

УДК 577.3

© Коллектив авторов

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ И МАКРОФАГОВ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИТРИТА НАТРИЯ

**В.П. Дерягина, Ю.В. Машковцев, А.П. Ильницкий**

Российский онкологический научный центр РАМН, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24. Тел. 324-73-51.

В эксперименте на мышах BALB/c изучено действие нитрита натрия (НН) на функциональную активность макрофагов и нейтрофилов перитонеального содержимого и крови мышей в условиях *in vitro* и *in vivo*. Функциональную активность фагоцитов оценивали по показателям образования активных форм кислорода (АФК). Показано, что НН в эксперименте *in vitro* значительно ингибирует выделение АФК активированными перитонеальными нейтрофилами и макрофагами мышей. В условиях *in vivo* НН при поступлении в организм мышей с водой в концентрации 500 мг/л в течение 210 дней оказывает иммунодепрессивное действие, проявляющееся в угнетении лейкопоза и снижении функциональной активности нейтрофилов крови. В этих же условиях НН не влияет на функциональную активность резидентных перитонеальных макрофагов.

**Ключевые слова:** нитриты, нейтрофилы, макрофаги, активные формы кислорода, хемилюминесцентная активность.

**ВВЕДЕНИЕ.** В настоящее время существуют многочисленные данные о неблагоприятном действии нитратов (НА) и нитритов (НИ) на организм человека, которое проявляется, прежде всего, в возникновении метгемоглобинемии, нарушении функций ряда ферментных систем, эндокринных органов и т.д. [1-4].

Хорошо изучена роль НА и НИ в качестве предшественников канцерогенных N-нитрозосоединений (НС) [5-7]. Эндогенное образование НС долгое время считалось единственным механизмом, определяющим канцерогенную опасность, связанную с пероральным поступлением НА и НИ. Проведенные в дальнейшем исследования дали основание полагать, что эндогенный синтез НС не исчерпывает всех механизмов возможной канцерогенной опасности, связанной с поступлением НА и НИ в организм. Получены новые данные о потенцирующем действии НА и НИ на бластомогенез, индуцированный химическими, физическими и биологическими факторами [8-12].

Существует гипотеза, что в основе реализации модифицирующего бластомогенез действия НА и НИ лежит реакция превращения НИ в высоко реакционноспособный оксид азота (NO) [9]. В то же время, данные об иммунодепрессивном действии НИ [1, 4] позволяют высказать предположение о вовлечении также в процесс потенцирования бластомогенеза иммунных механизмов. Известно, что иммунодепрессия существенно увеличивает частоту опухолей лимфоретикулярной природы [13]. Экспериментально доказано, что действие бластомогенного фактора на фоне перорального поступления НИ вызывает статистически значимое ускорение развития опухолей, в частности, гемобластозов [8-12].

### ЭФФЕКТ НИТРАТА НАТРИЯ НА НЕЙРОФАЛЫ И МАКРОФАГИ

В системе противоопухолевой защиты организма важная роль принадлежит естественной противоопухолевой резистентности, составляющими элементами которой являются макрофаги, нейтрофилы и NK (natural killer) клетки. Системе макрофагов и нейтрофилов принадлежит важная и многообразная роль в реализации иммунного ответа в организме. Один из путей реализации их эффекторных и регуляторных функций состоит в активации NADPH-зависимой оксидазы, что приводит к образованию ряда высокоактивных форм кислорода (супероксидный анион-радикал, пероксид водорода, гидроксильный радикал, синглетный кислород). Все эти соединения обладают мощным окислительным и антимикробным потенциалом и в значительной мере определяют цитостатическое и цитотоксическое действие макрофагов и нейтрофилов (в том числе, по отношению к трансформированным клеткам) [14, 15]. Одним из высокочувствительных методов регистрации кислородных метаболитов является люминолзависимая хемилюминесценция [16, 17]. Измерение спонтанной и индуцированной опсонизированным зимозаном хемилюминесценции (ХЛ) макрофагов и нейтрофилов представляет собой важное звено в оценке функциональной способности фагоцитарных клеток.

Целью настоящего исследования явилось изучение возможного модифицирующего действия нитрита натрия (НН) на функциональную активность макрофагов и нейтрофилов перитонеального содержимого в крови мышей в условиях *in vitro* и *in vivo*.

**МЕТОДИКА.** В эксперименте *in vitro* изучали фагоцитзависимую хемилюминесцентную активность перитонеальных нейтрофилов и макрофагов и влияние на этот показатель различных концентраций НН. В работе использованы мыши-самцы и самки BALB/c с массой 20-24 г. Резидентные клетки перитонеальной жидкости получали промыванием брюшной полости раствором Хенкса в объеме 2,0 мл. Перитонеальные клетки осаждались на предметном стекле в термостате при температуре 37° С в течение 20 мин. После фиксации в метаноле и окрашивания их по Романовскому-Гимза определяли клеточный состав перитонеальной жидкости по морфологическим критериям. Перитонеальная жидкость содержала (в %) макрофагов+моноцитов - 33,2± 5,7; нейтрофилов - 1,8±0,65; тучных клеток - 1,8±1,0; лимфоцитов - 63,2±4,1 (приведены средние величины ± стандартное отклонение). Для аккумуляции перитонеальных нейтрофилов животным внутрибрюшинно вводили 2 мл 0,2% раствора казеина; спустя 4-5 часов мышей забивали путем дислокации шейных позвонков, перитонеальную жидкость получали, промывая брюшную полость раствором Хенкса. Морфологическое определение показало, что 70-85% клеточного содержимого составляли нейтрофилы, жизнеспособность клеток превышала 95%. Выделение активных форм кислорода клетками перитонеальной жидкости контролировали по люминолзависимой ХЛ [17]. В качестве активатора фагоцитоза использовали зимозан, опсонизированный сывороткой 10-12 здоровых доноров (15 мг/мл). Перитонеальную жидкость, полученную от каждого животного, использовали для измерения контрольных значений спонтанной хемилюминесценции (СХЛ) и фагоцитзависимой хемилюминесценции (ФЗХ), а при изучении модифицирующего действия НН *in vitro* измеряли ФЗХ (НН растворяли в растворе Хенкса). Для постановки реакции СХЛ смешивали 0,1 мл перитонеальной жидкости, 0,05 мл 0,56 мМ раствора люминола и 0,2 мл р-ра Хенкса, при этом общий объем анализируемой смеси оставался постоянным и составлял 0,35 мл. При измерении ФЗХ вместо 0,1 мл Хенкса вносили 0,1 мл зимозана, а при измерении ФЗХ+НН заменяли 0,1 мл Хенкса на р-р НН в таком же объеме. Постановку реакции осуществляли при 37 °С в термостатированном приборе Биолюмат, модель 9500 ("Berthoold", Германия). Измерение ХЛ проводили с интервалом 5 мин в течение 40 мин. Интенсивность ХЛ выражали количеством импульсов в 1 мин, рассчитанную на 10<sup>3</sup> нейтрофилов.

**Изучение хронического действия НН на иммунологические показатели** проводили на самцах BALB/c с исходной массой 20-22 г, получавших стандартный виварный рацион. Животные опытной группы в течение 210 дней получали с питьевой водой НН, концентрация которого составляла 500 мг/л (расчет по  $\text{NaNO}_2$ ). Общее поступление НН с водой в организм каждого опытного животного в течение всего эксперимента составило около 480 мг. Учитывая, что питьевая вода и корм практически не содержали НН, поступлением НН в организм мышей контрольной группы можно пренебречь. Кровь, полученную после декапитации животных (с добавлением гепарина 10 ед. на 1 мл крови) в объеме 0,1 мл разводили в 5 раз р-ром Хенкса, содержащим буфер HEPES (5 мг на 100 мл р-ра). Выделение активных форм кислорода (АФК) нейтрофилами крови контролировали по люминолзависимой ХЛ (согласно Хаитову с соавт. [17]). Количество лейкоцитов в крови и лейкоцитарную формулу подсчитывали в камере Горяева и в окрашенных мазках.

**Изучение выделения нитратов и нитритов** после однократного поступления НН в организм проводили на самцах BALB/c, массой 20-21 г. Схема эксперимента приведена в табл. 7. Мышам перорально вводили 1 мл р-ра НН, приготовленный на дистиллированной воде из расчета 480 мкг/мышь (опыт 1,2) и 960 мкг/мышь (опыт 3,4, табл. 7). Животным контрольной группы вводили такой-же объем дистиллированной воды. Мышей каждой группы помещали по 4 шт. в обменные клетки на 24 часа и на время эксперимента лишали корма при свободном доступе к дистиллированной воде. В емкости для сбора мочи с целью предотвращения разрушения НН вносили по 0,3 мл 30% р-ра гидроксида натрия. Собранную мочу анализировали на содержание НН и НА. Для очистки водного экстракта мочи от белково-углеводной составляющей использовали водные растворы 17%-го гексоцианоферрата калия, 50%-го сернокислого цинка и 25%-го уксуснокислого цинка. Определение НН проводили общеизвестным методом Грисса, основанным на диазотировании нитрит-иона в кислой среде сульфаниламидом и взаимодействии диазосоединения с N-(1-нафтил) этилендиамин дигидрохлоридом с образованием окрашенного производного. Величину оптической плотности измеряли при длине волны, равной 538 нм. Определение НА осуществляли путем восстановления НА до НН свежеприготовленным кадмием при pH 9,6 и интенсивном встряхивании. Анализ образовавшегося НН проводили описанным выше методом.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Стьюдента, критерия Вилкоксона для сопряженных пар наблюдений и регрессионного анализа [18].

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** На первом этапе в эксперименте *in vitro* изучали ФЗХ активность перитонеальных макрофагов и нейтрофилов и влияние на этот показатель НН в различных дозах. Принимая во внимание данные о повышении резистентности организма к опухолевому росту при активировании макрофагов, исследования проведены на активированных опсонизированным зимозаном перитонеальных макрофагах и нейтрофилах. Известно, что хемилюминесцентный ответ перитонеальной жидкости определяется, в основном, присутствующими в ней фагоцитами (макрофагами и нейтрофилами), способными продуцировать высокоактивные формы кислорода.

Учитывая существенно более высокое содержания макрофагов в перитонеальной жидкости ( $33,2 \pm 5,7$  макрофагов и  $1,8 \pm 0,65$  нейтрофилов), можно принять, что регистрируемый уровень АФК в данном случае определяется, в основном, макрофагами. Результаты изучения влияния разных доз НН на хемилюминесцентную активность макрофагов перитонеальной жидкости, активированных опсонизированным зимозаном *in vitro* (табл.1), показывают, что НН, внесенный в инкубационную смесь, подавляет хемилюминесцентный отклик клеток, продуцирующих АФК. Этот эффект статистически значим при концентрации НН, равной 8 мкг/мл (0,17мМ) и выше, снижение продукции АФК

### ЭФФЕКТ НИТРАТА НАТРИЯ НА НЕЙРОФАЛЫ И МАКРОФАГИ

достигает 45,8-65,4%. Во всей области исследуемых концентраций (1,0-125,6 мкг/мл или 0,022-2,73мМ) прослеживается дозо-зависимый эффект действия НН.

Таблица 1. Влияние нитрита натрия на фагоцитзависимую хемилюминесценцию макрофагов и нейтрофилов перитонеальной жидкости мышей-самцов BALB/c *in vitro*.

Концентрация NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> в пробе, мМоль, (мкг/мл)	Кол-во образцов	Фагоцитзависимая хемилюминесценция (имп./мин., на 10 <sup>3</sup> макрофагов)		Процент снижения среднего значения ФЗХ
		контроль	опыт	
0,022 (1,0)	6	81,2±35,3	75,0±29,8	8,0
0,173 (8,0)	5	113,3±33,7	61,4±10,7*	45,8
0,345 (15,9)	7	93,5±43,7	47,6±11,7*	49,1
0,69 (31,7)	8	85,5±46,3	33,0±13,6*	61,4
1,37 (63,0)	8	85,5±46,3	33,2±13,2*	61,2
2,73 (125,6)	8	85,5±46,3	29,6±12,1*	65,4

Примечание: \* P<0,05 в сравнении с соответствующим контролем по критерию Вилкоксона для сопряженных пар наблюдений.

Изучение влияния НН на продукцию АФК нейтрофилами, аккумулярованными в результате введения в брюшную полость казеина, показало, что НН в диапазоне концентраций от 1,0 до 125,6 мкг/мл снижает хемилюминесцентный отклик активированных опсонизированным зимозаном нейтрофилов на 11,2-76,4% (табл.2). Действие НН в этом интервале концентраций носит дозозависимый характер. В области, близкой к возможным физиологическим значениям концентраций НН в организме (0,1-0,2 мкг/мл или 2,2-4,6 мкМ), наблюдалась тенденция к увеличению ХЛ-отклика активированных нейтрофилов.

Таблица 2. Изучение *in vitro* влияния нитрита натрия на фагоцитзависимую хемилюминесценцию стимулированных перитонеальных нейтрофилов.

Концентрация NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> в пробе, (мкг/мл)	Кол-во образцов	Фагоцитзависимая хемилюминесценция (имп./мин, на 10 <sup>3</sup> нейтрофилов )		Процент Изменения среднего значения ФЗХ
		контроль	опыт	
2,2 мкМ (0,1)	5	550,6±453,2	612,4±503,8	+11,2
4,4 мкМ (0,2)	8	568,8±468,0	634,6±496,4	+11,6
22 мкМ (1,0)	8	568,8±468,0	505,0±398,7	- 11,2
0,11 мМ (5,1)	11	679,8±540,4	527,3±446,0*	- 22,4
0,546 мМ (25,1)	6	650,3±331,6	356,7±175,7*	- 45,2
2,73 мМ (125,6)	9	640,2±525,3	150,8±134,5**	- 76,4

Примечание:\*\* P<0,01; \* P<0,05 в сравнении с соответствующим контролем по критерию Вилкоксона для сопряженных пар наблюдений.

В эксперименте *in vivo* на мышках-самцах BALB/c изучали влияние НН на лейкоцитарный состав крови, ХЛ активность крови и клеток перитонеальной жидкости. Мыши опытной группы потребляли на 20-30% больше воды по сравнению с контрольными животными. У опытных животных обнаружена выраженная лейкопения (табл.3), содержание лейкоцитов достоверно снижено (на 49%), что согласуется с ранее полученными данными об угнетающем лейкопозе действии НН [1]. Не выявлено значимого различия между количеством отдельных субпопуляций лейкоцитов в крови контрольной и опытной групп. Учитывая низкую долю моноцитов в крови мышей (1-6%) и их слабый хемилюминесцентный отклик [19, 20], полагаем, что генерирование АФК в крови

Дерягина и др.

в этом случае определяется, в основном, нейтрофилами. Измерение СХЛ и ФЗХ крови мышей контрольной и опытной групп выявило снижение образования АФК нейтрофилами крови мышей, получавших с водой НН; снижение особенно выражено при активировании нейтрофилов крови зимозаном и достигает 35% (табл.4). Время достижения максимума ХЛ свечения крови животных контрольной и опытной групп было примерно одинаковым и находилось в пределах 10-15 мин.

Таблица 3. Лейкоцитарный состав крови мышей-самцов BALB/c, подвергнутых воздействию нитрита натрия в условиях *in vivo*.

Группа	Кол-во животных	Кол-во лейкоцитов в 1 мкл, ( $\times 10^3$ )	Содержание в крови, %			
			Эозинофилов	моноцитов	нейтрофилов	лимфоцитов
Контроль	9	2,41 $\pm$ 1,29	1,2 $\pm$ 1,2	2,2 $\pm$ 1,3	27,8 $\pm$ 6,3	68,8 $\pm$ 6,3
Опыт	9	1,24 $\pm$ 0,45*	1,2 $\pm$ 1,4	3,3 $\pm$ 1,8	31,1 $\pm$ 11,3	64,4 $\pm$ 13,1

Примечание: \*  $P < 0,05$  (в сравнении с животными контрольной группы по критерию Стьюдента)

Таблица 4. Влияние нитрита натрия на спонтанную и фагоцитзависимую хемилюминесценцию крови мышей- самцов BALB/c в условиях *in vivo*.

Группа	Кол-во животных	Хемилюминесценция, (импульс/мин., на $10^3$ нейтрофилов), $M \pm SD$	
		спонтанная	фагоцитзависимая
Контроль	9	79,8 $\pm$ 51,4	208,4 $\pm$ 98,3
Опыт	8	63,5 $\pm$ 33,2	136,2 $\pm$ 57,7*

Примечание: \*  $P = 0,09$  (в сравнении с животными контрольной группы по критерию Стьюдента).

Анализ клеточного состава перитонеальной жидкости мышей (табл.5) показывает, что общее количество клеток в перитонеальном содержимом мышей опытной группы по сравнению с этим показателем для контрольной группы было значимо выше за счет увеличения количества всех типов клеток, в особенности лимфоцитов, что, по-видимому, является реакцией иммунной системы на поступление НН в организм. Поступление НН с водой в организм мышей не отразилось на ХЛ отклике перитонеальных резидентных клеток (табл. 5).

Таблица 5. Клеточный состав перитонеальной жидкости мышей-самцов BALB/c

Группа	Кол-во животных	Кол-во клеток в 1 мкл ( $\times 10^3$ )	Содержание в перитонеальной жидкости, %, (абсолютное количество клеток в 1 мкл, $\times 10^2$ ),			
			макрофагов+ моноцитов	нейтрофилов	тучных клеток	лимфоцитов
Контроль	9	4,8 $\pm$ 0,98	30,6 $\pm$ 5,8 (9,9)	0,3 $\pm$ 0,3 (0,2)	1,3 $\pm$ 0,8 (0,6)	67,8 $\pm$ 5,6 (37,3)
Опыт	10	6,0 $\pm$ 1,46*	30,6 $\pm$ 6,2 (12,4)	0,8 $\pm$ 0,7 (0,5)	1,4 $\pm$ 1,1 (0,8)	67,2 $\pm$ 5,8 (46,3)

Примечание: \*  $P = 0,05$  (в сравнении с животными контрольной группы по критерию Стьюдента).

Как видно из результатов исследований, влияние НН на продукцию кислородных метаболитов активированными фагоцитами крови и перитонеальной жидкости в условиях *in vitro* носит более выраженный характер, чем в эксперименте *in vivo* (табл. 6). Это можно объяснить особенностями метаболических превращений НН в организме млекопитающих. При пероральном поступлении уже в желудке при низких значениях pH и взаимодействии с компонентами пищи НН частично разрушаются и связываются. Относительно

### ЭФФЕКТ НИТРАТА НАТРИЯ НА НЕЙРОФАЛЫ И МАКРОФАГИ

быстро нитрат-ионы поступают из желудка и верхнего отдела желудочно-кишечного тракта в кровь, где, взаимодействуя с порфирином молекулы гемоглобина, окисляют его. Одновременно наблюдается образование и комплексов "гемоглобин-NO" [7, 21, 22]. Наряду с кровью, восстановление НИ в окись азота происходит и в клетках тканей при участии нитритредуктазных систем. В конечном итоге, нитриты в организме достаточно быстро превращаются в нитраты и, частично, в аммоний и мочевины. Все формы азота выводятся из организма преимущественно с мочой, большей частью в течение первых суток после их поступления в организм. Названные превращения (а это лишь наиболее известные из числа возможных) приводят к тому, что непосредственно на фагоциты действует лишь часть НИ, поступившего в организм. Проведение балансовых исследований показало (табл.7), что НИ в моче контрольных животных не обнаружены, а выделение НА было незначительным (1,5 мкг/мышь) и, скорее всего, является следствием эндогенного синтеза и выведения остаточных количеств НА, поступивших накануне в организм. При однократном введении мышам высоких доз НИ (480 или 960 мкг, что составляет, примерно, 0,25 и 0,5 LD<sub>50</sub>) в течение суток выводится в виде нитрита 0,03 - 0,8% от поступившего количества и в виде нитрат-ионов (в эквиваленте NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) от 2,4 - 9,2%. Суммарное выведение НИ в виде нитритов и нитратов составляет лишь 3,3-9,3% от величины введенной дозы НИ. Мы объясняем это тем, что поступивший в организм НИ активно метаболизируется, его уровень в тканях и биологических жидкостях снижается, в связи с чем влияние уменьшается, что и отражается на результатах эксперимента *in vivo*.

Таблица 6. Влияние нитрита натрия на спонтанную и фагоцитзависимую хемилюминесценцию макрофагов и нейтрофилов перитонеальной жидкости мышей-самцов BALB/c (в условиях *in vivo*).

Группа	Кол-во Животных	Хемилюминесценция (импульс/мин на 10 <sup>3</sup> макрофагов)	
		спонтанная	фагоцитзависимая
Контроль	9	12,4±5,4	53,5±33,1
Опыт	9	11,4±6,1	46,4±44,4

Таблица 7. Результаты балансового изучения выделения нитритов и нитратов с мочой после нагрузки организма мышей BALB/c нитритом натрия в различных дозах

Группы	Однократное поступление NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкг*	Выделение*		
		NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкг	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мкг	всего, % от поступления в эквиваленте NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Контроль	0	0	6,0	
Опыт 1	1920,0	0,5	101,0	3,9
Опыт 2	1920,0	16,2	62,4	3,3
Опыт 3	3840,0	4,0	475,0	9,3
Опыт 4	3840,0	21,6	246,0	5,3

Примечание: \*приведены данные для 4 животных, объединенных в группу.

Учитывая, что одним из проявлений токсического действия НИ являются глубокие нарушения окислительно-восстановительных процессов, обусловленные блокадой окисления и восстановления никотинамиднуклеотидов [1, 22, 23], можно предположить, что один из возможных механизмов ингибирования НИ образования АФК фагоцитами заключается в частичной блокаде кофермента NADPH, принимающего участие в восстановлении молекулярного кислорода в процессе фагоцитоза. Не исключается и перехват нитритом АФК [24].

Таким образом, проведенное исследование показало, что НН в концентрации от 5,1 мкг/мл (0,11мМ) и выше в эксперименте *in vitro* значительно ингибирует выделение АФК активированными перитонеальными нейтрофилами и макрофагами мышей BALB/c. Прослеживается дозозависимый эффект действия НН при концентрации его в среде от 1,0 до 125,0 мкг/мл (0,022-2,73мМ).

В условиях *in vivo* поступление в организм мышей BALB/c НН с водой, содержащей на уровне 500 мг/л, вызывало выраженную лейкопению и снижение образования АФК нейтрофилами крови, но не влияло на хемилюминесцентную активность резидентных макрофагов. Снижение функциональной активности эффекторных клеток (нейтрофилов и макрофагов) системы естественной противоопухолевой резистентности организма при действии на организм НН в повышенных дозах, по-видимому, может быть одной из причин потенцирующего влияния нитритов на бластомогенез, индуцированный химическими, физическими и биологическими агентами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Митченков В.Т. (1992). Токсиколого-гигиеническая оценка нитратно-нитритной нагрузки на организм человека и методические основы ее профилактики: дисс. докт. мед. наук. М.: Моск. мед. академия, 245.
2. Нитраты, нитриты и N-нитрозосоединения. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. (1981) Женева: ВОЗ, 5, 118.
3. Оженко А.И., Доренский В.С., Славина Н.Г. и др. (1997) Гигиена и санитария, (2), 39-41.
4. Опополь Н.И., Добрянская Е.В. (1986). Нитраты. Кишнев: Штиица, 113.
5. Рубенчик, Б.Л., Осиньковская Н.Д., Михайленко В.М. и др. (1990) Экспериментальная онкология, 12(5), 3-6.
6. Vermeer I.T.M., Pachon D.M.F.A., Dallinga J.W. (1998) Environmental Health Perspectives, 106(8), 459-463.
7. Walker R. (1990) Food Additiv. Contamin., 7(6), 717-768.
8. Ильницкий А.П., Андрианов А.П., Колпакова А.С. и др. (1993). Вестник онкологического научного центра РАМН России, Приложение 1, 13-18.
9. Ильницкий А.П., Реутов В.П., Рыжова Н.И. и др. (1997) Экспериментальная онкология, 19(2), 101-109.
10. Колпакова А.С. (1994) Модифицирующее действие нитритов на вирусный лейкогенез у мышей: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 18.
11. Ilnitsky A. P., Kolpakova A.S. (1997) Cancer Detect. Prevent., 21(4), 312-318.
12. Newbern P.M. (1979). Science, 204(4397), 1079-1081.
13. Билынский Б.Т., Володько Н.А., Шпарык Я.В. (1991). Иммунологические механизмы естественной противоопухолевой резистентности. Киев: Наукова думка, 248.
14. Дейчман Г.И. (1984). Итоги науки и техники. Сер. "Онкология", М.: ВИНТИ, 13, 46-70.
15. Сулов А.П. (1990) Итоги науки и техники. Сер. "Онкология", М.: ВИНТИ, 19, 167.
16. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.Б. (1989) Хемилюминесценция клеток животных. Итоги науки и техники. Сер. "Биофизика". М.: ВИНТИ, 24, 177.
17. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. (1995) Экологическая иммунология. М. ВНИРО, 219.
18. Урбах В.Ю. (1964). Биометрические методы. М.: Медицина, 416.
19. Heberer M., Ernst M., Harder F. (1983) Cancer Detect Prevent., (6), 273-280.
20. Kato T., Wokalek H., Schopf E. et al. (1981) Klin. Wochenschr., 59, 203-211.

---

#### ЭФФЕКТ НИТРАТА НАТРИЯ НА НЕЙРОФАЛЫ И МАКРОФАГИ

---

21. *Степура И.И., Чайковская Н.А., Солодов А.А., Арцукевич А.Н.* (1997) Биохимия, **62**(9), 1122-1129.
22. *Lowy R., Manchor Ph.* (1976) Ann. Nutr. Alim., **30**(5-6), 839-845.
23. *Перельгин В.М., Тимошенко Л.П., Вотяков В.* (1982) Современные биохимические методы в гигиене окружающей среды: Тр. Ин-та ОиКТ им. А.М. Сысина, -М., 72-75.
24. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С.* (1997). Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. М.: Наука.

Поступила 07. 05.2002.

#### EXPERIMENTAL STUDY OF FUNCTIONAL ACTIVITY NEUTROPHILES AND MACROPHAGES FOLLOWED EFFECT PRODUCED BY SODIUM NITRITE

*V.P. Deryagina, Yu.V. Mashkovcev, A.P. Ilnitsky*

Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow 115478,  
Kashirskoe shosse, 24. Tel. 324-73-51.

The impact of sodium nitrite on functional activity of macrophages and neutrophils of the abdominal cavity and blood of mice BALB/c was investigated *in vitro* and *in vivo* experiments. Functional activity was estimated according to formation of oxygen active forms. It was shown that sodium nitrite significantly inhibits formation of reactive oxygen species released from mouse peritoneal neutrophils and macrophages, when they are being activated *in vitro*. Sodium nitrite was given in water at concentration 500,0 mg/l mice for 210 days immunodepression action was revealed which expressed reduction by leukocytes and decrease functional activity of blood neutrophils. Under the same conditions nitrite did not effect on functional activity of resident peritoneal macrophages.

**Key words:** nitrite, neutrophils, macrophages, oxygen active forms, chemiluminescence activity.