

ВЛИЯНИЕ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ НА ИММУННЫЙ ГОМЕОСТАЗ ПРИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ТОКСИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

П. Ф. Забродский, В. Г. Германчук

*Саратовский военный институт радиационной, химической и
биологической защиты*

В экспериментах на крысах Вистар массой 180-240 г установлено, что при острой интоксикации токсичными химическими веществами (ТХВ) - диметилдихлорвинилфосфатом - (ДДВФ), нитрилом акриловой кислоты - (НАК), дихлорэтаном - (ДХЭ) и метанолом в дозе 1,0 ЛД₅₀ применение антидотов - соответственно атропина, тиосульфата натрия (ТСН), ацетилцистеина (АЦ) и этанола вызывает усиление иммунотоксических эффектов ТХВ: супрессию антителообразования преимущественно к тимусзависимому антигену, снижение антителозависимой клеточной цитотоксичности и реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Дипироксим и антициан при остром отравлении ДДВФ и НАК соответственно уменьшают проявление постинтоксикационного иммунодефицитного состояния.

Ключевые слова: *антидоты, токсичные химические вещества, гуморальный иммунитет, клеточный иммунитет*

THE INFLUENCE OF ANTIDOTE THERAPY ON IMMUNE HOMEOSTASIS IN ACUTE INTOXICATION OF TOXIC CHEMICALS

P.F. Zabrodskii , V.G. Germanchuk

Saratov Military Institute of Radiation, Chemical and Biological Protection

In experiments on Wistar rats weighing 180-240 g found that acute intoxication by toxic chemicals (TC) - dimetildihlorvinilphosfat - (DDVP) , acrylonitrile - (AN), dichloroethane - (DCE) and methanol at a dose of 1.0 LD50 use of antidotes – atropine, sodium thiosulfate (ST) , acetylcysteine (AC) and ethanol respectively causes increased immunotoxic effects THW : suppression of antibody production mainly to T-dependent antigen , antibody-dependent cellular cytotoxicity reduction and delayed-type hypersensitivity (DTH) . Dipiroxime, antitsian after acute poisoning DDVP and AN respectively reduce postintoxication manifestation of immunodeficiency .

Keywords: antidotes , toxic chemicals , humoral immunity , cellular immunity

Введение. В настоящее время основные иммунотоксические эффекты при действии токсичных химических веществ - ДДВФ, НАК, ДХЭ, метанола - достаточно хорошо изучены [2,3,4,5,6]. Однако при разработке способов профилактики и лечения постинтоксикационных иммунодефицитных состояний, сопровождающихся различными инфекционными осложнениями и заболеваниями, важно знать характер модуляции иммунных реакций антидотными средствами терапии острых отравлений ТХВ. Данный вопрос в настоящее время практически не изучен. В связи с этим целью исследования явилось определение влияния на основные гуморальные и клеточные иммунные реакции атропина и дипироксима при острой интоксикации ДДВФ, ТСН и антициана при остром воздействии НАК, АЦ и этанола при остром отравлении ДХЭ и метанолом соответственно.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на крысах Вистар массой 180-240 г. ДДВФ и НАК вводили подкожно, а ДХЭ и метанол - перорально в дозе 1,0 ЛД₅₀. После введения ТХВ антидоты применяли внутривентрально: дипироксим и атропин в дозах 15 и 20 мг/кг соответственно, после появления у животных тремора и судорог под влиянием ДДВФ, ТСН (0,8 мг/кг) и антициан (0,2 мл 1% раствора 2 раза в день с интервалом 12ч в течение 2сут) [6], АЦ - в дозе 600 мг/кг ежедневно в течение 3 суток после интоксикации, этанол - 15% раствор в дозе 3,0 мл/кг два раза в сутки. Первую дозу антидота животные получали через 10 мин после введения ТХВ. Гуморальный иммунный ответ к тимусзависимому (эритроцитам барана - ЭБ) и Т-независимому (Vi-Ag) антигенам оценивали через 5 сут по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке [1,12] после введения исследуемых соединений с одновременной внутривентральной иммунизацией крыс данными антигенами в дозах $2 \cdot 10^8$ клеток и 8 мкг/кг соответственно. Гуморальная иммунная реакция на введение ЭБ характеризует способность Т-хелперов типа 1 (Th₁) участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) исследовали через 5 сут после иммунизации (ЭБ в дозе 10^8 клеток) крыс, используя их спленоциты, спектрофотометрическим методом [7]. Формирование реакции ГЗТ, отражающей функцию клеточного иммунного ответа (в частности, активность Th₁), оценивали у крыс по приросту (в %) массы стопы задней лапы. При этом животных иммунизировали внутривентральным введением 10^8 ЭБ. Разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут. Реакцию ГЗТ определяли через 24 часа. Содержание Т-клеток в тимусе исследовали общепринятым методом подсчета ядродержащих клеток в органе, учитывая, что лимфоциты в вилочковой железе представлены практически только Т-популяцией [9].

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия достоверности Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено (табл. 1), что под влиянием острой интоксикации ТХВ происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому (ЭБ) и тимус - независимому (Vi-Ag) антигенам. При этом супрессия зависимой от Т-хелперов антителопродукции была более выражена. Исследование антитодов после применения ТХВ вызывало более выраженную супрессию исследуемых параметров, за исключением дипироксима и антициана, которые существенно ($p < 0,05$) повышали по сравнению с показателями при острой интоксикации ДДВФ и НАК Т-зависимое антителообразование. Синтез антител к Vi-антигену при использовании после отравления ТХВ дипироксима и антициана практически восстанавливался до контрольного уровня.

При исследовании влияния антитодов при острой интоксикации ТХВ на клеточный иммунитет установлено (табл. 2), что ТСН, АЦ, этанол усиливали супрессию АЗКЦ и реакции ГЗТ, а также снижение клеток в тимусе. Такое же действие оказывал атропин, не влияя при этом на содержание Т-клеток в тимусе. Дипироксим и антициан существенно ($p < 0,05$) повышали исследованные показатели после острой интоксикации соответственно ДДВФ и НАК. Дипироксим восстанавливал реакцию ГЗТ практически до контрольного уровня.

Таблица 1

Влияние антитодов при острой интоксикации ТХВ на показатели гуморального иммунного ответа

ТХВ и их комбинация с антитодами	Титр антител к ЭБ, $-\log_2$ титра	АОК к ЭБ, 10^3	Vi-Ag, 10^3
Контроль	5,8 $\pm$ 0,1 (30)	28,4 $\pm$ 2,2 (30)	21,3 $\pm$ 2,0 (30)

ДДВФ	3,6±0,3* (7)	14,1±2,7* (7)	14,1±2,4*(7)
ДДВФ + атропин	2,4±0,2° (9)	7,8±2,0° (9)	10,7±2,5*(7)
ДДВФ + дипириксим	5,1±0,3° (10)	20,4±3,1° (9)	17,4±2,8 (7)
НАК	3,0±0,3* (6)	13,1±2,4* (6)	13,3±2,5* (6)
НАК + антициан	5,3±0,2° (10)	20,7±2,8° (10)	19,7±2,9(10)
НАК + ТСН	2,5±0,2* (7)	7,1±2,0° (7)	10,2±2,1*(7)
ДХЭ	3,4±0,4* (6)	13,9±2,2* (6)	14,5±2,3*(6)
ДХЭ+АЦ	3,3±0,3* (8)	9,9±1,9* (8)	12,1±2,0* (8)
Метанол	3,8±0,4* (7)	18,3±2,1* (7)	14,2±2,0* (7)
Метанол + этанол	3,2±0,3* (6)	12,0±2,0° (6)	10,1±1,9* (6)

Примечание: в скобках - число животных; * - различия с контролем достоверны при $p < 0,05$; ° - различия с контролем и с изолированным действием ТХВ достоверны при $p < 0,05$.

Известно, что механизмы нарушения иммунного гомеостаза при острой интоксикации исследованными ТХВ различны [2]. При отравлении ДДВФ иммунотоксичность обусловлена преимущественно ингибированием ацетилхолинэстеразы и других эстераз Т-лимфоцитов, макрофагов и моноцитов, а также действием гормонов коры надпочечников [3]. Помимо антиэстеразных механизмов иммунотоксичности при действии ДХЭ поражаются многочисленные ферментные системы иммунокомпетентных клеток (ИКК) его высокотоксичными метаболитами [5]. Иммуносупрессия, выявленная при действии метанола, связана с поражением ИКК продуктами его метаболических превращений, из которых муравьиной кислоте принадлежит решающая роль [4,8]. Под влиянием НАК ингибируется компонент a_3 цитохром-с-оксидазы системы ферментов тканевого дыхания митохондрий иммуноцитов наиболее опасным продуктом его биотрансформации циановодородом. Кроме того, на ИКК оказывает влияние метаболиты НАК - глицидонитрил и акрилонитрилмеркаптуровая кислота [10], вероятно, взаимодействуя с α -нафтилбутиратэстеразой [6].

Таблица 2

**Влияние антидотов при острой интоксикации ТХВ на показатели
клеточного иммунитета**

ТХВ и их комбинация с антидотами	Содержание Т-клеток в тимусе, 10⁶	АЗКЦ, %	ГЗТ, (% прироста массы стопы)
Контроль	762±44 (25)	11,8±0,5 (25)	29,5±0,8 (25)
ДДВФ	352±55* (6)	4,9±0,7* (7)	18,1±1,2*(10)
ДДВФ + атропин	689±79 (10)	3,7±1,0* (10)	16,2±1,6*(8)
ДДВФ + дипиросим	551±56° (10)	7,7±1,2° (10)	23,5±1,4 (9)
НАК	496±58* (7)	4,6±1,6* (7)	14,8±1,2* (10)
НАК + антициан	670±69 (10)	8,9±1,3 (7)	21,4±1,3°(7)
НАК + ТСН	411±64 *(10)	3,5±1,4* (8)	12,1±1,4*(7)
ДХЭ	434±92* (6)	5,5±1,3* (6)	12,2±1,5* (6)
ДХЭ+АЦ	402±80* (8)	4,6±1,4* (7)	10,1±1,0* (7)
Метанол	394±65* (6)	6,7±1,7* (7)	20,5±2,3* (7)
Метанол + этанол	334±58* (7)	4,5±1,0* (7)	15,1±1,3* (7)

Примечание: в скобках - число животных; * - различия с контролем достоверны при $p < 0,05$; ° - различия с контролем и с изолированным действием ТХВ достоверны при $p < 0,05$.

Поражение Т-зависимого антителообразования в большей степени, чем Т-независимого, обусловлено действием ТХВ и продуктов их биотрансформации на макрофаги, В-лимфоциты и Т-клетки (в данной модели на Th_1), синтезирующие гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, ИЛ-2, β -фактор некроза опухоли - лимфотоксин, γ -интерферон и ИЛ-3 [11], участвующих в реализации данной иммунной реакции, в то время как тимуснезависимый иммунный ответ (к Vi-Ag) обеспечивается в основном функцией В-клеток, активируемых антигеном в присутствии ИЛ-1, секретируемого в основном

макрофагами. Вполне естественно, что иммунотоксическое действие на три элемента, взаимодействующих в процессе антителообразования, проявляется значительно большим его угнетением, чем при поражении одного или двух элементов, если нет оснований предполагать наличия селективного иммуотропного эффекта. При применении антидотов (атропина, ТСН, АЦ, этанола) реализуется суммация их иммуносупрессивных эффектов с действием ТХВ. Возможно также проявление более выраженных иммунотоксических эффектов антидотов. Усиление иммуносупрессорных эффектов при действии ТСН и АЦ после отравления НАК и ДХЭ соответственно обусловлено, возможно, описанной способностью некоторых серусодержащих соединений (тиоловых производных, L-цистеина) ингибировать цитолиз, опосредуемый К-клетками и ЕКК, а также другие иммунные реакции вследствие изменения функциональной активности поверхностных тиолов иммуноцитов [13]. Необходимо отметить, что усиление иммунотоксичности ТХВ этими антидотами может связано с применением их в больших дозах, способных обеспечить выраженный защитный эффект. Выявленное усиление иммунотоксичности исследованных ТХВ использованными антидотами предполагает обязательное включение в схему лечения острых интоксикаций этими веществами иммуностимуляторов. Снижение иммунотоксических эффектов под влиянием дипироксима связано с реактивацией ацетилхолинэстеразы Т-хелперов и других эстераз ИКК. Антициан снижает иммунотоксичность метаболита НАК циановодорода вследствие образования метгемоглобина и реактивации цитохрома a_3 [6].

Таким образом, при острой интоксикации ДДВФ, НАК, ДХЭ, метанолом в дозе 1,0 ЛД₅₀ применение антидотов соответственно атропина, тиосульфата натрия, ацетилцистеина и этанола усиливает иммунотоксические эффекты ТХВ. Дипироксим и антициан при остром отравлении соответственно ДДВФ и НАК уменьшает проявление постинтоксикационного иммунодефицитного

состояния. Использование атропина существенно снижает инволюцию тимуса, вызванную действием ДДВФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белокрылов Г. А., Хавинсон В. Х., Морозов В. Г. //Журн. микробиол.-1980.-N 3.-С. 97-99.
2. Забродский П. Ф. Иммуотропные свойства ядов и лекарственных веществ. - Саратов, 1998.-214 с.
3. Забродский П. Ф. //Бюлл. exper. биол. и мед. - 1993. т.116 - N 8.-С. 181-183.
4. Забродский П. Ф. //Токсикол. вестник.-1999, N 2.-С. 8-11.
5. Забродский П. Ф., Грызунов А. В. //Бюлл. exper. биол. и мед. - 1997.- т.123 - N 1.-С. 51-53.
6. Забродский П. Ф., Киричук В. Ф., Германчук В. Г., Беликов В. Г. //Бюлл. exper. биол. и мед. - 2000. т.129 - N 5.-С. 547-549.
7. Зимин Ю. И., Ляхов В. Ф. //Иммунология.-1985.-N 1.-С. 27-30.
8. Кожемякин Л. А., Бонитенко Ю. Ю., Иванова Л. Н. //Воен.-мед. журнал. -1991.- N 9.-С. 36-39.
9. Петров Р. В., Хаитов Р. М. Иммунологические механизмы клеточного гомеостаза. – М., Медицина, 1981.- С. 312-360.
10. Шустов В. Я., Ольховская А. Г., Кузнецов П. П., Ильина В. А. Ранняя диагностика и профилактика интоксикаций в производствах вискозного корда, капрона, натрона. - Саратов, 1985.- 144с.
11. Kimber I. // In.:Experimental Immunotoxicology.-Boca Raton, New York, London, Tokyo, 1996. –P.391-417.
12. Jerne N. K., Nordin A. A. //Science.-1963.-Vol. 140, N 4.-P. 405.
13. Stacey N. H., Craig G. K. //Experientia.-1989.-Vol. 45, N 2.-S. 180-181.