

УДК 547.262: (616.155.3 – 008.13 + 616.155.34]: 616.89 – 008.441.43

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ IN VITRO НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ

А. В. Лелевич, Э. И. Троян, к. б. н.

Гродненский государственный медицинский университет



**Лелевич Анна Владимировна -
аспирант кафедры патофизиологии
e-mail: mne@grsmi.unibel.by**



**Троян Элина Ивановна -
старший преподаватель, к. б. н.
e-mail: mne@grsmi.unibel.by**

С целью изучения механизмов развития толерантности и зависимости клеток при хроническом употреблении этанола проводилось исследование влияния этанола в различных концентрациях на фагоцитарную активность нейтрофилов больных алкоголизмом. Полученные данные свидетельствуют, что при добавлении этанола фагоцитарная активность нейтрофилов больных алкоголизмом нормализуется. Предполагается, что в этом принимают участие гены, которые приобретают способность эффективно кодировать ферменты при наличии алкоголя в среде. Подобные механизмы должны лежать в основе развития алкогольной зависимости и в других клетках и тканях.

Ключевые слова: *алкоголизм, этанол, фагоцитоз, нейтрофил.*

For studying the mechanisms of cells tolerance and dependence development in case of chronic use of ethanol, research for the influence of ethanol different concentrations on the phagocyte activity of neutrophils in alcohol-addicted patients has been done. The obtained data testify that the phagocyte activity of neutrophils in alcohol-addicted patients is standardized with the addition of ethanol. It is supposed that the genes, which acquire the ability to code ferments effectively in the presence of alcohol in the medium, take part in it. The similar mechanisms must be the basis of the development of alcohol addiction in other cells and tissues as well.

Key words: *alcoholism, ethanol, phagocytosis, neutrophile.*

Большинство ученых, исследуя механизмы толерантности и алкогольной зависимости, изучают нейромедиаторные системы мозга [6,7]. Мы предположили, что формирование зависимости происходит в результате изменений не только в клетках нервной системы, но и в клетках других тканей. Каждая клетка специализирована на выполнении строго определенных функций, которые осуществляются в комплексе со всеми элементами организма. В связи с этим все они принимают участие в той или иной степени в механизмах адаптации и компенсации организма вследствие изменения гомеостаза при хроническом употреблении алкоголя.

Целью нашего исследования явилось изучение фагоцитарной активности нейтрофилов больных алкоголизмом при поступлении этанола в различных

концентрациях. Наглядность и отсутствие большой сложности её определения дают определенные преимущества перед другими методами изучения биологической активности клеток.

Одной из основных функций нейтрофилов является фагоцитоз. Фагоцитоз, как известно, состоит из нескольких стадий: хемотаксис и адгезия, поглощение, образование фагосомы и слияние с лизосомой, внутриклеточная инактивация микроба и ферментативное переваривание его, и удаление оставшихся микробных фрагментов [5]. Для хемотаксиса, прикрепления и включения частиц необходима энергия, которая вырабатывается за счет активации гликолиза в нейтрофиле [1,2]. Также эта энергия необходима для мобилизации лизосом к захваченному объекту [2]. В процессе перевари-

вания захваченных объектов участвуют более 80 ферментов лизосом [5].

Материал и методы исследования.

Нами исследовалась фагоцитарная активность нейтрофилов больных алкоголизмом и здоровых людей при увеличении концентрации этанола в среде. Были обследованы 7 больных с синдромом зависимости от алкоголя II стадии через 2 дня – 2 недели после последнего употребления алкоголя и контрольная группа доноров (7 человек). Производили забор крови из кубитальной вены, в качестве антикоагулянта применяли гепарин. Объектом фагоцитоза была избрана убитая культура *Staphylococcus aureus* (1,5 млрд.ед. в 1 мл) штамм № 209P. С целью изучения поглощающей способности нейтрофилов *in vitro* кровь больных с синдромом зависимости от этанола и контрольной группы инкубировалась в течение 5

часов с изотоническим раствором NaCl и различными концентрациями этанола: 0,02%, 0,05%, 0,2%, 0,4%, 0,6%. После этого проводили стандартную методику определения фагоцитарной активности нейтрофилов (инкубация 60 минут) с подсчетом фагоцитарного индекса (ФИ - % клеток, вступивших в фагоцитоз от общего их числа) и фагоцитарного числа Райта (ФЧ - среднее количество бактерий, находящихся внутриклеточно) [3]. Время инкубации (6 часов) было выбрано как оптимальное для изучения поглощающей способности нейтрофилов. С целью изучения изменения ферментативной активности определяли ФИ и ФЧ через 30, 60, 120 и 180 минут после начала инкубации крови в среде с изотоническим раствором NaCl или 0,2% этанолом. Концентрация этанола 0,2% выбрана нами как минимальная, при которой наблюдались статистически достоверные изменения.

Статистическую обработку полученного клинического материала проводили по общепринятому сравнению исследуемых показателей с применением Т-статистики и критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Как видно из таблицы 1, фагоцитарная активность нейтрофилов больных алкоголизмом снижена по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), что соответствует литературным данным [4]. Так, например, в опытной группе при инкубации крови с изотоническим

Таблица 1. Изменение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов, характеризующих их поглощающую способность, при действии этанола в различных концентрациях ($M \pm m$).

Инкубация	среда	контроль		опыт	
		индекс	число	индекс	число
6 часов	изот. р-р. NaCl	96,42±0,97	9,91±1,08	89,43±2,30**	5,43±0,68**
	0,02%	95,71±2,43	8,54±0,98	92,00±2,09	7,82±0,47*
	0,05%	95,00±0,53	7,84±1,04	93,71±2,32	7,83±0,68*
	0,2%	96,29±1,97	8,37±0,74	97,71±1,66*	9,38±0,91*
	0,4%	96,43±1,31	6,81±0,62*	98,29±1,19*	11,07±1,06**
	0,6%	90,28±2,60*	6,45±0,43*	97,43±1,04**	10,28±0,85**

* - достоверно по сравнению с изотоническим раствором NaCl данной группы, $p < 0,05$

** - достоверно по сравнению с контролем соответствующей концентрации, $p < 0,05$

Таблица 2. Сравнительная оценка показателей фагоцитарной активности нейтрофилов, характеризующих их переваривающую способность при концентрации этанола 0,2% ($M \pm m$).

Инкубация	среда	контроль		опыт	
		индекс	число	индекс	число
30 мин.	изот. р-р	94,28±2,64	6,76±0,86	82,43±3,16**	5,70±0,35
30 мин.	0,2%	96,57±2,09	6,75±0,67	87,57±3,37**	7,63±0,80*
60 мин.	изот. р-р	97,86±1,49	9,71±0,61	96,86±2,04	7,66±0,59**
60 мин.	0,2%	97,14±1,68	7,70±0,63	94,71±2,21	9,09±0,53
120 мин.	изот. р-р	89,43±4,31	7,92±0,91	94,42±2,21	7,72±0,64
120 мин.	0,2%	94,00±2,11	10,48±0,89	91,28±4,17	7,85±1,18
180 мин.	изот. р-р	86,71±3,54	5,55±0,55	96,71±2,55**	11,60±1,49**
180 мин.	0,2%	97,14±2,8*	10,78±0,86*	93,57±5,64	6,91±0,47**

* - достоверно по сравнению с изотоническим раствором NaCl в той же подгруппе, $p < 0,05$

** - достоверно по сравнению с контролем, $p < 0,05$

раствором количество фагоцитирующих нейтрофилов достоверно ниже, чем у здоровых людей (89,43±2,30 в опыте при 96,42±0,97 в контроле, $p < 0,05$). Количество поглощенных бактерий также меньше (5,43±0,68 в опыте при 9,91±1,08 в контроле, $p < 0,005$).

ФЧ в контрольной группе при инкубации с этанолом в возрастающей концентрации в течение 6 часов снижается (0,4%, 0,6% р-р этанола – $p < 0,05$), также уменьшается и ФИ (при 0,6% р-ра этанола – $p < 0,05$).

При инкубации крови больных алкоголизмом с этанолом в течение 6 часов ФИ при добавлении этанола возрастает (0,2%, 0,4%, 0,6% этанола, $p < 0,05$), увеличивается по мере нарастания концентрации этанола ФЧ, $p < 0,05$.

Данные, полученные при изучении изменения переваривающей способности нейтрофилов при добавлении этанола, представлены в таблице 2. ФЧ в опытной группе при инкубации с изотоническим раствором NaCl в течение 60 минут ниже по сравнению с контролем в тех же условиях ($p < 0,05$), а при инкубации 180 минут с изотоническим раствором этот показатель выше, чем в контрольной ($p < 0,05$) и, наоборот, при добавлении этанола в тех же подгруппах ФЧ ниже в опытной группе ($p < 0,05$).

Для наглядности изменения ФЧ в каждой группе с течением времени представлены на рисунке.

В контрольной группе при инкубации с изотоническим раствором NaCl ФЧ нарастает в течение первого часа ($p < 0,05$), а затем снижается на протяжении следующих 2-х часов. При инкубации с этанолом (0,2% р-р) ФЧ постоянно нарастает.

В опытной группе в среде с изотоническим раствором NaCl ФЧ увеличивается в течение всего срока инкубации. При инкубации с этанолом ФЧ нарастает в течение 1-го часа и затем снижается.

Изменения ФИ как в контрольной, так и в опытной группах незначительны.

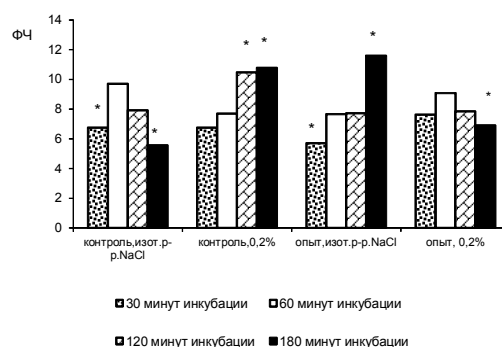
Обсуждение. О степени активации анаэробного гликолиза мы можем судить по изменению поглощающей способности нейтрофилов. Так, снижение ФЧ и ФИ у здоровых людей при 6-ти часовой инкубации свидетельствует о снижении обменных процессов в клетке, наоборот, повышение этих показателей в опытной группе говорит об активации гликолиза и увеличении выработки АТФ, необходимой для обеспечения поглощения микробов нейтрофилом, а также для предшествующих этому стадий.

О переваривающей способности нейтрофилов, а следовательно, о ферментативной активности лизосом, можно судить по уменьшению количества бактерий в клетке через 60-120 минут после максимума. Так, в контрольной группе ФЧ при инкубации с этанолом в течение 120-180 минут остаётся высоким и лизис захваченных бактерий не происходит. Это может быть результатом снижения двигательной активности лизосом в сторону захваченных объектов, а также говорит о низкой активности ферментов, участвующих в переваривании микробов.

В опытной же группе инкубация крови с этанолом дает схожую картину с контролем без добавления этанола, происходит лизис бактерий. А при инкубации крови больных алкоголизмом с изотоническим раствором NaCl показатели изменяются подобно показателям в контрольной группе при инкубации с этанолом.

Механизм повышения фагоцитарной активности нейтрофилов, вероятно, сложный. При хроническом употреблении алкоголя складывается новый гомеостаз, обеспечивающий относительно нормальную жизнедеятельность клетки в условиях повышенной концентрации этанола. Поэтому усиление обменных процессов, ферментативной активности лизосом и фагоцитоза в целом у больных алкоголизмом в период приёма алкоголя после некоторого времени его отмены есть результат возвращения данных процессов к исходному уровню в сложившихся условиях гомеостаза. Учитывая, что ферменты кодируются ДНК, можно предположить, что при алкоголизме транскрипция происходит только при наличии алкоголя в среде, другими словами, происходят мутации, направленные на

Изменение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов, характеризующих их переваривающую способность в динамике



*-достоверно по сравнению с 60-ю минутами инкубации, $p < 0,05$.

активный синтез ферментов при определённой концентрации этанола в клетке. Возможно, данные изменения на молекулярном уровне и обеспечивают поддержание гомеостаза при хроническом алкоголизме.

Поэтому показатели фагоцитарной активности нейтрофилов у больных алкоголизмом зависят от состояния больного (период употребления спиртных напитков или воздержания).

Подобные изменения должны происходить и в других клетках организма. В формировании толерантности и зависимости от алкоголя участвуют все клетки организма, в частности нейтрофилы. Вероятно, этанол становится необходимым для нормальной жизнедеятельности нейтрофилов.

Литература

1. Берчану Шт. Клиническая гематология. – Бухарест. – 1985.
2. Маянский А. Н., Маянский Д. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. – Новосибирск, 1983.
3. Новиков Д. К., Новикова В. И. Оценка иммунного статуса. – М.: Витеб. медин-т, 1996.
4. Проскураева Т. В., Шумайлов Н. Н., Бумялис В. В., Валашов А. М. // Медико-биологические проблемы алкоголизма: Матер. Науч. конф. – Воронеж. – 1987.
5. Пяткин К. Д., Кривошеин Ю. С. Микробиология. – Москва. – 1981.
6. Фридман Л. С., Флеминг Н. Ф., Робертс Д. Г., Хайман С. Е. Наркология. – М. – С-Пб, 1998.
7. Шабанов П. Д. Основы наркологии. – С-Пб, 2002.

Resume

THE INFLUENCE OF THE CONCENTRATION OF ETHANOL ON THE PHAGOCYTE ACTIVITY OF THE NEUTROPHILES OF THE ALCOHOL-ADDICTED PATIENTS

A. V. Lelevich, E. I. Troyan

For studying the mechanisms of the development of tolerance and dependence of cells in case of chronic use of ethanol, research for the influence of the different concentrations of ethanol on the phagocyte activity of the neutrophiles in the alcohol-addicted patients has been made. The obtained data testify that the phagocyte activity of the neutrophiles in the alcohol-addicted patients is standardized with addition of ethanol.