время после действия факторов, сут		
	1	3	6
Контроль	52,5± 5,6		
Травма	70,5± 5,2*	73,7± 5,5*	58,3± 5,0
ДДВФ	82,3± 5,7*	70,8± 6,0*	62,3± 5,8
ДДВФ+ травма	88,4± 5,4*	78,2± 5,9*	69,5± 6,0

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 11 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

при оценке функции Т-клеток по РТМЛ у крыс через 1 сут после травмы, острой интоксикации ДДВФ и их сочетанного действия отмечается увеличение миграции лейкоцитов (снижение функции Т-клеток)

соответственно на 18,0; 29,8 и 35,5% ($p < 0,05$). Через 3 сут отмечалась супрессия показателя при действии травмы, ДДВФ и их сочетания соответственно на 21,2; 18,3 и 25,7% ($p < 0,05$). Тенденция к снижению функции Т-лимфоцитов при действии физического и химического фактора и их сочетанного эффекта сохранялась до 6 сут. Отмечалось более выраженное по сравнению с травмой действие ДДВФ на функцию Т-клеток. Сочетанное действие факторов приводило к суммации их эффектов.

Таким образом, травма, острое отравление ДДВФК (0,8 ЛД₅₀) и их сочетание сопровождались уменьшением функции функцию Т-лимфоцитов, оцениваемой по реакции торможения миграции лейкоцитов через 1-3 сут с частичным восстановлением показателя к 6 сут.

4.2. Исследование реакции гиперчувствительности замедленного типа

В результате экспериментов на крысах Вистар нами установлено (табл. 4.2), что при травме, остром отравлении ДДВФ и их сочетанном действии происходит снижение реакции ГЗТ (без переноса клеток) соответственно в 1,72; 1,95 и 2,81 раза ($p < 0,05$).

В локальной адоптивной реакции ГЗТ по сравнению с «положительным» контролем при механической травме, остром отравлении ДДВФ и их сочетанном эффекте происходило статистически достоверное ($p < 0,05$) снижение иммунной реакции соответственно в 1,29; 1,61 и 2,00 раза. Полученные данные свидетельствуют о том, при сочетании травматического воздействия и острого отравления ДДВФ иммуносупрессивные эффекты данных факторов суммируются.

При переносе спленоцитов после иммунизации крыс-доноров реакция ГЗТ отражала формирование вторичного клеточного иммунного ответа, так как после введения этих клеток крысы-реципиенты за 4 сут до введения

Действие острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на формирование гиперчувствительности замедленного типа у крыс по приросту массы задней стопы, % (M±m)

Модель	Серии опытов	Факторы		
		Травма	ДДВФ	ДДВФ+травма
ГЗТ без переноса клеток	К	29,5±0,8 (25)		
	О	17,2±1,4*	15,1±1,5*	10,5±1,3°
Адоптивные ГЗТ: локальная	ОК	17,5±2,0		
	ПК	40,3±2,3		
	О	31,2±2,0*	25,0±2,2*	20,1±2,3*
перенос клеток после иммунизации	К	84,1±6,4		
	О	66,1±5,5*	50,1±5,0*	44,2±4,5*
перенос супрессорных клеток	К	34,3±3,2		
	О	26,0±2,3*	24,5±2,6*	19,1±2,2**

Примечание: в скобках – число животных; К, О, ОК, ПК – контроль, опыт, отрицательный контроль, положительный контроль соответственно; в каждой серии опытов использовалось 6-9 животных; * - различия достоверны по сравнению с контролем или положительным контролем ($p < 0,05$); ° - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ - $p < 0,05$; ** - различия достоверны по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ (критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни).

разрешающей дозы антигена (ЭБ), получали его путем внутрибрюшинной иммунизации. В этой реакции основную роль играли Th1-лимфоциты селезенки доноров после действия на них травмы, ДДВФ и их сочетания. Проведенные нами эксперименты свидетельствуют, что данные факторы снижали исследованную реакцию ГЗТ соответственно в 1,27; 1,68 и 1,90 раза ($p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что посттравматическая редукция реакции ГЗТ, проявлялась в меньшей степени, чем постинтоксикационная, а супрессия, обусловленная сочетанным действием физического и химического факторов, проявлялись в большей степени, чем депрессия исследованной клеточной иммунной реакции, связанная с травмой и отравлением ($p < 0,05$). Полученные данные позволяют полагать, что при сочетании травматического воздействия и ДДВФ отмечается суммация их эффектов. При этом основной вклад в редукцию реакции ГЗТ обеспечивается эффектом ФОС.

При переносе супрессорных клеток, которые формировались под влиянием травмы, ДДВФ и их сочетания, зарегистрировано увеличение их активности под влиянием данных факторов (и их сочетанного эффекта), что сопровождалось супрессией реакции ГЗТ по сравнению с контролем соответственно в 1,32; 1,40 и 1,80 раза ($p < 0,05$). Приведенные данные позволяют считать, что происходит увеличение супрессорной активности клеток селезенки при сочетанном действии ДДВФ и травмы по сравнению с их изолированным действием.

Данные литературы свидетельствуют, что Th1-лимфоциты обеспечивают реализацию реакции ГЗТ путем активации макрофагов. В основном Th1-лимфоциты регулируют физиологические механизмы, обеспечивающие функцию Т-звена иммунитета [Хаитов Р.М и соавт., 2000; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993; Kimber I., 1996]. Полученные нами результаты косвенно свидетельствуют о том, что травма, ДДВФ и их сочетание уменьшают способность Th1-лимфоцитов синтезировать ИЛ-1, ИЛ-3, γ -интерферон и β -

фактор некроза опухоли (лимфотоксин), участвующие в реализации реакции ГЗТ [Kimber I., 1996]. Кроме того, травма, ДДВФ и их сочетание, вероятно, снижают активность и других клеток, обеспечивающих формирование ГЗТ, в частности, Т-клеток памяти и макрофагов [Ройт А., 1991].

Таким образом, при сочетании травматического воздействия и острой интоксикации ДДВФ происходит суммация эффектов, снижающих реакцию ГЗТ, характеризующей как первичный, так и вторичный клеточный иммунный ответ, а также связанных с реализацией механизмов, направленных на увеличение активности Т-супрессоров.

4.3. Изучение антителозависимой клеточной цитотоксичности

Естественные клетки-киллеры (ЕКК), активированные связанными с клеткой-мишенью (например, ксеногенной клеткой или клеткой, пораженной вирусом) антителами (IgG), уничтожают ее. Эта система получила название антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ) [Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Помимо ЕКК в эту систему входят полиморфноядерные лейкоциты (ПЯЛ) – моноциты, базофилы, эозинофилы, сегментоядерные лейкоциты, а также другие миелоидные клетки [Ройт А., 1991]. В проведенных нами опытах исследовалась вся система АЗКЦ: ЕКК (большие зернистые лимфоциты) и ПЯЛ.

Наши исследования показали (табл. 4.3), что после действия травмы, ФОС и их сочетаний (одновременно с иммунизацией) АЗКЦ снижается соответственно в 1,71; 2,03 и 3,19 раза ($p < 0,05$), а при воздействии через 3 сут после иммунизации – соответственно в 2,07; 2,38 и 3,93 раза ($p < 0,05$).

Патогенез иммуносупрессии при действии ФОС может быть связан с реализацией общих механизмов токсического действия [Голиков С.Н. и соавт., 1986], возможным ингибированием эстераз К-клеток. В ПЯЛ, осуществляющих

АЗКЦ, имеются неспецифические эстеразы, в частности, α -нафтил-AS-D-хлорацетатэстераза [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983]. В настоящее время не доказано их отсутствие в лимфоцитах-киллерах. Учитывая их общее происхождение с Т-лимфоцитами от стволовых лимфоидных клеток [Ройт А., 1991], такая возможность не исключена.

Таблица 4.3

**Влияние острого отравления ДДВФ
(0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на антителозависимую
клеточную цитотоксичность спленоцитов крыс через 5 сут, % (M±m)**

Серии опытов	Время действия факторов по отношению к иммунизации, сут	
	0	3
Контроль	11,8±0,5 (25)	
Травма	6,9±1,4*	5,7±1,3*
ДДВФ	5,8±1,0*	5,0±1,2*
ДДВФ+ травма	3,7±0,8°	3,0±1,0*

Примечание: в каждой серии использовалось от 9 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ° - различие достоверно по сравнению с контролем и действием травмы - $p < 0,05$.

После травмы в крови возрастает содержание глюкокортикоидов [Аскалонов А.А. и соавт., 1985; Масютин В.А., 1994; Идова Г.В., Чейдо М.А., 1996; Mikhova et.al., 1991; Hassig A. et al., 1996], которые могут вызывать апоптоз К-клеток или снижение их функции [Гордиенко С.М. и соавт., 1987; Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Результаты исследований, представленные в табл.4.3, свидетельствуют о том, что существенные различия между действием травмы и ДДВФ на АЗКЦ отсутствуют. При сочетанном действии данных факторов происходит суммация их эффектов.

Таким образом, острое отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀), травма и их сочетание уменьшают активность К-клеток селезенки, оцениваемую по АЗКЦ. Выявлен аддитивный иммуносупрессивный эффект ФОС и травматического повреждения.

4.4. Определение функции естественных клеток-киллеров

ЕКК представлены преимущественно клетками с маркерами CD16, CD56, однако способностью к естественной цитотоксичности обладают лимфоциты со следующими CD-маркерами: CD2, CD11b, CD16, CD27, CD30, CD39, CD56, CD57, CD62L, CD87, CD94, CD119 и CD132. При этом субпопуляции ЕКК CD2, CD27, CD30, CD62L, CD87, CD132 обладают свойствами и Т-лимфоцитов. Ингибируют цитотоксическую активность ЕКК субпопуляции нормальных (естественных) киллеров CD158a, CD158b [Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. При контакте с клетками опухоли, клетками, пораженными вирусами или паразитами, ксеногенными клетками ЕКК способны уничтожать их без предварительного контакта с антигенами, находящимися на их поверхности.

Нами установлено (табл. 4.4), что травма, ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) и их сочетание снижают их активность естественных клеток-киллеров через 1 сут после воздействия соответственно в 1,83; 2,54 и 3,89 раза ($p < 0,05$), а через 3 сут - соответственно в 1,55; 1,82 и 2,33 раза ($p < 0,05$).

Таблица 4.4

**Влияние острого отравления ДДВФ
(0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на активность
естественных клеток-киллеров крыс, % M±m)**

Серии опытов	Время после действия факторов, сут			
	1	3	6	9
Контроль	31,5± 1,2 (27)			
Травма	17,2 ±2,2*	20,3±2,4*	23,1± 2,8*	30,2± 3,0
ДДВФ	12,4 ±2,1*	17,3±2,3*	21,3± 2,9*	28,0± 2,8
ДДВФ+ травма	8,1±1,3°	13,5±2,0°	19,5±2,5*	26,8±2,7

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 11 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ° - различие достоверно по сравнению с контролем и действием травмы - $p < 0,05$.

Через 6 сут сохранялось статистически значимое снижение активности ЕКК, как при изолированном, так и при сочетанном действии яда и травмы. К 9 сут происходило восстановление активности ЕКК до контрольного уровня после действия травмы и ФОС, и сохранялась тенденция к снижению показателя при их сочетанном эффекте.

Выявлены незначительные различия между действием травмы и ДДВФ, при этом эффект ФОС был более выраженным. При сочетании острого отравления ДДВФ и травмы отмечалась суммация иммуносупрессивных эффектов данных факторов. Их сочетанное действие через 1 и 3 сут достоверно превышало эффекты изолированных влияний ФОС и травматического повреждения.

Действие ДДВФ травмы и их сочетаний на активность ЕКК, вероятно, обусловлено блокированием проникновения гранзимов из гранул ЕКК в цитоплазму клетки-мишени, снижением их синтеза и нарушением процесса порообразования перфорином [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Nogueira N., 1984]. Не исключена индукция апоптоза естественных клеток-киллеров [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Kimber I., More M., 1985; Marx J.L., 1986]. Учитывая, что часть популяции ЕКК представлена Т-клетками [Хаитов Р. М. и соавт., 2000], весьма вероятно, что ФОС снижают активность ЕКК, ингибируя ацетилхолинэстеразу и неспецифические эстеразы Т-клеток, имеющих маркеры ЕКК, и следовательно, способных в определенной степени выполнять и их функцию.

Таким образом, травма, острое отравление ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) и их сочетание уменьшают активность ЕКК спленоцитов крыс через 1-6 сут с практически полным и частичным восстановлением функции естественных клеток-киллеров через 9 сут после изолированного и сочетанного действия факторов соответственно. Выявлены существенные различия между действием травмы, ФОС и их сочетания, что свидетельствует о наличии аддитивного эффекта иммуносупрессии, вызванной ФОС и травматическим повреждением.

Резюме

Результаты, изложенные в данной главе, позволяют заключить, что травма, острое отравление ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) и их сочетание сопровождались уменьшением функции функцию Т-лимфоцитов, оцениваемой по реакции торможения миграции лейкоцитов через 1-3 сут с частичным восстановлением показателя к 6 сут.

При сочетании травматического воздействия и острой интоксикации ДДВФ происходит суммация эффектов, снижающих реакцию ГЗТ, характеризующей как первичный, так и вторичный клеточный иммунный ответ, а также эффектов, связанных с реализацией механизмов, направленных на увеличение активности Т-супрессоров.

Острое отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀), травма и их сочетание уменьшают активность К-клеток селезенки, оцениваемую по АЗКЦ, через 5 сут. Выявлен аддитивный иммуносупрессивный эффект ФОС и травматического повреждения.

Действие травмы, острого отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) и их сочетания уменьшают активность ЕКК спленоцитов крыс через 1-6 сут с практически полным и частичным восстановлением функции естественных клеток-киллеров через 9 сут после изолированного и сочетанного действия факторов соответственно.

Изменения клеточного звена иммунитета под влиянием сочетанного действия ДДВФ и травмы, вероятно, связаны с ингибированием ФОС ацетилхолинэстеразы и неспецифических эстераз Т-лимфоцитов и макрофагов, участвующих в реакции ГЗТ, а также ЕКК и К-клеток, осуществляющих соответственно ЕЦ и АЗКЦ [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983; Забродский П. Ф., 1993;1998], а также с возрастанием в крови концентрации кортикостероидов (эффект ФОС и травмы) [Аскалонов А.А. и соавт., 1985; Масютин В.А., 1994; Идова Г.В., Чейдо М.А., 1996; Mikhova et.el., 1991; Hassig A. et al., 1996],

которые могут вызывать апоптоз этих клеток или снижение их функции [Гордиенко С.М. и соавт., 1987; Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Выявлена более выраженная супрессия показателей клеточного звена иммунитета при сочетанном действии травмы и ФОС, по сравнению с их изолированным влиянием, что свидетельствует о наличии аддитивного эффекта иммуносупрессии, вызванной ФОС и травматическим повреждением.

ГЛАВА 5

СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ДДВФ И МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ НА ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

5.1. Влияние на тимусзависимые гуморальные иммунные реакции

5.1.1. Действие на динамику антителообразования к тимусзависимому антигену

Нами установлено (табл. 5.1), что под влиянием острой интоксикации ДДВФ, травмы, а также их сочетанного эффекта в индуктивной фазе иммунного ответа (введение ФОС, действие травмы и их сочетаний одновременно с иммунизацией ЭБ) статистически значимо снижался отрицательный двоичный логарифм титра антител (ОДЛТА) к ЭБ через 5 и 8 сут после иммунизации. Зарегистрировано, что травма, ДДВФ, а также их сочетание приводили к редукции ОДЛТА через 5 сут соответственно в 1,28; 1,61 и 2,52 раза ($p < 0,05$), а через 8 сут - в 1,37; 1,46 и 1,64 раза ($p < 0,05$) соответственно. Через 11 сут статистически значимых изменений параметров по сравнению с контролем не выявлено. Редукция гуморальной иммунной реакции после травматического перелома бедренной кости проявляется в меньшей степени, чем постинтоксикационная, а депрессия, обусловленная сочетанным действием факторов была более выражена ($p < 0,05$), чем супрессирующий эффект изолированного действия ФОС и травмы. Полученные данные свидетельствуют о том, что при сочетании травматического повреждения и ДДВФ иммуносупрессивные эффекты суммируются.

Острая интоксикация ФОС, действие травмы и их сочетаний в продуктивной фазе антителогенеза (действие факторов через 3 сут после иммунизации ЭБ), сопровождалось уменьшением синтеза антител, оцениваемого по ОДЛТА, через

Таблица 5.1

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на изменение титра антител у крыс к ЭБ (-log₂ титра) в индуктивной фазе антителогенеза (факторы действовали одновременно с иммунизацией) (M+m)

Серии опытов	Время после действия факторов, сут		
	5	8	11
Контроль	5,8±0,1 (30)	4,1± 0,3 (20)	3,6± 0,3 (20)
Травма	4,5± 0,4*	3,0± 0,3*	3,4± 0,3
ДДВФ	3,6 ± 0,3*	2,8 ± 0,3*	3,3 ± 0,2
ДДВФ+ травма	2,3 ± 0,3*°	2,5 ± 0,2*	3,5 ± 0,3

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ° - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ - $p < 0,05$.

5 и 8 сут после иммунизации ЭБ. Данные, приведенные в табл. 5.2, свидетельствуют, что под влиянием травмы, ДДВФ их сочетания ОДЛТА через 5 сут уменьшался соответственно в 1,68; 1,97 и 2,71 раза ($p < 0,05$), а через 8 сут - в 1,56; 1,68 и 1,91 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Через 11 сут статистически достоверные изменения показателей по сравнению с контрольным уровнем не выявлены. Посттравматическая редукция гуморального иммунного ответа проявлялась в меньшей степени, чем постинтоксикационная депрессия гуморальной иммунной реакции. Сочетание факторов приводило к достоверно более выраженной супрессии гуморальной иммунной реакции ($p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что при сочетании травматического воздействия и ФОС, в частности, ДДВФ, иммуносупрессивные эффекты суммируются.

Таким образом, при остром отравлении ФОС, воздействии травмы и их сочетания происходит уменьшение тимусзависимого антителообразования через

Таблица 5.2

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на изменение титра антител у крыс к ЭБ (-log₂ титра) в продуктивной фазе антителогенеза (токсиканты вводили через 3 сут после иммунизации) (M+m)

Серии опытов	Время после действия факторов, сут		
	5	8	11
Контроль	5,7± 0,2	4,2± 0,3	3,6± 0,3
Травма	3,4 ± 0,3*	2,7 ± 0,2*	3,8 ± 0,2
ДДВФ	2,9 ± 0,2*	2,5 ± 0,2*	3,4 ± 0,2
ДДВФ+травма	2,1 ± 0,2*°	2,2 ± 0,3*	3,7 ± 0,3

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ° - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ - $p < 0,05$.

5-8 сут, оцениваемого по ОДЛТА, преимущественно в продуктивной фазе иммуногенеза. При сочетании травматического воздействия и ФОС ДДВФ супрессия антителопродукции усиливается по сравнению с изолированным воздействием данных факторов вследствие суммации их эффектов (реализация аддитивного действия факторов).

5.1.2. Исследование действия на число антителообразующих клеток

В результате проведенных нами исследований установлено (табл. 5.3), что при иммунизации крыс одновременно с действием травмы, ДДВФ и их сочетания число АОК уменьшалось соответственно в 1,74; 2,01 и 4,23 раза ($p < 0,05$).

При травматическом повреждении, острой интоксикации ДДВФ и их сочетанном эффекте в продуктивной фазе иммуногенеза формирование АОК в селезенке крыс снижалось соответственно в 2,17; 2,90 и 5,45 раза ($p < 0,05$).

Таблица 5.3

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на число антителообразующих клеток к эритроцитам барана (10³), синтезирующим Ig M, в селезенке белых крыс через 5 сут (M±m)

Серии опытов	Время действия факторов по отношению к иммунизации, сут	
	0	3
Контроль	28,4±1,2 (30)	
Травма	16,3±2,8*	13,1±2,1*
ДДВФ	14,1±2,7*	9,8±1,8*
ДДВФ+ травма	6,7±1,7*°	5,5±1,5*°

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 6 до 7 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ° - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ - $p < 0,05$ (критерий U Вилкоксона-Манна- Уитни).

Полученные нами результаты исследований свидетельствует о более выраженной редукции антителопродукции под влиянием ДДВФ по сравнению с действием травмы, суммации эффектов факторов, а также о снижении под влиянием травмы, ФОС и их сочетания функции Th1-лимфоцитов, индуцирующих синтез IgM [Pfeifer C. et al., 1991] плазмочитами селезенки, в большей степени в продуктивной фазе антителогенеза по сравнению с индуктивной. Последний феномен может быть связано с более выраженным действием ДДВФ и травмы (а также их сочетания) на пролиферацию, дифференцировку и синтез антител В-клетками (плазмочитами), перераспределения лимфоцитов между органами системы иммунитета в период максимальной антителопродукции (3-5 сут после иммунизации) в продуктивной фазе антителообразования по сравнению с воздействием травмы и ядов на распознавание антигена макрофагами, их переработку и представление Т- и В-клеткам, кооперацию макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, а также клональную селекцию Т- и В-клеток в индуктивной фазе антителопродукции [Ройт А. и

соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Травматическое воздействие в продуктивный период иммуногенеза оказывает большее ингибирующее влияние на синтез иммуноглобулинов вследствие действия глюкокортикоидов [Аскалонов А.А. и соавт., 1985; Масютин В.А., 1994; Идова Г.В., Чейдо М.А., 1996; Mikhova et.al., 1991; Claman H.N., 1993] по сравнению с индуктивной фазой антителопродукции.

При изучении действия травмы, острого отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀), а также их сочетания на гуморальный иммунный ответ, оцениваемый по числу АОК к ЭБ, синтезирующим IgG, нами установлено (табл. 5.4), что травма, ФОС дозе 0,8 ЛД₅₀ и их сочетание снижали данный показатель соответственно в 1,43; 1,80 и 2,49 раза ($p < 0,05$).

Таблица 5.4

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на число антителообразующих клеток к эритроцитам барана, синтезирующим Ig G, в селезенке белых крыс через 8 сут (M±m)

Серии опытов	АОК, 10³
Контроль	16,2±1,8
Травма	11,3±1,4*
ДДВФ	9,0±2,0*
ДДВФ+ травма	6,5±1,3*°

Примечание: в каждой серии использовалось от 6 до 8 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$ (критерий U Вилкоксона-Манна- Уитни); ° - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ - $p < 0,05$ (критерий U Вилкоксона-Манна- Уитни).

Супрессия синтеза IgG после травмы была менее выражена, чем его снижение, обусловленное острым отравлением ФОС. Сочетанное действие факторов приводило к суммации их эффектов.

Выявленные нами особенности реакции системы иммунитета под влиянием травмы, ФОС (0,8 ЛД₅₀), а также их сочетания, позволяют полагать, что данные

факторы снижают функцию, не только Th1-лимфоцитов, участвующих в синтезе IgM, но и Th2-клеток, инициирующих продукцию IgG [Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Pfeifer C. et al., 1991].

Таким образом, эффекты острого отравления ФОС (0,8 ЛД₅₀), травмы и их сочетания в индуктивной и продуктивной фазах антителогенеза сопровождались уменьшением синтеза антител, оцениваемого по числу АОК к ЭБ через 5 сут после иммунизации ЭБ, более выраженным в продуктивный период антителогенеза. Под влиянием травмы, ФОС и их сочетания отмечалась редукция синтеза IgG через 8 сут. Посттравматическая редукция гуморального иммунного ответа проявлялась в меньшей степени, чем постинтоксикационная депрессия гуморальной иммунной реакции. Супрессия гуморального иммунного ответа, вызванная изолированным действием травмы и ФОС, была выражена в меньшей степени, чем редукция гуморальной иммунной реакции, обусловленная сочетанным эффектом двух факторов. Полученные данные свидетельствуют о том, что при сочетании травматического воздействия и ФОС, в частности, ДДВФ, иммуносупрессивные эффекты суммируются.

5.1.3. Оценка числа РОК в селезенке

Определение числа РОК в селезенке крыс через 8 сут после иммунизации ЭБ характеризует состояние В-звена иммунитета [Утешев Б. С., 1984; Петров Р.В., 1987; Ройт А., 1991; Ройт А. И соавт., 2000]. В этот период после иммунизации тимусзависимым антигеном происходит переключение плазматических клеток с синтеза IgM на продукцию IgG [Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Нами установлено (табл. 5.5), что под влиянием острой интоксикации ФОС, действия травмы и их сочетания происходит существенное снижение числа РОК в селезенке крыс Вистар. ДДВФ вызывал большее снижение показателя, чем травма. Сочетанное действие факторов приводило к суммации их эффектов. Так,

травма, ДДВФ и их сочетание снижали показатель соответственно в 1,36; 1,56 и 2,23 раза ($p < 0,05$).

Таблица 5.5

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на число на число РОК в селезенке крыс через 8 сут (факторы действовали через 3 сут после иммунизации) ($M \pm m$)

Серии опытов	РОК, 10 ³
Контроль	45,5 \pm 4,2
Травма	33,4 \pm 3,1*
ДДВФ	29,1 \pm 3,0*
ДДВФ+ травма	20,4 \pm 2,4*°

Примечание: в каждой серии использовалось от 6 до 8 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ° - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ - $p < 0,05$ (критерий U Вилкоксона-Манна- Уитни).

Снижение РОК при действии ДДВФ и травмы могут быть связаны с их миграцией под влиянием катехоламинов [Горизонтов П. Д., 1981a, 1981б], действием кортикостероидов [Хусинов А.А. и соавт., 1991; Szot R.J., Murphy S.D., 1970; Rey A. et al., 1984; Tiefenbach B. et al., 1980, 1983, 1985; Szelenyi J.G. et al., 1982; Casale G.P. et al., 1983; Dhabhar F. S. et al, 1996; Забродский П.Ф. и соавт., 2000], а также возможной инициацией апоптоза [Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Иммуносупрессивные эффекты ДДВФ могут быть реализованы также вследствие ингибирования эстераз иммуноцитов [Забродский П.Ф. и соавт., 1993].

5.1.4. Нарушение кооперации Т- и В-клеток при формировании антителообразования *in vitro*

При изучении кооперации Т- и В-лимфоцитов мышей СВА *in vitro* оценка функции этих популяций иммуноцитов в данной реакции осуществлялась по формированию АОК к ЭБ. Т-зависимое антителообразование прямо связано с

процессом кооперации (взаимодействия) Т- и В-лимфоцитов [Петров Р.В., 1983; Ройт А., 1991; Хаитов Р.М и соавт., 2000]. Поэтому изучение влияния ДДВФ в сочетании с травмой на данную реакцию может существенно дополнить понимание механизмов нарушения антителобразования на уровне взаимодействия иммуноцитов. Удельный вес Т- и В-клеток в обеспечении антителопродукции определяли путем сравнения числа АОК после инкубации той или иной популяции лимфоцитов, полученной от интактных мышей или животных, подвергавшихся воздействию химического или физического факторов. Кооперацию Т- и В-лимфоцитов можно рассматривать, как механизм на уровне взаимодействия клеток, определяющий антителопродукцию. В модели *in vitro* роль клеток, представляющих антиген Т-лимфоцитам, вместо макрофагов выполняют В-клетки [Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

В наших исследованиях показано (табл. 5.6), что после действия травмы, ДДВФ и их сочетанного эффекта через 1 сут функция В-клеток в кооперации с Т-лимфоцитами снижалась соответственно в 1,36; 1,62 и 2,15 раза ($p < 0,05$), а функция Т-клеток - в 1,85; 2,15 и 3,00 ($p < 0,05$) раза соответственно. Из данных, приведенных в табл. 5.6, следует, что травма, ДДВФ и их сочетание в большей степени снижает функцию Т-лимфоцитов ($p < 0,05$).

Действие травмы на Т-клетки может быть обусловлено эффектом кортикостероидов [Горизонтов П.Д., 1981a, 1981б; Петров Р. В. и соавт., 1981a, 1981б; Петров Р.В., 1983; Корнева Е. А., 1985; Фримель Х., Брок Й., 1986; Claman H. N., 1972; Hassig A. et al., 1996; Ficek W., 1997; Mc Even B.S. et al., 1997], а действие ДДВФ связано с ингибированием ацетилхолинэстеразы и неспецифических эстераз Т-лимфоцитов [Забродский П.Ф., 1993; Молотков А.О., 2002]. При этом, как и при травме, иммуносупрессирующий эффект оказывают и кортикостероиды [Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2000]. Т-клетки наряду с моноцитами, макрофагами и нейтрофилами являются

эстеразопозитивными. Следует отметить, что ацетилхолинэстеразу содержат только Т-лимфоциты [Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д., 1983; Ferluga J. et al., 1972; Li C. G et al., 1973; Kutty K. M. et al., 1976; Kullenkampff J. et al., 1977]. Сочетанный эффект ДДВФ и травмы приводит к реализации основных механизмов иммуносупрессии – ингибированию эстераз Т-клеток ДДВФ и действию кортикостероидов, вызывающих апоптоз иммуноцитов [Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Таблица 5.6

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов *in vitro* через 1 сут (по формированию АОК иммуноцитами мышей линии СВА на 10⁶ В-клеток) [M+m]

Клетки	Контроль	Серии опытов		
		Травма	ДДВФ	ДДВФ +травма
В	55 ± 8	-	-	-
В+Т	445 ± 34	-	-	-
В ⁰ +Т		328±30*	276± 25*	207± 20* °
В+Т ⁰		240±29**	207± 21**	148± 18***°

Примечание: в каждой серии использовали клетки от 5-6 мышей. В⁰, Т⁰ – клетки получали через 1 сут от мышей, подвергавшихся действию токсиканта или токсиканта в сочетании с травмой, В, Т – клетки получали от интактных животных; * - p<0,05 по сравнению с контролем (В+Т); ** - p<0,05 по сравнению с В⁰+Т; ° - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ - p<0,05.

Через 6 сут существенного изменения исследованного кооперации Т- и В-клеток под влиянием травмы, ДДВФ и их сочетания не отмечалось (табл. 5.7). Обращает на себя внимание тенденция к снижению функции Т- и В-клеток во всех сериях опытов, причем эта тенденция в большей степени проявлялась при сочетанном эффекте ДДВФ и травмы.

Таблица 5.7

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на нарушение кооперации Т- и В-лимфоцитов *in vitro* через 6 сут (по формированию АОК иммуноцитами мышей линии СВА на 10⁶ В-клеток) [M+m]

Клетки	Контроль	Серии опытов		
		Травма	ДДВФ	ДДВФ +травма
В	55 ± 8	-	-	-
В+Т	445 ± 34	-	-	-
В ⁰ +Т		420± 32	375± 38	368±41
В+Т ⁰		382± 34	360± 37	359±39

Примечание: в каждой серии использовали клетки от 5-6 мышей. В⁰, Т⁰ – клетки получали через 6 сут от мышей, подвергавшихся действию ДДВФ или токсиканта в сочетании с травмой, В, Т – клетки получали от интактных животных.

Таким образом, под влиянием острого отравления ФОС, травмы и их сочетания через 1 сут нарушается функция Т- и В-лимфоцитов в эффекте кооперации клеток *in vitro* с последующим ее восстановлением через 6 сут. Редукция эффекта кооперации Т- и В-лимфоцитов, обусловленная сочетанным действием ДДВФ и травматического повреждения, проявлялась в большей степени, чем постинтоксикационная и посттравматическая супрессия данной реакции. Полученные результаты позволяют утверждать, что при сочетании травматического воздействия и ФОС депрессия эффекта кооперации Т- и В-клеток, обусловленная действия каждого из этих факторов, суммируется.

5.2. Исследование тимуснезависимого гуморального иммунного ответа

5.2.1. Оценка антителопродукции к тимуснезависимому антигену

в динамике по титру антител в крови

Нами установлено (табл. 5.8), что под влиянием ДДВФ, травмы, а также их сочетанного действия в индуктивной фазе иммунного ответа (введение ядов, действие травмы и их сочетаний одновременно с иммунизацией Vi-Ag) статистически значимо снижался отрицательный двоичный логарифм титра антител (ОДЛТА) к Vi-Ag через 5 сут после иммунизации. Через 8 сут отмечалась тенденция к уменьшению показателя после действия исследованных факторов и их сочетаний. Данные, приведенные в табл. 5.5, показывают, что травма, ДДВФ и их сочетание приводили к редукции ОДЛТА через 5 сут соответственно в 1,33; 1,25 и 1,48 раза ($p < 0,05$), а через 8 сут - в 1,18; 1,14 ($p > 0,05$) и 1,33 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Таблица 5.8

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на изменение титра антител у крыс к Vi-Ag (-log₂ титра) в индуктивной фазе антителогенеза (факторы действовали одновременно с иммунизацией) (M±m)

Серии опытов	Время после интоксикации, сут		
	5	8	11
Контроль	4,0± 0,2	3,2± 0,2	2,8± 0,3
Травма	3,0 ± 0,2*	2,7 ± 0,3	2,9 ± 0,3
ДДВФ	3,2 ± 0,3*	2,8 ± 0,2	3,3 ± 0,2
ДДВФ+ травма	2,7 ± 0,2*	2,4 ± 0,3*	2,7 ± 0,3

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

Статистически достоверных изменений параметров по сравнению с контролем через 11 сут не выявлено. Снижение гуморальной иммунной реакции после сочетанного действия ДДВФ и травмы проявлялось в большей степени,

чем после действия только отравления или травмы. Полученные данные свидетельствуют о том, что при сочетании травматического повреждения и ФОС ДДВФ иммуносупрессивные эффекты суммируются.

Острое действие ФОС, травмы и их сочетания в продуктивной фазе антителогенеза (действие факторов через 3 сут после иммунизации Vi-Ag), сопровождалось уменьшением синтеза антител, оцениваемого по ОДЛТА, через 5 и 8 сут после иммунизации (табл. 5.9). Так, под влиянием травмы, ДДВФ и их сочетанных эффектов ОДЛТА к Vi-Ag через 5 сут уменьшался соответственно в 1,48; 1,34 и 1,65 раза ($p < 0,05$), а через 8 сут - в 1,35; 1,22 и 1,52 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Таблица 5.9

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на изменение титра антител у крыс к Vi-Ag (-log₂ титра) в индуктивной фазе антителогенеза (токсиканты вводили через 3 сут после иммунизации) (M±m)

Серии опытов	Время после интоксикации, сут		
	5	8	11
Контроль	4,3± 0,2	3,8± 0,2	3,0± 0,3
Травма	2,9 ± 0,2*	2,8 ± 0,3*	2,9 ± 0,3
ДДВФ	3,2 ± 0,3*	3,1 ± 0,2*	2,8 ± 0,2
ДДВФ+ травма	2,6 ± 0,2*	2,5 ± 0,3*	2,7 ± 0,3

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

Через 11 сут статистически достоверные изменения показателей по сравнению с контрольным уровнем не отмечались.

Посттравматическая редукция T-независимой гуморального иммунной реакции проявлялась в большей степени, чем постинтоксикационная депрессия. Редукция гуморального иммунного ответа после травмы и острого отравления ФОС проявлялась в меньшей степени, чем супрессия гуморальной иммунной

реакции, связанная с сочетанным действием факторов. Полученные данные позволяют полагать, что при сочетании травматического воздействия и ДДВФ иммуносупрессивные эффекты данных факторов суммируются. Действие ядов, травмы и их сочетаний в продуктивную фазу антителогенеза вызывает большую редукцию антителообразования по сравнению с их эффектом в индуктивный период иммуногенеза.

Таким образом, под влиянием острого отравления ДДВФ, травмы и их сочетания происходит редукция тимуснезависимого антителообразования через 5-8 сут, оцениваемая по ОДЛТА, преимущественно в продуктивной фазе иммуногенеза. При сочетании травматического воздействия и ДДВФ их иммуносупрессивные эффекты суммируются.

5.2.2. Исследование содержания антителообразующих клеток в селезенке к тимуснезависимому антигену

В проведенных нами опытах установлено (табл. 5.10), что при иммунизации крыс Vi-Ag одновременно с действием травмы, токсикантов и их сочетаний число АОК к Vi-Ag уменьшалось соответственно в 1,68; 1,38 и 2,40 раза ($p < 0,05$).

При травматическом повреждении, острой интоксикации ДДВФ и их сочетании в продуктивной фазе антителогенеза количество АОК к Vi-Ag в селезенке крыс уменьшалось соответственно в 2,14; 1,64 и 2,90 раза ($p < 0,05$).

Таблица 5.10

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на число антителообразующих клеток к Vi-Ag (10³), синтезирующим Ig M, в селезенке белых крыс через 5 сут (M±m)

Серии опытов	Время интоксикации по отношению к иммунизации, сут	
	0	3
Контроль	21,8±1,1 (30)	

Травма	13,0 \pm 2,2*	10,2 \pm 2,1*
ДДВФ	15,8 \pm 2,6*	13,3 \pm 2,3*
ДДВФ+ травма	9,1 \pm 2,3*	7,5 \pm 2,0*

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 7 до 8 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

Посттравматическая редукция Т-независимой гуморальной иммунной реакции проявлялась в большей степени, чем ее снижение вследствие интоксикации. Снижение Т-независимого гуморального иммунного ответа после травмы и острого отравления ФОС проявлялась в меньшей степени, чем его редукция, обусловленная сочетанными эффектами физического и химического факторов. Полученные данные позволяют полагать, что при сочетании травматического воздействия и ДДВФ депрессия, обусловленная каждым из этих факторов, суммируется.

Воздействие ФОС, травмы и их сочетаний в продуктивную фазу антителогенеза вызывает большую редукцию Т-независимого антителообразования, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag через 5 сут, по сравнению с их эффектом в индуктивный период иммуногенеза. Это объясняется особенностями иммунной реакции на тимуснезависимый антиген, в основе которой лежит поликлональная активация значительной части популяции В-лимфоцитов (или стимуляция пролиферации В-клеток за счет собственной митогенной активности) [Ройт А., 1991]. При этом действие травмы и ядов (и их сочетания) в период синтеза антител, видимо, оказывает больший супрессирующий эффект на их продукцию, чем на активацию. Снижение Т-зависимой антителопродукции под влиянием ДДВФ, травмы и их сочетания более выражено, чем Т-независимого антителообразования, так как для него не требуется синтеза ряда лимфокинов (BSF-1, активирующего В-клетки,

росткового фактора В-клеток – BCGF-II, стимулирующего клональную экспансию активированных клеток, фактора дифференцировки В-клеток μ - BCDF μ , который способствует созреванию клеток с высокой скоростью секреции IgM, BCDF γ , вызывающий преклоение синтеза с IgM на IgG и высокую скорость его продукции) [Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Таким образом, острое отравление ДДВФ (0,8 ЛД₅₀), травма и их сочетание в индуктивной и продуктивной фазах иммуногенеза сопровождались уменьшением синтеза антител, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag через 5 сут после иммунизации, более выраженным в продуктивный период антителопродукции. При сочетании травматического воздействия и ФОС иммуносупрессивные эффекты этих факторов суммируются.

Резюме

Таким образом, под влиянием острого отравления ФОС, травмы и их сочетания происходит редукция тимусзависимого антителообразования через 5-8 сут, оцениваемая по ОДЛТА, преимущественно в продуктивной фазе иммуногенеза.

Известно, что через 5 сут после введения ЭБ отмечается пик иммунного ответа, связанный с синтезом IgM, а через 8 и 13 сут титр антител отражает синтез преимущественно IgG, и в меньшей степени - IgM [Петров Р.В. и соавт., 1981]. Известно, что Th1-лимфоциты участвуют в продукции IgM, IgG₂, а Th2-лимфоциты способствуют синтезу IgG₁, IgA, IgE [Pfeifer C. et al., 1991; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993]. Следовательно, травма, ФОС и их сочетанное действие снижают функциональную активность как Th1-, так и Th2-лимфоцитов.

Эффекты острого отравления ФОС (0,8 ЛД₅₀), травмы и их сочетания в индуктивной и продуктивной фазах антителогенеза сопровождались уменьшением синтеза антител, оцениваемого по числу АОК к ЭБ через 5 сут

после иммунизации ЭБ, более выраженным в продуктивный период антителогенеза. Под влиянием травмы, ФОС и их сочетания отмечалась редукция синтеза IgG через 8 сут. Супрессия гуморального иммунного ответа, вызванная изолированным действием травмы и ФОС, была выражена в меньшей степени, чем редукция гуморальной иммунной реакции, обусловленная сочетанным эффектом двух факторов. Полученные данные свидетельствуют о том, что при сочетании травматического воздействия и ФОС, в частности, ДДВФ, иммуносупрессивные эффекты суммируются.

Редукция Т-зависимой гуморальной иммунной реакции после травмы проявлялась в меньшей степени, чем постинтоксикационная депрессия. Супрессия, обусловленная сочетанным действием физического и химического факторов, проявлялись в большей степени, чем постинтоксикационная и постинтоксикационная депрессия гуморальной иммунной реакции.

Под влиянием острой интоксикации ФОС, действия травмы и их сочетания происходит существенное снижение числа РОК в селезенке крыс. ДДВФ вызывал большее снижение показателя, чем травма. Сочетанное действие факторов приводило к суммации их эффектов.

После острого отравления ФОС, травмы и их сочетания через 1 сут нарушается функция Т- и В-лимфоцитов в эффекте кооперации клеток *in vitro* с последующим ее восстановлением через 6 сут. Действие травмы вызывало большее снижение показателя, чем острая интоксикация ДДВФ. Редукция эффекта кооперации Т- и В-лимфоцитов, обусловленная сочетанным действием ДДВФ и травматического повреждения, проявлялась в большей степени, чем постинтоксикационная и посттравматическая супрессия данной реакции. Полученные результаты позволяют утверждать, что при сочетании травматического воздействия и ФОС депрессия эффекта кооперации Т- и В-клеток, обусловленная действия каждого из этих факторов, суммируется.

Острое отравление ДДВФ, травма и их сочетание вызывают редукцию тимуснезависимого антителообразования через 5-8 сут, оцениваемую по ОДЛТА и по числу АОК к Vi-Ag через 5 сут после иммунизации, преимущественно в продуктивной фазе иммуногенеза. Острая интоксикация ДДВФ (0,8 ЛД₅₀), травма и их сочетание в индуктивной и продуктивной фазах иммуногенеза сопровождались уменьшением синтеза антител, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag через 5 сут после иммунизации, более выраженным в продуктивный период антителопродукции. Посттравматическая редукция Т-независимой гуморальной иммунной реакции проявлялась в большей степени, чем ее снижение вследствие интоксикации. При сочетании травматического воздействия и ФОС Т-независимые иммуносупрессивные эффекты этих факторов суммируются.

ГЛАВА 6

СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ДДВФ И МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТИМУСА, СЕЛЕЗЕНКИ, ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИМФОЦИТОВ В ОРГАНАХ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА

6.1. Изменение лимфоидных индексов тимуса и селезенки

В тимус из костного мозга мигрируют протимоциты. В литературе в клетки, мигрирующие из костного мозга в тимус, называют также стволовыми кроветворными клетками или лимфоцитами- прекурсорами [Галактионов В.Г., 1986; Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Лимфоидный индекс (ЛИ) тимуса и селезенки является косвенным показателем содержания ядросодержащих клеток в этом органе, в частности, лимфоцитов, в определенной степени он характеризует процессы апоптоза тимоцитов и миграцию их в циркулирующую кровь [Галактионов В.Г., 1986; Гольдберг Е. Д. и соавт., 1972; Тихонов В. Н., 1981; Александров В. Н., 1983; Беликов В.Г., 2001]. Таким образом, ЛИ тимуса и селезенки характеризует функциональное состояние этих органов [Александров В. Н., 1983; Забродский П.Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000; Descotes J., 1986].

Исследование влияния острой интоксикации ДДВФ на ЛИ тимуса и селезенки белых крыс проводилось через 2 сут после введения ФОС (0,8 ЛД₅₀), травмы или их сочетанного действия.

Проведенные нами опыты показали (табл. 6.1), что при травме, остром действии ДДВФ и их сочетании существенное снижение ЛИ тимуса соответственно в 1,80; 1,58 и 2,03 раза ($p < 0,05$). ЛИ селезенки травма, ДДВФ, а также их сочетанное воздействие уменьшали соответственно в 1,28; 1,34 и 1,59 раза ($p < 0,05$). Выявлено, что сочетанное действие травмы и ФОС приводит к

аддитивному эффекту (эффекту суммации). И травма, и ДДВФ, вызывая активацию ГГНС, увеличивают синтез и поступление в кровь кортикостероидов (стресс-реакция) [Горизонтов П.Д., 1981а; 1981б]. Гормоны коры надпочечников вызывают миграцию лимфоцитов из тимуса и селезенки и их апоптоз [Петров Р.В. и соавт., 1981а, 1981б; Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Ройт А. и соавт., 2000; Claman H. N., 1972, 1993; Dhabhar F. S. et al., 1996].

Таблица 6.1

Действие острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на лимфоидный индекс (усл. ед.) тимуса и селезенки крыс через 2 сут (M±m)

Серии опытов	Лимфоидный индекс Тимуса	Лимфоидный индекс селезенки
Контроль	2,50±0,17	4,80±0,32
Травма	1,39±0,18*	3,75±0,30*
ДДВФ	1,58±0,16*	3,57±0,33*
ДДВФ+ травма	1,23±0,14*	3,02±0,28*

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

После действия исследованных факторов и их сочетаний через 6 сут ЛИ тимуса и селезенки восстанавливался до контрольных значений (табл. 6.2).

Таблица 6.2

Действие острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на лимфоидный индекс (усл. ед.) тимуса и селезенки крыс через 6 сут (M±m)

Серии опытов	Лимфоидный индекс тимуса	Лимфоидный индекс селезенки
Контроль	2,60±0,19	4,87±0,35
Травма	2,25±0,23	4,65±0,33
ДДВФ	2,21±0,19	4,45±0,30
ДДВФ+ травма	2,10±0,25	4,04±0,32

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 7 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

Таким образом, воздействие травмы, острое отравление ДДВФ в дозе 0,8 ЛД₅₀, а также их сочетание существенно снижают лимфоидные индексы тимуса и селезенки через 2 сут после воздействия. Показатели восстанавливаются до контрольных значений через 6 сут. Редукция показателей, вызванная ДДВФ, под влиянием травматического повреждения усиливается, что позволяет рассматривать сочетанное действие факторов на ЛИ тимуса и селезенки, как аддитивное.

6.2. Оценка миграции колониеобразующих единиц из костного мозга в селезенку

Применявшийся нами метод исследования действия травмы, острого отравления ФОС и их сочетания на КОЕс (функцию СКК) [Till J. E., Mc Culloch E. A., 1961] является одним из наиболее часто используемым в прикладных областях иммунологии [Петров Р. В. и соавт., 1970; Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1972; Петров Р.В. и соавт.,1981; Корнева Е.А., 1990; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 1993, 1997, 1998, 2000].

Наши исследования показали (табл. 6.3), что под влиянием травмы, ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) и их сочетания происходит снижение числа КОЕс соответственно в 2,28($p < 0,05$); 1,18 ($p > 0,05$). и 2,63 раза ($p < 0,05$).

Приведенные цифры показывают, что редукция миграции КОЕс под влиянием ДДВФ статистически не значима и проявляется в меньшей степени, чем снижение миграции КОЕ из костного мозга в селезенку под влиянием травмы. Сочетанное действие ДДВФ и травмы вызывает уменьшение исследованного показателя в несколько большей степени, чем травматическое повреждение. Следовательно, существуют основания полагать, что при сочетании физического и химического факторов, редукция миграции КОЕс обусловлена как действием травмы (преимущественно), так и ФОС.

Таблица 6.3

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на число колониобразующих единиц в селезенке мышей через 8 сут (M±m)

Серии опытов	КОЕс
Контроль	15,5±2,3
Травма	6,8±1,4*
ДДВФ	13,1 ± 2,8
ДДВФ + травма	5,9±1,8*

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 10 мышей; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

Под влиянием ФОС в сублетальных дозах может отмечаться даже парадоксальное несущественное увеличение КОЕс [Забродский П.Ф., 1993], которое объясняется стимулирующим влиянием ацетилхолина, концентрация которого при отравлении ФОС, к которым относится ДДВФ, в циркулирующей крови возрастает [Голиков С.Н., 1969; Каган Ф.С., 1977]. При этом ацетилхолин, вероятно, действует на м-холинорецепторы КОЕс, что приводит к увеличению их миграции из костного мозга. Оснований считать высказанное предположение вполне допустимым и обоснованным достаточно [Дешевой Ю. Б., 1983; Забродский П. Ф., 1993; Kuty K. M., 1976; Maslinski W. et al., 1983]. Однако, при этом следует учитывать, что ингибирование эстераз КОЕс и действие кортикостероидов после острой интоксикации ДДВФ оказывает противоположный эффект [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1981; Забродский П. Ф., 1993]. О действии на неспецифические эстеразы КОЕс можно говорить лишь предположительно, так как в литературе наличие этих энзимов в КОЕс не описано. Это связано с методическими трудностями выделения КОЕс из КМ - в селезенке определяется не одиночная колониобразующая клетка, а бляшка,

сформировавшаяся за 8 сут и состоящая из пяти типов клеточных элементов: миелоидных, мегакариоцитарных, эритроидных, недифференцированных и смешанных [Петров Р.В. и соавт., 1981a]. Следует отметить, что среди клеток костного мозга эстеразопозитивными клетками являются мегакариоциты, монобласты, миелобласты, промиелоциты [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983].

При острой интоксикации ФОС в сублетальных концентрациях в зависимости от реализации механизмов, обуславливающих редукцию или усиление миграции КОЕс из КМ в селезенку, может отмечаться как уменьшение, так и увеличение числа КОЕс. Ацетилхолин и невысокие однократные дозы ФОС вызывают повышение данного параметра [Забродский П.Ф., 1993; Молотков А.О., 2002].

Травма обуславливает снижение КОЕс в результате эффекта кортикостероидов [Петров Р.В. и соавт., 1981a; Долгушин И.И. и соавт., 1989]. Вполне логично предположить, что при сочетанном действии травмы и ФОС снижение КОЕс обусловлено уменьшением их миграции из КМ в результате увеличения в крови содержания кортикостероидов, вследствие реализации стрессорных эффектов факторов. Кроме того, ФОС способны активировать ГГНС в результате действия на центральные м-хилинорецепторы [Денисенко П.П., 1980].

Таким образом, острое отравление ФОС в дозе 0,8 ЛД₅₀ в сочетании с травматическим повреждением вызывают редукцию миграции КОЕс из костного мозга в селезенку. При этом аддитивного эффекта факторов не отмечается.

6.3. Содержание лимфоцитов в органах системы иммунитета

6.3.1. Оценка содержания лимфоцитов в тимусе и селезенке

Нами установлено (табл.6.4), что под влиянием травмы, ДДВФ, а также их сочетания число Т-лимфоцитов в тимусе крыс через 2 сут снижается

соответственно в 1,76; 1,60 и 2,58 раза ($p < 0,05$), а число лимфоцитов в селезенке - в 2,19; 1,86 и 3,61 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Таблица 6.4

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на содержание лимфоцитов в тимусе и селезенке крыс через 2 сут, 10⁸ (M±m)

Серии опытов	Число Т-лимфоцитов в тимусе	Число лимфоцитов в селезенке
Контроль	16,0±0,9	19,5±1,6
Травма	9,1±1,2*	8,9±1,7*
ДДВФ	10,0±1,5*	10,5±1,7*
ДДВФ+ травма	6,2±1,0**	5,4±1,1**

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ** - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием ДДВФ и травмы - $p < 0,05$.

Выявлены статистически значимые различия между действием исследованных факторов и их сочетания на содержание лимфоцитов в тимусе и селезенке через 2 сут. Сочетанный эффект ДДВФ и травмы приводил к снижению лимфоцитов в тимусе и селезенке в большей степени, чем изолированное факторов. Это свидетельствует о том, что супрессивные эффекты (эффекты, определяющие апоптоз и миграцию клеток из органов) травмы и ДДВФ суммируются. Вероятно, это связано с действием кортикостероидов на лимфоциты. Известно, что гормоны коры надпочечников вызывают как запрограммированную гибель лимфоцитов, так и их миграцию из тимуса и селезенки [Петров Р.В. и соавт., 1981а, 1981б; Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Ройт А. и соавт., 2000; Claman H. N., 1972, 1993; Dhabhar F. S. et al., 1996]. При действии ФОС ацетилхолин способен, активируя м-холинорецепторы тимоцитов, приводить к их выходу из тимуса [Maslinski W., et al., 1983, 1987].

Через 6 сут после острого действия ДДВФ, травмы и их сочетания число Т-лимфоцитов в тимусе и лимфоцитов в селезенке крыс восстанавливалось до контрольного значения (табл. 6.5).

Таблица 6.5

Влияние острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на содержание лимфоцитов в тимусе и селезенке крыс через 6 сут, 10⁸ (M±m)

Серии опытов	Число Т-лимфоцитов в тимусе	Число лимфоцитов в селезенке
Контроль	15,1±0,8	20,3±1,7
Травма	16,0±0,7	17,2±2,1
ДДВФ	14,5±0,9	19,7±1,9
ДДВФ+ травма	13,7±1,3	16,8±1,8

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 7 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

Таким образом, под влиянием острой интоксикации ДДВФ, травмы и их сочетанного эффекта через 2 сут уменьшается содержание лимфоцитов в тимусе и селезенке вследствие изменения физиологических механизмов регуляции миграции иммуноцитов. Через 6 сут содержание лимфоцитов в лимфоидных органах восстанавливается до контрольного уровня. Отмечается аддитивное действие ФОС и травмы на данный показатель.

6.3.2. Содержание лимфоцитов в костном мозге и лимфоузлах

Проведенные нами исследования показали (табл.6.6), что под влиянием травмы число лимфоцитов в костном мозге крыс через 2 сут снижается в 1,26 раза ($p < 0,05$), а число лимфоцитов в лимфоузлах - в 1,52 раза ($p < 0,05$). Острая интоксикации ДДВФ приводила к противоположному эффекту: число лимфоцитов в костном мозге и лимфоузлах возросло соответственно в 1,17 и

1,35 раза ($p < 0,05$). При сочетанном действии изменения показателей были приблизительно такие же, как и после действия травмы.

Таблица 6.6

Действие острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на число лимфоцитов (10⁶) в костном мозге и лимфоузлах у крыс через 2 сут (M±m)

Серии опытов	Костный мозг	Лимфоузлы
Контроль	38,4±3,8	13,7±1,9
Травма	30,5±3,3**	9,0±1,4**
ДДВФ	44,8±3,0**	18,5±2,5*
ДДВФ+ травма	31,0±2,7**	10,9±1,5**

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * ;** - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$, (* ;** - для расчета достоверности различий использовали соответственно t –критерий Стьюдента и непараметрический критерий U Вилкоксона-Манна- Уитни).

Полученные нами результаты исследований, а также существующие в настоящее время данные литературы позволяют высказать предположение, что возможные механизмы, определяющие перераспределение лимфоцитов между органами иммунной системы после интоксикации ФОС, связаны с действие ацетилхолина на н-холинорецепторы надпочечников и симпатических ганглиев, активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), что приводит увеличению концентрации в крови адреналина и норадреналина [Дорошевич А.Л., 1971; Денисенко П.П., 1980] и кортикостероидов [Гурин В.Н.. 1970; Горизонтов П. Д., 1981а, 1981б]. В КМ и лимфоузлах увеличивается содержание лимфоцитов вследствие выхода их из тимуса и селезенки. Следует учитывать, что определенная часть клеток гибнет в результате апоптоза. Лимфоциты мигрируют из селезенки вследствие действия преимущественно норадреналина на α -адренореактивные этого органа (вероятно, и на рецепторы лимфоцитов) [Горизонтов П. Д., 1981б]. Увеличение лимфоцитов в костном

мозге обусловлено активацией β -адренорецепторов данного органа [Горизонтов П. Д., 1981б]. При действии травматического повреждения в результате эффекта кортикостероидов (холинергическая система в отличие от действия ФОС не активируется) содержание лимфоцитов в КМ снижается вследствие апоптоза. При сочетанном действии ДДВФ и травмы, видимо, реализуется эффект кортикостероидов вследствие его преобладания.

Через 6 сут содержание лимфоцитов в КМ и лимфоузлах восстанавливалось до контрольного уровня (табл. 6.7).

Таблица 6.7

Действие острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на число лимфоцитов (10⁶) в костном мозге и лимфоузлах у крыс через 6 сут (M±m)

Серии опытов	Костный мозг	Лимфоузлы
Контроль	39,8±3,9	15,4±2,6
Травма	40,2±3,7	14,4±2,9
ДДВФ	37,2±3,1	13,3±1,8
ДДВФ+ травма	35,0±3,0	12,1±1,6

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

Таким образом, под влиянием травмы через 2 сут уменьшается содержание лимфоцитов в костном мозге и лимфоузлах, острое отравление ДДВФ вызывает противоположный эффект, а при сочетанном действии факторов происходит снижение показателей, как и при травме. Через 6 сут содержание лимфоцитов в органах системы иммунитета восстанавливается до контрольного уровня.

6.3.3. Исследование содержания лимфоцитов в циркулирующей крови

Нами установлено (табл.6.8), что под влиянием травмы содержание лимфоцитов в крови крыс через 2 сут снижается в 1,15 раза ($p < 0,05$). Острая

интоксикации ДДВФ приводила к противоположному эффекту. ФОС увеличивало содержание лимфоцитов в циркулирующей крови в 1,36 раза ($p < 0,05$).

Таблица 6.8

Действие острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на содержание лимфоцитов (10⁹/л) в циркулирующей крови у крыс (M±m)

Серии опытов	Время после интоксикации, сут	
	2	6
Контроль	7,5±0,3	
Травма	6,5±0,3*	7,1±0,3
ДДВФ	10,2±0,4*	8,0±0,5
ДДВФ+ травма	5,0±0,2*	8,3±0,6

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$.

При сочетанном действии факторов снижение показателя было такое же, как и после травмы. Через 6 сут содержание лимфоцитов в крови статистически значимо не отличалось от контрольного уровня.

Изменение содержания лимфоцитов в крови после травмы, а также при ее сочетанном действии с ФОС обусловлено, вероятно, эффектом кортикостероидов [Горизонтов П.Д., 1981а, 1981б; Петров Р. В. и соавт., 1981а, 1981б; Петров Р.В., 1983; Корнева Е. А., 1985; Фримель Х., Брок Й., 1986; Claman H. N., 1972; Hassig A. et al., 1996; Ficek W., 1997; Mc Even B.S. et al., 1997]. При действии ДДВФ преобладает реализация механизмов, связанная с возбуждением холинергической системы и активацией м-холинорецепторов [Дешевой Ю. Б., 1983; Забродский П. Ф., 1993; Kutty K. M., 1976; Maslinski W. et al., 1983].

Таким образом, под влиянием травмы через 2 сут уменьшается содержание лимфоцитов в циркулирующей крови, острая интоксикация ФОС вызывает противоположный эффект, а при сочетанном действии факторов происходит

снижение показателей, как и при травме. Через 6 сут содержание лимфоцитов в крови восстанавливается до контрольного уровня.

Резюме

Проведенные нами опыты показали, что под воздействие травмы, острое отравление ДДВФ в дозе 0,8 ЛД₅₀, а также их сочетание существенно снижают лимфоидные индексы тимуса и селезенки через 2 сут после воздействия. Показатели восстанавливаются до контрольных значений через 6 сут. Редукция показателей, вызванная ДДВФ, под влиянием травматического повреждения усиливается, что позволяет рассматривать сочетанное действие факторов на ЛИ тимуса и селезенки, как аддитивное.

Острое отравление ФОС в дозе 0,8 ЛД₅₀ в сочетании с травматическим повреждением вызывают редукцию миграции КОЕс из костного мозга в селезенку. При этом суммации эффектов факторов не отмечается, эффект обусловлен преимущественно действием травмы.

Под влиянием острой интоксикации ДДВФ, травмы и их сочетанного эффекта через 2 сут уменьшается содержание лимфоцитов в тимусе и селезенке вследствие изменения физиологических механизмов регуляции миграции иммуноцитов. Через 6 сут содержание лимфоцитов в лимфоидных органах восстанавливается до контрольного уровня. Отмечается аддитивное действие ФОС и травмы на данный показатель.

После воздействия травмы через 2 сут уменьшается содержание лимфоцитов в костном мозге, лимфоузлах и циркулирующей крови, острое отравление ДДВФ вызывает противоположный эффект, а при сочетанном действии факторов происходит снижение показателей, как и при травме. Через 6 сут содержание лимфоцитов в органах системы иммунитета восстанавливается до контрольного уровня.

ГЛАВА 7

**ОЦЕНКА ФУНКЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ И АКТИВНОСТИ
ЭСТЕРАЗ В ИММУНОЦИТАХ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ДДВФ
В СОЧЕТАНИИ С МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМОЙ**

7.1. Исследование содержания кортикостерона

Нами установлено (табл. 7.1), что действие травматического повреждения существенно увеличивало концентрацию кортикостерона (КС) в плазме крови

Таблица 7.2

**Влияние острого отравления ДДВФ
(0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на содержание
кортикостерона в плазме крови крыс, нг/мл (M ± m)**

Серии опытов	Контроль	Время после воздействия, ч		
		1	3	24
Травма	17,1±1,6	51,6±5,5*	48,9±3,7*	19,5±2,2
ДДВФ	15,6±1,9	75,8±6,3*	43,4±4,1*	21,8±2,7
ДДВФ+травма	16,5±2,1	130,7±11,2°	90,5±7,5°	22,7±2,5

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 9 крыс; * - различие с контролем достоверно - $p < 0,05$; ° - различие достоверно по сравнению с контролем и изолированным действием травмы и ДДВФ - $p < 0,05$.

через 1 ч в 3,0 раза, а через 3 ч - соответственно в 2,8 раза. Острое отравление ДДВФ вызывало повышение содержания КС в крови через 1 ч в 4,8 раза, а через 3 ч - в 2,8 раза в результате постинтоксикационной стресс-реакции. Сочетанное действие травмы и ДДВФ приводило к увеличению содержания в крови КС через 1 и 3 ч в 7,8 и 5,5 раза соответственно. Не вызывает сомнений возможность полагать, что травма и ДДВФ приводят к суммации эффектов, способствующих увеличению синтеза и продукции КС корой надпочечников. Через 24 ч концентрация КС в плазме крови после

действия травмы, ДДВФ и их сочетания восстанавливалась до исходного уровня.

Увеличение КС в крови под влиянием ДДВФ обусловлено стимуляцией ацетилхолином центральных м-холинореактивных структур [Гурин В.Н., 1970; Денисенко П.П., 1980]. Травма приводит к активации ГГНС и увеличению концентрации в крови КС, как мощный стрессорный фактор [Долгушин И.И. и соавт., 1989. Кожевников В.С. и соавт., 1991]. Роль кортикостероидов в реализации иммунного ответа неоднозначна, физиологические концентрации их необходимы для реализации полноценного гуморального иммунного ответа [Корнева Е.А., 1978; 1985; 1988; 1990]. Высокие концентрации КС, в частности, при травме, интоксикации фосфорорганическими соединениями и другими ядами, вызывают супрессию ряда показателей системы иммунитета [Иванова А.С., 1998; Хусинов А.А. и соавт., 1991; Tiefenbach V. et al., 1980, 1983, 1985]. При введении двухкратно кортикостерона в дозе 2 мг/кг (данная доза обеспечивала концентрацию в крови приблизительно такую же, как действие ДДВФ в дозе 0,8 ЛД₅₀ [Забродский П.Ф. и соавт., 2000]) число АОК к ЭБ в селезенке, реакция ГЗТ, активность ЕКК и АЗКЦ снижались по сравнению с контролем соответственно в 1,45; 1,75; 1,97 и 1,67 раза ($p < 0,05$). Как показывают данные, приведенные в предыдущих главах, ДДВФ в дозе 0,8 ЛД₅₀ вызывает большую редукцию показателей иммунного статуса вследствие реализации помимо иммуносупрессивного эффекта КС ингибирования эстерах Т-клеток и макрофагов.

Таким образом, при действии ДДВФ, травмы и их сочетания происходит увеличение концентрации кортикостерона в плазме крови, с действие которого связано формирование иммунодефицитного состояния. Острое отравление и травма оказывают аддитивное действие на синтез и продукцию кортикостерона.

7.2. Определение активности эстераз иммуноцитов

Наши опыты показали (табл 7.2), что под влиянием ДДВФ и его сочетанного эффекта с травмой активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в Т-лимфоцитах тимуса у крыс через 3 сут существенно снижается в 8,15 и 6,39 раза соответственно, а в Т-клетках селезенки – в 9,34 и 10,34 раза соответственно. Травматическое повреждение на активность АХЭ Т-лимфоцитов влияния не оказывает.

Таблица 7.2

**Действие острого отравления ДДВФ
(0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на активность
ацетилхолинэстеразы в Т-лимфоцитах тимуса и селезенки у крыс Вистар
(мЕд/10⁹) через 3 сут (M±m)**

Серии опытов	Тимус	Селезенка
Контроль	65,2±6,3	57,0±5,9
Травма	60,0±6,1	49,8±5,7
ДДВФ	8,0±2,1*	6,1± 1,7*
ДДВФ+травма	10,2±2,2*	5,5± 1,0*

Примечание: в каждой серии использовалось от 8 до 10 крыс; * - различие с контролем и действием травмы достоверно - $p < 0,05$.

Вполне очевидно, что ингибирование АХЭ в Т-лимфоцитах тимуса и селезенки связано исключительно с действием ФОС.

Исследование активности α -нафтил-AS-ацетатэстеразы и α -нафтилбутиратэстеразы в спленоцитах крыс по числу эстеразопозитивных клеток показало (табл. 7.3), что острое действие ДДВФ и его сочетание с травмой вызывало статистически значимое значительное уменьшение активности эстераз. Так, активность α -нафтил-AS-ацетатэстеразы при действии

ДДВФ и его сочетания с травмой снижалась соответственно в 1,93 и 2,33 раза, а активность α -нафтилбутиратэстеразы спленоцитов – в 1,60 и 1,55 раза соответственно. Действие травмы на активность α -нафтил-AS-ацетатэстеразы и α -нафтилбутиратэстеразы Т-лимфоцитов влияния не оказывало. Очевидно, что снижение числа эстеразопозитивных клеток в селезенке крыс при сочетанном действии травмы и ФОС обусловлено только действием ДДВФ.

Таблица 7.3

**Влияние острого отравления ДДВФ
(0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на активность α -
нафтил-AS-ацетатэстеразы и α -нафтилбутиратэстеразы в спленоцитах
крыс Вистар (M+m)**

Серии опытов	Содержание α -нафтил-AS-ацетатэстеразопозитивных клеток, %	Содержание α -нафтил-бутиратэстеразопозитивных клеток, %
Контроль	48,2 \pm 3,5	35,6 \pm 3,2
Травма	43,1 \pm 3,2	30,0 \pm 3,1
ДДВФ	25,0 \pm 3,7*	22,3 \pm 3,8*
ДДВФ+ травма	20,7 \pm 3,0*	23,0 \pm 2,9*

Примечание: в каждой серии опытов использовалось 7-8 животных; * - различия достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Изменение эстеразной активности в клетках отражает, с одной стороны, функциональную активность иммуноцитов, с другой - может служить количественным критерием Т-клеток в органах системы иммунитета, так как именно эта субпопуляция лимфоцитов является эстеразопозитивной [Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д., 1983; Ferluga J. et al., 1972; Li C. G et al., 1973; Kutty K. M. et al., 1976; Kullenkampff J. et al., 1977]. Роль ацетилхолинэстеразы на поверхности Т-лимфоцитов [Kutty K. M. et al., 1976; Szelenyi J.G. et al., 1982] до сих пор не ясна. Возможно, она регулирует влияние ацетилхолина на холинореактивные

структуры Т-лимфоцитов [Забродский П.Ф. и соавт., 2001; Gordon M.A. et al., 1978; Richman D.P., Arnason B.G.W., 1989].

Установлена прямая связь между супрессией Т-зависимых иммунных реакций и ингибированием эстераз дихлорэтаном, нитрилами и фосфорорганическими соединениями [Забродский П.Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001].

Несомненно, что ингибирование АХЭ ДДВФ имеет существенное значение в формировании постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. При этом Т-лимфоциты, возможно, существенно утрачивают свои функции, что приводит к редукции Т-зависимого гуморального иммунного ответа, снижению цитотоксической активности Т-клеток. По-видимому, функция К-клеток и ЕКК при интоксикации ДДВФ также снижается вследствие ингибирования ацетилхолинэстеразы, так как эти клетки, вероятно, являются потомками предшественников Т-лимфоцитов [Ройт А., 1991], а часть популяции ЕКК обладает свойствами Т-клеток [Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Данные литературы свидетельствуют, что ФОС тормозят активность эстераз в моноцитах, цитотоксических Т-лимфоцитах, интактных и активированных лимфокинами ЕКК. Эти эффекты ФОС ослабляют иммунологический контроль и эффекторные функции, опосредуемые данными видами клеток [Newcombe D.S., 1991].

Таким образом, при сочетанном действии ДДВФ и травмы иммунодефицитное состояние вследствие ингибирования эстераз Т-клеток обусловлено только действием ФОС.

Резюме

Полученные нами данные свидетельствуют, что при действии ДДВФ, травмы и их сочетания происходит увеличение концентрации кортикостерона в плазме крови, с действие которого связано формирование иммунодефицитного

состояния. Острое отравление и травма оказывают аддитивное действие на синтез и продукцию кортикостерона.

При сочетанном действии ДДВФ и травмы иммунодефицитное состояние вследствие ингибирования эстераз Т-клеток обусловлено только действием ФОС.

ГЛАВА 8

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ СОЧЕТАННОМ ДЕЙСТВИИ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ДДВФ И МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ НА ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА

8.1. Обоснование эффективной иммунокоррекции нарушений физиологической регуляции иммунного гомеостаза после травмы, острого отравления ДДВФ и их сочетанного эффекта

Полученные нами результаты исследования свидетельствуют о том, что при сочетанном действии ФОС, в частности ДДВФ, и травмы происходит суммация эффектов факторов. При этом перераспределение лимфоцитов в крови при сочетанном эффекте факторов обусловлено преимущественно действием травмы. Для снижения иммунотоксических эффектов ФОС могут быть использованы их антидоты, в частности, дипироксим [Молотков А.О., 2002]. Использование данного лечебного средства можно расценивать, как реализацию патогенетической терапии постинтоксикационного иммунодефицитного состояния, учитывая его способность реактивировать ацетилхолинэстеразу Т-клеток и другие эстеразы [Забродский П.Ф., 1996; 1998;]. Однако, известно, что дипироксим не способен полностью восстанавливать показатели иммунного гомеостаза после острого действия ДДВФ [Забродский П. Ф., 1996]. Вряд ли следует ожидать полного восстановления показателей НРО и иммунного статуса при его использовании после сочетанного действия ФОС и травмы. Поэтому вполне оправданно применение дипироксима комбинированно с иммуностимуляторами, которые способны восстанавливать показатели системы иммунитета, сниженные в результате совместного действия травмы и ФОС. Принимая во внимание значительную редукцию гуморальных и клеточных иммунных реакций, активности ЕКК под влиянием острого отравления ДДВФ

в сочетании с травматическим повреждением, предполагаемые для исследования иммуностимуляторы должны обладать способностью восстанавливать как клеточное, так и гуморальное звено иммунитета, и кроме того, обладать способностью активировать показатели НРО.

К лечебным средствам, активирующим НРО, клеточного звена иммунитета, параметры В-системы иммунитета, относятся продигозан, метилурацил, пентоксил, нуклеинат натрия, тималин, Т-активин, тимоптин, тимоген, левомизол, миелопид, спленин, имунофан, стимуляторы метаболических процессов, анаболические гормоны, рибоксил, плазмол, витамины и др. [Арион В.Я., 1981; Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., 1978, 1983; Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. 1981, 1982; Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Плещитый К.Д., Сухих Г.Г., 1984, 1985; Виноградов В.М. и соавт., 1986; Яковлев Г.М. и соавт., 1987; Базарный В.В., Ястребов А.П., 1990; Белокрылов Г.А. и соавт., 1991; Ширинский В.С., Жук Е.А., 1991; 1994; Утешев Б.С. и соавт., 1995; Хаитов Р.М. и соавт., 1995; Забродский П.Ф., 1996, 2001; Minich E. et al., 1983; Georgiev V.St. et al; Stevens G., 1993; Khaitov R.M., 1993; Kimball E. S., 1993; Janik J., 1993; Sosa A. et al., 1993].

Необходимо учитывать, что практически все иммуностимуляторы имеют те или иные нежелательные побочные эффекты. При применении Т-активина они не выявлены [Хавинсон В.Х. и соавт., 1990; Забродский П.Ф. и соавт., 2001]. Т-активин обладает более широким спектром стимулирующих эффектов, в частности, он в большей степени, чем тимоген, способен восстанавливать функцию ЕКК [Петрова Т.А. и соавт., 1989; Яковлев Г.М., Хавинсон В.Х. 1989; Хавинсон В.Х. и соавт., 1990; Беликов В.Г., 2000].

Т-активин является иммуномодулирующим препаратом полипептидной природы, полученный из вилочковой железы крупного рогатого скота. При иммунодефицитных состояниях нормализует количественные и функциональные показатели Т-системы иммунитета, стимулирует продукцию

лимфокинов, в том числе интерферонов [Машковский М.Д., 1993]. Показана эффективность Т-активина при отравлениях хлорорганическими соединениями [Вахидова Г.А. и соавт., 1990]. Препарат обладает способностью активировать выработку γ -интерферона Т-лимфоцитами [Вахидова Г.А. и соавт., 1990; Большаков и соавт., 1991; Борисова А.М. и соавт., 1991; Ханафиева и соавт., 1992; Базарный В.В., Ястребов Ф.П., 1993; Кирилличева Г.Б. и соавт., 1993; Машковский М.Д., 1993], который активирует ЕКК и восстанавливает постинтоксикационное нарушение их функции, а также индуцирует экспрессию рецепторов ИЛ-2 на их поверхности [Сухих Г.Т. и соавт., 1984]. Т-активин способен увеличивать пролиферацию, дифференцировку и функциональную активность Т-клеток [Шляхов Э.Н., Гылка В.В., 1989; Арион В.Я. и соавт., 1989; Стасий Е.Д. и соавт., 1990; Арион В.Я., Иванушкин Е.Ф., 1991].

Можно предположить, что Т-активин способен стимулировать и тимуснезависимый гуморальный иммунный ответ, активируя тимуснезависимые Т-лимфоцитами $T_{\gamma\delta}$ [Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Кроме того, Т-активин, повышая функцию макрофагов [Таранов В.А., Короткова М.И., 1989], приводит к увеличению ими продукции ИЛ-1, который может активировать тимуснезависимое антителообразование [Gillbert K. M. et al., 1985] при остром отравлении различными токсикантами.

Принимая во внимание вполне оправданное ожидаемое проявление эффективности Т-активина при некоторых постинтоксикационных иммунодефицитных состояниях целесообразно провести оценку его действия на различные иммунные реакции после острой интоксикации ДДВФ в сочетании с тяжелой механической травмой.

Миелопид - иммуностимулирующий препарат пептидной природы, получаемый из культуры клеток костного мозга млекопитающих (свиней или телят). В последние годы выделены и структурно охарактеризованы 6 типов миелопидов (МП-1, МП-2 и др.), каждый из которых действует на определенные

показатели НРО и системы иммунитета [Михайлова А.А., 1997]. При иммунодефицитных состояниях миелопид восстанавливает показатели В- и Т-систем иммунитета, стимулирует продукцию антител и функциональную активность иммунокомпетентных клеток и способствует восстановлению ряда других показателей гуморального звена иммунитета [Подосинников И.С. и соавт., 1991; Кирилина Е.А. и соавт., 1998; Мухамбетов Д.Д., 1990; Mikhailova A.A. et al., 1990]. Описана способность миелопида коррегировать дифференцировку кроветворных клеток-предшественников у мышей с экспериментальным Т-иммунодефицитом [Петров Р.В. и соавт., 1989; Руднева Т.Б. и соавт., 1989]. Применяют миелопид у взрослых при вторичных иммунодефицитных состояниях с преимущественным поражением гуморального звена иммунитета, в том числе для предупреждения инфекционных осложнений после травм [Степаненко Р.Н. и соавт., 1991], в комплексном лечении ожоговой болезни и других патологических процессов, сопровождающихся воспалительными осложнениями [Турсунов Б.С. и соавт., 1992]. Стресспротективное действие миелопида может быть эффективно использовано для профилактики различных стресс-индуцированных иммунодефицитных состояний, в частности, посттравматических [Михайлова А.А. и соавт, 1989].

Использование Т-активина и миелопида при сочетанном действии травмы и ДДВФ обосновывается снижением функции как Т-, так и В-системы иммунитета под влиянием данных факторов.

Комбинированное применение антидотного средства ФОС и иммуностимуляторов может оказывать аддитивный или потенцирующий эффекты на иммунные реакции после сочетанного действия травмы и ДДВФ [Забродский П.Ф., 1998]. Оценка этого эффекта является весьма интересной с практической точки зрения задачей.

Таким образом, оценка эффективности иммунопротективных свойств дипироксима и иммуностимулирующей активности Т-активина и миелопида при острых отравлениях ДДВФ в сочетании с тяжелой травмой (травматическим переломом голени) позволит рекомендовать данные препараты для коррекции посттравматических и постинтоксикационных нарушений иммунного гомеостаза.

8.2. Влияние дипироксима, Т-активина и миелопида на НРО и основные показатели гуморального иммунного ответа

В результате проведенных исследований установлено (табл.8.1), что применение дипироксима практически полностью восстанавливает интегральное состояние неспецифической и иммунологической резистентности организма (ИСНИРО), показатели которого существенно снижает ДДВФ, травма и их сочетанное действие. В частности, летальность животных от экспериментальной инфекции в результате применения дипироксима после сочетанного действия травмы и ДДВФ существенно снижается.

Нами установлено (табл. 8.2), что применение дипироксима частично восстанавливает тимусзависимое, тимуснезависимое антителообразование и синтез В-клетками спленоцитов IgG при остром отравлении ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) в сочетании с тяжелой механической травмой. Комбинации дипироксима с Т-активином, дипироксима с миелопидом восстанавливают показатели В-звена иммунитета полностью. Так, данные табл. 8.2 свидетельствуют, что применение дипироксима приводило к увеличению тимусзависимого (к ЭБ), тимуснезависимого гуморального иммунного ответа (к Vi-Ag) и числа АОК, синтезирующих IgG, по сравнению с показателями при сочетанном действии травмы и острого отравления НАК соответственно в 1,78; 1,32 и 1,58

раза ($p < 0,05$). При этом данные параметры оставались статистически значимо ниже контрольных значений соответственно в 1,41; 1,82 и 1,57 раза ($p < 0,05$).

Таблица 8.1

Влияние дипироксима после острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой на летальность от экспериментальной пневмонии (*P. vulgaris*), LD₅₀ *P. vulgaris* и Et₅₀ у крыс после иммунизации (M+m)

Серии Опытов	Летальность, %	LD ₅₀ <i>P. vulgaris</i> , 10 ⁹ микр. тел	Et ₅₀
Контроль	23,3±7,7 (30)	4,8±0,7 (30)	47,3±4,5 (30)
ДДВФ+травма	50,0±11,8* (18)	3,8±1,1* (18)	20,1±2,2* (18)
ДДВФ+травма+ дипироксим	33,3±12,1 (15)	4,2±1,3 (15)	39,5±4,5 (15)

Примечание: в скобках - число животных в серии; * - различие с контролем достоверно $p < 0,05$.

Применение в качестве иммуностимулятора Т-активина внутримышечно в дозе 5 мкг/кг ежедневно в течение 4 сут комбинированно с антитодом ФОС дипироксимом вызывало восстановление числа АОК к ЭБ (тимусзависимый иммунный ответ), к Vi-Ag (тимуснезависимый иммунный ответ) и АОК, синтезирующих IgG до контрольного уровня. Аналогичный эффект (и даже незначительно более выраженный эффект) оказывал миелопид в дозе 2 мг/кг при его использовании в комбинации с дипироксимом.

Таблица 8.2

Влияние дипироксима и иммуностимуляторов на основные показатели В-звена иммунитета после острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой у крыс (M±m)

Серии Опытов	АОК к ЭБ, 10 ³	АОК к Vi-Ag, 10 ³	АОК, синтезирующие IgG, 10 ³
Контроль	28,4±1,2 (30)	21,8±1,1 (30)	16,2±1,8
ДДВФ+травма	11,3±2,1*	9,1±2,1*	6,5±1,3*
ДДВФ+травма+ дипироксим	20,1±2,2**	12,0±2,3*	10,3±1,2**
ДДВФ+травма+ дипироксим + Т-активин	30,1±3,1	22,3±3,0	15,5±1,7
ДДВФ+травма+ дипироксим + +миелопид	32,5±3,0	24,6±2,8	18,9±2,0

Примечание: в скобках – число животных; в каждой серии опытов использовалось 7-9 животных; * - различия достоверны по сравнению с контролем (p< 0,05).

Таким образом, практически полное восстановление показателей НРО после сочетанного действия острого отравления ДДВФ и травмы достигается применением антидота ФОС дипироксима, а В-системы иммунитета - комбинированным использованием дипироксима и Т-активина, а также комбинацией дипироксима и миелопида.

8.3. Влияние дипироксима, Т-активина и миелопида на основные показатели клеточного иммунного ответа

Проведенные нами исследования показали (табл. 8.3), что использование дипироксима после сочетанного действия острого отравления ДДВФ и травмы увеличивало реакцию ГЗТ, ЕЦ (активность ЕКК), АЗКЦ (активность К-клеток)

Таблица 8.3

Влияние дипироксима и иммуностимуляторов на основные показатели клеточного звена иммунитета у крыс Вистар после острого отравления ДДВФ (0,8 LD₅₀) в сочетании с механической травмой (M±m)

Серии опытов	Реакция ГЗТ (прирост массы лапы, %)	ЕЦ, %	АЗКЦ, %
Контроль	29,5±0,8 (25)	31,5± 1,2 (27)	11,8±0,5 (25)
ДДВФ+травма	10,5±1,3*	13,5±2,0*	3,0±1,0*
ДДВФ+травма+ дипироксим	22,0±2,3**	23,3±2,4**	7,1±1,3**
ДДВФ+травма+ дипироксим + Т-активин	30,1±3,0	29,4±2,5	12,3±1,4
ДДВФ+травма+ дипироксим + +миелопид	25,1±2,5	25,1±2,7**	8,3±1,2**

Примечание: в скобках – число животных; ЕЦ и АЗКЦ определяли через 3 сут; в каждой серии опытов использовалось 8-9 животных; * - различия достоверны по сравнению с контролем (p<0,05); ** - различия достоверны по сравнению с контролем и показателем при интоксикации (p< 0,05).

соответственно в 2,10; 1,73 и 2,37 раза (p<0,05) по сравнению с показателями при действии ДДВФ в сочетании с травмой. Однако, данные показатели оставались меньше, чем в контроле в 1,34; 1,35 и 3,93 раза (p<0,05). Применение Т-активина в комбинации с дипироксимом восстанавливало реакцию ГЗТ, ЕЦ,

АЗКЦ до контрольных значений. Использование комбинации миелопида и дипироксима частично восстанавливало показатели клеточного звена иммунитета. Так, реакция ГЗТ, активность ЕКК, АЗКЦ под влиянием данных лекарственных средств оставалась меньше контрольного уровня соответственно в 1,18 ($p>0,05$); 1,25 и 1,42 раза ($p<0,05$).

Таким образом, комбинированное применение антидота ФОС дипироксима и Т-активина после сочетанного действия ДДВФ и травмы полностью восстанавливает параметры клеточного звена иммунитета.

Резюме

Полученные результаты показали, что практически полное восстановление показателей НРО после сочетанного действия острого отравления ДДВФ и травмы достигается применением антидота ФОС дипироксима, а В-системы иммунитета - комбинированным использованием дипироксима и Т-активина, а также комбинацией дипироксима и миелопида.

Комбинированное применение антидота ФОС дипироксима и Т-активина после сочетанного действия ДДВФ и травмы полностью восстанавливает параметры клеточного звена иммунитета. Комбинация дипироксима и миелопида приводит к частичному восстановлению показателей Т-системы иммунитета и активности ЕКК.

Существенную роль в комбинированной посттравматической и постинтоксикационной иммуносупрессии при сочетанном действии ДДВФ и травмы играет ингибирование ФОС ацетилхолинэстеразы и α -нафтил-AS-ацетатэстеразы и α -нафтилбутиратэстеразы Т-лимфоцитов, что доказывается иммунопротективным эффектом дипироксима.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема изучения сочетанного действия острого отравления ФОС в сочетании с механической травмой на физиологические механизмы регуляции иммунного гомеостаза весьма актуальна, учитывая достаточно широкое распространение и использование ФОС, в частности, диметилдихлорвинилфосфата (ДДВФ) в сельском хозяйстве и быту, возможность аварий при уничтожении БОВ, относящихся к фосфорорганическим антихолинэстеразным соединениям, высокую смертность при отравлении ими, недостаточно изученные особенности их действия на систему иммунитета, возможное сочетание острых отравлений с механической травмой при авариях и катастрофах. Изучение нарушений иммунного статуса в постинтоксикационный и посттравматический период с целью разработки способов их коррекции для профилактики инфекционных осложнений и заболеваний важно как в теоретическом, так и в практическом отношении.

В настоящее время при возможных террористических актах применение ФОС наиболее вероятно и, как правило, поражения данными соединениями будут сочетаться с механическими повреждениями, обуславливающими течение травматической болезни с выраженным иммунодефицитом [Кожевников В.С и соавт., 1991]. Описано отравление зарином 600 человек в Мацумото (Япония) 27 июня 1994 года в результате террористического акта [Morita H. et al., 1995]. Общеизвестна газовая атака зарином, проведенная сектой «Аум Сенрике» в Токийском метро в марте 1995 году, в результате которой пострадало 5000 человек [Masuda N. Et al., 1995]. У части пострадавших поражения ФОС сочетались с различными механическими травмами. В настоящее время формирование иммунодефицитного состояния при сочетанном действии ФОС и механической травмы практически не исследованно.

Исследование основных нарушений неспецифической резистентности

организма, различных звеньев иммуногенеза, Т- и В - системы иммунитета при сочетанном остром отравлении ФОС, в частности, диметилдихлорвинилфосфатом, и механической травмы имеет важное значение для целенаправленного применения иммуномодуляторов из большого арсенала известных сейчас веществ данного класса для профилактики инфекционных осложнений и заболеваний. При этом необходимо принимать во внимание, что осуществление оптимальной коррекции нарушения иммунного гомеостаза при травме, а также ее сочетании с отравлением ФОС, требует изучения целого комплекса патогенетических вопросов, связанных с изучением особенностей формирования комбинированного постинтоксикационного и посттравматического иммунодефицитного состояния [Кожевников В.С., 1991].

Необходимо подчеркнуть, что вопрос о коррекции нарушений иммунного гомеостаза под влиянием механической травмы в сочетании с острым отравлением ФОС в постинтоксикационном и посттравматическом периоде до сих пор практически не исследован и нуждается в изучении. Существенное улучшение способов профилактики и лечения постинтоксикационного иммунодефицитного состояния при действии ФОС в сочетании с травмой позволит значительно снизить инфекционные осложнения и заболевания.

Анализ данных литературы позволяет заключить, что профилактика и лечение постинтоксикационных и посттравматических инфекций не может быть обеспечена без учета нарушений физиологической регуляции иммунного гомеостаза и использования иммуномодуляторов [Муразян Р. И., 1984; Долгушин И. И. и соавт., 1989; Кожевников В.С., 1991; Козлов В.К. и соавт., 1992; Чеснокова И.Г., 2000].

Необходимо отметить, что нами исследовались сочетанные иммуносупрессивные эффекты ФОС ДДВФ и травмы только в стадии явного иммунодефицита, то есть в течение 6-9 суток [Александров В. Н., 1982, 1983].

Полученные нами результаты исследований показали, что после острого отравления ФОС ДДВФ, действия травматического повреждения, а также их сочетания происходит увеличение летальности животных от экспериментальной пневмонии после предварительной иммунизации, снижение ЛД₅₀ *P. vulgaris* и среднеэффективного времени жизни животных, что свидетельствует о супрессии под влиянием ДДВФ и их сочетанного действия с травмой неспецифической и иммунологической резистентности организма. Сочетанное действие травмы и ДДВФ приводит к суммации эффектов действующих факторов.

Нами установлено, что при остром отравлении ДДВФ в дозе 0,8 LD₅₀, травматическом повреждении и их сочетании происходит увеличение содержания числа микробных тел *E. Coli* в циркулирующей крови и селезенке крыс после их введения по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении неспецифической и иммунологической резистентности организма. Сочетанное действие травмы и ФОС приводит к суммации их эффектов.

После действия травмы, ДДВФ и сочетанного их эффекта через 6 сут отмечается снижение активность лизоцима, ТКБ сыворотки крови, фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов с практически полным восстановлением показателя к 12 сут. Отмечается более выраженный эффект при сочетанном действии факторов по сравнению с их изолированным влиянием.

Выявленные изменения НИРО, а также факторов неспецифической защиты организма под влиянием ДДВФ, вероятно, обусловлены ингибированием неспецифических эстераз клеток крови [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983; Забродский П. Ф., 1987]. При этом, вероятно, помимо снижения продукции неспецифических факторов защиты организма, уменьшается также устойчивость клеток тканей к микроорганизмам и их токсинам [Горизонтов П. Д., 1981]. Не исключено, что помимо ингибирования эстераз макрофагов,

моноцитов и ЕКК редуция НРО обусловлена снижением процессов тканевого дыхания в митохондриях этих клеток, вызванного ФОС [Ротенберг Ю.С.1980] и связанным с ними уменьшением окислительного фосфорилирования (синтеза АТФ) в лейкоцитах, обеспечивающих НРО, и других клетках организма, что приводит к снижению их устойчивости к развитию воспаления брюшины и сепсису. Возможно, снижение НИРО обусловлено также мембранотоксическим действием ФОС на полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ) и тромбоциты [Голиков С.Н. и соавт., 1986].

Снижение сывороточной активности ТКБ может быть связано с действием ДДВФ на его синтез и выделение тромбоцитами [Бухарин О.В., 1974, 1985; Забродский П.Ф., 1999].

Усиление эффектов ДДВФ травмой, вероятно, обусловлено большей активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) и более выраженным иммуносупрессивным действием кортикостерона [Claman H.N., 1972, 1993], а также увеличение супрессорной активности лимфоцитов [Аскалонов А.А. и соавт., 1985].

Нами установлено, что травма, острое отравление ДДВФК (0,8 ЛД₅₀) и их сочетание сопровождались уменьшением функции функцию Т-лимфоцитов, оцениваемой по реакции торможения миграции лейкоцитов через 1-3 сут с частичным восстановлением показателя к 6 сут.

При сочетании травматического воздействия и острой интоксикации ДДВФ происходит суммация эффектов, снижающих реакцию ГЗТ, характеризующей как первичный, так и вторичный клеточный иммунный ответ, а также эффектов, связанных с реализацией механизмов, направленных на увеличение активности Т-супрессоров.

В реализации формирования ГЗТ принимают участие Т-хелперы первого типа (Th1-лимфоциты). Данные литературы свидетельствуют, что Th1-лимфоциты обеспечивают реализацию реакции ГЗТ путем активации

макрофагов. В основном Th1-лимфоциты регулируют физиологические механизмы, обеспечивающие функцию Т-звена иммунитета [Хаитов Р.М и соавт., 2000; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993; Kimber I., 1996]. Полученные нами результаты косвенно свидетельствуют о том, что травма, ДДВФ и их сочетание уменьшают способность Th1-лимфоцитов синтезировать ИЛ-1, ИЛ-3, γ -интерферон и β -фактор некроза опухоли (лимфотоксин), участвующие в реализации реакции ГЗТ [Kimber I., 1996]. Кроме того, травма, ДДВФ и их сочетание, вероятно, снижают активность и других клеток, обеспечивающих формирование ГЗТ, в частности, Т-клеток памяти и макрофагов [Ройт А., 1991].

Естественные клетки-киллеры (ЕКК), активированные связанными с клеткой-мишенью (например, ксеногенной клеткой или клеткой, пораженной вирусом) антителами (IgG), уничтожают ее. Эта система получила название антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ) [Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Помимо ЕКК в эту систему входят полиморфноядерные лейкоциты (ПЯЛ) – моноциты, базофилы, эозинофилы, сегментоядерные лейкоциты, а также другие миелоидные клетки [Ройт А., 1991]. В проведенных нами опытах исследовалась вся система АЗКЦ: ЕКК (большие зернистые лимфоциты) и ПЯЛ.

Нами установлено, что острое отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀), травма и их сочетание уменьшают активность К-клеток селезенки, оцениваемую по АЗКЦ, через 5 сут. Выявлен аддитивный иммуносупрессивный эффект ФОС и травматического повреждения.

Патогенез редукции АЗКЦ, при действии ФОС может быть связан с реализацией общих механизмов токсического действия [Голиков С.Н. и соавт., 1986], возможным ингибированием эстераз К-клеток. В ПЯЛ, осуществляющих АЗКЦ, имеются неспецифические эстеразы, в частности, α -нафтил-AS-D-хлорацетатэстераза [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983]. В настоящее время не

доказано их отсутствие в лимфоцитах-киллерах. Учитывая их общее происхождение с Т-лимфоцитами от стволовых лимфоидных клеток [Ройт А., 1991], такая возможность не исключена.

После травмы в крови возрастает содержание глюкокортикоидов [Аскалонов А.А. и соавт., 1985; Масютин В.А., 1994; Идова Г.В., Чейдо М.А., 1996; Mikhova et.al., 1991; Hassig A. et al., 1996], которые могут вызывать апоптоз К-клеток или снижение их функции [Гордиенко С.М. и соавт., 1987; Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

ЕКК представлены преимущественно клетками с маркерами CD16, CD56, однако способностью к естественной цитотоксичности обладают лимфоциты со следующими CD-маркерами: CD2, CD11b, CD16, CD27, CD30, CD39, CD56, CD57, CD62L, CD87, CD94, CD119 и CD132. При этом субпопуляции ЕКК CD2, CD27, CD30, CD62L, CD87, CD132 обладают свойствами и Т-лимфоцитов. Ингибируют цитотоксическую активность ЕКК субпопуляции нормальных (естественных) киллеров CD158a, CD158b [Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. При контакте с клетками опухоли, клетками, пораженными вирусами или паразитами, ксеногенными клетками ЕКК способны уничтожать их без предварительного контакта с антигенами, находящимися на их поверхности.

Действие травмы, острого отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) и их сочетания уменьшают активность ЕКК спленоцитов крыс через 1-6 сут с практически полным и частичным восстановлением функции естественных клеток-киллеров через 9 сут после изолированного и сочетанного действия факторов соответственно. Выявлены существенные различия между действием травмы, ФОС и их сочетания, что свидетельствует о наличии аддитивного эффекта иммуносупрессии, вызванной ФОС и травматическим повреждением.

Действие ДДВФ травмы и их сочетаний на активность ЕКК, вероятно, обусловлено блокированием проникновения гранзимов из гранул ЕКК в цитоплазму клетки-мишени, снижением их синтеза и нарушением процесса

порообразования перфорином [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Nogueira N., 1984]. Не исключена индукция апоптоза естественных клеток-киллеров [Хаитов Р. М. и соавт., 2000; Kimber I., More M., 1985; Marx J.L., 1986]. Учитывая, что часть популяции ЕКК представлена Т-клетками [Хаитов Р. М. и соавт., 2000], весьма вероятно, что ФОС снижают активность ЕКК, ингибируя ацетилхолинэстеразу и неспецифические эстеразы Т-клеток, имеющих маркеры ЕКК, и следовательно, способных в определенной степени выполнять и их функцию.

В целом при действии травмы клеточные иммунные реакции снижались в меньшей степени, чем при острой интоксикации ДДВФ.

В основном изменения клеточного звена иммунитета под влиянием сочетанного действия ДДВФ и травмы, вероятно, связаны с ингибированием ФОС ацетилхолинэстеразы и неспецифических эстераз Т-лимфоцитов и макрофагов, участвующих в реакции ГЗТ, а также ЕКК и К-клеток, осуществляющих соответственно ЕЦ и АЗКЦ [Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д., 1983; Забродский П. Ф., 1993;1998], а также возрастанием в крови концентрации кортикостероидов (эффект ФОС и травмы) [Аскалонов А.А. и соавт., 1985; Масютин В.А., 1994; Идова Г.В., Чейдо М.А., 1996; Mikhova et.al., 1991; Hassig A. et al., 1996], которые могут вызывать апоптоз этих клеток или снижение их функции [Гордиенко С.М. и соавт., 1987; Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Существенные различия между действием травмы, ФОС и их сочетания (сочетанный эффект выражен в большей степени, чем изолированное действия яда и травмы) свидетельствуют о наличии аддитивного эффекта иммуносупрессии, вызванной ФОС и травматическим повреждением.

Наши исследования показали, что под влиянием острого отравления ФОС, травмы и их сочетания происходит редукция тимусзависимого антителообразования через 5-8 сут, оцениваемая по ОДЛТА, преимущественно в продуктивной фазе иммуногенеза.

Эффекты острого отравления ФОС (0,8 ЛД₅₀), травмы и их сочетания в индуктивной и продуктивной фазах антителогенеза сопровождались уменьшением синтеза антител, оцениваемого по числу АОК к ЭБ через 5 сут после иммунизации ЭБ, более выраженным в продуктивный период антителогенеза. Под влиянием травмы, ФОС и их сочетания отмечалась редукция синтеза IgG через 8 сут. Супрессия гуморального иммунного ответа, вызванная изолированным действием травмы и ФОС, была выражена в меньшей степени, чем редукция гуморальной иммунной реакции, обусловленная сочетанным эффектом двух факторов. Полученные данные свидетельствуют о том, что при сочетании травматического воздействия и ФОС, в частности, ДДВФ, иммуносупрессивные эффекты суммируются.

Полученные нами результаты исследований свидетельствует о менее выраженной редукции Т-зависимой антителопродукции под влиянием травмы по сравнению с интоксикацией ДДВФ, суммации эффектов факторов, а также о снижении под влиянием травмы, ФОС и их сочетания функции Th1-лимфоцитов, индуцирующих синтез IgM [Pfeifer C. et al., 1991] плазмоцитами селезенки в большей степени в продуктивной фазе антителогенеза по сравнению с индуктивной. Последний феномен может быть связано с более выраженным действием ДДВФ и травмы (а также их сочетания) на пролиферацию, дифференцировку и синтез антител В-клетками (плазмоцитами), перераспределения лимфоцитов между органами системы иммунитета в период максимальной антителопродукции (3-5 сут после иммунизации) в продуктивной фазе антителообразования по сравнению с воздействием травмы и ядов на распознавание антигена макрофагами, их переработку и представление Т- и В-клеткам, кооперацию макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, а также клональную селекцию Т- и В-клеток в индуктивной фазе антителопродукции [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Травматическое воздействие в продуктивный период иммуногенеза оказывает большее ингибирующее влияние

на синтез иммуноглобулинов вследствие действия глюкокортикоидов [Аскалонов А.А. и соавт., 1985; Масютин В.А., 1994; Идова Г.В., Чейдо М.А., 1996; Mikhova et.al., 1991; Claman H.N., 1993] по сравнению с индуктивной фазой антителопродукции.

Известно, что через 5 сут после введения ЭБ отмечается пик иммунного ответа, связанный с синтезом IgM, а через 8 и 13 сут титр антител отражает синтез преимущественно IgG, и в меньшей степени - IgM [Петров Р.В. и соавт., 1981]. Известно, что Th1-лимфоциты участвуют в продукции IgM, IgG₂, а Th2-лимфоциты способствуют синтезу IgG₁, IgA, IgE [Pfeifer C. et al., 1991; Georgiev V.St., Albright J.E., 1993]. Установленное нами уменьшение гуморальной иммунной реакции через 5 и 8 сут, а также редукция функции АОК, синтезирующих, IgM и IgG свибетьствует о том, что травма, ФОС и их сочетанное действие снижают функциональную активность как Th1-, так и Th2-лимфоцитов.

Под влиянием острой интоксикации ФОС, действия травмы и их сочетания происходит существенное снижение числа РОК в селезенке крыс. Действие ДДВФ было более выражено, чем эффект механической травмы. Сочетанное действие факторов приводило к суммации их эффектов.

Снижение РОК при действии ДДВФ и травмы могут быть связаны с их миграцией под влиянием катехоламинов [Горизонтов П. Д., 1981a, 1981б], действием кортикостероидов [Хусинов А.А. и соавт., 1991; Szot R.J., Murphy S.D., 1970; Rey A. et al., 1984; Tiefenbach B. et al., 1980, 1983, 1985; Szelenyi J.G. et al., 1982; Casale G.P. et al., 1983; Dhabhar F. S. et al, 1996; Забродский П.Ф. и соавт., 2000], а также возможной инициацией апоптоза [Хаитов Р. М. и соавт., 2000]. Иммуносупрессивные эффекты ДДВФ могут быть реализованы также вследствие ингибирования эстераз иммуноцитов [Забродский П.Ф. и соавт., 1993].

T-зависимое антителообразование прямо связано с процессом кооперации (взаимодействия) T- и B-лимфоцитов [Петров Р.В., 1983; Ройт А., 1991; Хаитов Р.М и соавт., 2000]. Поэтому изучение влияния ДДВФ в сочетании с травмой на данную реакцию существенно дополняет понимание механизмов нарушения антителообразования на уровне взаимодействия иммуноцитов. Кооперацию T- и B-лимфоцитов можно рассматривать, как механизм на уровне взаимодействия клеток, определяющий антителопродукцию. В модели *in vitro* роль клеток, представляющих антиген T-лимфоцитам, вместо макрофагов выполняют B-клетки [Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Нами показано, что после острого отравления ФОС, травмы и их сочетания через 1 сут нарушается функция T- и B-лимфоцитов в эффекте кооперации клеток *in vitro* с последующим ее восстановлением через 6 сут. Травма оказывала меньшее влияние на данный параметр, чем ФОС. Редукция эффекта кооперации T- и B-лимфоцитов, обусловленная сочетанным действием ДДВФ и травматического повреждения, проявлялась в большей степени, чем постинтоксикационная и посттравматическая супрессия данной реакции. Полученные результаты позволяют утверждать, что при сочетании травматического воздействия и ФОС депрессия эффекта кооперации T- и B-клеток, обусловленная действия каждого из этих факторов, суммируется. Травма, ДДВФ и их сочетание в большей степени снижает функцию T-лимфоцитов.

Действие травмы на T-клетки при изучении кооперации T- и B-лимфоцитов может быть обусловлено эффектом кортикостероидов [Горизонтов П.Д., 1981a, 1981б; Петров Р. В. и соавт., 1981a,1981б; Петров Р.В., 1983; Корнева Е. А., 1985; Фримель Х., Брок Й., 1986; Claman H. N., 1972; Hassig A. et al., 1996; Ficek W., 1997; Mc Even B.S. et al., 1997], а действие ДДВФ связано с ингибированием ацетилхолинэстеразы и неспецифических эстераз T-лимфоцитов [Забродский П.Ф., 1993; Молотков А.О., 2002]. При этом, как и при травме, иммуносупрессирующий эффект оказывают и кортикостероиды

[Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2000]. Т-клетки наряду с моноцитами, макрофагами и нейтрофилами являются эстеразопозитивными. Следует отметить, что ацетилхолинэстеразу содержат только Т-лимфоциты [Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д., 1983; Ferluga J. et al., 1972; Li C. G et al., 1973; Kutty K. M. et al., 1976; Kullenkampff J. et al., 1977]. Сочетанный эффект ДДВФ и травмы приводит к реализации основных механизмов иммуносупрессии – ингибированию эстераз Т-клеток ДДВФ и действию кортикостероидов, вызывающих апоптоз иммуноцитов [Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Острое отравление ДДВФ, травма и их сочетание вызывают редукцию тимуснезависимого антителообразования через 5-8 сут, оцениваемую по ОДЛТА и по числу АОК к Vi-Ag через 5 сут после иммунизации, преимущественно в продуктивной фазе иммуногенеза. Острая интоксикация ДДВФ (0,8 ЛД₅₀), травма и их сочетание в индуктивной и продуктивной фазах иммуногенеза сопровождались уменьшением синтеза антител, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag через 5 сут после иммунизации, более выраженным в продуктивный период антителопродукции. Посттравматическая редукция Т-независимой гуморальной иммунной реакции проявлялась в большей степени, чем ее снижение вследствие интоксикации. При сочетании травматического воздействия и ФОС Т-независимые иммуносупрессивные эффекты этих факторов суммируются.

Воздействие ФОС, травмы и их сочетаний в продуктивную фазу антителогенеза вызывает большую редукцию Т-независимого антителообразования, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag через 5 сут, по сравнению с их эффектом в индуктивный период иммуногенеза. Это объясняется особенностями иммунной реакции на тимуснезависимый антиген, в основе которой лежит поликлональная активация значительной части популяции В-лимфоцитов (или стимуляция пролиферации В-клеток за счет собственной митогенной активности) [Ройт А., 1991]. При этом действие травмы и ядов (и их

сочетания) в период синтеза антител, видимо, оказывает больший супрессирующий эффект на их продукцию, чем на активацию. Снижение Т-зависимой антителопродукции под влиянием ДДВФ, травмы и их сочетания более выражено, чем Т-независимого антителобразования, так как для него не требуется синтеза ряда лимфокинов (BSF-1, активирующего В-клетки, росткового фактора В-клеток – BCGF-II, стимулирующего клональную экспансию активированных клеток, фактора дифференцировки В-клеток μ - BCDF μ , который способствует созреванию клеток с высокой скоростью секреции IgM, BCDF γ , вызывающий преклоение синтеза с IgM на IgG и высокую скорость его продукции) [Ройт А., 1991; Хаитов Р.М. и соавт., 2000].

Лимфоидный индекс (ЛИ) тимуса и селезенки является косвенным показателем содержания ядросодержащих клеток в этом органе, в частности, лимфоцитов, в определенной степени он характеризует процессы апоптоза тимоцитов и миграцию их в циркулирующую кровь [Галактионов В.Г., 1986; Гольдберг Е. Д. и соавт., 1972; Тихонов В. Н., 1981; Александров В. Н., 1983; Беликов В.Г., 2001]. Таким образом, ЛИ тимуса и селезенки характеризует функциональное состояние этих органов [Александров В. Н., 1983; Забродский П.Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000; Descotes J., 1986].

В проведенных нами исследованиях показано, что воздействие травмы, острого отравления ДДВФ в дозе 0,8 ЛД₅₀, а также их сочетания существенно снижают лимфоидные индексы тимуса и селезенки через 2 сут после воздействия. Показатели восстанавливаются до контрольных значений через 6 сут. Редукция показателей, вызванная ДДВФ, под влиянием травматического повреждения усиливается, что позволяет рассматривать сочетанное действие факторов на ЛИ тимуса и селезенки, как аддитивное.

Как механическая травма, так и ДДВФ, вызывая активацию ГГНС, увеличивают синтез и поступление в кровь кортикостероидов (стресс-реакция) [Горизонтов П.Д., 1981а; 1981б]. Гормоны коры надпочечников вызывают

миграцию лимфоцитов из тимуса и селезенки и их апоптоз [Петров Р.В. и соавт., 1981a, 1981б; Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Ройт А. и соавт., 2000; Claman H. N., 1972, 1993; Dhabhar F. S. et al., 1996].

Нами установлено, что редукция миграции КОЕс под влиянием ДДВФ статистически не значима и проявляется в меньшей степени, чем снижение миграции КОЕ из костного мозга в селезенку под влиянием травмы. Сочетанное действие ДДВФ и травмы вызывает уменьшение исследованного показателя в несколько большей степени, чем травматическое повреждение. Следовательно, существуют основания полагать, что при сочетании физического и химического факторов, редукция миграции КОЕс обусловлена как действием травмы (преимущественно), так и ФОС.

Следует отметить, что под влиянием ФОС в сублетальных дозах может отмечаться даже парадоксальное увеличение КОЕс [Забродский П.Ф., 1993], которое объясняется стимулирующим влиянием ацетилхолина, концентрация которого при отравлении ФОС, к которым относится ДДВФ, в циркулирующей крови возрастает [Голиков С.Н., 1969; Каган Ф.С., 1977]. При этом ацетилхолин, вероятно, действует на м-холинорецепторы КОЕс, что приводит к увеличению их миграции из костного мозга. Оснований считать высказанное предположение вполне допустимым и обоснованным достаточно [Дешевой Ю. Б., 1983; Забродский П. Ф., 1993; Kuty K. M., 1976; Maslinski W. et al., 1983]. Однако, при этом следует учитывать, что ингибирование эстераз КОЕс и действие кортикостероидов после острой интоксикации ДДВФ оказывает противоположный эффект [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1981; Забродский П. Ф., 1993]. О действии на неспецифические эстеразы КОЕс можно говорить лишь предположительно, так как в литературе наличие этих энзимов в КОЕс не описано. Это связано с методическими трудностями выделения КОЕс из КМ - в селезенке определяется не одиночная колониеобразующая клетка, а бляшка, сформировавшаяся за 8 сут и состоящая из пяти типов клеточных элементов:

миелоидных, мегакариоцитарных, эритроидных, недифференцированных и смешанных [Петров Р.В. и соавт., 1981a]. Необходимо заметить, что среди клеток костного мозга эстеразопозитивными клетками являются мегакариоциты, монобласты, миэлобласты, промиелоциты [Хейхоу Ф.Г.Дж. , Кваглино Д., 1983].

При острой интоксикации ФОС в сублетальных концентрациях в зависимости от реализации механизмов, обуславливающих редукцию или усиление миграции КОЕс из КМ в селезенку, может отмечаться как уменьшение, так и увеличение числа КОЕс. Ацетилхолин и невысокие однократные дозы ФОС вызывают повышение данного параметра [Забродский П.Ф., 1993; Молотков А.О., 2002].

Травма обуславливает снижение КОЕс в результате эффекта кортикостероидов [Петров Р.В. и соавт., 1981a; Долгушин И.И. и соавт., 1989]. Вполне логично предположить, что при сочетанном действии травмы и ФОС снижение КОЕс обусловлено уменьшением их миграции из КМ в результате увеличения в крови содержания кортикостероидов, вследствие реализации стрессорных эффектов факторов. Кроме того, ФОС способны активировать ГГНС в результате действия на центральные м-хилинорецепторы [Денисенко П.П., 1980].

Сочетанный эффект ДДВФ и травмы приводил к снижению лимфоцитов в тимусе и селезенке в большей степени, чем изолированное факторов через 2 сут. Это свидетельствует о том, что супрессивные эффекты (эффекты, определяющие апоптоз и миграцию клеток из органов) травмы и ДДВФ суммируются. Вероятно, это связано с действием кортикостероидов на лимфоциты. Известно, что гормоны коры надпочечников вызывают как запрограммированную гибель лимфоцитов, так и их миграцию из тимуса и селезенки [Петров Р.В. и соавт., 1981a, 1981б; Хаитов Р.М. и соавт., 2000; Ройт А. и соавт., 2000; Claman H. N., 1972, 1993; Dhabhar F. S. et al., 1996]. При

действии ФОС ацетилхолин способен, активируя м-холинорецепторы тимоцитов, приводить к их выходу из тимуса [Maslinski W., et al., 1983, 1987]. Через 6 сут после острого действия ДДВФ, травмы и их сочетания число Т-лимфоцитов в тимусе и лимфоцитов в селезенке крыс восстанавливалось до контрольного значения.

Под влиянием травмы через 2 сут уменьшается содержание лимфоцитов в костном мозге, лимфоузлах в циркулирующей крови, острое отравление ДДВФ вызывает противоположный эффект, а при сочетанном действии факторов происходит снижение показателей, как и при травме. Через 6 сут содержание лимфоцитов в органах системы иммунитета восстанавливается до контрольного уровня.

Полученные нами результаты исследований, а также существующие в настоящее время данные литературы, позволяют высказать предположение, что возможные механизмы, определяющие перераспределение лимфоцитов между органами иммунной системы после интоксикации ФОС, связаны с действием ацетилхолина на н-холинорецепторы надпочечников и симпатических ганглиев, активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), что приводит к увеличению концентрации в крови адреналина и норадреналина [Дорошевич А.Л., 1971; Денисенко П.П., 1980] и кортикостероидов [Гурин В.Н., 1970; Горизонтов П. Д., 1981а, 1981б; Петров Р. В. и соавт., 1981а, 1981б; Петров Р.В., 1983; Корнева Е. А., 1985; Фримель Х., Брок Й., 1986; Claman H. N., 1972]. В крови, костном мозге и лимфоузлах увеличивается содержание лимфоцитов вследствие выхода их из тимуса и селезенки. Следует учитывать, что определенная часть клеток гибнет в результате апоптоза. При действии ДДВФ выход лимфоцитов из тимуса и миграцией их в кровь, костный мозг и лимфоузлы связан с возбуждением холинергической системы и активацией м-холинорецепторов [Дешевой Ю. Б., 1983; Забродский П. Ф., 1993; Kuttu K. M., 1976; Maslinski W. et al., 1983]. Лимфоциты мигрируют из селезенки

вследствие действия преимущественно норадреналина на α -адренореактивные этого органа (вероятно, и на рецепторы лимфоцитов) [Горизонтов П. Д., 1981б]. Увеличение лимфоцитов в костном мозге обусловлено активацией β -адренорецепторов данного органа [Горизонтов П. Д., 1981б]. При действии травматического повреждения в результате эффекта кортикостероидов (холинергическая система в отличие от действия ФОС не активируется) содержание лимфоцитов в КМ снижается вследствие апоптоза. При сочетанном действии ДДВФ и травмы, видимо, реализуется эффект кортикостероидов вследствие его преобладания.

Нами экспериментально установлено, что при действии ДДВФ, травмы и их сочетания происходит увеличение концентрации кортикостерона в плазме крови, с действие которого связано формирование иммунодефицитного состояния. Острое отравление и травма оказывают аддитивное действие на синтез и продукцию кортикостерона. Экзогенное введение кортикостерона в дозах, создающих такую же концентрацию в крови, как и действие ДДВФ вызывает снижение основных иммунных реакций. Полученные нами результаты подтверждают все вышеизложенные соображения о существенной роли кортикостероидов в формировании постинтоксикационной и посттравматической иммуносупрессии.

Увеличение КС в крови под влиянием ДДВФ обусловлено стимуляцией ацетилхолином центральных м-холинореактивных структур [Гурин В.Н., 1970; Денисенко П.П., 1980]. Травма приводит к активации ГГНС и увеличению концентрации в крови КС, как мощный стрессорный фактор [Долгушин И.И. и соавт., 1989. Кожевников В.С. и соавт., 1991]. Роль кортикостероидов в реализации иммунного ответа неоднозначна, физиологические концентрации их необходимы для реализации полноценного гуморального иммунного ответа [Корнева Е.А., 1978; 1985; 1988; 1990]. Высокие концентрации КС, в частности, при травме, интоксикации фосфорорганическими соединениями и другими

ядами, вызывают супрессию ряда показателей системы иммунитета [Иванова А.С., 1998; Хусинов А.А. и соавт., 1991; Tiefenbach B. et al., 1980, 1983, 1985].

Изменение эстеразной активности в клетках отражает, с одной стороны, функциональную активность иммуноцитов, с другой - может служить количественным критерием Т-клеток в органах системы иммунитета, так как именно эта субпопуляция лимфоцитов является эстеразопозитивной [Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д., 1983; Ferluga J. et al., 1972; Li C. G et al., 1973; Kutty K. M. et al., 1976; Kullenkampff J. et al., 1977]. Роль ацетилхолинэстеразы на поверхности Т-лимфоцитов [Kutty K. M. et al., 1976; Szelenyi J.G. et al., 1982] до сих пор не ясна. Возможно, она регулирует влияние ацетилхолина на холинореактивные структуры Т-лимфоцитов [Забродский П.Ф. и соавт., 2001; Gordon M.A. et al., 1978; Richman D.P., Arnason B.G.W., 1989].

Установлена прямая связь между супрессией Т-зависимых иммунных реакций и ингибированием эстераз дихлорэтаном, нитрилами и фосфорорганическими соединениями [Забродский П.Ф., 1998; Германчук В.Г., 2000; Забродский П.Ф., Киричук В.Ф. и соавт., 2001].

Нами экспериментально доказано, что при сочетанном действии ДДВФ и травмы иммунодефицитное состояние вследствие ингибирования эстераз Т-клеток (ацетилхолинэстеразы и α -нафтил-AS-ацетатэстеразы и α -нафтилбутиратэстеразы) обусловлено только действием ФОС.

Несомненно, что ингибирование АХЭ ДДВФ имеет существенное значение в формировании постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. При этом Т-лимфоциты, возможно, существенно утрачивают свои функции, что приводит к редукции Т-зависимого гуморального иммунного ответа, снижению цитотоксической активности Т-клеток. По-видимому, функция К-клеток и ЕКК при интоксикации ДДВФ также снижается вследствие ингибирования ацетилхолинэстеразы, так как эти клетки, вероятно, являются потомками предшественников Т-лимфоцитов [Ройт А., 1991], а часть популяции ЕКК

обладает свойствами Т-клеток [Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. Данные литературы свидетельствуют, что ФОС тормозят активность эстераз в моноцитах, цитотоксических Т-лимфоцитах, интактных и активированных лимфокинами ЕКК. Эти эффекты ФОС ослабляют иммунологический контроль и эффекторные функции, опосредуемые данными видами клеток [Newcombe D.S., 1991].

В целом постинтоксикационная супрессия Т-зависимых гуморальных и клеточных иммунных реакций более выражена, чем депрессия показателей после травмы, вследствие реализации при отравлении ФОС иммуносупрессивного эффектов как КС, так и инактивации эстераз Т-клеток.

Полученные нами результаты исследования свидетельствуют о том, что при сочетанном действии ФОС, в частности ДДВФ, и травмы происходит суммация эффектов факторов. При этом перераспределение лимфоцитов в крови при сочетанном эффекте факторов обусловлено преимущественно действием травмы. Для снижения иммунотоксических эффектов ФОС могут быть использованы их антидоты, в частности, дипироксим [Молотков А.О., 2002]. Использование данного лечебного средства можно расценивать, как реализацию патогенетической терапии постинтоксикационного иммунодефицитного состояния, учитывая его способность реактивировать ацетилхолинэстеразу Т-клеток и другие эстеразы [Забродский П.Ф., 1996; 1998;]. Однако, известно, что дипироксим не способен полностью восстанавливать показатели иммунного гомеостаза после острого действия ДДВФ [Забродский П. Ф., 1996]. Поэтому нами на основании полученных результатов исследования обоснована возможность использования для восстановления показателей НРО, Т- и В-звена иммунитета Т-активина и миелопида. Использование Т-активина и миелопида при сочетанном действии травмы и ДДВФ обусловлено снижением функции как Т-, так и В-системы иммунитета под влиянием сочетания данных факторов.

Т-активин является иммуномодулирующим препаратом полипептидной природы, полученный из вилочковой железы крупного рогатого скота. При

иммунодефицитных состояниях нормализует количественные и функциональные показатели Т-системы иммунитета, стимулирует продукцию лимфокинов, в том числе интерферонов [Машковский М.Д.,1993]. Показана эффективность Т-активина при отравлениях хлорорганическими соединениями [Вахидова Г.А. и соавт.,1990]. Препарат обладает способностью активировать выработку γ -интерферона Т-лимфоцитами [Вахидова Г.А. и соавт., 1990; Большаков и соавт., 1991; Борисова А.М. и соавт., 1991; Ханафиева и соавт., 1992; Базарный В.В., Ястребов Ф.П., 1993; Кирилличева Г.Б. и соавт., 1993; Машковский М.Д., 1993], который активизирует ЕКК и восстанавливает постинтоксикационное нарушение их функции, а также индуцирует экспрессию рецепторов ИЛ-2 на их поверхности [Сухих Г.Т. и соавт., 1984].

Миелопид - иммуностимулирующий препарат пептидной природы, получаемый из культуры клеток костного мозга млекопитающих (свиней или телят). В последние годы выделены и структурно охарактеризованы 6 типов миелопидов (МП-1, МП-2 и др.), каждый из которых действует на определенные показатели НРО и системы иммунитета [Михайлова А.А., 1997]. При иммунодефицитных состояниях миелопид восстанавливает показатели В- и Т-систем иммунитета, стимулирует продукцию антител и функциональную активность иммунокомпетентных клеток и способствует восстановлению ряда других показателей гуморального звена иммунитета. [Подосинников И.С. и соавт.,1991; Кирилина Е.А. и соавт., 1998; Мухамбетов Д.Д., 1990; Mikhailova A.A. et al., 1990].

В результате проведенных нами исследований установлено, что применение дипироксима практически полностью восстанавливает интегральное состояние неспецифической и иммунологической резистентности организма, показатели которого существенно снижает ДДВФ, травма и их сочетанное действие. В частности, летальность животных от

экспериментальной инфекции в результате применения дипироксима после сочетанного действия травмы и ДДВФ существенно снижается.

Нами установлено, что применение дипироксима частично восстанавливает тимусзависимое, тимуснезависимое антителообразование и синтез В-клетками спленоцитов IgG при остром отравлении ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) в сочетании с тяжелой механической травмой. Комбинации дипироксима с Т-активинном, дипироксима с миелопидом восстанавливают показатели В-звена иммунитета полностью.

Проведенные нами исследования показали, что использование дипироксима после сочетанного действия острого отравления ДДВФ и травмы увеличивало реакцию ГЗТ, ЕЦ (активность ЕКК), АЗКЦ (активность К-клеток) по сравнению с показателями при действии ДДВФ в сочетании с травмой. Однако, данные показатели оставались меньше, чем в контроле. Применение Т-активина в комбинации с дипироксимом восстанавливало реакцию ГЗТ, ЕЦ, АЗКЦ до контрольных значений. Использование комбинации миелопида и дипироксима только частично восстанавливало показатели клеточного звена иммунитета.

Существенную роль в комбинированной посттравматической и постинтоксикационной иммуносупрессии при сочетанном действии ДДВФ и травмы играет ингибирование ФОС ацетилхолинэстеразы и α -нафтил-AS-ацетатэстеразы и α -нафтилбутиратэстеразы Т-лимфоцитов, что доказывается иммунопротективным эффектом дипироксима.

Эффект Т-активина объясняется его способностью, как гормона тимуса, активировать Т-клетки [Вахидова Г.А. и соавт., 1990; Борисова А.М. и соавт., 1991; Большаков и соавт., 1991; Ханафиева и соавт., 1992; Базарный В.В., Ястребов Ф.П., 1993], стимулировать продукцию интерферонов, которые (преимущественно γ -интерферон) индуцируют экспрессию рецепторов ИЛ-2 на поверхности ЕКК, увеличивая потребление ИЛ-2 за счет его рационального использования [Сухих Г.Т. и соавт., 1984; Машковский М.Д., 1993].

Миелопид при иммунодефицитном состоянии, связанном с острыми отравлениями ДДВФ в сочетании с травмой, восстанавливает показатели В- и Т-систем иммунитета (преимущественно В-системы), стимулируя продукцию иммуноглобулинов, функциональную активность иммунокомпетентных клеток, процессинг макрофагами антигена, коррегируя дифференцировку кроветворных клеток-предшественников [Михайлова А.А. и соавт., 1989; Петров Р.В. и соавт., 1989; Руднева Т.Б. и соавт., 1989; Подосинников И.С. и соавт., 1991; Михайлова А.А., 1997; Кирилина Е.А. и соавт., 1998; Mikhailova A.A. et al., 1990].

Таким образом, основными проявлениями нарушения иммунного гомеостаза, приводящими к комбинированному постинтоксикационному и посттравматическому иммунодефицитному состоянию при острых отравлениях ФОС, в частности, ДДВФ в дозе 0,8 ЛД₅₀ в сочетании с механической травмой (переломом бедра) являются: снижение неспецифической и иммунологической резистентности организма; уменьшение активности Т-клеток, естественных клеток-киллеров и К-клеток, определяющих АЗКЦ; супрессия антителообразования преимущественно в продуктивной фазе иммуногенеза вследствие поражения Th1- и Th2-лимфоцитов и нарушения процесса кооперации иммунокомпетентных клеток; снижение миграции КОЕ из костного мозга в селезенку, нарушение перераспределения и уменьшение числа лимфоцитов в тимусе и селезенке; увеличение формирования антигеннеспецифических Т-супрессоров. Полное восстановление интегрального состояния НИРО достигается применением дипироксима, клеточного звена иммунитета - комбинированным применением дипироксима и Т-активина, а гуморального - комбинированным применением дипироксима и Т-активина или дипироксима и миелопида.

ВЫВОДЫ

1. Нарушение физиологических механизмов регуляции иммунного гомеостаза при остром отравлении фосфорорганическим соединением ДДФФ в сочетании с тяжелой механической травмой (в стадии явного иммунодефицита) в условиях эксперимента на животных характеризуется снижением неспецифической резистентности организма, основных показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета, нарушением перераспределения и снижением содержания лимфоцитов в органах системы иммунитета вследствие суммации иммуносупрессивных эффектов ДДФФ и травмы. Коррекция выявленных нарушений в Т-звене системы иммунитета при сочетанном эффекте ДДФФ и травмы достигается комбинированным применением реактиватора холинэстеразы дипироксима и Т-активина, в В-звене иммунитета - комбинированным использованием дипироксима и Т-активина или дипироксима и миелопида. Интегральное состояние неспецифической и иммунологической резистентности организма практически полностью восстанавливается дипироксимом.

2. После сочетанного действия острого отравления ФОС ДДФФ и травматического повреждения происходит снижение интегрального состояния антиинфекционной неспецифической резистентности организма, что проявляется повышением летальности от экспериментальной инфекции, снижением ЛД₅₀ *P. vulgaris* и ЛД₅₀ *E. Coli* при моделировании у крыс экспериментальной пневмонии и экспериментального перитонита соответственно, а также среднеэффективного времени жизни животных, увеличением содержания числа микробных тел *E. Coli* в циркулирующей крови и селезенке крыс после их введения по сравнению с контролем. После действия травмы, ДДФФ и сочетанного их эффекта через 6 сут отмечается снижение активность лизоцима, ТКБ сыворотки крови, фагоцитарно-метаболической

активности нейтрофилов с практически полным восстановлением показателя к 12 сут. Сочетанное действие факторов по сравнению с их изолированным влиянием оказывает более выраженный эффект.

3. Сочетанный эффект острого отравления ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) и травмы сопровождается уменьшением функции Т-лимфоцитов, оцениваемой по реакции торможения миграции лейкоцитов. При сочетании травматического воздействия и ДДВФ (0,8 ЛД₅₀) происходит суммация эффектов, снижающих реакцию ГЗТ, характеризующей как первичный, так и вторичный клеточный иммунный ответ, и увеличивающих активность Т-супрессоров, а также вызывающих редукцию антителозависимой клеточной цитотоксичности и ЕКК спленоцитов крыс. Действие ФОС более выражено, чем эффект травмы.

4. После действия ДДВФ, травмы и их сочетания происходит преимущественно снижение Т-зависимого антителообразования, более выраженное в продуктивной фазе антителогенеза, снижение числа РОК в селезенке крыс, нарушение функции Т- и В-лимфоцитов в эффекте кооперации клеток. Сочетанное действие факторов приводило к суммации их эффектов. В целом эффект травмы был менее выражен, чем действие ДДВФ, за исключением ее влияния на Т-независимую антителопродукцию.

5. Сочетанное действие острого отравления ДДВФ в дозе 0,8 ЛД₅₀ и тяжелой механической травмы существенно снижает лимфоидные индексы тимуса и селезенки через 2 сут после воздействия. Редукция показателей, вызванная ДДВФ, под влиянием травматического повреждения усиливается. После воздействия травмы через 2 сут уменьшается содержание лимфоцитов в костном мозге, лимфоузлах и циркулирующей крови, острое отравление ДДВФ вызывает противоположный эффект, а при сочетанном действии факторов происходит снижение показателей, как и при травме. Редукция миграции КОЕс из костного мозга в селезенку при сочетанном действии ДДВФ и травмы обусловлена преимущественно физическим фактором.

6. Снижение иммунных реакций при остром отравлении ДДВФ, травме и их сочетанном эффекте обусловлено значительным увеличением концентрации кортикостероидов в плазме крови. Редукция клеточных иммунных реакций и Т-зависимого гуморального иммунного ответа при сочетанном действии ДДВФ травмы, реализующаяся вследствие снижения активности ацетилхолинэстеразы Т- лимфоцитов тимуса и селезенки и числа спленоцитов, содержащих α -нафтил-AS-ацетатэстеразу и α -нафтилбутиратэстеразу, обусловлена эффектом ФОС.

7. Полное восстановление интегрального состояния неспецифической и иммунологической резистентности организма достигается применением дипироксима, клеточного звена иммунитета - комбинированным применением дипироксима и Т-активина, а гуморального - комбинированным применением дипироксима и Т-активина или дипироксима и миелопида.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В экспериментах на животных наиболее информативными показателями для оценки иммуносупрессивных эффектов сочетанного воздействия острого отравления ДДВФ и тяжелой механической травмы являются: содержание лимфоцитов в тимусе и селезенке, активность естественных клеток-киллеров, К-клеток, тимусзависимый гуморальный иммунный ответ в продуктивной фазе антителогенеза, функция Т-клеток в реакции гиперчувствительности замедленного типа.

2. После острого отравления ДДВФ в сублетальных дозах и тяжелой механической травмы формируется вторичное постинтоксикационное и посттравматическое иммунодефицитное состояние, обусловленное суммацией основных иммуносупрессивных эффектов факторов и требующее применения средств профилактики и лечения, так как может приводить к возникновению инфекционных осложнений и заболеваний.

4. После острого отравления ДДВФ в сочетании с тяжелой травмой для восстановления неспецифической резистентности организма, основных показателей гуморального и клеточного иммунного ответа у больных целесообразно применять дипироксим в дозах адекватных степени тяжести отравления в комбинации для восстановления показателей Т-звена иммунитета с Т-активином, а для восстановления параметров В-системы иммунитета – в комбинации с миелопидом (или Т-активином) по схемам, указанным в справочниках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов В.В., Ширинский В.С., Лозовой В.П., Козлов В.А. Влияние ацетилхолина на синтез Ig G и пролиферацию лимфоцитов в культуре мононуклеаров, выделенных от больных ревматоидным артритом, раком молочной железы и здоровых доноров // Иммунология. - 1986. - N 6. - с. 83 - 86.
2. Абрамовская Л. В. Морфофункциональная характеристика органов иммунной системы при экспериментальной ожоговой травме: Дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук. - Челябинск, 1985. - 255 с.
3. Адо А.Д. Некоторые вопросы нервной регуляции иммунных и аллергических реакций (об отношении холиновых и антигенсвязывающих рецепторов) // Эксперим. и клин. фармакология. - 1995. - N 3. - с. 43 - 45.
4. Адо А.Д., Гольдштейн М.М., Донцов В.И. Ацетилхолининдуцированная подвижность лимфоцитов интактных и sensibilized мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1983. - N 4, - с. 66 - 67.
5. Адо А.Д., Гольдштейн М.М., Донцов В.И. Влияние холино- и адреномиметических веществ на пролиферацию В-лимфоцитов мыши во время первичного иммунного ответа на белковый антиген // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1985. -Т. 100, N 5. - с. 587 - 588.
6. Адо А.Д., Донцов В.И. Индукция подвижности В-лимфоцитов мышей ацетилхолином и веществами, увеличивающими уровень цГМФ // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1984. - Т. 47, N 2. - с. 177 - 178.
7. Александров В. Н. Патология иммунной системы при травме. // Пат. физиол. и эксперим. терапия - 1982. - № 6. - с. 45 - 47.
8. Александров В. Н. Гуморальный иммунный ответ после травмы различной тяжести // Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 1983. - №4. - с. 70 - 72.

9. Алимova М. Т., Маджидов А. В., Арипова Т. У. Влияние пестицидов на антителиобразование и иммунорегуляторные показатели лимфоцитов у мышей // Иммунология. - 1991. - N 2. - с. 33 - 34.
10. Ананченко В.Г., Лужников Е.А., Алехин Ю.Д. и др. Влияние фосфорорганических пестицидов на систему иммунитета при острых пероральных отравлениях // Сов. мед. - 1987. - N 3. - с. 106 - 108.
11. Арипова Т. У., Маджидов А. В., Алибекова М. Г., Камалов З.С. Влияние пестицидов на продукцию интерлейкина-2 // Иммунология. - 1991. - N 2. - с. 67 - 68.
12. Арион В.Я. Иммунологически активные факторы тимуса // Медиаторы иммунной системы. - М.: ВИНТИ, 1981. - (Итоги науки и техники. Сер. Иммунология; Т. 9). - с. 232.
13. Арион В.Я., Иванушкин Е.Ф. Принципы иммунокорректирующей терапии препаратом тимуса Т-активином // Хирургия. - 1984. - №11. - с. 44 - 48.
14. Арион В.Я., Иванушкин Е.Ф. Принципы иммунокорректирующей терапии препаратом тимуса Т-активин: А. с. 1673122 СССР, МКИ⁵ А 61 К 35/26; Красноярский медицинский институт. - № 4452382/12; Заявл. 31.05.88; Оpubл. 30.09.91, Бюл. № 32.
15. Арион В.Я., Караулов Ю.В., Хроменков Ю.И. и др. Изменения некоторых иммунологических и биохимических параметров Т-активина у безмикробных животных // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1987. - Т. 104, N 9. - с. 332 - 334.
16. Аскалонов А. А., Гордиенко С. М., Авдюничева О. Е. и др. Активность клеток-супрессоров при травматическом переломе костей. // Иммунология. - 1985, N1. - с. 62 - 64.
17. Ашмарин И. П. Малые пептиды в норме и патологии // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1982. - N 4. - с. 13 - 27.

18. Бабаева А. Г. Регенерация и система иммуногенеза. М.: Медицина, 1985. –255 с.
19. Бадюгин И.С., Забродский П.Ф., Поляруш В.П. и др. Военная токсикология, радиология и защита от оружия массового поражения.- М.: Военное издательство, 1992. - с. 132 - 150.
20. Базарный В.В., Ястребов А.П. К механизму иммуотропного эффекта аспарагиновой кислоты // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1990. - Т. 110, N 11. - с. 468 - 471.
21. Базарный В.В., Ястребов А.П. Действие некоторых иммуномодуляторов на гемопоэз // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1993. - Т. 115, N 2. - с. 53 - 54.
22. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта: 2-е изд., - Л.: Медицина, 1963. - 235 с.
23. Беликов В.Г. Коррекция тимогеном нарушений физиологических механизмов регуляции иммуногенеза при остром отравлении токсичными химическими веществами // Дисс. ... канд. мед. наук. - Саратов, СГМУ. - 2001. - 149 с.
24. Белокрылов Г.А., Молчанов И.В. Левамин и церебролизин как иммуностимуляторы // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1991. - N 2. - с. 165 - 166.
25. Белокрылов Г.А., Попов Н.В., Молчанова О.А. и др. Неоднозначность действия пептидов и составляющих их аминокислот на антителообразование и фагоцитарную активность нейтрофилов у мышей // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1991. - N 1. - с. 53 - 55.
26. Белокрылов Г.А., Попова О.Я., Сорочинская Е.И. Сходство иммуно-, фагоцитозмодулирующих и антитоксических свойств дипептидов и составляющих их аминокислот // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1999. - Т. 127, № 6. - с. 674 - 676.

27. Белокрылов Г. А., Хавинсон В. Х., Морозов В. Г. Влияние веществ полипептидной природы, выделенных из тимуса и коры головного мозга, на первичный иммунный ответ у мышей к тимусзависимому и тимуснезависимому антигену // Журн. микробиол. и эпидемиол. - 1980. - №3. - с. 97 - 99.
28. Блинов Ю.А. Иммунологические аспекты восстановительных процессов костной ткани // Актуал. Вопр. Мед. науки. - Курск, 1997. - с. 89 - 91.
29. Богдашин И.В., Дыгай А.М., Шестобоев Е.Ю. Роль тимуса в регуляции синтеза цитокинов клетками костного мозга при стрессе // Иммунология. - 1991. - № 5. - с.30 - 32.
30. Бельцкий С. М., Снастина Г. И. Механизм защиты от гнойной инфекции // Иммунология. - 1985. - № 2. - с. 14 - 20.
31. Берток Л., Орбан И., Регеш Л. и др. Роль эндотоксинов в патомеханизме турникетного шока у крыс // Острая ишемия органов и ранние постишемические расстройства. М. - 1978. - с. 242.
32. Большаков И.Н. Хороших Л.В., Арион В.Я., Лопухин Ю.М. Влияние тактивина на антителообразующие клетки селезенки // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1991. - № 6. - с. 644 - 646.
33. Борисова А.М. Алексева А.Б., Сидоров М.З. др. Роль естественной цитотоксичности в иммунопатогенезе рецидивирующей герпетической инфекции и влияние иммуномодуляторов на клинкоиммунологический статус // Иммунология. - 1991. - № 6. - с. 60 - 62.
34. Брюхин Г. В., Михайлова Г. И. Антителообразующая способность клеток селезенки потомства крыс с хроническими поражениями печени // Физиол. журн., Киев. - 1989. - Т 35. - № 2. - с. 97 - 99.
35. Бухарин О. В., Васильев Н. В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине. - Томск, 1974. - 209 с.

36. Бухарин О. В., Васильев Н. В. Система β -лизина и его роль в клинической и экспериментальной медицине. - Томск, 1977. - 166 с.
37. Бухарин О. В., Сетко Н. П., Желудева Г. Н. Иммунологические сдвиги у экспериментальных животных при воздействии комплекса химических веществ // Гигиена труда. - 1985. - № 3. - с. 45 - 46.
38. Бухарин О. В., Сулейманов К. Г., Чернова О. Л., Иванов Ю. Б. Способность микроорганизмов к инаktivации бактерицидного действия тромбоцитарного катионного белка (β -лизина) // Бюл. exper. биол. и мед. - 1998. - № 7. - с. 66 - 67.
39. Вагнер Е. А., Кеворков Н. Н., Шмагель К. В. Некоторые механизмы активирующего влияния закрытой травмы груди на иммунный ответ // Бюл. exper. биологии и медицины. 1984. - № 12. - с. 706 - 708.
40. Вахидова Г.А., Мельстер Е.Ш., Васильева Ф.В. Иммуномодулирующая терапия при заболеваниях органов дыхания у больных с наличием в крови хлорорганических соединений (ХОС) // Тез. 1 Всесозного конгресса по болезням органов дыхания.- Киев, 9 - 12 окт., 1990. – Киев. 1990. - с. 750.
41. Виноградов В.М., Гембицкий Е.В., Мухин Е.А., Фролов С.Ф. Фармакология (общая, частная и основы клинической) // Под ред. В.М.Виноградова. - 2 изд., доп. и перераб. - Л.:Изд-во ВМА, 1986 - 515 с.
42. Виноградов В.М., Гембицкий Е.В., Мухин Е.А., Фролов С.Ф. Фармакология средств с преимущественным действием на обмен веществ и противомикробных препаратов. - Л.:Изд-во ВМА, 1986 - 404 с.
43. Галактионов В. Г. Графические модели в иммунологии. - М. : Медицина, 1986. - 240 с.
44. Галактионов С. Г., Цейтин В. М., Леонова В. И. и др. Пептиды группы средних молекул // Биоорганич. химия. 1984, № 1. - с. 5 - 17.

45. Галактионов С. Г., Михнева Л.М., Николайчик В.В. К вопросу о неспецифичности действий «средних молекул» на аппарат клеточного иммунитета // Химия и биолог. иммунорегуляторов. - Рига. - 1985. - с. 253 - 264.
46. Гембицкий Е.В., Кожемякин Л.А., Королюк А.М., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Оценка иммунного статуса организма в лечебных учреждениях Советской Армии и Военно-Морского Флота // Метод. пособ. - 1987. - М.: Изд-во ЦВМУ МО СССР. - с. 24 - 25.
47. Гвоздев М. П., Селезнев С. А., Ершова И. Н. Актуальные вопросы проблемы травматической болезни и травматического шока // Травматический шок. Л., 1978. - с. 5 - 7.
48. Генес В. С., Шмутер Л. М., Буркина-Вовк З. И. Об едином математическом подходе к выявлению хронического действия малых концентраций промышленных ядов // Гигиена труда. - 1981. - №1. - с. 30 - 31.
49. Германчук В.Г. Нарушения регуляции физиологических механизмов иммуногенеза при остром отравлении нитрилами // Дисс. ... канд. мед. наук. - Саратов, СВРХБЗ. - 2000. - 121 с.
50. Голиков С.Н. Профилактика и терапия отравлений фосфорорганическими инсектицидами. - М., 1968. - 168 с.
51. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия/ АМН СССР. - Л.: Медицина, 1986. - 280 с.
52. Голосова Т.В., Вавилова Л.М., Панченков П.В. и др. Система коплемента у больных с ожоговой травмой // Клинич. мед.- 1985. - Т. 63, № 2. - с. 118 - 122.
53. Голубев Г.Ш., Поляк А.И. Иммунологические сдвиги при травме // Вестн. хирургии. - 1985. - Vol. 135, № 8.- с. 79 - 84.
54. Гольдберг Д. И., Гольдберг Е. Д. Справочник по гематологии. - Томск, изд-во Томского ун-та. - 1980. - 266 с.

55. Гольдберг Е. Д., Штернберг И. Б., Михайлова Т. Н. Состояние лимфоидной ткани при введении рубомицина С // Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 1972. - № 2. - с. 676 - 686.
56. Гонтова И.А., Громыхина Н.Ю., Козлов В.А. Механизмы влияния ацетилхолина на интенсивность гуморального иммунного ответа // Иммунология. - 1989. - № 4. - с. 52 - 55.
57. Гордиенко С.М. Приемлемый для клинической практики метод оценки активности естественных антителозависимых киллерных клеток // Лаб. дело. - 1983. - № 9. - с. 45 - 48.
58. Гордиенко С. М. Нерадиометрические методы оценки естественной цитотоксичности на эритроцитарные клетки-мишени // Иммунология. - 1984. - № 1. - с. 31 - 36.
59. Гордиенко С.М., Авдюничева О.Е., Козлова В.А. Эффекторная и регуляторная активность моноклеарных фагоцитов и естественных киллерных клеток при травматическом переломе костей // Иммунология. - 1987. - № 2. - с. 78 - 81.
60. Горизонтов П. Д. Система крови как основа резистентности и адаптации организма // Физиол. журн. - Киев. - 1981. - Т 27. - № 3. - с. 317 - 321.
61. Горизонтов П. Д. Стресс. Система крови в механизме гомеостаза. Стрес и болезни. // В кн.: Гомеостаз. - М.: Медицина, 1981. - с. 538 - 573.
62. Горизонтов П. Д., Протасова Т. Н. Детоксикация как один из механизмов гомеостаза и резистентности // Гомеостаз. - М.: Медицина, 1981. - с. 234 - 258.
63. Григорьев М. Г., Матусис З. Е., Пылаева С. И. и др. Нарушения иммунологического статуса и возможности его коррекции при тяжелых ожогах // Гематология и трансфузиология. - 1984. - № 7. - с. 13 - 16.
64. Григорьев М. Г., Шатуновская Е.Г., Понномарева Н.А. и др. Организация специализированной помощи ожогами в различных странах мира

(обзор зарубежной литературы) // Мат-лы III Респ. науч.-практ. конф. по проблеме термических поражений. Л., 1977. - с. 40 - 54.

65. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. - Л.: Медицина, 1978. - 296 с.

66. Гуманенко Е.К. Сочетанные травмы с позиции объективной оценки тяжести травм. Автореф. дис. ... д-ра мед наук. - Л. Изд. ВмедА. - 1992. - 28 с.

67. Гуманенко Е.К., Бояринцев В.В., Супрун Т.Ю., Ляшедько П.П. Объективная оценка тяжести травм. - СПб: Изд. ВмедА. - 1999. - 110 с.

68. Гурин В.Н. Роль центральных холинергических структур в механизме стимуляции гипофизарно-адренкортикальной системы фармакологическими средствами // Фармакологическая регуляция жизнедеятельности организма через холинергические системы. - Л.: Лен. сан.-гиг. мед. ин-т. - 1970. - с. 174 - 175.

69. Гущин Н.В., Хайдарова Д.С., Кугушева Л.И. и др. Активность ацетилхолинэстеразы лимфоцитов крыс при интоксикации пестицидами // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1991. - Т. 111, № 2. - с. 144 - 146.

70. Дерябин И.И., Рожков А.С. Раневой процесс. Иммуитет и раневая инфекция // Клинико-иммунологические аспекты травматической болезни. - Л., 1984. - с 5 - 45.

71. Дерябин И.И., Насонкин О.С. Травматическая болезнь. - Л.: Медицина, 1987. - 304 с.

72. Денисенко П.П. Роль холинореактивных систем в регуляторных процессах.-М: Медицина. - 1980. - 296 с.

73. Дешевой Ю.Б. Горизонтов П.Д. Влияние препаратов, действующих преимущественно в области периферических М-холинореактивных систем на эозинофилы костного мозга // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1982. - Т. 94, № 5. - с. 61 - 63.

74. Дешевой Ю.Б. Реакция эозинофилов костного мозга у интактных и адреналэктомированных крыс на введение препаратов, действующих преимущественно в области периферических М-холинорецепторов // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1984. - № 10. - с. 512. (Реф. рукописи, деп. в ВИНТИ 23.05.1984 г., № 3344 - 84 Деп.).
75. Дешевой Ю. Б. Влияние ацетилхолина на миграцию зрелых эозинофилов из костного мозга в циркулирующую кровь // Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 1985. - №. 5. - с. 48 - 50.
76. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты : Пер. с англ. - М.: Мир, 1982. - Т 2. - 806 с.
77. Долгушин И. И. Иммунный ответ и пути его коррекции при экспериментальных травмах: Дис. ... д-ра мед. наук. Челябинск. 1980. - 417 с.
78. Долгушин И. И., Эберт Л. Я., Лифшиц Р. И. Иммунология травмы. Свердловск, Издательство Уральского государственного университета, 1989. - 187 с.
79. Долишний В.Н. Факторы, способствующие осложненному течению раневого процесса // Докл. Поволжского отделения АВН: Серия "Военное здравоохранение и военно-медицинское образование. - 1999. - № 2. - с. 39 - 45.
80. Дорошевич А.Л. Влияние фосфорорганических соединений на содержание некоторых биогенных аминов: Автореф. дис... канд. мед. наук. - Минск. - 1971. - 23 с.
81. Диноева С.К. Динамика изменений иммунной структуры лимфатических фолликулов селезенки при интоксикации пестицидами. // Гигиена и санитария. - 1974. - № 3. - с. 85 - 87.
82. Евсеев В. А., Магаева С. В. Стресс в механизмах развития вторичных иммунодефицитных состояний // Вестн. АМН СССР. - 1985. - № 8. - с. 18 - 23.
83. Ерюхин И.А. Шашков Б.В. Эндотоксикоз в хирургической практике. - СПб, 1995. - 304 с.

84. Жамсаранова С.Д., Лебедева С.Н., Ляшенко В.А. Оценка функциональной активности макрофагов при воздействии карбофоса и 2,4 Д // Сборник науч. трудов ВНИИ гигиены и пестицидов, полимеров и пластмасс. - 1988. - № 18. - с. 143 - 147.
85. Жамсаранова С.Д., Миронова Э.С., Сергеева З.Д. и др. Использование показателей иммунной системы организма животных при оценке пороговых доз пестицидов // Гигиена и санитария. - 1990. - № 2. - с. 75 - 76.
86. Жминько П.Г. Токсикодинамика и особенности токсического действия нового пестицида циклофоса // Проблемы охраны здоровья населения и защиты окружающей среды от химических вредных факторов: Тез. докл. I Всес. съезда токсикологов. - Ростов н/Д., 1986. - с. 296 - 297.
87. Ершов Ф.И. Иммуномодуляторы - новое поколение противовирусных средств // Эксперим. и клин. фармакол. - 1995. - Т. 58, № 2.2. - с. 74 - 78.
88. Забродский П. Ф. Иммуотропные свойства ацетилхолинэстеразных веществ // Проблемы охраны здоровья населения и защиты окружающей среды от химических вредных факторов. Тез. докл. I Всес. съезда токсикологов. - Ростов н/Д, 1986. - с. 342 - 343.
89. Забродский П. Ф. Влияние армина на факторы неспецифической резистентности организма и первичный гуморальный ответ // Фармакол. и токсикол. - 1987. - Т 49. - № 2. - с. 57 - 60.
90. Забродский П. Ф. Механизмы иммуотропных эффектов фосфорорганических соединений // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1993. - Т 116. - № 8. - с. 181 -183.
91. Забродский П. Ф. Изменение антиинфекционной неспецифической резистентности организма под влиянием холинергической стимуляции // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1995. - Т. 119. - № 8. - с. 164 - 167.

92. Забродский П.Ф. Влияние антидотных препаратов на иммунные реакции при острой интоксикации диметилдихлорвинилфосфатом // Эксперим. и клин. фармакология. - 1995. - № 2. - с. 49 - 51.
93. Забродский П. Ф. Фармакологическая коррекция нарушений системы иммунитета при острой интоксикации диметилдихлорвинилфосфатом // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1996. - Т. 121. - №4. - с. 441 - 443.
94. Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Трошкин Н.М. Иммуностимуляторы. - Саратов, «Аквариус». - 2001. - 109 с.
95. Забродский П. Ф., Киричук В. Ф., Грызунов А. В. Изменение неспецифической и иммунологической резистентности организма при остром отравлении дихлорэтаном // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1997. - Т. 123. - № 1. - с. 51 - 53.
96. Забродский П. Ф. Иммуотропные свойства ядов и лекарственных средств. - Саратов: Изд. СГМУ, 1998. - 213 с.
97. Забродский П. Ф., Германчук В.Г. Оценка роли кортикостерона в реализации иммуносупрессивных эффектов при остром отравлении токсичными химическими веществами // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2000. - Т. 129. - № 5. - с. 552 - 555.
98. Забродский П. Ф., Киричук В. Ф. Изменение показателей неспецифической резистентности организма, гуморальных и клеточных иммунных реакций после острого отравления ацетонитрилом // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1998. - Т 125. - № 5. - с. 548 - 550.
99. Забродский П. Ф. Влияние тимогена на постинтоксикационное иммунодефицитное состояние, вызванное острым отравлением ацетонитрилом // Эксперим. и клин. фармакол. - 1999. - Т 62. - № 3. - с. 48 - 49.
100. Забродский П. Ф., Киричук В.Ф., Германчук В.Г. Роль антихолинэстеразного механизма в супрессии антителообразования при острой

интоксикации фосфорорганическими соединениями // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2001. - Т 131. - № 5. - с. 551 - 553.

101. Забродский П.Ф., Мышкина А.К. Влияние холинергической стимуляции на формирование гиперчувствительности замедленного типа // Иммунология. -1989. - № 6. - с. 88.

102. Зимин Ю. И., Ляхов В. Ф. Эффект кооперации в реакции зависимой от антител клеточной цитотоксичности // Иммунология. - 1985. - № 1.- с. 27 - 30.

103. Золотникова Г.П. К вопросу о ранней диагностике и профилактике профпатологии пестицидной интоксикации у тепличниц // Гиг. труда и проф. заболеваний. - 1978. - № 12. - с. 14 - 18.

104. Золотникова Г.П. О нарушении иммунологической реактивности организма под воздействием пестицидов в условиях теплиц // Гиг. труда. - 1980. - № 3. - с. 38 - 40.

105. Зурочка А. В. Ранняя эндогенная бактериемия и ее влияние на иммунный ответ при экспериментальной ожоговой травме: Дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 1984. - 168 с.

106. Иванов В.В. Изменение численности и качественного состояния лимфоцитов при хроническом радиационно-химическом поражении крыс. // Гигиена и санитария. - 1986. - № 3. - с. 37 - 40.

107. Иванова С.С. Характер вовлечения эндокринной системы в стресс-ответ на отравления нейротропными средствами // Токсикол. вест. - 1998. - № 4. - с. 16 - 19.

108. Идова Г.В., Чейдо М.А. Предотвращение иммуносупрессии у стрессированных мышей изменением активности нейромадиаторных систем // Бюл. exper. биол. и мед. - 1996. - Т. 122, №7. - с.22 - 24.

109. Кабак А. М. Удаление надпочечников у крыс // Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований. М., 1954. - с. 154 - 155.

110. Кабан С. Т., Каем Р. И., Вуль С. М., Колхер И. И. Ожоговая рана и ее роль в развитии общего инфекционного процесса // Хирургия. 1976, №2. - с. 28 - 33.
111. Каулиньш У. Я. Лизоцим: (Обзор) сост. У. Я. Каулиньш. - Рига, 1982. - 51 с.
112. Каган Ф.С. Токсикология фосфорорганических пестицидов.-М.: Медицина, 1977. - 296 с.
113. Калинин А.Г., Борисова Л.С., Инжеваткина С.М. и др. Влияние веществ, увеличивающих внутриклеточное содержание цГМФ, на функциональную активность В-клеток у мышей // Иммунология. - 1988. - № 4. - с. 33 - 36.
114. Кащенко Л.А., Разибакиевич Р.М., Федорина Л.А. Т- и В-система иммунитета у больных интоксикацией пестицидами // Гиг. труда и проф. заболеваний. - 1981. - № 4. - с. 17 - 19.
115. Кирилина Е.А., Михайлова А.А., Малахов А.А. Гурьянов С.А., Ефремов М.А. Механизм иммунокорректирующего действия миелопида // Иммунология. -1998. - № 4.- с. 27 - 29.
116. Кирилличева Г.Б., Батурина И.Г., Митькин В.В. и др. Особенности влияния Т-активина на активность 5- нуклеотидазы макрофагов и уровень кортизола крови в зависимости от времени суток // Бюл. эксперим. биол. и мед. -1990. - Т. 110, № 11. - с. 468 - 471.
117. Кириллова Е.Н., Муксинова К.Н., Смиронов Д.Г., Сокольников М.Э. Эффективность миелопида в модификации иммунных нарушений, индуцированных длительным действием радиации // Иммунология. - 1991. - № 6. – с. 35 - 36.
118. Ковальская Н.И., Арион В.Я., Бреусов Ю.Н., Линдер Р.П. Влияние длительного введения Т-активина на структуру тимуса // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1984. - Т. 97, № 1. - с. 101 - 102.

119. Ковтун С.Д., Кокшарева Н.В. Электрофизиологический анализ действия ряда антихолинэстеразных веществ на функциональное состояние периферического нерва и нервно-мышечную передачу теплокровных животных // Физиол. журн. - 1980. - Т. 26, № 4. - с. 26 - 29.
120. Кожевников В.С., Набиулин Р.Р., Лозовой В.П. Причины возникновения и роль иммунодефицита при травме // Вест. АМН СССР. - 1991. - № 12. - с. 3 - 8.
121. Козлов В. А., Журавкин И. Н., Цырлова И. Г. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1982. - 322 с.
122. Козлов В.К., Лебедев М.Ф., Егорова В.Н. Новые возможности иммунотерапии с использованием ронколейкина – рекомбинантного ИЛ-2 человека // Терра медика. - 1992. №2. - с. 15 - 17.
123. Колкер И. И., Вуль С. М., Панова Ю. М. Сывороточные иммуноглобулины при термических поражениях // Хирургия. - 1977, № 6. - с. 56 - 60.
124. Колкер И. И., Каем Р. И., Вуль С. М. Инфекционно-иммунологические аспекты ожоговой болезни // Архив патологии. 1974, № 1. - с. 3 - 13.
125. Колкер И. И., Минкова Г. Л., Победина В. Г. и др. Изучение влияния препарата тимуса (тималина) на заживление ожоговых ран и иммунологическую реактивность организма // Хирургия. 1984, № 10. - с. 115 - 118.
126. Корнева Е. А., Клименко В. М., Шхинек Э. К. Нейрогуморальное обеспечение иммунного гомеостаза. - Л: Наука, 1978. - 178 с.
127. Корнева Е. А. Нервная система и иммунитет // Вестн. АМН СССР. - 1985. - № 11.- с. 76 - 85.
128. Корнева Е.А. Нарушение нейрогуморальной регуляции функций иммунной систем // Вест. АМН СССР. - 1990. - № 11. - с. 36 - 42.

129. Корнева Е. А., Лесникова М. П., Яковлева Е. Э. Молекулярно-биологические аспекты изучения взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем // Пробл. и перспективы соврем. иммунол.: Методол. анализ. - Изд. Новосибирск, 1988. - с. 87 - 100.
130. Кузин М. И., Заец Т. Л. Нарушения метаболических процессов в патогенезе ожоговой болезни и пути их коррекции // Хирургия. - 1981. - № 5. - с. 35 - 43.
131. Кузин М.И., Шимкевич Л.А. Патогенез раневого процесса // Раны и раневая инфекция. Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко.- М.: Медицина, 1981. - с. 114 - 152.
132. Кузник Б. И., Васильев Н. В., Цыбиков Н. Н. Иммуногенез, гомеостаз и неспецифическая резистентность организма. - М: Медицина, 1989. - 256 с.
133. Кулагин В. К. Патологическая физиология травмы и шока. М.: Медицина, 1978. - 160 с.
134. Кузьминская У.А. Иваницкий В.А. Шилина В.Ф. Патогенетическое значение изменений состояния биогенных аминов в патологии, связанной с воздействием химических факторов внешней среды // Эндокринная система организма и токсические факторы внешней среды. Л., 1980. - с. 210 - 219.
135. Лазарева Д. Н., Алехин Е. К. Стимуляторы иммунитета.- М.: Медицина, 1985. - 256 с.
136. Лакин Г. Ф. Биометрия.- М.: Высш. шк., 1980. - 293 с.
137. Ледванов М. Ю., Киричук В. Ф. Введение в клиническую иммунологию. -М: Медицина, 1996. - 141 с.
138. Лемус В. Б., Давыдов В. В. Нервные механизмы и кортикостероиды при ожогах. Л.: Медицина. Ленингр. отд-ние, 1974. - 182 с.
139. Ленинджер А. Биохимия: Молекулярные основы структуры и функции клетки. Пер. с англ. - М.: Мир, 1974. - 957 с.

140. Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления: Пер. с нем. - М.: Медицина, 1983. - 560 с.
141. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. М.: Медицина. 1982. - 368 с.
142. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления: Руководство для врачей. - М.: Медицина. 1989. - 432 с.
143. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления: Руководство для врачей. 2-е изд., перераб и доп. - М.: Медицина. 2000. - 434 с.
144. Любимова Н.Б., Леонова Г.Н. Гормоны тимуса в лечении и профилактике флавивирусной инфекции в условиях эксперимента // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. - 1995. - № 5. - с.105 - 108.
145. Маркова И.В., Афанасьева В.В., Цыбульский Э.К., Неженцев М.В. Клиническая токсикология детей и подростков. - Санкт-Петербург, Интермедика, 1998. - 304 с.
146. Масютин В.А. Гистоморфометрическое исследование реакции тимуса и селезенки на костную травму у крыс // Осложнения шоков травмы и травматической болезни. - СПб, 1994. - с. 28 - 33.
147. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Ч.2. - 12-е изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 1993. - 197 с.
148. Маянский А. Н., Маянский Д. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. - Новосибирск: Наука. 1983. - 254 с.
149. Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И. Пестициды и проблемы здравоохранения. – Журн. Всес. Хим. Об-ва им. Менделеева. - 1968. - № 3. - с. 263 - 271.
150. Михайлова А.А. Миелопиды и иммунореабилитация // Int. J. Immunorehabilitation. - 1997. - № 5. - с. 5.
151. Михайлова А.А., Захарова Л.А., Кирилина Е.А., Сарыбаева Д.В. Механизмы снижения иммунного ответа при стрессе и его коррекция

миелопидом // Стресс и иммунитет: Тез. Докл. Всес. конф. «Стресс и иммунитет (психонейроиммунология). - Ростов н/Д, 1989. - с. 31 - 32.

152. Могош Г. Острые отравления // Пер. с рум. - Бухарест, Медицинское издательство, 1984. - с. 440 - 464.

153. Молотков А.О. Нарушения физиологических механизмов регуляции системы иммунитета при остром отравлении фосфорорганическим соединением карбофосом // Дисс. ... канд. мед. наук. - Саратов, СГМУ. - 2001. - 158 с.

154. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Характеристика и изучение механизма действия фактора тимуса (тимарина) // Докл. АН СССР. - 1978. - Т. 240, № 4. - с. 339 - 346.

155. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем - цитомедины // Успехи совр. биологии. - 1983. - Т. 96, № 3. - с. 1004 - 1007.

156. Москалева Е.Ю., Федоров Н.А., Кизенко О.А., Караулов А.В. Повреждения ДНК лимфоцитов и иммунодефицитные состояния // Вестн. РАМН. - 1993. - № 4. - с. 12 - 17.

157. Муразян Р. И., Пангенов Н. Р., Голосова Т. В., Аникина Т. П. Значение иммунотерапии в комплексном лечении ожоговой болезни // Гематология и переливание крови. 1984, № 7. - с. 3 - 8.

158. Мухамбетов Д.Д. Использование иммуномодуляторов в постреанимационном периоде // Деп. В ВИНТИ 24.01.90, № 490 - 880. - Целиноград. гос. мед. ун-т., Целиноград, 1990. - 12 с.

159. Мухамбетов Д.Д., Шайдаров М.З., Абрахманова Х.М. Коррекция иммуномодуляторами постреанимационной иммуносупрессии // Терминальные состояния и постреанимационная патология в эксперименте и клинике. - Алма-Ата. - 1990. - с. 38 - 39.

160. Николаев А.И. Пономарева Л.А. Гиллер И.С. и др. Иммунодепрессивное действие некоторых ядохимикатов // Фармакол. и токсикол. - 1972. - Т. 35, № 3. - с. 352 - 355.
161. Пашутин С. Б., Борисова Т. Г., Белоцкий С. М. Циркулирующие иммунные комплексы и гетерофильные гемолизины при ожоговой болезни // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1984. - Т. 97, № 3. - с. 324 - 326.
162. Переверзев А. Е. Кроветворные колониеобразующие клетки и физические стресс-факторы. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1986. - 172 с.
163. Перельгин В.М. Шнирт М.Б., Арипов О.А. Действие некоторых пестицидов на иммунологическую реактивность // Гигиена и санитария. - 1971. - № 12. - с. 29 - 33.
164. Петров Р.В. Синтетические иммуномодуляторы . - М., 1991. - 199 с.
165. Петров Р.В., Кузнецова С.Ф., Ярилин Ф.Ф. Влияние миелопида на костномозговые предшественники Т-лимфоцитов // Докл. АН СССР. - Т. 305, № 3. - с. 764 - 707.
166. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Миграция стволовых клеток из экранированного костного мозга у неравномерно облученных мышей // Радиология. - 1972. - № 1. - с. 69 - 76.
167. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А. Контроль и регуляция иммунного ответа. - М.: Медицина, 1981. - 312 с.
168. Петров Р. В., Хаитов Р. М. Иммунологические механизмы клеточного гомеостаза // В кн. Гомеостаз. - М.: Медицина, 1981. - с. 312 - 365.
169. Петров Р. В. Иммунология. - М.; Медицина 1987. - 416 с.
170. Пирцхалава А.В. Гетерогенная реакция острого отравления организма хлорофосом // Сообщ. АК ГССР. - 1989. - Т. 133, № 2. - с. 421 - 424.
171. Плещитый К.Д., Сухих Г.Г. Витамин А стимулирует иммунный ответ к тимусзависимым антигенам и повышает активность естественных киллеров // Докл. АН СССР. - 1984. - Т. 278, № 4. - с. 1017 - 1019.

172. Плещитый К.Д., Сухих Г.Т. Экспериментальный анализ иммуностимулирующих свойств витамина А. // Бюл. экспер. биол. и медицины. - 1985. - Т 100. - № 11. - с. 600 - 602.
173. Подосинников И.С., Гурина О.П., Бабаченко И.В. Влияние миелопида на функциональную активность лейкоцитов периферической крови // Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 1991. - №4. - с. 9 - 12.
174. Присяжнюк Т.Н., Петровская О.Г., Кузьменко Н.М. Особенности воздействия хлорофоса на организм теплокровных // Гигиена и санитария. - 1986. - № 6. - с. 65 - 67.
175. Ремезов А. И., Башмаков Г. А. Методы определения естественной (неспецифической) резистентности организма. - Л., 1976. - 65 с.
176. Резников К.М., Винокурова О.В. Антиаритмические свойства тимогена // Эксперим. и клин. фармакология. - 1994. - Т.57, № 6. - с. 31 - 33.
177. Руднева Т.Б. Осипова Е.Ю., Михайлова А.А., Манько В.М. Коррекция миелопидами дифференцировки кроветворных клеток предшественников у мышей с экспериментальным Т-иммунодефицитом // Бюл. экспер. биол. и мед. - 1989. - Т. 107, № 6. - с. 718 - 720.
178. Ройт А. Основы иммунологии: Пер. с англ. М.: Мир, 1991. - 327 с.
179. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ. - М.: Мир, 2000. - 582 с.
180. Ротенберг Ю.С. Токсиколого-гигиенические аспекты биоэнергетики // Всесоюзн. учред. конф. по токсикологии. Тез. докл. - М., 1980. - с. 108.
181. Рыболовлев Ю.Р. Прогнозирование действия ксенобиотиков на человека // Фармакол. и токсикол. - 1982. - № 1. - с. 110 - 114.
182. Саватеев Н.В. Военная токсикология, радиология и медицинская защита. - Л.: ВмедА, 1978. - 333 с.

183. Самохвалов И.М. Особенности течения травматической болезни при изолированных, множественных и сочетанных повреждениях конечностей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Л.: Изд. ВмедА, 1984. - 20 с.
184. Сепетлиев Д. Н. Статистические методы в научных медицинских исследованиях. - М.: Медицина, 1975. - 296 с.
185. Стасий Е.Д., Балаболин И.И., Ботвиньева, Степаненко Р.Н. Иммуномодулирующая терапия при пищевой инфекции у детей // Иммунология. - 1990. - № 5. - с. 45 - 48.
186. Степаненко Р.Н., Рязанов Н.К., Молдокулов О.А., Власенко Р.Я. Миелопид; иммунокоррегирующая активность при переломах лицевых костей и травматическом остеомиелите // Иммунология. - 1991. - № 1. - с.44 - 47.
187. Стеценко О.Н., Линдер Д.П., Поберий И.А. и др. Влияние Т-активина на периферические органы иммунитета животных и тимэктомированных мышей // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1984. - Т. 97, № 3. - с. 321 - 323.
188. Страйер Л. Биохимия : Пер. с нем. - М.: Мир, 1985. - Т 2. - с. 71 - 82.
189. Стручков В. И., Прозоровская К. Н., Недвецкая Л. М. Иммунология в профилактике и лечении гнойных хирургических заболеваний. М.: Медицина, 1978. - 269 с.
190. Сухих Г.Т., Малайцев В.В. Богданова И.М. Интерлейкин-2 и его возможная роль в патогенезе стрессорных изменений иммунной системы // Докл. АМ СССР, 1984. - Т. 278, № 3. - с. 762 - 765.
191. Таранов В.А., Короткова М.Н. Действие Т-активина на макрофаги *in vitro* // Интерлейкины и другие медиаторы в клинической иммунологии. - М., 1989. - с. 56 - 60.
192. Тиунов Л. А. Вопросы общей промышленной токсикологии // В кн. Тиунов Л. А. Ферменты и яды. - Л.: Ак. наук СССР, 1961. - с. 168 - 185.

193. Тихонов В. Н. К оценке изменений массы внутренних органов животных в токсикологических исследованиях // Гигиена и санит. - 1981. - № 7. - с. 58 - 59.
194. Турсунов Б.С., Махмудов К.Д., Туйчиев Д.А. Целесообразность применения миелопида (В-активина) в комплексном лечении ожоговой болезни // Иммунология. - 1992. - № 6.- с. 42 - 43.
195. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. - М.: Медицина, 1975. - 295 с.
196. Утешев Б. С. О некоторых методологических вопросах скрининга иммуностропных средств // Фармак. и токсикол. - 1984. - № 3. - с. 5 - 13.
197. Утешев Б.С., Сергеев А.С., Коростелев С.А. Анализ современных направлений в создании иммуностропных средств // Эксперим. и клин. фармакол. -1995. - Т. 58, № 3. - с. 3 - 7.
198. Федоров С.М., Мазина Н.М., Бухова В.П., Куршакова Т.С. Иммунологические показатели у больных профессиональными дерматозами, вызванными фосфорорганическими пестицидами // Вестн. дерматол. и венерол. - 1988. - № 8. - с. 46 - 48.
199. Феерман И.С., Бонгард Э.М., Лащенко Н.С. К вопросу о хронической интоксикации хлорофосом // Гиг. труда. - 1964. - № 11. - с. 36 - 38.
200. Фрейдлин И. С. Система мононуклеарных фагоцитов. - М.: Медицина, 1984. - 271 с.
201. Фридман Г.И. Влияние севина, хлорофоса и ДДТ на некоторые специфические иммунологические показатели иммунобиологической и общей реактивности организма (к проблеме токсических воздействий малой интенсивности) // Вопросы гигиены и токсикологии пестицидов. М.: Медицина, 1970. - с. 139 -145.
202. Фримель Х., Брок Й. Основы иммунологии: Пер. с нем. - 5-е изд. - М.: Мир, 1986. - 254 с.

203. Фролов Б. А., Афонина С. Н., Меерсон Ф. З. Роль соотношения цАМФ/гЦМФ в постстрессорной активации первичного иммунного ответа // Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 1985. - № 5. - с. 23 - 26.
204. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Иммуномодулирующее действие фактора тимуса в патологии // Иммунология. - 1981. - № 5. - с. 28 - 31.
205. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Экспериментальное клиническое изучение нового иммуномодулирующего препарата - тималина // Воен.-мед. журн. -1982. - № 5. - с. 37 - 39.
206. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Серый С.В. Иммунокорректирующая терапия тимогеном при заболеваниях и травмах // Взаимодействие нервной и иммунной систем. Тез. Докладов всесоюзного симпозиума (Оренбург, 28-30 августа 1990 г. - Л. - Ростов-на-Дону. - 1990, - 163 с.
207. Хаитов Р. М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. - М.: Медицина, 2000. - 430 с.
208. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология.- М.: Изд-во ВНИРО, 1995. - 219 с.
209. Хаитов Р.М., Рябова Л.В. Зависимость дифференцировки стволовых кроветворных клеток от функционального состояния тимуса // Онтогенез. - 1978. - № 4. - с. 496 - 410.
210. Ханафиева И.В., Добржанская Р.С., Хусейнова Х.Х. Воздействие Т-активина и тималина на лейшманийную инфекцию в эксперименте // Докл. 5 Всес. Съезда протозоологов, Витебск, сент., 1992 // Цитология. - 1992. - Т. 34, № 4. - 158 с.
211. Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. - М.: Медицина, 1983. - 319 с.
212. Ховиева Л.А., Штенберг А.И. Иммунологическое состояние организма при воздействии малых доз хлорофоса и метилнитрофоса // Гиг. и санитария. -1976. - № 1. - с. 98 - 100.

213. Хусинов А.А., Хайдарова Д.С., Гушин Г.В., Лесникова М.П. Нейроэндокринная система и специфические факторы иммунитета при отравлении пестицидами // Бюл. эксперим. биологии и мед. - 1991. - Т. 111, № 12. - с. 623 - 624.
214. Чертков И.Л., Дерюга Е.И., Дризе Н.И. Примитивная стволовая кроветворная клетка // Вест. АМН СССР. - 1990. - № 9. - с. 35 - 37.
215. Чеснокова И.Г. Диагностика, прогнозирование и лечение иммуногемостазиологических нарушений при травматической болезни: Автореф. дис. ...д -ра мед. наук. - Рос. Гос. мед. ун-т; Самарский гос. мед ун-т. - М., 2000. - 49 с.
216. Чугунихина Н.В., Хасанова М.И. Влияние пестицидов на неспецифическую сопротивляемость организма инфекции. // Гиг. и санитария. - 1994. - № 1. - с. 19 - 21.
217. Шафеев М.Ш. Влияние хлорофоса на некоторые показатели иммунологической реактивности организма // Изучение экстремальных состояний. -Казань, 1976. - с. 60 - 63.
218. Шафеев М. Ш. Влияние некоторых пестицидов и их комбинаций на показатели иммунитета и неспецифической реактивности организма: Автореф. дис. канд. мед. наук. - Казань, 1978. - 26 с.
219. Ширинский В.С., Жук Е.А. Проблемы иммуностимулирующей терапии // Иммунология. - 1991. - № 3. - с. 7 - 10.
220. Ширинский В.С., Жук Е.А. Проблемы фармакодинамики и фармакокинетики иммуностимулирующих препаратов // Иммунология. - 1994. - № 6. - с. 27 - 29.
221. Ширшев С.В. Зависимость внутриклеточного уровня цАМФ интактных спленоцитов от популяционного состава клеточной суспензии и активности циклооксигеназы // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1998. - № 6. - с. 666 - 669.

222. Шмидт Р., Тевс Г. Физиология человека: Пер. с англ. - М.: Мир, 1996. - 641 с.
223. Шляхов Э. Н., Гылка В.В. Т-активин - иммуномодулирующий препарат тимуса // Здоровоохранение (Кишинев). - 1989. - с. 20 - 23.
224. Штенберг А.И., Джунусова Р.М. Угнетение иммунологической реактивности организма животных под влиянием некоторых ФО пестицидов // Бюл. эксперим. биол. - 1968. - № 3. - с. 86 - 88.
225. Юрина Н. А., Тамахина А. Д. Действие кортикостероидов на аргофильные премедуллярные клетки тимуса // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1996. - № 10. - с. 461 - 464.
226. Ягмуров О. Д., Огурцов О. П. Функциональная активность лимфоцитов селезенки и периферической крови при стрессорной иммунодепрессии // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1996. - Т 122, № 7. - с. 64 - 68.
227. Яковлев Г.М., Новиков В.С., Хавинсон В.Х. Резистентность, стресс, регуляция. Л., Наука, 1990. - 237 с.
228. Яковлев Г.М., Хавинсон В.Х. Коррекция тимогеном стресс-индуцированных дисфункций иммунной системы // Стресс и иммунитет: Тез. Докл. Всес. Конф. «Стресс и иммунитет (психонейроиммунол.)», Ростов на Дону, 31 авг.- 1 сент., 1989. - Л., 1989. - с. 358 – 361.
229. Яновский О.Г., Захарова Л.А. Влияние миелопида на антителообразование в индуктивную фазу иммуногенеза // Иммунология. - 1990. - № 1. - с. 70.
230. Ayala A., Chaudry I.H. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid modulation of immune cell function before or after trauma // Nutrition.- 1995.- Vol.11, N 1.-P.1-11.
231. Audre F., Gillon., Lafout S., Yourdan G. Pesticide-containing diets augments in anti-sheep red blood cell non reaginic antibody responses in mice but

viay prolong murine infection with *Giardia muris* // *Environ. Res.*-1983.-Vol. 32, N 1.-P. 145-150.

232. Bjornson A., Bjornson S. Serum-mediated inhibition of polymorphonuclear leucocyte function following burn injury // *Ann. Surg.* 1981. Vol. 194, № 5. P. 568-575.

233. Becker E.Z. Concerning the mechanism of complement activity by diisopropylfluorophosphate. // *J. Immunol.*-1956.-Vol. 77, N 6.-P. 462-468.

234. Becker E.Z., Austen K.F. A comparison the specificity of inhibition by phosphonate esters of the first component of complement and the antigen-induced release of histamine from guinea pig lung. // *J. Exp. Med.*-1964.-Vol. 120, N 4.-P. 491-506.

235. Becker E.Z., Austen K.F. Mechanisms of immunologic injury of rat peritoneal mast cells. I. The effect of phosphonate inhibitors on the homocytotropic component of rat complement. // *J. exp. med.*-1966.-Vol. 124, N 3.-P. 379-395.

236. Becker E.Z., Phosphonate inhibition of the accumulation and retention of K⁺ by rabbit neutrophils in relation to chemotaxis // *J. Immunol.*-1971.-Vol. 106, N 3.-P. 689-697.

237. Becker E.L., Unanue E.R. The requirement for esterase activation in the anti-immunoglobulin-triggered movement of B lymphocytes // *J. Immunol.*-1976.-Vol. 117, N 1.-P. 27-32.

238. Becker E.L., Ward P.A. Partia 1. Biochemical characterization of the activated esterase required in the complement-dependent chemotaxis of rabbit polymorphonuclear leucocytes // *J. Exp. Med.*-1967.-Vol. 125, N 6.-P. 1021-1030.

239. Casale G.P., Cohen S.D., DiCapva. R.A. The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody response to sheep erythrocytes in inbred mice // *Toxicol. and Appl. Pharmacol.*-1983.-Vol. 68, N 2.-P. 198-205.

240. Casale G.P., Cohen S.D., DiCapva R.A. Parathion of humoral immunity in inbred mice // *Toxicol. Lett.*-1984.-Vol. 23, N 2.-P. 239-247.

241. Cerra F. Hypermetabolism, organ failure and metabolic support // Surgery.- 1987.-Vol.101, N 1. – P. 1-14.
242. Claman H. N. Corticosteroids and lymphoid cells // New Engl. J. Med.- 1972.- Vol.287.-No 8.- P. 388-397.
243. Claman H.N. Corticosteroids as immunomodulators //Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P. 288-292.
244. Dawson S. W., Ledgerwood A. M., Rosenberg J. C., Lucas C. E. Anger and altered lymphocyte function in the injured patients // Amer. Surg. -1982. -Vol. 48, № 8. -P 397-401.
245. Descotes J. Immunotoxicology of drugs and chemicals. – Amsterdam- -N. Y.- Oxford: Elsvier, 1986.- 400 p.
246. Descotes J., Mazue G. Immunotoxicology /Adv. Vet. Sci. and Comp. Med. Vol. 31.-Orlando e. a., 1987.-P. 95-119.
247. Desi I., Palotas M., Vetro G. et al. Biological monitoring and health surveillance of a group of greenhouse pesticide sprayers //Toxicol.Lett.-1986.-Vol. 33, N 153.-P. 91-105.
248. Desi I., Varga L., Farkas I. The effect of DDVP, on organophosphorus pesticide on the humoral and cell-mediated immunity of rabbits /Further studies in the assessment of toxic action //Arch. Toxicol.-1980.-Suppl. 4.-P. 171-174.
249. Desi I., Varga L. Immunotoxicologische Untersuchungen der Pestizide von hygienischen Standpunkt //Zbl. Pharm. Pharmakotherap. und Laboratoriumsdiagn.- 1983.-Vol. 122, N 2 (22 Jahrestag Yes. Pharmakol. und Toxicol. DDR, Neubrandenburg, 2-4, Sept., 1982), P. 154-155.
250. Dhabhar F. S., Millerr A. H., Mc Even B. S., Spenser R. L. Stress –induced in blood leukocyte distribution: A role of adrenal steroid hormones // J. Immunol.- 1996. – Vol.157.- No 4.- P. 1638-1644.

251. Devens B.H., Grayson H.M, Imammura T., Rodgers K.E. O,O,S-trimethyl phosphorothionate effects on immunocompetence //Pestic. Biochem. and Phisiol.-1985.-Vol. 24, N 2.- P. 251-259.
252. Dulis B.H., Gordon M.A., Wilson J.B. Identification of muscarinic binding sites in human neutrophils by direct binding //Molec. Pharmacol.-1979.-Vol. 15, N 1.-P. 28-34.
253. Ellman G.M., Countney K.D., Anders V. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // Biochem. Pharm. -1961.- Vol. 7, N 1. – P. 88.
254. Fergula J., Ashercon G. L., Becker E. L. The effect of organophosphorus inhibitors, p-nitrophenol and cytocholasin-B on cytotoxic killing of tumor cells and the effect of shaking //Immunol. - 1972.- Vol. 23.- No 4. - P. 577 - 590.
255. Ficek W. Changes in biological processes in lymphatic cells and tissues after loading with by glycocorticoids //Bioche. Arch.- 1997.- Vol. 13.- No 1. - P. 1 – 6.
256. Fry D.E. Maltiple organ failure // Surg. Clin. Noth. Amer.-1988.- P. 107-122.
257. Georgiev V.St., Albright J.E. Cytokines // Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P.284-602.
258. Garoroy M.R., Strom T.B., Kaliner M., Carpenter C.B. Antibody-dependent lymphocyte mediated cytotoxicity mechanism and modulation by cyclic nucleotides //Cell. Immunol.-1975.-Vol. 20, N 2.-P. 197-204.
259. Gelfand J. A. How do complements components and fragments, affect cellular im-munological functions? // J. Trauma. -1984. -Vol. 24, № 9. P. 118-122.
260. Gilbert R.V., Hoffmann M.K. cAMF is essential signal in the induction of antibody production by B cells but inhibits helper function of T cells// J. Immunol.-1985.-Vol.135, №3.-P.2084-2089.

261. Gordon M.A., Cohen J.J., Wilson I.B. Muscarinic cholinergic receptors in murine lymphocytes: demonstration by direct binding lymphocytes //Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1975.-Vol. 76, N 6.-P. 2902-2904.
262. Grabczewska E., Lascowska-Bozek H., Maslinski M., Ryzewski J. Receptory muskarinowe na limfocytach ludzkich stymulowanych fitohemaglutynina //Reumatologia.-1990.-T. XXVIII, N 4.-P. 171-179.
263. Hassig A., Wen-Xi L., Stampfli K. Stressinduzierte suppression der zellularen Immunreaktionen // Raum. Und Zeit.-1996.- Bd. 15, N 83. – C. 57-61.
264. Heideman M., Bentgson A. Immunological interference of high dose corticosteroids //Acta chir. scand.-1985.-Vol.151, N 526.-P. 48-55.
265. Henson P.M., Oades Z.G. Activation of platelets by platelet-activating factor (PAF) derived from IgE-sensitized basophils. II. The role of serine proteases, cyclic nucleotides, and contractile elements in PAF-induced secretion //J. Exp. Med.-1976.-Vol. 143, N 4.-P.953-968.
266. Hermanowicz A., Kossman S. Neutrophil function and infectious disease in workers occupationally exposed to phosphoorganic pesticides: role of mononuclear-derived chemotactic factor for neutrophils //Clin. Immunol. and Immunopathol.-1984.-Vol. 33, N 1.-P. 13-22.
267. Husband A. I. The immune system and integrated homeostasis //Immunol. and Cell Biol.- 1995.- Vol. 73.- No 4. - P. 377-382.
268. Jerne N. K., Nordin A. A. Plaque formation in agar by single antibody producing cells //Science.- 1963.- Vol. 140.- No 4. - P. 405.
269. Kalow M.P., Marton H.J., 1961; цит. по [Голиков С.Н. Профилактика и терапия отравлений фосфорорганическими инсектицидами. –М., 1968. – 168 с.].
270. Khaitov R.M. Vaccines based on synthetic polyions and peptides // Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P. 788-802.

271. Kimball E.S. Experimental modulation of IL-1 production and cell surface molecule expression by levamisole //Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P.259-268.
272. Kimber I. Chemical – Induced Hypersensitivity //In.: Exper. Immun.- Boca Raton, New York, London, Tokyo.- 1996.- P. 391-417.
273. Kimber I., Moore M. Mechanism and regulation of natural cytotoxicity. Minireview on cancer research //Exp. Cell. Biol.- 1995.- Vol. 53.- No 2. - P. 69-84.
274. Koller L.D., Exon J.H., Roan J.G. Immunological surveillance and toxicity in mice exposed to the organophosphate pesticide diazinon //Envir. Res.-1976.-Vol. 12, N 12.- P. 238.
275. Kossman S., Konieczny B., Panek E. Immunoelktroforogram oraz stężenie immunoglobulin G, A, M, W surowicy krwi procowników zatrutych przy produkcji pestycydów fosforoorganicznych //Med. pr. -1985.-Vol. 36, N 1.-P. 27-30.
276. Kullenkampff J., Janossy G., Greaves M.F. Acid esterase in human lymphoid cells and leukaemic blasts: a marker for T-lymphocytes //Brit. J. Haemat.- 1977.-Vol. 36, N 2.-P. 231-240.
277. Kutty K. M., Chandra R. K., Chandra S. Acetylcholinesterase in erythrocytes and lymphocytes: its contribution to cell membrane structure and function //Experientia. - 1976.- Vol. 32.- No 3. - P. 289.
278. Kurz R., Pfeifer K. P. Veränderungen der zellularen und humoralen Immunität in der postoperativen Phase // Z. Kinderchir. und Grenzgeb. -1980. -Bd 30, № 1. -S. 37-40.
279. Lee T.P., Moscati R., Park B.H. Effects of pesticides on human leukocyte functions //Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.-1979.-Vol. 23, N 1.-P. 597-601.
280. Li C. G., Lam R. W., Gam L. T. Esterases in human leucocytes //J. Histochem. Cytochem.- 1973.- Vol. 21.- No 1. - P. 1-12.

281. Luster M. J., Blank J. A., Dean J. H. Molecular and cellular basis of chemically induced immunotoxicity // *Annu. Rev. Pharmacol. and Toxicol.*-Vol. 27.- Palo Alto, Calif.-1987.-P. 23-49.
282. MacManus J.P., Bounton A.L., Whitefield J.F. et al. Acetylcholine-induced initiation of thymic lymphoblast DNA synthesis and proliferation // *J. Cell. Physiol.*-1975.- Vol. 85, N 2.-P. 321-330.
283. Madden K. S., Livnat S. Catecholamine action and immunologic reactivity // In: *Psychoneuroimmunology, Second Edition.*- academic Press, Inc.-1991.- 283-310.
284. Maslinski W. Cholinergic receptors of lymphocytes // *Brain. Behav. And Immunol.* -1989.- Vol.3, N 1.- P. 1-14.
285. Maslinski W., Krystyniak K., Grabczewska E. et al. Muscarinic acetylcholine receptors of rat lymphocytes // *Biochim. biophys. Acta.*-1983.-Vol. 758, N 1.-P. 93-97.
286. Maslinski W., Grabczewska E., Laskowska –Bozek H., Ruzewski H. Expression of muscarinic cholinergic receptors during T cell maturation in the thymus // *Eur. J. Immunol.* -1987.-Vol. 17, N 7.-P. 1059-1053.
287. Masini E., Fantozzi R., Conti A. et al. Mast cell heterogeneity in response to cholinergic stimulation // *Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol.*-1985.-Vol. 77, N 1-2.-P. 184-185.
288. Marshak-Rothstein A., Fink P., Gridley T. et al. Properties and application of monoclonal antibodies directed against determinants of the Thy-1 locus // *J. Immunol.* -1979.-Vol.122.-P. 2491-2497.
289. Masuda N. , Tahatsu M., Mjnnau Y/ Ozawa T. Sarin poisoning in Tohyo subway // *Lancet.*- 1995/- N8962.- P. 1446-1447.
290. Mc Even Bruce S., Biron C. A., Brunson K. W., Bulloch K., Chambers W. H., Dhabhar F. S., Goldfarb R. N., Kitson R. P., Miller A. H., Spenser R. L., Wess J. M. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and

disease: neural, endocrine and immune interactions //Brain. Res. Rev.- 1997.- Vol. 23.- No 1 - 2. - P. 179-133.

291. Mc Grath J., Wong S. Immunotoxicology of inhalants and methods of evaluation /Inhal. Toxicol.: Res. Meth., Appl., and Eval.-New-York, Basel, 1987.-P. 255-291.

292. Mikhailova A.A. Fonina L.A. Myelopeptides – immunoregulatory cytokines produced by the bone marrow cells // Eur. J. Immunol. Soc.10th Meet., Edinburg, 10-12 Sept., 1990: Abstr.- Edinburg, 1990.- P.125.

293. Mikhova T., Yanel E., Tzvetanov Y., Balutzov M. The effect of immobilization stress on some hydrolytic enzymes of alveolar macrophages in rats // Acta med. bulg.- 1991.-Vol.18.- C. 99-105.

294. Minich E., Fefer A. Biological response modifiers: subcommittee report //Nat. Cancer Inst. Monograph. – 1983.-Vol. 63. – P. 1-252.

295. Moor P., de, Osinski P., Deckx R. Steeno O. The specificity of fluorometric corticoid determination // Clin. Chim. acta.-1962.-Vol.7, N4.-P.475-480.

296. Moor P., de, Steeno O. Raskin M., Hendrikx A. Elnorometric determination of free plasma 11-hydroxy corticosteroids in man // Acta endocrinol.-1976.-Vol.33, N2.-P.297-307.

297. Morita H., Yanagisawa N., Nakajima T. Zarin poisoning in Matsumoto, Japan // Lancet.- 1995.- P. 290-293.

298. Munster A. M. Surgical immunology.- New York: Grune Stratton, 1976. - 327 p.

299. Munson A.E., Sanders V.M., Douglas K.A. et al. In vivo assessment of immunotoxicity //Environ. Health Perspect.-1982.-Vol. 43, N 1.-P. 41-5291.

300. Newcombe D.S. Immune surveillance, organophosphorus exposure, and lymphomagenesis //Lancet.-1991.-N 8792.-P. 539-541.

301. O'Mahony J. B., Palder S. B., Wood J. et al. Depression of cellular immunity after multiple trauma in the absence of sepsis // J. Trauma. -1984. -Vol. 24, № 10. -P. 869-875.
302. Padgett E.L., Barnes D.B., Pruett S.B. Desparate effects of representative dithiocarbamates on selected immunological parameters in vivo and cell survival in vitro in female B6C3F1 mice //J. Toxicol. and Environ. Health.-1992.-Vol. 37, N 4.- P. 559-571.
303. Pestka J. J., Witt M. P. An overview of immune function //Technol.- 1985. - Vol. 39. - No 2. - P. 83-90.
304. Petersen B.K. Beyer J.M. Charakterization of the in vitro effects of glucocorticosteroids on NK cell activity // Allergy.-1986.- Vol.41, N 3. -P. 220-224.
305. Pfeifer C., Murrey J., Madri J., Bottomly K. Selective activation of Th1- and Th2-like cells in vivo: Response to human collagen IV // Immunol. Rev. -1991.- Vol. 123, No 2. - P. 65-84.
306. Renk C. M., Long C. L., Blakemore W. S. Comparison between in vitro lymphocyte activity and metabolic changes in trauma patients // J. Trauma. -1982. - Vol. 22, №2. -P. 134-140.
307. Rey A., Besedovsky H., Sorkin E. Endogenous blood levels of corticosterone control the immunologic cell mass and B cell activity in mice //J. Immunol. - 1984. - Vol. 133. - No 2. - P. 572-575.
308. Richman D.P., Arnason B.G.W. Nicotinic acetylcholine receptor: evidence for a functionally distinct receptor on human lymphocytes //Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1979.-Vol. 76, N 9.-P. 4632-4635.
309. Rinner I, Felsner P., Falus A. et al. Cholinergic signals to and from the immune system//Immunology Letters.-1995.-Vol. 44. -P. 217-220.
310. Rinner I, Schauenstein K. The parasympathic nervous system takes part in the immuno-neuroendocrine dialogue // J. of Neuroimmunology.-1991.-Vol. 34, N 2-3. -P. 165-172.

311. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Effects of subchronic treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate on cellular and humoral immune response systems //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1985a.-Vol. 81, N 2.-P. 310-318.
312. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Investigation into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate. I. Characterization of the immune cell population affected //Immunopharmacology.-1985b.-Vol. 10, N 3.-P. 171-180.
313. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethylphosphorothioate. II. Effect on the ability of murine macrophages to present antigen //Immunopharmacology.-1985b.-Vol. 10, N 3.-P. 181-189.
314. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Organophosphorus pesticide immunotoxicity: effects of O,O,S-trimethylphosphorothioate on cellular and humoral immune response systems //Immunopharmacology.-1986a.-Vol. 12, N 3.-P. 193-202.
315. Rodgers K.E., Leung N., Wae C.F. et al. Lack of acute and subacute administration of malathion on murine cellular and humoral immune responses //Pestic. Biochem. and Physiol.-1986b.-Vol. 25, N 3.-P. 358-365.
316. Rodgers K.E., Leung N., Imamura T., Devens D.H. Rapid in vitro screening assay for immunotoxic effects of organophosphorus and carbamate insecticides on the generation of cytotoxic T-lymphocyte responses. //Pestic. Biochem. And Physiol.-1986b.-Vol. 26, N 3.-P. 292-301.
317. Rodgers K.E., Imamura T., Devens D.H. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethylphosphorothioate: generation of suppressive macrophages from treated animals //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1987.-Vol. 88, N 2.-P. 270-281.
318. Rodica G., Srefania M. Effects of some insecticides on the bursa of Fabricius in chicken //Arch. Exp. Veterinarmed.-1973.-Vol. 27, N 4.-P. 723-728.

319. Rossi A., Tria M.A., Baschieri S. et al. Cholinergic agonists selectively of inducen proliferative responses in the mature subpopulation of murine thymocytes in the mature subpopulation of murine thymocytes //J. Neurosci. Res.-1989.-Vol. 24, N 3.-P. 369-373.
320. Schrader G., Kukenthal H. (1937); цит. по Голикову С.Н. Профилактика и терапия отравлений фосфорорганическими инсектицидами. –М., 1968. – 168 с.
321. Sosa M., Sana A. Immunopharmacologic properties of inosine 5'-metthil monophosphate (MIMP) //Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P. 458-463.
322. Stevens G. Immunomodulation drugs: where and whither//Immunomodulation drugs / Ann. of the N.-Y. Acad. Sci. – 1993.-Vol. 685. –P. 430-431.
323. Street J.C., Sharma R.P. Alteration of induced cellular and humoral immune responses by pesticides and chemicals of environ-mental concern: quantitative studies of immunosuppression by DDT, aroclor 1254, cirbarul //Toxicol. Appl. Pharmacol.-1975.-Vol. 32, N 3.-P. 587-602.
324. Sunil Kumar K.B., Ankathil R., Devi K.S. Chromosomal aberations induced by methyl parathion in human peripheral lymphocytс of alcoholics and smokers //Hum. and Exp. Toxicol.- 1993.-Vol. 12, N 4.-P. 285-287.
325. Szelenyi J.G., Bartha E., Hollan S.R. Acetilcholinestrаse activity of lymphosytes: an enzyme characteristic of T-cells // Brit. J. Haematol.- 1982.- Vol. 50, N 2. - P. 241-245.
326. Szot R.J., Murphy S.D. Phenobarbital and doxamethasone inhibition of the adrenocortical response of rats to toxic chemicals and other stresses //Toxicol. Applied Pharmacol.-1970.- Vol. 17, N 3.-P. 761-773.

327. Taurog J.D., Fewtrell C., Becker E.L. IgE mediated triggering of rat basophil leukemia cells: lack of evidence for serine esterase activation //J. Immunol.-1979.-Vol. 122, N 6.- P. 2150-2153.
328. Thomas I.K., Imamura T. Immunosuppressive effect of an impurity of malathion: inhibition of murine side effect of an impurity of malathion inhibition of murine T and B lymphocyte responses by O,O,S-trimethyl phosphorothioate //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1986a.-Vol. 83, N 3.-P. 456-464.
329. Thomas I.K., Imamura T. Modulation of cellular and humoral immune responses by O,O,S-trimethyl phosphorodithioate,an impurity of commercial malathion //Toxicologist.-1986b.- Vol.6, N 1.-P. 169.
330. Thomas I.K., Koizumi A., Imamura T. Suppressive effect of O,O,-dimethyl,S-ethyl phosphorothioate on immune response //J. Toxicol. and Environ. Health.- 1986b.- Vol. 19, N 4.- P. 465-476.
331. Tiefenbach B., Lange P. Studies on the action of dimethoate on the immune system //Arch. Toxicol.-1980.- Suppl. 4.- P. 167-170.
332. Tiefenbach B., Hennighausen G., Lange P. Zum Mechanismus der akuten Wirkungen phosphororganischer Pestizide auf das Immunsystem //Zbl. Pharm.-1983.-Bd. 122, H. 2.-S. 156.
333. Tiefenbach B., Wichner S. Dosisabhängigkeit und Mechanismus der akuten Wirkung von Methamidophos auf das Immunsystem der Maus //Z. gesamte Hyg. und Grenzdeb.-1985.-Bd. 31, N 4.-S. 228-231.
334. Tominaca K., Tominaca K., Kinoshita Y., Hato F. et al. Effects of cholinergic agonists on the protein synthesis in a cultured thymic epithelial cell line //Cell. and Mol. Biol.-1989.-Vol. 35, N 6.-P. 679-686.
335. Trinchievi G., M. de Marchi. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in humans III. Effect of protease inhibitors and substrates //J. Immunol.-1976.-Vol. 116, N 4.-P. 885-891.

336. Till J.E., McCulloch E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells //Rad. Research. -1961. -Vol. 14, N 2. -P. 213-222.
337. Wiltrout R. W., Ercegovich C. D., Ceglowski W. S. Humoral immunity in mice following oral administration of selected pesticides //Bull. Environm. Contam. Toxicol.-1978.-Vol. 20, N 3.-P. 423-431.
338. Whisler R. L., Stobo J.D., 1976 , Heterogeneity of murine regulatory T cells // J. Exp. Med.-1976.-Vol. 144, N 2.-P. 398-413.
339. Woodin A.M., Harris A. The inhibition of locomotion of the polymorphonuclear leukocyte by organophosphorus compounds //Exp. cell Research.-1973.-Vol. 77, N. 1-2.-P. 41-46.
340. Woodin A.M., Wieneke A.A. The action of phosphonates on the leukocyte in relation to the mode of action of leucocidin. The properties of the potassium pump and the inhibition of chemotaxis //Brit. J. Exp. Path.-1969.-Vol. 50, N 3.-P. 295.-308.