

Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей

*Е.А. Ткаченко, аспирантка,
М.А. Дерхо, д.б.н., профессор, Уральская ГАВМ*

Современная патология человека и животных тесно связана с проблемой загрязнения окружающей среды. Среди большого числа химических веществ, представляющих опасность для их здоровья, особое место занимают ионы тяжёлых металлов, в том числе и кадмия, так как они не разлагаются, включаются в пищевые цепи и аккумулируются в живых организмах [1].

Кадмий поступает в живые организмы через лёгкие с вдыхаемым воздухом, в желудочно-кишечный тракт – с пищей и водой, а также через кожные покровы; с током крови он разносится по всему организму, проникая в клетки органов и тканей, оказывая мембрано-, ферменто- и генотоксическое действие. Одним из основных патогенетических механизмов, индуцирующих токсическое действие ионов кадмия, является перекисное окисление липидов (ПОЛ). Активация процессов ПОЛ приводит к дезинтеграции липопротеиновых комплексов клеточных мембран и нарушению их структуры, проницаемости [2], что сопровождается апоптозом клеток, метаболическими нарушениями на различных уровнях организма, сдвигами в гомеостазе. Эндогенная интоксикация (ЭИ) при воздействии кадмия является результатом дистрофических и некротических изменений в тканях, повышения процессов катаболизма и недостаточности функций печени и почек.

Лейкоцитарные индексы, в которых использованы параметры лейкоцитарной формулы, считаются показателями, характеризующими степень выраженности ЭИ в организме человека и животных. Установлено, что они имеют диагностическое и прогностическое значение, так как позволяют оценить работу эффекторных механизмов иммунной системы, а также уровень иммунологической реактивности, определяющие процесс формирования неспецифических адаптационных реакций [3–7]. Однако в доступной литературе отсутствуют данные

об информативности лейкоцитарных индексов при кадмиевой интоксикации, что и определило актуальность данного исследования.

Цель работы – исследовать динамику показателей лейкоцитарной формулы в ходе экспериментального кадмиевого токсикоза у мышей, а также выявить возможную значимость лейкоцитарных индексов в оценке эндогенной интоксикации.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служили половозрелые самцы белых лабораторных мышей с массой тела 25–30 г. Опытная группа состояла из 60 особей. Животные находились на стандартном пищевом рационе, имели свободный доступ к воде и корму. Кадмиевый токсикоз вызывали путём ежедневного введения $\text{CuSO}_4 \text{ per os}$ в дозе 40 мг/гол (21,5 мг Cd^{2+} на голову).

Материал исследований (кровь) получали после декапитации мышей, которую проводили под наркозом эфира с хлороформом, соблюдая принципы гуманности, до интоксикации, через 1, 3, 7 и 15 сут. интоксикации. Мазки крови изготавливали сразу после взятия материала, затем окрашивали по методу Романовского – Гимзы. Лейкоциты подсчитывали в камере Горяева.

Данные обрабатывали методом вариационной статистики на ПК с помощью табличного процессора «Microsoft Excel-2003» и пакета прикладной программы «Биометрия». Достоверность различий между группами оценивали с учётом непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты исследования. Большую роль в сохранении вне- и внутриклеточного гомеостаза организма животных играют лейкоциты, участвующие в обезвреживании различных токсинов, как экзогенного, так и эндогенного происхождения. Мы установили, что кадмиевый токсикоз практически не влиял на общее количество лейкоцитов, т.к. их уровень не выходил за границы нормы (табл. 1). Однако в лейкограмме наблюдались значительные изменения (эозинофилия, нейтропения, моноцитопения), что свидетельствовало о воздействии

1. Лейкограмма крови мышей ($\bar{X} \pm Sx$; $n = 10$)

Показатель	Норма	До интоксикации	Продолжительность кадмиевой интоксикации, сут.			
			1	3	7	15
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	5,1–11,6	7,12±0,29	9,10±0,20***	5,88±0,20*	6,52±0,17	7,72±0,21
Нейтрофилы, %	п/я	1–5	4,00±0,29	3,00±0,25	3,80±0,24	8,60±0,16
	с/я	13–30	5,60±0,16***	7,40±0,33***	11,90±0,37	13,80±0,38
Эозинофилы, %	0–4	5,00±0,14	18,80±0,49***	18,10±0,37***	10,60±0,49***	10,40±0,16***
Базофилы, %	0–2	1,40±0,16	0,20±0,13	0,20±0,13	0,40±0,16	1,00±0,29
Моноциты, %	2–5	2,00±0,15	1,20±0,13***	1,20±0,13***	2,10±0,23	1,80±0,24
Лимфоциты, %	60–78	75,60±0,22	69,80±0,85***	70,10±0,52***	71,20±0,41	64,40±0,40***

Примечание: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ по сравнению с величинами до интоксикации; норма по М.А. Медведевой (2008)

кадмия на клетки крови и органы лейкопоза и доказывало наличие признаков эндогенной интоксикации в организме мышей.

Анализ данных лейкограммы показал, что изменения её показателей соответствуют двум фазам. В первую фазу, продолжительность которой в эксперименте составила 3 сут., сдвиги были результатом иммуносупрессивного действия кадмия на клетки крови и органы лейкопоза. При этом ЭИ развивалась за счёт: а) быстрого цитолиза сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов, что приводило к нейтропении, моноцитопении; б) развития аллергических реакций замедленного типа под действием аллергенов, образующихся путём химической деградации белков организма, вызываемой кадмием. Вторая фаза начиналась с 3 сут. экспериментального токсикоза, была следствием патологического изменения пролиферативной активности костного мозга, что постепенно привело к дегенеративному ядерному сдвигу нейтрофилов влево. В данную стадию концентрация кадмия, а также эндогенных токсических субстанций, являющихся продуктами извращённого обмена веществ и клеточного реагирования, достигала уровня, который превышал функциональные возможности систем детоксикации. На этом фоне происходило повреждение клеток других органов и тканей организма, что в свою очередь инициировало патологические сдвиги в их функциональном и метаболическом состоянии, вызывая вторую волну интоксикации и образуя замкнутый круг.

В качестве показателей, характеризующих условное неблагополучие в эндосреде организма мышей, а также для оценки признаков эндогенной интоксикации мы рассчитали следующие лейкоцитарные индексы (табл. 2):

1. Индекс Кребса (ИК). Он представляет собой отношение общего количества (%) нейтрофилов к лимфоцитам; косвенно характеризует, во-первых, активность фагоцитарных реакций и факторов специфического иммунитета, во-вторых, их участие в поддержании общей реактивности организма. Индекс Кребса до интоксикации составлял $0,21 \pm 0,004$ усл.ед.

На фоне иммуносупрессивного действия кадмия на клетки крови и органы лейкопоза ИК понизился на 28,6–33,3% ($p > 0,001$), отражая степень ингибирования процессов фагоцитоза. В конце эксперимента (через 15 сут. кадмиевой интоксикации) величина ИК повышалась на 66,7% ($p > 0,001$), что было следствием функционального угнетения пролиферативной активности костного мозга и выражалось в виде увеличения числа палочкоядерных нейтрофилов.

2. Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) представляет собой соотношение уровня (%) нейтрофилов (палочкоядерных + сегментоядерных) и суммы лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов; характеризует активность процессов фагоцитоза и пролиферации нейтрофилов. Уровень ЛИИ до интоксикации составлял $0,19 \pm 0,003$ усл. ед. Изменчивость индекса в ходе кадмиевой интоксикации была аналогична индексу Кребса: его величина снижалась в фазу иммуносупрессивного действия кадмия на организм мышей на 42,1% ($p > 0,001$) и повышалась через 15 сут. от начала токсикоза на 52,6% ($p > 0,001$).

3. Ядерный индекс Г.Д. Даштаянца (ЯИ) – это отношение общего количества (%) моноцитов и палочкоядерных нейтрофилов к уровню сегментоядерных нейтрофилов. Индекс характеризует скорость регенерации нейтрофилов и моноцитов, а также продолжительность их циркуляции в кровяном русле. Величина ЯИ увеличивалась: 1) через сутки от начала введения кадмия в организм мышей в 1,96 раза ($p > 0,001$), что было следствием цитолиза сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов; 2) через 15 сут. интоксикации в 1,58 раза ($p > 0,001$) за счёт увеличения процентной доли палочкоядерных нейтрофилов.

4. Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК). Он показывает отношение суммы эозинофилов, базофилов и нейтрофилов (палочкоядерные + сегментоядерные) к сумме моноцитов и лимфоцитов (%). ИСЛК характеризует соотношение гранулоцитов и агранулоцитов. При кадмиевой интоксикации величина ИСЛК превышала в

2. Лейкоцитарные индексы ($X \pm Sx$; n = 10)

Показатель	До интоксикации	Продолжительность кадмиевой интоксикации, сут.			
		1	3	7	15
Индекс Кребса (ИК)	$0,21 \pm 0,004$	$0,14 \pm 0,005^{***}$	$0,15 \pm 0,007^{***}$	$0,22 \pm 0,007$	$0,35 \pm 0,006^{***}$
Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ)	$0,19 \pm 0,003$	$0,11 \pm 0,003^{***}$	$0,11 \pm 0,006^{***}$	$0,18 \pm 0,007$	$0,29 \pm 0,006^{***}$
Ядерный индекс (ЯИ)	$0,48 \pm 0,03$	$0,94 \pm 0,07^{***}$	$0,57 \pm 0,05$	$0,50 \pm 0,03$	$0,76 \pm 0,04^{***}$
Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК)	$0,27 \pm 0,002$	$0,40 \pm 0,01^{***}$	$0,40 \pm 0,009^{***}$	$0,36 \pm 0,01^{***}$	$0,49 \pm 0,006^{***}$
Лейкоцитарный индекс (ЛИ)	$4,71 \pm 0,06$	$7,33 \pm 0,27^{***}$	$6,84 \pm 0,32^{***}$	$4,56 \pm 0,14$	$2,86 \pm 0,05^{***}$
Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ)	$8,51 \pm 0,86$	$8,65 \pm 0,68$	$9,35 \pm 0,85$	$8,79 \pm 1,44$	$12,44 \pm 1,31^*$
Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ)	$37,80 \pm 4,16$	$58,15 \pm 3,00^*$	$58,40 \pm 2,80^*$	$33,90 \pm 5,42$	$35,77 \pm 5,92$

Примечание: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ по сравнению с величинами до интоксикации

1,33–1,81 раза ($p > 0,001$) уровень до интоксикации за счёт в основном увеличения процентной доли гранулоцитов, что свидетельствовало о нарушении иммунологической реактивности организма мышей.

5. Лейкоцитарный индекс (ЛИ) – это отношение количества (%) лимфоцитов к нейтрофилам (палочкоядерные, сегментоядерные), отражает взаимоотношения гуморального и клеточного звеньев иммунной системы. Величина ЛИ повышалась в первую фазу изменений количества клеток в лейкограмме мышей в 1,45–1,56 раза ($p > 0,001$) и снижалась через 15 сут. токсикоза в 1,68 раза ($p > 0,001$).

6. Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ) показывает равновесие между количеством (%) нейтрофилов (палочкоядерные + сегментоядерные) и моноцитов. ИСНМ позволяет судить о соотношении компонентов микрофагально-макрофагальной системы. Величина ИСНМ достоверно не изменялась в ходе экспериментального токсикоза, за исключением 15-х сут. (увеличивался по сравнению со значением до интоксикации в 1,56 раза ($p > 0,05$)). Следовательно, только на фоне появления в лейкограмме мышей дегенеративного сдвига влево индекс становится информативным при металлотоксикозе.

7. Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ) показывает баланс между лимфоцитами и моноцитами и отражает взаимоотношения аффлекторного и эффекторного звеньев иммунологического процесса. Величина ИСЛМ до интоксикации составляла $37,80 \pm 4,16$ усл. ед., в фазу иммуносупрессивного действия кадмия увеличивалась в 1,54 раза ($p > 0,05$), что было следствием снижения уровня моноцитов. Моноциты крови могут мигрировать в ткани организма и дифференцироваться в макрофаги, а затем совместно с лимфоцитами участвовать в процессах распознавания антигенов. Исходя из этого моноцитопения при кадмиевом токсикозе обеспечивает поддержание функциональной активности лимфоцитов на фоне повышенного образования аллергенов за

счёт действия кадмия на белки организма. Следовательно, величина ИСЛМ характеризует степень аллергизации организма мышей.

Анализ лейкограммы и лейкоцитарных индексов при экспериментальном кадмиевом токсикозе в организме мышей позволил сделать следующие **выводы**: 1. Иммунные нарушения в организме мышей наиболее выражены в первые трое суток кадмиевого токсикоза и являются результатом токсической иммуносупрессии за счёт действия кадмия на клетки крови и органы лейкопоза.

2. Индекс сдвига лейкоцитов крови информативно отражает сдвиги в иммунологической реактивности организма животных.

3. Индекс Кребса, лейкоцитарный индекс интоксикации, лейкоцитарный индекс и индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов характеризуют признаки эндогенной интоксикации на ранних сроках экспериментального токсикоза.

Литература

1. Васильцова И.В. Влияние детоксикантов растительного происхождения на аккумуляцию антропогенных загрязнителей (свинца и кадмия) в организме крыс: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Красноярск: Красноярский ГАУ, 2011. 24 с.
2. Битарова Ж.Р. Особенности патогенетических механизмов развития нефротоксичности на фоне интоксикации солями кадмия: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Владикавказ: Северо-Осетинская ГМА, 2011. 21 с.
3. Тихончук В.С., Ушаков И.Б., Карпов В.Н. и др. Возможности использования новых интегральных показателей периферической крови человека // Военно-медицинский журнал. 1992. № 3. С. 27–31.
4. Гринь В.К., Фисталь Э.Я., Сперанский И.И. и др. Интегральные гематологические показатели лейкоцитарной формулы как критерий оценки тяжести течения ожоговой болезни, её осложнений и эффективности проводимого лечения // Комбустиология. 2006. № 27.
5. Дерхо М.А., Самойлова Е.С. Интегральные индексы интоксикации как критерий оценки уровня эндогенной интоксикации при бабезиозе // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2011. Т. 207. С. 170–177.
6. Кобец Т.В., Гостищева Е.В., Кобец А.А. и др. Интегральные лейкоцитарные индексы как критерий оценки тяжести течения эндогенной интоксикации и эффективности проводимого лечения у детей с атопическим дерматитом: матер. Республиканской науч.-практич. конференции. Алушта, 2012. URL: http://drcobez.narod.ru/st_025.htm (Дата обращения 03.11.2013).
7. Карабанов Г.Н. Использование лейкоцитарной формулы крови для оценки тяжести интоксикации // Вестник хирургии. 1989. № 4. С. 146–149.