

Vest. New Medical Technologies. 2008. 15(1). P. 102

THE REDUCTION OF ACTIVITY TH1- AND TH2-LYMPHOCYTES AND
PRODUCED BY THEM OF CYTOKINES AT SUBACUTE
INTOXICATIONS WITH METAARSENITE OF SODIUM

P. F. Zabrodskii, V.G. Mandych, A.V. Abaimov

Saratov Military Institute of Biological and Chemical Safety, Russia

It was established in experiments on noninbreds rats that subacute intoxication by metaarsenite of sodium invokes a reduction of function Th1- both Th2-lymphocytes and production by them of cytokines (respectively IFN γ and IL-4) equally.

Key words: metaarsenite of sodium, immunotoxicity, Th1, Th2-lymphocytes, cytokines

РЕДУКЦИЯ АКТИВНОСТИ ТН1- И ТН2-ЛИМФОЦИТОВ И
ПРОДУЦИРУЕМЫХ ИМИ ЦИТОКИНОВ ПРИ ПОДОСТРОМ
ОТРАВЛЕНИИ МЕТААРСЕНИТОМ НАТРИЯ

Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. XV, № 1. С. 102

П.Ф. ЗАБРОДСКИЙ, В.Г. МАНДЫЧ, А.В. АБАИМОВ

*Саратовский военный институт биологической и, химической
безопасности, Россия.*

Соединения трехвалентного мышьяка (в частности, метаарсенит натрия – МАН) являются высокотоксичными соединениями и способны при переработке мышьяксодержащих руд и минералов, уничтожении химического оружия (люизита) приводить к загрязнению атмосферы, почвы и водной среды. Отравления МАН могут сопровождаться постинтоксикационным иммунодефицитным состоянием [1]. Особенности супрессии активности Th1, Th2-лимфоцитов, определяющие нарушение преимущественно соответственно клеточных или гуморальных иммунных реакций, при воздействии МАН не исследованы. Th1-клетки, участвуя в реализации клеточного иммунного ответа, продуцируя γ -интерферон - ИФН- γ , кроме того обеспечивают синтез В-лимфоцитами IgM и IgG2a. Th2-лимфоциты (в частности, синтезируя ИЛ-4) участвуют в формировании гуморальных иммунных реакций, способствуя продукции В-лимфоцитами иммуноглобулинов основных классов (IgG1, IgA, IgE и

IgD [4,7]. От соотношения активности лимфоцитов Th1-, Th2-типа (их функции) может зависеть вероятность возникновения соответственно вирусных или микробных инфекций [8], также формирование кожной или респираторной гиперчувствительности [9,10]. Так, с активностью Th2-лимфоцитов связан синтез IgE, которые обеспечивают проявление респираторных аллергических реакций [4,11].

Таким образом, зная особенности поражения МАН Th1-, Th2-лимфоцитов, можно не только прогнозировать риск развития поражения клеточного или гуморального звена иммунитета, приводящее к различным инфекционным осложнениям и заболеваниям, но и осуществлять выбор адекватных характеру нарушения иммунного статуса иммуномодуляторов [2,3,7].

Целью исследования являлась оценка особенностей нарушения функции Th1, Th2-лимфоцитов и продукции ими цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-4) в формирование супрессии гуморальных и клеточных иммунных реакций при подостром отравлении МАН.

Материал и методы. Эксперименты проводились на беспородных крысах обоего пола массой 180-240 г. Показатели системы иммунитета оценивали общепринятыми методами в экспериментальной иммунотоксикологии и иммунологии [2,4]. Гуморальную иммунную реакцию к тимусзависимому антигену (эритроцитам барана – ЭБ), характеризующую способность Th1-лимфоцитов участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM [7], определяли по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке, функцию Th1-лимфоцитов – по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Формирование ГЗТ, исследовали у животных по приросту массы стопы задней лапы в %. Разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) вводили под апоневроз стопы задней лапы на 4 сут. МАН вводили подкожно в водном растворе в дозе $1/4 \text{ DL}_{50}$ в течение 4 сут (DL_{50} МАН составляла $38,5 \pm 4,2$, мг/кг). Реакции оценивали на 5 сут. Функцию Th2-лимфоцитов исследовали по числу АОК, синтезирующие IgG к ЭБ, в селезенке на пике продукции данного иммуноглобулина (14 сут) методом непрямого локального гемолиза в геле [4]. При этом МАН вводили в течение 13 сут в дозе $1/13 \text{ DL}_{50}$. Крыс иммунизировали внутривенно ЭБ в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток одновременно с первым введением токсиканта. Таким образом, при оценке всех иммунных реакций обеспечивалось получение животными эквивалентной дозы МАН, составляющей $1,0 \text{ DL}_{50}$. Концентрацию цитокинов γ -интерферона (ИФН- γ) и ИЛ-4, характеризующих функцию соответственно Th1- и Th2-лимфоцитов [4,7], определяли в крови крыс соответственно на 5 и 14 сут после первой инъекции НАК методом ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA), используя наборы (ELISA Kits) фирмы «BioSource Int». Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия достоверности Стьюдента.

Результаты. После подострой интоксикации МАН (табл. 1) происходило снижение гуморального иммунного ответа через 4 сут к Т-зависимому антигену (по числу АОК в селезенке), характеризующему синтез IgM и функцию Th1-лимфоцитов, по сравнению с контрольным уровнем в 2,56 раза ($p<0,05$), а через 13 сут после иммунизации (пик иммунного ответа, оцениваемый по IgG) отмечалось уменьшение продукции IgG (по числу АОК в селезенке) в 2,26 раза ($p<0,05$), свидетельствующее о супрессии функции Th2-лимфоцитов. При действии МАН на 5 сут отмечалась существенная редукция реакции ГЗТ (функция Th1-клеток) соответственно в 2,09 раза ($p<0,05$).

Таблица 1

Действие подострой интоксикации МАН на функцию Th1- и Th2-лимфоцитов у крыс ($M \pm m$, $n = 8-10$)

Группа	Функция Th1-лимфоцитов		Функция Th2-лимфоцитов
	АОК к ЭБ (IgM), $\cdot 10^3$	ГЗТ, %	АОК к ЭБ (IgG), $\cdot 10^3$
Контроль	45,5 $\pm$ 3,9	39,8 $\pm$ 2,8	60,8 $\pm$ 4,1
МАН	17,8 $\pm$ 1,7*	19,0 $\pm$ 2,0*	26,9 $\pm$ 2,5*

Примечание: ГЗТ - гиперчувствительность замедленного типа. Здесь и табл. 2: - * - $p<0,05$ по сравнению с контролем.

Параметры, характеризующие различные иммунные реакции и связанную с ними функцию Th1- и Th2-лимфоцитов, при действии МАН снижались в 2,32 и 2,26 раза соответственно. Это свидетельствует о том, что под влиянием токсиканта функция Th1- и Th2-лимфоцитов нарушается в равной степени.

Установленные особенности поражения МАН функции Th1- и Th2-лимфоцитов подтверждается исследованием концентрации цитокинов в крови крыс (табл. 2). После интоксикации МАН выявлено уменьшение концентрации ИФН- γ на 5 сут и ИЛ-4 на 14 сут соответственно в 2,35 и 2,39 раза ($p<0,05$).

Таблица 2

Влияние подострой интоксикации различными ТХВ на содержание цитокинов в крови крыс, пг/мл ($M \pm m$, $n = 6$)

Группа	ИФН- γ	ИЛ-4	ИФН- γ /ИЛ-4
Контроль	835 $\pm$ 78	134 $\pm$ 15	6,2

МАН	355±41*	56±11*	6,3
-----	---------	--------	-----

Увеличение соотношения ИФН- γ /ИЛ-4 характеризует снижение функциональной активности лимфоцитов Th2-типа по сравнению с функцией Th1-клеток, а уменьшение данного соотношения свидетельствует о большей супрессии активности лимфоцитов Th1-лимфоцитов по сравнению с Th2-клетками [5]. Проведенные нами исследования показали, что соотношение ИФН- γ /ИЛ-4 при отравлении МАН составляло 6,3 (контроль – 6,2). Это подтверждает результаты, свидетельствующие об особенностях поражения Th1- и Th2-клеток МАН.

Иммунотоксический эффект МАН обусловлен ингибированием моно- и дитиоловых ферментов (в частности, дегидролипоевой кислоты пируватоксидазной системы), моноаминоксидазы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, снижением функции кофермента А, нарушением цикла трикарбоновых кислот, блокированием ДНК-полимеразы, уменьшением образования АТФ из АДФ (разобщением окисления и фосфорилирования) [6] Th1-, Th2-клеток и других иммуноцитов.

Выводы. 1. Подострое действие МАН в суммарной дозе 1,0 DL₅₀ вызывает редукцию функции Th1- и Th2-лимфоцитов в равной степени.

2. Под влиянием МАН концентрация в крови ИФН- γ , синтезируемого Th1-клетками, снижается в такой же степени, как и концентрация ИЛ-4, продуцируемого Th2-лимфоцитами,

Литература

1. Забродский П.Ф. // Общая токсикология / Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – С.352–384.
2. Забродский П.Ф., Лим В.Г., Мальцева Г.М., Молотков А.О. Иммуотропные свойства холинергических веществ / Под ред. П.Ф.Забродского. – Саратов: Изд-во «Научная книга», 2005.
3. Нестерова И.В. // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т.6, № 2. – С. 139–140.
4. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология: Пер. с англ. – М.: Мир, 2000.
5. Сухих Г.Т., Касабулатов Н.М., Ванько Л.В. и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2005. – Т. 140, № 12. –С. 622–624.
- 6.Трахтенберг И.М., Шафран Л.М. // Общая токсикология / Под редакцией Б.А. Курляндского, В.А. Филова – М.: Медицина, 2002. – С. 111–176.
7. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2002.
8. Asquith B., Zhang Y., Mosley A.J., de Lara C.M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-2007.- Vol. 104, № 19. – P. 8035–8040.

9. *Corsini E., Kimber I.* // *Toxicol. Lett.* –2007.- Vol.168, №3.– P.255–299.
10. *Hsu H.Y., Lin B.F., Lin J.Y., Kuo C.C., Chiang W.* // *J. Agric. Food. Chem.* -2003. – Vol. 51, № 13. –P.3763–3769.
11. *Strid J., Hourihane J., Kimber I., Callard R., Strobel S.* // *Eur J Immunol.* -2004. – Vol. 34, №.8. – P.2100–2109.

THE REDUCTION OF ACTIVITY TH1- AND TH2-LYMPHOCYTES AND
PRODUCED BY THEM OF CYTOKINES AT SUBACUTE
INTOXICATIONS WITH METAARSENITE OF SODIUM

P. F. Zabrodskii, V.G. Mandych, A.V. Abaimov

Summary

It was established in experiments on noninbreds rats that subacute intoxication by metaarsenite of sodium invokes a reduction of function Th1- both Th2-lymphocytes and production by them of cytokines (respectively IFN γ and IL-4) equally.

Key words: metaarsenite of sodium, immunotoxicity, Th1, Th2-lymphocytes, cytokines