

П.Ф. Забродский

**ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЯДОВ
И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Издательство

Саратовского медицинского университета

1998

УДК (615. 015. + 615. 91) : 616 - 097.3 (024)

З 12

Забродский П. Ф. Иммуотропные свойства ядов и лекарственных средств. - Саратов: Издательство Саратовского медицинского университета, 1998.- 214с.

Монография посвящена изучению иммуотропных свойств токсичных химических веществ (ТХВ) и лекарственных средств. Представлены современные взгляды на механизмы иммуотоксических эффектов ТХВ и ряда фармакологических препаратов. Рассмотрены вопросы фармакологической коррекции постинтоксикационных иммунодефицитных состояний.

Для врачей - токсикологов, иммунологов, терапевтов, гигиенистов, биологов, экологов, студентов медицинских вузов.

Табл. 15. Ил.7. Библиогр. 851 назв.

Рецензенты: доктор медицинских наук профессор В. К. Парфенюк, доктор медицинских наук профессор В.Ф. Спирин, кандидат биологических наук Е. Г. Герштейн, кандидат биологических наук М. В. Накарякова.

4108000000 - 171
3_____

И 49 (03) – 98

© П. Ф. Забродский, 1998

© Саратовский медицинский

ISBN 5 - 7213 - 0173 - 2

университет, 1998

Г л а в а 2

НАРУШЕНИЯ ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ

ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ ИНСЕКТИЦИДАМИ

Фосфорорганические инсектициды (ФОИ), являющиеся основной группой фосфорорганических соединений (ФОС), широко используются в сельском хозяйстве, промышленности, в быту. Некоторые ФОС относятся к боевым отравляющим веществам. Отравления ФОИ могут происходить при нарушении техники безопасности в процессе использования данных соединений по назначению, а также при употреблении их в качестве суррогатов алкоголя или с суицидальной целью. В настоящее время в связи с проводящимся широкомасштабным уничтожением фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) возможны массовые интоксикации при авариях и нарушениях техники безопасности.

ФОИ и ФОВ - высокотоксичные соединения. Они представляют собой большую группу ядов, обладающих антихолинэстеразным эффектом, и довольно подробно описаны в многочисленных учебниках и монографиях [25].

2.1. Действие ФОС на неспецифические факторы защиты организма

Неспецифические факторы защиты организма тесно связаны с иммунной системой. Иммунный гомеостаз обеспечивается не только специфическими реакциями, включающими функцию Т- и В-систем иммунитета, но и комплексом неспецифических факторов: бактерицидной активностью сыворотки крови, системами комплемента и пропердина, фагоцитарной активностью, системой интерферонов, лизоцимом, β -лизинами и др. [19,69].

При изучении хронического действия ФОС на бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) не выявлено значимых изменений данного показателя [54]. Острое действие ФОС на БАСК, приводящее к снижению данного показателя, описано нами в 1986 г [14]. При хроническом действии фосфорорганических соединений отмечается уменьшение активности (лизоцима) муромидазы [54,56].

В 1972 году под руководством О.А. Богомольца установлено, что острая интоксикация отравляющими веществами, относящимися к ФОС, в дозе 1,0 ЛД₅₀ также приводит к снижению лизоцимной активности сыворотки крови.

Описано непосредственное действие ФОС (диизопропилфторфосфата и других соединений) на мембрану лейкоцитов, в результате чего изменяется

концентрация калия, натрия и кальция в клетках [111,125]. Это приводит к снижению хемотаксиса лейкоцитов [124,125], уменьшению секреции гистамина, серотонина, β -глюкоронидазы и лизоцима из лейкоцитов, причем определенную роль в данном процессе играет снижение активности неспецифических эстераз данных клеток [65]. Существуют основания считать, что ацетилхолин при острой интоксикации ФОС легкой и средней степени тяжести способен оказывать противоположный эффект [74].

Ряд компонентов комплемента, обладая эстеразной активностью, ингибируется фосфорорганическими соединениями [23,31]. Установлено, что в системе "эритроциты барана-антитела кролика-комплемент морской свинки" в присутствии диизопропилфторфосфата пропорционально концентрации данного ФОС ингибируется гемолиз эритроцитов. Этот процесс связан со снижением активности основных компонентов комплемента [88].

В настоящее время известно, что комплекс антиген-антитело способен индуцировать образование фермента C1-эстеразы, под воздействием которого возникает энзиматически активный комплекс C4,2, обозначаемый как C3-конвертаза [31]. Активация C1r и C1s компонентов C1 превращает их в эстеразу, в активном центре которой находится остаток серина. Доказано, что данный энзим ингибируется ФОС [59,96].

Ингибирование первого компонента комплемента эфирами фосфорной кислоты приводит к снижению индуцируемого антигеном выделения гистамина из тучных клеток легких морской свинки [61]. Аналогичные результаты были получены при исследовании функции перитонеальных макрофагов. Изучено влияние фосфорорганических соединений на функцию ряда компонентов комплемента (C1, C2, C3, C4, C5) при классическом пути его активации. Ингибирование выделения гистамина фенил-, бензил-, 3-хлорпропил-, 5-хлорпентил- и 5-аминопентилфосфонатами на 50% происходит при их концентрациях от $2 \cdot 10^{-4}$ до $8 \cdot 10^{-4}$ М [58]. Данная реакция зависит от количества атомов углерода в алкильном радикале ФОС [61].

Существует различная видовая чувствительность первого комплемента к различным ФОС. Так, у бензилфосфоната максимальная ингибирующая активность отмечается по отношению к C1 морской свинки, а у фенилфосфоната - к C1 кролика и крысы. ФОС оказывает ингибирующий эффект на комплемент

только в процессе его активации комплексом "антиген-антитело" [58]. Особенности структуры ФОС влияют на ингибирование не только первого компонента комплемента, но и на активность ацетил-холинэстеразы, трипсина и хемотрипсина [63]. С ингибированием ФОС эстеразы системы комплемента связано снижение хемотаксиса полиморфноядерных лейкоцитов [62, 65, 121, 22]. Угнетение комплементарной активности сыворотки крови фосфорорганическими соединениями установлено при их хроническом воздействии на животных [51, 54, 55]. Нами показано, что острое действие ФОС на комплементарную активность сыворотки крови и, в частности, на основной компонент данной системы - C3, приводит к существенному снижению данных показателей [26].

При хронической интоксикации фосфорорганическими пестицидами происходит снижение фагоцитарной активности нейтрофилов [22, 38, 48, 49, 78]. С уменьшением этого показателя под влиянием ФОС связывают повышенную частоту заболеваний верхних дыхательных путей у лиц, контактирующих с фосфорорганическими инсектицидами [22, 78]. В начальном периоде хронической интоксикации (2-3 месяца) фагоцитарная активность нейтрофилов повышается, затем наступает ее существенное снижение [38]. Острая интоксикация карбофосом приводит к снижению функции лейкоцитов [41] и перитонеальных макрофагов [11]. Использование модели экспериментальной сальмонеллезной инфекции у мышей позволило выявить снижение неспецифической резистентности организма под действием фосфамида и альбуша при дозе, в 10 раз меньшей по сравнению с общепринятыми показателями. Фосфамид и альбуш воздействовали на сопротивляемость организма к инфекции в одинаковой степени. Установлена также количественная зависимость между заболеваемостью населения кишечными инфекциями и интенсивностью применения агрохимикатов [53].

Диизопропилфторфосфат и другие ингибиторы холинэстеразы *in vitro* нарушают процесс фагоцитоза вследствие взаимодействия с α -хлорацетат-АС-эстеразой нейтрофилов, связанной с мембраной клетки, а также в результате нарушения функции комплемента в ходе фагоцитарной реакции [90]. Угнетение фагоцитоза зависит от количества атомов углерода в алкильном радикале производных нитрофенилэтилфосфоната. Нарушение фагоцитарной активности нейтрофилов отмечается при концентрации различных фосфонатов от $3 \cdot 10^{-4}$ до

$1 \cdot 10^{-3}$ М, меньшие дозы ФОС не влияют на фагоцитоз [93]. Рассматривая движение фагоцитов в патологический очаг (хемокинез) как одну из фаз реакции фагоцитирующей клетки на раздражитель, следует отметить ингибирование подвижности полиморфно-ядерных лейкоцитов под влиянием диизопропилфторфосфата. При концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$ - $8 \cdot 10^{-3}$ М этого ФОС подвижность лейкоцитов уменьшалась в 3-4 раза. Возвращение клеток в среду, не содержащую антихолинэстеразных соединений, не восстанавливало подвижности лейкоцитов. Вероятно, данный эффект обусловлен ингибированием эстераз клеток [124], в частности,

α -нафтил-AS-бутиратэстеразы [85].

Существуют основания предполагать, что увеличение фагоцитарной активности под влиянием острой интоксикации ФОС может быть связано с действием ацетилхолина на М-холинореактивные структуры макрофагов и нейтрофилов [86,87,95]. По-видимому, при остром отравлении возможна реализация механизмов, как снижающих, так и повышающих активность фагоцитоза. В проведенных нами исследованиях установлено [17] (табл. 2.1), что под влиянием ФОС, происходит прямо связанное с дозой армина (необратимого ингибитора эстеразы) уменьшение летальности мышей от экспериментальной инфекции в диапазоне доз этого препарата от 0,2 до 0,75 ЛД₅₀. Данная зависимость наиболее отчетливо проявляется при регистрации летальных исходов до 18 ч.

С увеличением дозы армина до 1,0 ЛД₅₀ степень снижения летальности уменьшается, однако при регистрации эффектов до 36 ч остается выше контрольного уровня. Следует отметить, что после 36 ч гибель мышей от экспериментальной инфекции практически отсутствовала. Обращает на себя внимание интересный феномен: в дозах от 0,2 до 0,75 ЛД₅₀ на фоне повышения выживаемости животных в целом увеличивается летальность животных от инфекции в интервале 18-36 ч. При использовании в качестве холиномиметического средства ацетилхолина установлено, что через 18 ч летальность животных в контрольной и опытной группах составляла соответственно $66,6 \pm 6,9$ и $38,5 \pm 7,8\%$ ($p < 0,01$), а через 36 ч исследованный параметр в этих группах составлял $91,5 \pm 4,0\%$ (контроль) и $74,5 \pm 7,0\%$ (опыт, $p < 0,05$). Видно, что снижение гибели животных от инфекции под влиянием

холинергической стимуляции наиболее выражено в интервале 18 - 36 ч. Такая же закономерность установлена и при использовании М-холиномиметика ацеклидина: летальность через 18 ч в контроле и опыте составляла соответственно $66,7 \pm 11,1$ и $12,5 \pm 7,5\%$, а через 36 ч – $95,0 \pm 5,1$ и $37,4 \pm 15,6\%$.

Таблица 2.1.

**ВЛИЯНИЕ АРМИНА НА ЛЕТАЛЬНОСТЬ МЫШЕЙ ОТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ
(E. COLI) ЧЕРЕЗ 18 И 36 Ч**

Доза, LD ₅₀	Летальность, %			
	18 ч		36 ч	
	контроль	опыт	контроль	опыт
0,03	$70,4 \pm 9,0$ (27)	$66,7 \pm 9,8$ (24)	$77,8 \pm 8,1$ (27)	$83,3 \pm 7,8$ (24)
0,20	$19,4 \pm 6,6$ (36)	$5,5 \pm 3,8^*$ (36)	$47,2 \pm 8,3$ (36)	$33,3 \pm 7,9$ (36)
0,35	$35,0 \pm 7,8$ (37)	$5,0 \pm 3,4^*$ (40)	$54,0 \pm 8,2$ (37)	$25,0 \pm 6,8^*$ (40)
0,75	$43,5 \pm 12,6$ (23)	$8,8 \pm 4,9^*$ (34)	$91,3 \pm 5,9$ (23)	$32,3 \pm 8,0^*$ (34)
1,0	$36,0 \pm 9,8$ (25)	$28,6 \pm 8,7$ (28)	$56,0 \pm 10,1$ (25)	$28,6 \pm 8,7^*$ (28)

Примечание: в скобках - число животных; * - различия с контролем достоверны

$p < 0,05$.

При изучении влияния армина на неспецифические факторы резистентности организма установлено, что БАСК, содержание лизоцима в сыворотке крови, фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов с увеличением дозы армина от 0,05 до 0,75 возрастают, а при 1,0 ЛД₅₀ данного препарата - снижаются. При этом лизоцимная активность сыворотки крови, несмотря на существенное уменьшение, превышает контрольный уровень. При сопоставлении характера исследованных зависимостей выявлена сходная закономерность в изменении летальности и факторов неспецифической резистентности организма под влиянием холинергической стимуляции. При действии ацетилхолина (20 мг/кг) и армина (1,0 ЛД₅₀) естественная цитотоксичность составляла соответственно 38 ± 4 (n=10) и $14 \pm 2\%$ (n=9) (контроль - $29 \pm 3\%$, n=10, p < 0,05). Вероятно, именно повышением под влиянием активации холинергической системы БАСК, лизоцимной активности крови и фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов, функции естественных лимфоцитов-киллеров обусловлено выраженное снижение летальности животных от экспериментальной инфекции, особенно в интервале до 18 ч. Можно считать, что увеличение БАСК, лизоцима и фагоцитарно-метаболической активности нейтрофилов под влиянием армина происходит вследствие стимуляции М-холинореактивных структур [8]. При этом возможно прямое действие холинотропных средств на М-холинорецепторы нейтрофилов [74], в результате чего выход бактерицидных ферментов из клеток и повышение фагоцитоза реализуются вследствие увеличения внутриклеточного содержания цГМФ [95]. Такой же механизм обуславливает повышение под влиянием холинергической стимуляции (ацетилхолина) активности естественных киллеров [77,123], являющихся одним из основных факторов, определяющих антиинфекционную неспецифическую резистентность организма. Снижение неспецифических факторов резистентности организма при увеличении дозы армина до 1,0 ЛД₅₀, видимо, связано с инактивацией эстераз нейтрофилов [50] и лимфоцитов [75]. Однако, при этом повышающий антиинфекционную неспецифическую резистентность организма эффект ацетилхолина при интоксикации ФОС превышает супрессирующее действие, связанное с ингибированием эстераз клеток крови.

Данные литературы и результаты проведенных собственных исследований позволяют считать, что нарушение неспецифической

резистентности организма под влиянием ФОС могут быть обусловлены нарушением функции центральной нервной системы и нейрогуморальных механизмов [29], увеличением в плазме крови гормонов гипофиза, глюкокортикоидов и биогенных аминов [10,30,65,110], действием ацетилхолина на холинорецепторы нейтрофилов [74], изменением в клетках крови содержания циклических нуклеотидов [35,80], ингибированием эстераз нейтрофилов и моноцитов [36,50,124] и системы комплемента [58,59,84,96].

2.2. Влияние ФОС на гуморальный иммунный ответ

Активное изучение влияния фосфорорганических соединений на гуморальный иммунный ответ началось в 60-е годы. Внимание исследователей было сосредоточено на эффектах, обусловленных хроническим воздействием фосфорорганических пестицидов - ФОП [47,48,56]. Установлено, что ФОП вызывают снижение антителообразования. При последующем изучении иммунных реакций после хронического воздействия метилмеркаптофоса, хлорофоса, циклофоса и других ФОП эти результаты были подтверждены с помощью различных методов исследования гуморального иммунного ответа [9,13,37,42,72]. При ежедневном поступлении хлорофоса (5 -100 мг/кг) в организм крыс с водой через 1 месяц увеличивалось количество лимфоцитов в периферической крови, затем содержание этих клеток в тимусе и селезенке уменьшалось пропорционально суточной дозе яда [24]. У рабочих, контактирующих с ФОП, изменялись корреляционные связи внутри пула лимфоцитов и нейтрофилов, зависимость между содержанием В-лимфоцитов и общим количеством лимфоцитов [46]. Несущественное снижение титра антител под влиянием метилпаратиона сопровождалось значительным уменьшением лимфоидного индекса селезенки [108]. Дихлофос при хроническом действии в ежедневной дозе 1/40, 1/20, 1/10, ЛД₅₀ приводил к супрессии гуморальной иммунной реакции у кроликов на брюшнотифозную вакцину [71]. Аналогичное действие оказывал паратион, который в дозе

2,2 мг/кг (0,1 ЛД₅₀) при ежедневном пероральном поступлении в течение

8 суток уменьшал содержание антителообразующих клеток в селезенке у мышей в 1,5 раза [123]. Наблюдали угнетение гуморального иммунитета в дозах 1/20, 1/50, 1/100 DL₅₀ при пятикратном введении мышам карбофоса [12].

Наряду с фактами, свидетельствующими о супрессии гуморальной иммунной реакции ФОС, установлено, что лептофос (фосфорорганический пестицид) при концентрациях в пище от 10 до 500 ppm, вызывающих снижение активности холинэстеразы сыворотки крови в 1,5-8,8 раз через 12 недель, не оказывал существенного влияния на количество антителообразующих клеток селезенки при первичном и вторичном гуморальном иммунном ответе [81]. Не обнаружены сдвиги при исследовании содержания иммуноглобулинов у рабочих, обрабатывающих теплицы ФОС [70]. Хлорофос при хронической интоксикации в течение 100 дней в ежедневной дозе 1/20 ЛД₅₀ приводил даже к увеличению титра антител к брюшно-тифозному О- и Vi-антигену [55]. Аналогичные сдвиги под влиянием ФОС отмечались в отношении иммуноглобулинов М и G. При этом в сыворотке крови уменьшалось только содержание иммуноглобулинов А [82].

Неоднозначность изменений гуморальной иммунной реакции под влиянием хронической интоксикации ФОС, вероятно, связана с использованием различных доз антихолинэстеразных ядов и способов иммунизации.

В малых дозах ФОС, так же как и фармакологические средства, обладающие холиномиметическим действием, вероятно, способны оказывать стимулирующее влияние на функцию В-лимфоцитов и Т-хелперов в результате повышения внутриклеточного содержания цГМФ под влиянием ацетил-холина [1,8,85].

Влияние острой интоксикации ФОС на антителообразование в экспериментах на животных начинают исследовать с начала 70-х годов. Нарушение иммунной системы людей при острых интоксикациях фосфорорганическими инсектицидами практически не изучено. Данные отдельных сообщений свидетельствуют о том, что у больных через 1 сутки после отравления ФОС снижается содержание иммуноглобулинов в крови, а через 7-10 сут отмечается увеличение иммуноглобулинов G и A. При этом содержание иммуноглобулинов М не изменяется [4,43].

В большей степени в литературе отражено влияние острого отравления ФОС на гуморальный иммунный ответ в экспериментах на животных.

Паратион в дозе 22,3 мг/кг (1,0 ЛД₅₀) при интоксикации через 2 суток после иммунизации эритроцитами барана, т.е. в продуктивной фазе иммунного

ответа, приводил к снижению антителообразующих клеток в селезенке мышей в 3,4 раза. На индуктивную фазу иммунного ответа при введении ФОС одновременно с иммунизацией паратион существенного влияния не оказывал [123].

Аналогичные результаты получены при острой интоксикации паратионом, малатионом, дихлофосом, метамидофосом и другими фосфор-органическими пестицидами [103,112].

Паратион в дозе 16 мг/кг, вызывающей выраженную холинергическую стимуляцию и гибель 20% мышей, на 65% снижал число клеток в селезенке, синтезирующих иммуноглобулины М. При применении его через 2 суток после иммунизации (оценка иммунного ответа проводилась на 4-е сутки после иммунизации) доза 4 мг/кг, не вызывающая симптомов интоксикации, не подавляла иммунную реакцию [68]. Показано значительное угнетение антителообразования фозалоном [3].

Супрессия гуморальной иммунной реакции под влиянием ФОС сопровождалась снижением лимфоидных индексов тимуса и селезенки, уменьшением активности холинэстеразы в плазме крови и мозге, увеличением концентрации кортизола и глюкозы в крови, активности трансаминазы в печени [67,115,117]. Установлена обратная корреляция между активностью холинэстеразы в плазме крови и мозге и угнетением антителообразования [116]. Восстановление содержания лимфоцитов в тимусе и селезенке при интоксикации диметоатом происходило через 72 часа. Атропин в дозе 75 мг/кг не оказывал защитного действия на синтез антител [115].

Снижение синтеза антител в описанных экспериментах отмечалось не только при дозах, вызывающих выраженную холинергическую стимуляцию [67,68], но и при воздействии небольших доз ФОС (0,1 ЛД₅₀). При дальнейшем уменьшении дозы яда (действие метомидофоса, 0,05 ЛД₅₀) проявлялось стимулирующее влияние ФОС на гуморальный иммунный ответ [117]. Действие ФОС на синтез иммуноглобулинов классов М и G зависит от соотношения сроков интоксикации и иммунизации. Как уже отмечалось, продукция иммуноглобулинов М снижается при введении ФОС через 2 суток после антигенной стимуляции. При этом через 8 суток отмечается тенденция к увеличению синтеза иммуноглобулинов G. Однако, если вызвать интоксикацию через 6 суток после

иммунизации, то количество клеток в селезенке, синтезирующих антитела этого класса, снижается в 2 раза [67,68]. Предполагают, что супрессия иммунного ответа связана с увеличением содержания в крови под влиянием ФОС глюкокортикоидов, так как применение преднизолона в дозе 100 мг/кг вызывает аналогичный эффект, а адреналэктомия иммунотоксическое действие антихолинэстеразных ядов устраняет [116,117]. Опыты *in vitro* позволяют утверждать, что такой показатель функционального состояния В-системы, как индуцированная антииммуноглобулинами подвижность В-лимфоцитов, существенно подавляется под влиянием диизопропилфторфосфата [64]. Следовательно, нельзя признать роль глюкокортикоидов в нарушении функции В-клеток под влиянием ФОС основной. В то же время на крысах Wistar было показано, что введение внутрь форматиона в дозе 1/100 ЛД₅₀ (3,5 мг/кг) в течение 2 мес вызывает повышение кортикостерона в крови, коррелирующее со снижением гуморального иммунитета [52].

В экспериментах на кроликах и мышах В.А. Аркадьевым и соавт. (1981) установлено, что ФОС из группы отравляющих веществ в дозах 0,5 -1,0 ЛД₅₀ при использовании эритроцитов барана, брюшнотифозной вакцины и лошадиной сыворотки в качестве антигенов существенно снижают титры антител и число антителообразующих клеток в селезенке. Максимальные изменения отмечались в течение двух недель после отравления.

В целом аналогичные результаты получены нами при изучении состояния системы иммунитета после острой интоксикации ФОВ в экспериментах на различных видах животных.

Начиная с 1985 года появляется большое количество работ, посвященных исследованию токсичных эффектов фосфорорганического инсектицида малатиона и О,О,S-триметилтиофосфата, который появляется при хранении ФОП в условиях повышенной температуры [73,98,99,100,112]. Установлено, что многие иммуносупрессивные эффекты малатиона связаны с действием О,О,S-триметилтиофосфата, обладающего крайне слабой антихолинэстеразной активностью. Острая интоксикация малатионом в дозе 715 мг/кг (0,5 ЛД₅₀) через 5 суток приводила к увеличению антителообразующих клеток в селезенке после иммунизации ЭБ [98]. Отмечалось увеличение пролиферации лимфоцитов в ответ на их стимуляцию липополисахаридом и конканавалином А. При этом

количество лимфоцитов в тимусе и селезенке не изменялось. Отсутствие супрессии гуморального иммунного ответа, вероятно, можно объяснить тем обстоятельством, что при применении малатиона в дозе 0,5 ЛД₅₀ не отмечалось признаков интоксикации и изменения холинэстеразной активности плазмы. Повышение активности В-системы иммунитета может быть связано с повышением продукции ИЛ -1 и ИЛ-2. Механизм этого эффекта не ясен. Неочищенный малатион в опытах *in vitro* тормозил иммунный ответ на тимусзависимый и тимуснезависимый антигены, подавлял способность макрофагов представлять антиген [112]. В процессе изучения иммунотоксичности паратиона на мышах C57BL/6 при его пероральном введении в дозе 16 мг/кг однократно установлено снижение лимфоидного индекса животных на 25% [68].

При пероральном введении паратиона в течение четырех дней (4 мг/кг ежедневно) изменений не выявлено. При исследовании Т-зависимого гуморального иммунного ответа на ЭБ при тех же дозах изменений также не отмечалось. Изучение иммунотоксичности метилпаратиона на крысах показало, что практически изменения со стороны гуморального и клеточного иммунитета отсутствуют [108]. При изучении неспецифической резистентности организма на людях *in vitro* при применении метилпаратиона в дозе 10 нМ обнаружено снижение хемотаксиса лейкоцитов на 42% [83].

На мышах BALB/c исследовали влияние фозалона на гуморальный иммунный ответ. Фозалон вводился перорально в дозе 50 ppm на протяжении 1 месяца. Изучали содержание IgA, G, M, иммуноглобулинов других классов, а также влияние данного пестицида на Т-зависимый иммунный ответ, индуцированный ЭБ. При этом существенных изменений показателей выявлено не было [57].

Таким образом, данные литературы свидетельствуют, что интоксикация ФОС в зависимости от дозы может вызывать как супрессию гуморального иммунного ответа, так и некоторое его повышение. Незначительная стимуляция антителообразования может происходить при легких отравлениях, не сопровождающихся симптомами холинергической стимуляции.

Для оценки роли холинореактивных структур, активируемых при острой интоксикации ФОС ацетилхолином, в патогенезе нарушения В-системы

иммунитета под влиянием антихолинэстеразных соединений представляют интерес данные литературы о действии холинергических средств на синтез антител. В 50-е годы появилось большое количество работ, посвященных влиянию данных веществ на антителогенез. При исследовании действия ацетилхолина, пилокарпина, атропина и других холинергических веществ результаты, полученные различными авторами, крайне противоречивы. Это обусловлено различием в методах исследования (использованием разных видов животных, различных доз препаратов и антигенов, разнообразных режимов иммунизации). В целом эти данные обобщены в монографии [32].

Установлено, что обработка *in vitro* в течение 60 мин В-клеток крови доноров веществами, увеличивающими внутриклеточное содержание цГМФ (ацетилхолин, левамизол, дибутил-цГМФ, супероксиддисмутаза), индуцировали проявление хелперной активности у интактных В-клеток, усиление активности В-клеток памяти и частичное или полное подавление активности В-супрессоров, индуцированных антигеном [27].

2.3. Влияние ФОС на клеточный иммунитет

К реакциям клеточного иммунитета, исследованным при действии ФОС, относятся: гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ), антитело-зависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ), осуществляемая К-клетками, а также основная цитотоксическая реакция, в которой принимают участие Т-эффекторы (цитотоксические Т-лимфоциты-киллеры). При изучении иммунотоксических свойств 5 пестицидов, в том числе и фосфорорганического инсектицида - метилпаратиона, отмечалось существенное уменьшение реакции ГЗТ на туберкулин у кроликов после получения ими пестицидов в различных дозах в течение 10 и 24 суток. Супрессия реакции ГЗТ прямо зависела от дозы и времени интоксикации. Так, метилпаратион в дозах от 0,04 до 1,5 мг/кг, получаемых ежедневно, через 24 дня уменьшал реакцию на повторные введения туберкулина от 1,2 до 2,8 раз. На 10-е сутки после ежедневного получения пестицидов дозозависимый эффект для метилпаратиона и большинства исследованных пестицидов отсутствовал [108]. Реакцию ГЗТ в дозе 1/100 ЛД₅₀ (13,5 мг/кг) при пероральном поступлении в течение 2 месяцев у крыс Wistar снижал форматион, причем это было связано с увеличением содержания в крови кортикостерона [52].

С целью изучения формирования гиперчувствительности замедленного типа на различных моделях под влиянием ФОС (армина) и атропина и связи этой реакции с общим содержанием Т-лимфоцитов и Т-супрессоров в селезенке и периферической крови, нами проведены эксперименты на мышах-самцах BALB/c и крысах-самцах Wistar [18]. Армин и М-холинолитик атропин вводили подкожно в дозах соответственно 0,3 и 50 мг/кг, вызывающих у животных значительные разнонаправленные холинотропные эффекты. Определяли выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа, локальной адоптивной ГЗТ после переноса спленоцитов иммунизированных сингенных мышей и эффект переноса супрессорных клеток. О выраженности реакции судили по приросту массы стопы задней лапы мыши. Гиперчувствительность замедленного типа оценивали после иммунизации внутривенным введением 10^8 эритроцитов барана. Через 4 сут под апоневроз стопы задней лапы вводили разрешающую дозу эритроцитов барана ($5 \cdot 10^8$), оценку реакции осуществляли через 24 ч. В I и II опытных сериях этой модели гиперчувствительность замедленного типа определяли при введении разрешающей дозы эритроцитов барана через 1 и 24 ч после применения холинергических средств. Локальную адоптивную гиперчувствительность замедленного типа оценивали у мышей-реципиентов после введения им под апоневроз стопы смеси эритроцитов барана ($5 \cdot 10^8$) и спленоцитов ($4 \cdot 10^8$) от сингенных интактных мышей (отрицательный контроль), мышей, иммунизированных 10^8 эритроцитами барана (положительный контроль), и мышей, получавших внутривенно такое же количество эритроцитов барана одновременно с ФОС или атропином. Селезенку для получения клеток извлекали у доноров через 4 сут после иммунизации. При исследовании формирования ГЗТ у мышей-реципиентов после переноса им суспензии спленоцитов ($5 \cdot 10^6$), иммунизированных эритроцитами барана (10^8) сингенных доноров, реципиентов через 1 ч сенсибилизировали внутривенным введением 10^7 эритроцитов барана. Через 4 сут под апоневроз стопы реципиентов вводили разрешающую дозу эритроцитов барана ($5 \cdot 10^8$) с последующей оценкой реакции через 24 ч. Спленоциты получали через 5 сут после иммунизации доноров. Донорам одновременно с иммунизацией вводили подкожно физиологический раствор из расчета 0,1 мл на 10 г массы (контроль) или такое же количество раствора армина либо атропина (опыт). В данном эксперименте формирование ГЗТ отражало влияние холинотропных средств на вторичный иммунный ответ в системе адоптивного переноса иммунных спленоцитов. Исследование супрессии

гиперчувствительности замедленного типа у мышей проводили аналогично описанному опыту. Формирование спленоцитов-супрессоров под влиянием холинергических веществ исследовали после иммунизации доноров эритроцитами барана в дозе $8 \cdot 10^8$ внутривенно. В I и II опытных сериях этого эксперимента ФОС и атропин применяли соответственно одновременно с введением эритроцитов барана донорам и на 5-е сутки после их введения (пик формирования супрессоров ГЗТ). Во II опытной серии спленоциты получали через 3 ч после введения холинергических веществ. Супрессорную активность клеток селезенки оценивали по проценту супрессии ГЗТ [18].

Содержание Т-лимфоцитов и Т-супрессоров в селезенке и периферической крови крыс определяли на 1, 2, 3 и 6-е сутки после применения холинергических средств. Для вычисления абсолютного количества данных клеток определяли содержание лейкоцитов в крови и ядродержащих клеток в селезенке и относительное число лимфоцитов в селезенке и периферической крови в мазках. Установлено, что при применении армина за 1 ч до введения разрешающей дозы антигена существенно уменьшалось формирование гиперчувствительности замедленного типа. Атропин практически не изменял проявления данной реакции (табл. 2.2.). Введение разрешающей дозы эритроцитов барана через 24 ч после холинергических веществ существенно не влияло на реакцию гиперчувствительности замедленного типа. Полученные данные объясняются увеличением количества Т-супрессоров в периферической крови после введения армина через 1 сут с последующим уменьшением его в интервале от 1-х до 6-х суток. Применение атропина не оказывало существенного влияния на содержание Т-клеток в крови. Увеличение количества Т-супрессоров в периферической крови через 1 сут после холинергической стимуляции армином сопровождалось уменьшением их содержания в селезенке. В локальной адоптивной реакции гиперчувствительности замедленного типа армин вызывал увеличение массы стопы. Это связано со снижением количества Т-супрессоров в селезенке в период от 1-х до 6-х суток после введения препарата. Под влиянием атропина формирование гиперчувствительности замедленного типа на данной модели снижалось. Есть основания считать, что это может быть обусловлено блокадой М-холинореактивных структур клеток-эффекторов реакции гиперчувствительности замедленного типа [97]. При переносе спленоцитов иммунизированных доноров реципиентам с последующим

введением эритроцитов барана и оценкой ГЗТ установлено существенное снижение прироста массы лапы под влиянием армина. Редукция реакции гиперчувствительности замедленного типа у реципиентов под влиянием армина можно объяснить уменьшением способности спленоцитов доноров к реализации вторичного иммунного ответа под влиянием холинергической стимуляции. Снижение иммуногенности спленоцитов доноров может быть связано с ингибированием армином эстераз иммунокомпетентных клеток [75] и с блокадой атропином М-холинорецепторов иммуноцитов [97].

Таблица 2. 2.

ВЛИЯНИЕ АРМИНА (0,3 МГ/КГ) И АТРОПИНА(50 МГ/КГ)
НА ФОРМИРОВАНИЕ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО
ТИПА К ЭРИТРОЦИТАМ БАРАНА У МЫШЕЙ НА РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ

МОДЕЛЬ	УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИ- МЕНТА	ПРИРОСТ МАССЫ ЛАПЫ, МГ			
		АРМИН		АТРОПИН	
		n	M $\pm$ m	n	M $\pm$ m
Гиперчувствительность замедленного типа	Контроль	9	41,1 $\pm$ 1,8	8	36,1 $\pm$ 1,9
	опыт: I серия	9	26,2 $\pm$ 0,9**	8	31,1 $\pm$ 1,8
	II серия	15	39,2 $\pm$ 1,4	8	33,1 $\pm$ 2,0

Локальная адоптивная гиперчувстви- тельность замедленного типа	Контроль отрица- тельный	9	23,2±1,0	8	25,7±1,1
	Контроль положи- тельный	10	38,2±2,1	6	41,3±2,3
	Опыт	10	53,8±4,4**	6	35,1±2,5*
Эффект переноса спленоцитов после иммунизации	Контроль	11	89,5±8,1	6	84,3±9,2
	Опыт	9	66,3±5,6**	6	68,7±6,7
Эффект переноса супрессорных клеток	Контроль	12	35,4±2,9	6	37,1±3,8
	Опыт:				
	I серия	12	24,0±1,7**	6	32,0±3,8
	II серия	15	36,0±5,0	6	34,2±3,2

Примечание. Звездочки - достоверные различия с контролем: одна - $p < 0,05$,
две - $p < 0,01$.

При изучении влияния армина на формирование супрессоров в селезенке установлено увеличение супрессорной активности спленоцитов через 5 суток после введения армина. Это объясняется относительным увеличением количества Т-супрессоров в селезенке на фоне общего уменьшения в ней Т-лимфоцитов. Указанные сдвиги регистрировались со 2-х до 6-х суток после холин-

ергической стимуляции. Атропин не оказывал существенного влияния на эффект переноса клеток. При введении реципиентам спленоцитов от доноров, иммунизированных супрессирующей дозой эритроцитов барана ($8 \cdot 10^8$), на 5-е сутки (пик формирования гиперчувствительности замедленного типа) проявление реакции у реципиентов под влиянием армина и в контроле существенно не отличалось. Однако при анализе реакции гиперчувствительности замедленного типа у каждого животного в опыте отмечалось изменение распределения мышей по выраженности отека стопы в сравнении с контролем. У одних животных эффект переноса супрессорных клеток снижался, у других - повышался. Вероятно, это связано с особенностями миграции сформировавшихся супрессоров из селезенки через 3 ч после введения армина. Под влиянием холинергической стимуляции равновероятны два процесса: относительное увеличение в селезенке количества либо Т-эффекторов и Т-хелперов, либо клеток-супрессоров. Существенную роль при этом, очевидно, играет миграция Т-лимфоцитов из тимуса в селезенку. Так, через 3 ч после холинергической стимуляции количество лимфоцитов в тимусе у мышей уменьшалось на 25,5%. Атропин не оказывал существенного влияния на этот процесс.

Таким образом, в проведенных экспериментах армин в дозе 0,3 мг/кг (0,7 ЛД₅₀) изменял формирование реакции ГЗТ, характер проявления которой на разных моделях в основном связан с особенностями миграции Т-лимфоцитов из селезенки. Атропин в дозе 50 мг/кг не изменял содержания лимфоцитов в селезенке, уменьшал локальную адоптивную реакцию гиперчувствительности замедленного типа и не оказывал существенного влияния на формирование этой реакции на других моделях.

При хроническом воздействии фосфорорганических инсектицидов на рабочих отмечалось ингибирование Т-клеточного эффекта на митогенную стимуляцию фитогемагглютинином и уменьшение содержания Е-РОК в крови [21,28].

Г.И. Алексеевым и соавт. (1981) доказано, что острое отравление карбофосом и хлорофосом уменьшает содержание Т-лимфоцитов в периферической крови людей через 1, 3 и 5 суток соответственно в 3,5, 2,8 и 2,7 раз. Аналогичные сдвиги характерны для "активных" Т-клеток. Выявлено, что сни-

жение клеточного иммунитета коррелирует с частотой пневмоний у больных. Под влиянием хлорофоса существенно снижалась реакция трансплантат против хозяина и фагоцитарное число [12]. Данные экспериментальных исследований свидетельствуют, что угнетение клеточного иммунитета при интоксикации ФОС сопровождается изменением иммунной структуры лимфатических фолликулов селезенки, в частности, уменьшением тимусзависимых зон в этом органе с атрофией коры тимуса [108]. Отмечено различное действие дитиокарбаматов на ряд иммунологических параметров *in vitro* и на выживаемость *in vitro* лимфоцитов самок мышей B6C3F₁. Эффект зависел от дозы, отмечалось различное влияние на массу тимуса и селезенки, киллерную активность клеток. Диэтилдитиокарбамат и этилен-бис-дитиокарбамат в отличие от метилдитиокарбамата при введении в желудок в дозах 200, 225 и 300 мг/кг в сутки в течение 7 дней не влияли на киллерную активность клеток селезенки [92].

В опытах на мышах установлено, что малатион *in vitro* при концентрациях 75 мкг/мл и выше существенно снижает образование зрелых форм цитотоксических Т-лимфоцитов под влиянием клеток аллогенной опухоли Р815 [98]. Этилпаратион, метилпаратион, фенитротрион и фентиол подавляют генерацию цитотоксических Т-лимфоцитов в дозе 5 -10 мкг/мл. Преинкубация ФОС с постмитохондриальным супернатантом печени крыс, приводящая к их биотрансформации, значительно ослабляет этот эффект. Карбофуран существенно не влияет на активность цитотоксических Т-клеток, а карбанил подавляет ее в дозе 50-100 мкг/мл. Обработка карбаматов постмитохондриальным супернатантом не оказывала влияния на цитотоксичность [103]. Длительное введение малатиона (0,1 ЛД₅₀) в течение двух недель вызывало у мышей уменьшение количества Т-клеток в тимусе. Острая интоксикация данным пестицидом (0,5 ЛД₅₀) вызывала увеличение пролиферации Т-лимфоцитов при их стимуляции конканавалином А [73].

Описано, что хромосомные абберации в лимфоцитах крови рабочих, подвергавшихся в течение длительного времени действию ФОС и других пестицидов, были в 2-3 раза выше, чем у контрольных лиц [107].

С применением большого количества современных иммунологических методов исследована способность макрофагов к представлению антигена Т-клеткам и продукции ИЛ-1, проведено определение их Ia-позитивных форм [73],

изучены кооперативные взаимодействия между макрофагами, Т- и В-клетками [114], бластогенный ответ спленоцитов на митогены [104], продукция ИЛ-2 [101] под влиянием О,О,S-триметилтиофосфата. Считать установленные авторами нарушения указанных иммунных реакций характерными для всех ФОС не вполне оправдано, т.к. данное соединение, как уже указывалось, практически не обладает антихолинэстеразным действием.

В механизме нарушений системы иммунитета при интоксикации ФОС существенную роль играет глутатион. Так, в условиях *in vitro* исследовали иммунотоксическое действие О,S,S-триметилтиофосфата и вовлеченность в реализацию этого эффекта глутатиона. Показано, что преинкубация О,S,S-триметилтиофосфата с глутатионом усиливает иммунодепрессивные свойства О,S,S-триметилтиофосфата в отношении гуморального иммунного ответа, цитотоксической активности Т-лимфоцитов и макрофагов. Авторы заключают, что О,S,S-триметилтиофосфат оказывает свое иммунотоксическое действие прямым путем, без вовлечения клеток-супрессоров [113].

У лиц, подвергшихся воздействию ФОС, значительно чаще встречаются лимфопролиферативные заболевания. ФОС тормозят активность эстераз в моноцитах, цитотоксических Т-лимфоцитах, интактных и активированных лимфокинами естественных киллеров. Эти эффекты ФОС ослабляют иммунологический контроль и эффекторные функции, опосредуемые данными видами клеток. Развитие лимфомы часто связано с присутствием вируса Эпштейна-Барра и человеческого герпесвируса-6, иммунитет к которым опосредуется моноцитами, Т-лимфоцитами и естественными киллерами. Выдвигается гипотеза, что торможение активности эстераз иммунокомпетентных клеток, вызываемое ФОС, ослабляет процесс эстеразозависимой детоксикации, в результате чего способствует развитию процесса лимфомогенеза. Кроме того, снижение активности эстераз подавляет иммунитет к таким патогенам, способствующим развитию лимфом, как герпесвирусы [91].

Впервые влияние ФОС на Т-клеточную цитотоксичность было описано в 1972 году [75]. В опытах в системе *in vitro*, где клетками-эффекторами являлись спленоциты мышей, а клетками-мишенями - клетки опухоли, было показано, что диизопропилфторфосфат и другие фосфорорганические соединения прямо пропорционально концентрации уменьшают активность Т-лимфоцитов -

киллеров. Установлено, что супрессия цитотоксического эффекта обусловлена необратимым ингибированием так называемых "активированных эстераз" клеток. Данные эстеразы приобретают активность под влиянием хемотаксического фактора или при взаимодействии клетки - эффектора и клетки - мишени. Таким образом, убедительно доказана роль "активированных" эстераз, которые в настоящее время идентифицированы как α -нафтил-AS-ацетатэстераза и α -нафтил-AS-бутиратэстераза в реализации Т-клеточной цитотоксичности, и возможность существенного снижения данной иммунной реакции антихолинэстеразными ядами. ФОС в зависимости от структуры ингибировали активность Т-киллеров в диапазоне концентраций от 0,1 до 1,0 мМ на 5-100%.

В реализации механизма, ингибирующего эффекты ФОС на цитотоксичность Т-лимфоцитов, существенное значение имеет связанная с эстеразной активностью проницаемость мембраны клетки-эффектора для ионов кальция и магния. В свою очередь электролитный обмен этой клетки сопряжен с внутриклеточным содержанием циклических нуклеотидов. Показано, что диизопропилфторфосфат уменьшает АЗКЦ при концентрациях от 0,5 до 4 мМ на 5-80% [120].

При введении роннела (фенхлорфоса) перорально в дозе 0,5 ppm (ежедневно в течение 3-8 недель) отмечали снижение лимфоидного индекса тимуса на 49%. Уменьшение данного показателя регистрировали при введении фенхлорфоса перорально в дозе 1 ppm в течение 3-8 недель на 39% [105].

Изменение показателей иммунотоксичности руэлена изучали *in vitro* на клетках человека в дозе 10 нМ при экспозиции 3 суток. При этом изменений клеточного иммунного ответа, который оценивали по показателям пролиферации Т-клеток под влиянием фитогемагглютинаина, отмечено не было, однако выявлено снижение хемотаксиса на 25% [83].

При действии тритиона на пролиферацию Т-клеток человека под влиянием фитогемагглютинаина *in vitro* в дозе 10 мкМ ежедневно иммунотоксический эффект не выявлен [83].

Интересно отметить, что курение и потребление алкоголя потенцируют вызываемые метилпаратионом повреждения лимфоцитов [109].

Представляют интерес данные, свидетельствующие о том, что ацетил- и карбамилхолин усиливают пролиферацию и синтез белков в клеточной линии TAD3, их действие полностью подавляется при предварительной обработке культуры α -бунгаротоксином. Результаты свидетельствуют о влиянии холинергических агонистов на дифференцировку и созревание Т-лимфоцитов через имеющиеся на эпителиальных клетках тимуса никотиновые ацетилхолиновые рецепторы [119].

Установлено, что интоксикация пестицидами сопровождается резким угнетением продукции Т-ростковых факторов у жителей хлопкосеющих регионов, причем наиболее выраженные изменения регистрируются у подростков. Пестициды вызывают угнетение продукции Т-клеточных ростковых факторов у мышей. Супрессия продукции регистрируется при введении как хлор-, так и фосфорсодержащих соединений. Супрессия выработки Т-ростковых факторов у мышей проявляется независимо от H-2 гаплотипа и носит транзиторный характер [5].

С учетом того что под влиянием ФОС могут быть реализованы эффекты ацетилхолина, представляют интерес данные о действии на систему иммунитета холинергических агонистов. Установлено, что ацетилхолин ($5 \cdot 10^{-6}$ – $5 \cdot 10^{-7}$) вызывает кальцийнезависимую стимуляцию Т-клеток крыс. При концентрации ацетилхолина $5 \cdot 10^{-5}$ М этот эффект становится зависимым от концентрации кальция. Атропин (10^{-6} М) ингибирует включение H^3 -тимидина в ДНК, индуцируемое ацетилхолином, что доказывает роль М-холинорецепторов в пролиферации Т-лимфоцитов [85].

Показано, что лишь PNA- тимоциты (зрелые клетки) пролиферировали в ответ на карбамилхолин (10^{-12} М) или никотин при инкубации 24 ч, тогда как PNA+ (незрелые) или фракционированные клетки не отвечали на эти агенты. Таким образом, селективная активация тимоцитов может осуществляться через стимуляцию холинергических рецепторов. В митогенную активацию вовлечены никотиновые рецепторы (эффект ингибируется d-тубокурарином), а мускариновые, по-видимому, нет [106]. Основными конечными внутриклеточными регуляторами функции иммунных клеток, через которые реализуется действие нейромедиаторов и пептидных гормонов, являются цГМФ и цАМФ. Они

опосредуют также выделение и действие лимфокинов и других внутрисистемных факторов регуляции иммунного ответа.

В отношении АЗКЦ достоверно установлено, что увеличение цАМФ в клетках-киллерах приводит к редукции, а возрастание уровня цГМФ - к росту активности антителозависимой клеточной цитотоксичности [76].

2.4. Неспецифические и специфические механизмы действия ФОС

Анализ последних работ по изучению иммуносупрессивных эффектов ФОС [3,7,52] свидетельствует о недостаточно четком в настоящее время представлении о значении неспецифических (связанных со стресс-реакцией) и специфических механизмов в развитии нарушений иммунного статуса при действии ФОС.

В связи с этим нами исследовано значение неспецифических и специфических механизмов в формировании основных иммунных реакций при действии ФОС [15].

Опыты проводили на мышах - самцах СВА массой 18-22 г. В качестве ФОС применяли (подкожное введение) антихолинэстеразный инсектицид диметилдихлорвинилфосфат (ДДВФ) в дозах 0,25; 0,5 и 1,0 ЛД₅₀ (ЛД₅₀ - 40±1,2 мг/кг). Исследованные иммунные реакции при действии ДДВФ сравнивали с эффектами иммобилизационного стресса (6 ч) гидрокортизона и ацетилхолина, вводившихся подкожно в дозах соответственно 100 и 5 мг/кг.

Миграцию стволовых кроветворных клеток (СКК) из костного мозга (КМ) оценивали после облучения мышей в дозе 8 Гр при экранировании 1/2 голени методом [39] по числу колониеобразующих единиц в селезенке - КОЕ [118]. Содержание Т-клеток в тимусе определяли через 1 сут после действия изучаемых факторов по числу лимфоцитов в органе, вычисленных с учетом количества ядросодержащих клеток в вилочковой железе и относительного содержания лимфоцитов в тимограмме, учитывая, что лимфоциты в тимусе представлены практически только Т-популяцией. Реакцию ГЗТ оценивали по приросту массы стопы задней лапы мыши. Иммунизацию животных осуществляли внутри-венным введением 10⁸ ЭБ. Разрешающую дозу ЭБ (5 · 10⁸) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут после иммунизации. Исследованные препараты применяли за 1 ч до введения разрешающей дозы ЭБ. В этот же период

заканчивали стрессорное воздействие. Оценку реакции осуществляли через 24 ч. Активность естественных клеток - киллеров (ЕКК) определяли спектрофотометрически через 24 ч после стрессорного воздействия или введения исследованных препаратов по методу [6]. Антителозависимую клеточную цитотоксичность оценивали через 5 сут после иммунизации мышей 10^8 ЭБ [20], осуществляемой одновременно с введением исследованных препаратов или непосредственно после стрессорного воздействия. Число антителообразующих клеток (АОК) в селезенке определяли общепринятым методом через 5 сут после иммунизации $5 \cdot 10^8$ ЭБ, проводимой после стрессорного воздействия или одновременно с применением исследованных препаратов. Кортикостерон определяли флюорометрически через 2 ч после применения исследованных препаратов или непосредственно после иммобилизационного стресса. Активность α -нафтилбутиратэстеразы спленоцитов изучали гистохимическим методом [50]. Проведенные исследования (табл. 2. 3.) показали, что под влиянием ДДВФ в прямой зависимости от дозы происходит усиление миграции СКК из КМ в селезенку. Аналогичное действие характерно и для ацетилхолина, а стрессорное воздействие и гидрокортизон вызывают обратный эффект. Полученные результаты свидетельствуют о том, что увеличение выхода СКК из КМ связано с действием ацетилхолина, причем этот специфический эффект при необратимом ингибировании ацетилхолинэстеразы ДДВФ преобладает над торможением миграции СКК, вызываемым повышением концентрации в крови кортикостерона (неспецифический механизм). Торможение миграции СКК из КМ при стимуляции коры надпочечников известно [40]. Вероятно, механизм индукции ацетилхолином миграции СКК аналогичен описанному при изучении подвижности В-лимфоцитов данным медиатором [2].

При увеличении вводимой дозы ДДВФ происходило прямо связанное с ней уменьшение Т-клеток в тимусе. Таким же образом действовали стрессорный фактор, гидрокортизон и ацетилхолин. Вероятно, инволюция тимуса при действии ФОС связана преимущественно с выходом тимоцитов из органа под влиянием кортикостероидов (неспецифический механизм) и активацией М-холинорецепторов тимоцитов ацетилхолином - специфический эффект [87], и в меньшей степени - с цитотоксическим действием гормонов коры надпочечников [79].

Инттоксикация ДДВФ и другие исследованные факторы, за исключением ацетилхолина, существенно снижали реакцию ГЗТ. Как показывает анализ изменения содержания кортикостерона в плазме крови под влиянием ДДВФ и стрессорного воздействия, это обусловлено ингибированием исследованной реакции кортикостероидами (неспецифический механизм), и, вероятно, инактивацией эстераз моноцитов и Т-клеток, определяющих формирование ГЗТ (специфический эффект).

При исследовании естественной цитотоксичности (ЕЦ) установлено ее снижение, прямо связанное с дозой ДДВФ. Аналогичные эффекты оказывают стрессорное воздействие и гидрокортизон (неспецифический механизм). Подавление активности ЕКК при стрессе и оценка роли при этом ИЛ-2 и интерферона детально изучены [44,45]. Необходимо отметить, что выводы, следующие из этих работ, позволяют предположить возможность восстановления активности ЕКК как при различных видах стресса, так и при интоксикации ФОС применением ИЛ-2 или интерферона вследствие наличия общих механизмов, приводящих к формированию иммунодефицитного состояния. Взаимосвязь угнетения ЕЦ с ингибированием α -нафтилбутиратэстеразы в спленоцитах свидетельствует и о наличии специфического механизма снижения ЕЦ при интоксикации ФОС.

АЗКЦ существенно уменьшалась при действии ДДВФ. Супрессия активности показателя была прямо связана с дозой ФОС, концентрацией в плазме крови кортикостерона и находилась в обратной зависимости от активности эстеразы спленоцитов (специфический эффект). Влияние стресса и гидрокортизона на АЗКЦ не выявлено. Ацетилхолин несущественно увеличивал данный показатель. Анализ вышеизложенного свидетельствует о снижении АЗКЦ вследствие инактивации эстераз К-клеток.

Число АОК в селезенке находилось в обратной зависимости от дозы ДДВФ, концентрации кортикостерона в плазме крови (неспецифический эффект) и было прямо связано с активностью эстеразы в спленоцитах (специфический эффект). Ацетилхолин увеличивал гуморальную иммунную реакцию, вероятно, вследствие механизмов, описанных в работах [2,87]. Обращает на себя внимание большее снижение под влиянием ДДВФ Т-зависимого антителообразования (к ЭБ) по сравнению с тимуснезависимым (к Vi-Ag). Это, ви-

димо, связано с инактивацией эстераз Т-клеток, локализованных преимущественно в этих лимфоцитах [50]. Не выявлено различий в изменении гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и Т-независимому антигенам под влиянием стресса и гидрокортизона.

Таким образом, изменение иммунного статуса при действии ФОС связано как с неспецифическим стрессорным влиянием кортикостероидов на отдельные иммунные реакции, так и со специфическими механизмами, к которым следует отнести ингибирование эстераз иммунокомпетентных клеток и действие ацетилхолина. Значимость неспецифических и специфических эффектов в формировании иммунодефицитного состояния после интоксикации ФОС различна в зависимости от исследуемой иммунной реакции. Наличие ряда общих механизмов возникновения иммуносупрессии при стрессе и интоксикации ФОС предполагает возможность использования сходных способов фармакологической коррекции нарушений иммунного гомеостаза, вызываемых этими факторами.

2.5. Влияние антидотной терапии на систему иммунитета при остром отравлении ФОС

При разработке способов профилактики и лечения постинтоксикационных иммунодефицитных состояний, сопровождающихся различными инфекционными осложнениями и заболеваниями, важно знать характер модуляции иммунных реакций специфическими средствами терапии острых отравлений ФОС. Данный вопрос в настоящее время практически не изучен. В связи с этим нами определялось влияние на гуморальный и клеточный иммунные ответы атропина и дипиросима при острой интоксикации диметилдихлорвинилфосфатом (ДДВФ). Опыты проводили на мышах СВА массой 18-22 г. ДДВФ вводили подкожно в дозе 1,0 ЛД₅₀ (40±1,2 мг/кг). Для изучения влияния атропина и дипиросима на иммунные реакции при остром отравлении ФОС данные препараты вводили животным после появления тремора и судорог внутрибрюшинно в дозах соответственно 20 и 15 мг/кг. Миграцию стволовых кроветворных клеток (СКК) из костного мозга (КМ) оценивали после облучения мышей в дозе 8 Гр при экранировании 1/2 голени методом [39] по числу колониеобразующих единиц (КОЕ) в селезенке [118]. Содержание Т-клеток в тимусе определяли через 1 сут после действия изучаемых факторов по числу лимфо-

цитов в органе, вычисленных с учетом количества ядросодержащих клеток в вилочковой железе и относительного содержания лимфоцитов в тимограмме, учитывая, что лимфоциты в тимусе представлены практически только Т-популяцией. Реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) оценивали по приросту массы стопы задней лапы мыши. Иммунизацию животных осуществляли внутривенным введением 10^8 эритроцитов барана (ЭБ). Разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут после иммунизации. ДДВФ без средств антидотной терапии и с последующим применением атропина и дипироксима вводили за 1 ч до разрешающей дозы ЭБ. Оценку реакции осуществляли через 24 ч. Гуморальный иммунный ответ к тимуснезависимому Vi-антигену исследовали через 8 сут после внутрибрюшинной иммунизации мышей брюшнотифозным Vi-антигеном в дозе 8 мкг/кг в реакции пассивной гемагглютинации. Активность естественных клеток - киллеров (естественную цитотоксичность - ЕЦ) определяли спектрофотометрически через 24 ч после введения исследованных препаратов по методу [6]. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) оценивали через 5 сут после иммунизации мышей 10^8 ЭБ [20], осуществляемой через 1 ч после введения исследованных препаратов. Число антителообразующих клеток (АОК) в селезенке определяли общепринятым методом через 5 сут после иммунизации мышей ($5 \cdot 10^8$ ЭБ), проводимой через 1 ч после применения ДДВФ без использования и с использованием антидотов.

Нами установлено [16], что под влиянием ДДВФ существенно увеличивалось содержание КОЕ в селезенке. Введение после яда антидотов не изменяло характера миграции СКК из костного мозга по сравнению с контролем. Холинергическая стимуляция, вызванная ДДВФ, приводила к значительному снижению Т-клеток в тимусе. Антидотная терапия атропином острой интоксикации ФОС отменяла данный эффект. Применение дипироксима при отравлении ДДВФ достоверно снижало действие ФОС на содержание Т-клеток в тимусе, однако при этом в отличие от использования атропина исследованный показатель был значительно меньше контрольного уровня (табл. 2. 4.).

Таблица 2. 4.

**ВЛИЯНИЕ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ НА ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ
ПРИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ДДВФ**

Исследованный параметр	Контроль	ДДВФ, 1,0 LD ₅₀	ДДВФ + атропин	ДДВФ + дипириксим	p<0,05 в сравняемых группах
Число КОЕ в селезенке	1	2	3	4	
	9,4±1,6 (14)	19,0±3,0 (9)	11,8±3,0 (10)	14,5±3,2 (10)	1-2
Содержание Т клеток в тимусе, 10 ⁶	76±8 (9)	34±5 (6)	68±7 (10)	45±6 (10)	1-2; 1-4; 2-3; 2-4; 3-4
Реакция ГЗТ (прирост массы стопы, мг)	42,5±1,8 (8)	24,7±1,2 (7)	22,3±1,7 (9)	36,3±2,2 (9)	1-2; 1-3; 2-4; 3-4
ЕЦ, %	33±5 (13)	12±2 (9)	9±3 (10)	25±4 (10)	1-2; 1-3; 2-4; 3-4
АЗКЦ, %	10,1±1,5 (9)	4,1±0,7 (8)	3,4±1,2 (10)	7,4±1,1 (10)	1-2; 1-3; 2-4; 3-4
АОК, 10 ³	34,8±4,3 (8)	15,5±2,8 (6)	8,0±2,1 (10)	22,3±3,5 (10)	1-2; 1-3; 1-4; 2-4; 3-4

Примечание: в скобках - число животных в серии.

Полученные результаты позволяют считать, что увеличение миграции стволовых кроветворных клеток из костного мозга и снижение Т-клеток в тимусе связаны с активацией М-холинореактивных структур. При этом снижение Т-клеток в тимусе зависит как от активации их миграции ацетилхолином, действующим на М-холинорецепторы тимоцитов, так и от эффекта глюкокортикоидов, концентрация которых в крови при действии ФОС увеличивается [52]. Реакция ГЗТ при острой интоксикации ДДВФ существенно снижалась, причем применение атропина не восстанавливало ее до контрольного уровня (отмечается даже незначительное увеличение супрессии иммунных реакций). При использовании в качестве антидота дипироксима формирование ГЗТ существенно не отличалось от показателя в контроле. Аналогично изменению ГТЗ при интоксикации ДДВФ без применения и с использованием антидотных средств изменялись ЕЦ и АЗКЦ. Можно предположить, что супрессия данных иммунных реакций реализуется путем ингибирования эстераз Т-эффекторов ГЗТ, естественных киллеров и К-клеток [7,75], причем блокирование при этом их М-холинореактивных структур может приводить лишь к некоторому усилению выявленных эффектов, так как атропин снижает формирование ГЗТ [18] и пролиферацию лимфоцитов [75].

Число АОК в селезенке при действии ДДВФ значительно снижалось, при использовании в качестве антидота атропина супрессия гуморального иммунного ответа усиливалась. Дипироксим увеличивал число АОК в селезенке по сравнению с показателем в группе с острой интоксикацией без применения антидотных средств, однако данный показатель был все же достоверно ниже, чем в контроле. При исследовании влияния острой интоксикации ДДВФ без применения и с применением антидотных препаратов на продукцию антител к тимуснезависимому Vi-антигену установлено [16], что атропин практически не влияет на формирование постинтоксикационной иммуносупрессии, а дипироксим восстанавливает антителообразование до контрольного уровня. Сопоставляя влияние лечения атропином интоксикации ФОС на гуморальный иммунный ответ к тимусзависимому и Т-независимому антигенам можно заключить, что усиление супрессии гуморальной иммунной реакции атропином при действии ДДВФ в отношении тимусзависимого антигена выражено в большей степени. Это свидетельствует о снижении атропином функции Т-хелперов.

Роль исследованных иммунных реакций при острой интоксикации ДДВФ в реализации гуморального и клеточного иммунных ответов различна. Увеличение миграции СКК из костного мозга является фактором, способным снижать реализацию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. Выявленное под влиянием ДДВФ снижение Т-клеток в тимусе, реакции ГЗТ, ЕЦ, АЗКЦ, числа АОК в селезенке и продукции антител к тимуснезависимому Vi-антигену свидетельствует о выраженной супрессии гуморального и клеточного иммунитета. При этом атропин, сохраняя содержание Т-клеток в тимусе, тем не менее увеличивает проявления постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. Напротив, дипироксим, не влияя на инволюцию тимуса, снижает супрессию гуморальных и клеточных иммунных реакций, вызванную ДДВФ. Данное действие дипироксима вероятно связано не только с реактивацией ацетилхолинэстеразы и холинорецепторов, гидролизом ДДВФ, но и с реактивацией эстераз иммунокомпетентных клеток.

Материалы, изложенные в данной главе, свидетельствуют о том, что механизмы иммунотоксических эффектов ФОС в сублетальных дозах определяются эффектом гормонов надпочечников, ингибированием эстераз преимущественно Т-хелперов, моноцитов, нейтрофилов, системы комплемента, действием высоких концентраций ацетилхолина на М-холинорецепторы иммуноцитов. В результате реализации данных механизмов происходят снижение гуморального иммунного ответа (преимущественно на Т-зависимый антиген) и супрессия клеточных иммунных реакций. В диапазоне концентраций ФОС от 0,2 до 1,0 ЛД₅₀ отмечается увеличение неспецифической антиинфекционной резистентности организма, оцениваемой по летальности животных от экспериментальной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов В.В., Ширинский В.С., Лозовой В.П., Козлов В.А. Влияние ацетилхолина на синтез Ig G и пролиферацию лимфоцитов в культуре мононуклеаров, выделенных от больных ревматоидным артритом, раком молочной железы и здоровых доноров //Иммунология.-1986.-N 6.-С. 83-86.
2. Адо А.Д., Гольдштейн М.М., Донцов В.И. Ацетилхолининдуцированная подвижность лимфоцитов интактных и сенсibilизированных мышей //Бюл. эксперим. биологии и медицины.-1983.-N 4, -С. 66-67.

3. Алимова М. Т., Маджидов А. В., Арипова Т. У. Влияние пестицидов на антитело-образование и иммунорегуляторные показатели лимфоцитов у мышей // Иммунология.-1991.-N 2.-С. 33-34.
4. Ананченко В.Г., Лужников Е.А., Алехин Ю.Д. и др. Влияние фосфорорганических пестицидов на систему иммунитета при острых пероральных отравлениях //Сов. мед.-1987.-N 3.-С. 106-108.
5. Арипова Т. У., Маджидов А. В., Алибекова М. Г., Камалов З.С. Влияние пестицидов на продукцию интерлейкина-2 // Иммунология.-1991.-N 2.-С. 67-68.
6. Гордиенко С.М. Приемлемый для клинической практики метод оценки активности естественных антителозависимых киллерных клеток //Лаб. дело.-1983.-N 9.-С. 45-48.
7. Гущин Н.В., Хайдарова Д.С., Кугушева Л.И. и др. Активность ацетилхолинэстеразы лимфоцитов крыс при интоксикации пестицидами //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1991.-Т. 111, N 2.-С. 144-146.
8. Денисенко П.П. Роль холинореактивных систем в регуляторных процессах.-М: Медицина.-1980.-С. 296.
9. Дипоева С.К. Динамика изменений иммунной структуры лимфатических фолликулов селезенки при интоксикации пестицидами. //Гигиена и санитария.-1974.-N 3.-С. 85-87.
10. Дорошевич А.Л. Влияние фосфорорганических соединений на содержание неко-торых биогенных аминов: Автореф. дис... канд. мед. наук.- Минск.-1971.-С. 23.
11. Жамсаранова С.Д., Лебедева С.Н., Ляшенко В.А. Оценка функциональной активности макрофагов при воздействии карбофоса и 2,4 Д //Сборник науч. трудов ВНИИ гигиены и пестицидов, полимеров и пласт. масс.-1988.-N 18.-С. 143-147.
12. Жамсаранова С.Д., Миронова Э.С., Сергеева З.Д. и др. Использование показателей иммунной системы организма животных при оценке пороговых доз пестицидов //Гигиена и санитария.-1990.-N 2.-С. 75-76.
13. Жминько П.Г. Токсикодинамика и особенности токсического действия нового пестицида циклофоса //Проблемы охраны здоровья населения и защиты окружающей среды от химических вредных факторов: Тез. докл. I Всес. съезда токсикологов.-Ростов н/Д.,1986.-С. 296-297.
- 14.Забродский П. Ф. Иммуотропные свойства ацетилхолинэстеразных веществ// Проблемы охраны здоровья населения и защиты окружающей среды от химических вредных факторов. Тез. докл. I Всес. съезда токсикологов.-Ростов н/Д, ,1986.-С. 342-343.
15. Забродский П.Ф. Механизмы иммуотропных эффектов фосфорорганических соединений //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1993.-Т. 116, N 8.-С. 181-183.
16. Забродский П.Ф. Влияние антидотных препаратов на иммунные реакции при острой интоксикации диметилдихлорвинилфосфатом //Эксперим. и клин. фармакология.-1995.-N 2.-С. 49-51.

17. Забродский П.Ф. Изменение антиинфекционной неспецифической резистентности организма под влиянием холинергической стимуляции. //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1995.-N 8.-С. 164-167.
18. Забродский П.Ф., Мышкина А.К. Влияние холинергической стимуляции на формирование гиперчувствительности замедленного типа //Иммунология.-1989.-N 6.-С. 88.
19. Земсков М.В., Журавлева Н.В., Земсков В.М. Современные представления о природе и механизме неспецифической резистентности организма //Журн. микробиологии.-1972.-N 3.-С. 112-119.
20. Зимин Ю.И., Ляхов В.Ф. Эффект кооперации в реакции зависимой от антител клеточной цитотоксичности //Иммунология.-1985.-N.1.-С. 27-30.
21. Золотникова Г.П. К вопросу о ранней диагностике и профилактике профпатологии пестицидной интоксикации у тепличниц //Гиг. труда и проф. заболеваний.-1978.-N 12.-С. 14-18.
22. Золотникова Г.П. О нарушении иммунологической реактивности организма под воздействием пестицидов в условиях теплиц //Гиг. труда.-1980.-N 3.-С. 38-40.
23. Иванов А.А. Система комплемента, структура, функция и средства угнетения //Успехи современной биологии.-1977.-Т. 83, вып. 2.-С. 251-264.
24. Иванов В.В. Изменение численности и качественного состояния лимфоцитов при хроническом радиационно-химическом поражении крыс. //Гигиена и санитария.-1986.-N 3.-С. 37-40.
25. Каган Ф.С. Токсикология фосфорорганических пестицидов.-М.: Медицина, 1977.-296 с.
26. Кажекин А.А., Забродский П.Ф. Влияние холинергических веществ на комплементарную активность сыворотки крови //Материалы 23-й итог. конференции проф.-препод. состава ВМедФ при Куйбышевском мед. институте.-Куйбышев.-1990.-С. 231.
27. Калинин А.Г., Борисова Л.С., Инжеваткина С.М. и др. Влияние веществ, увеличивающих внутриклеточное содержание цГМФ, на функциональную активность В-клеток у мышей //Иммунология.-1988.-N 4.-С. 33-36.
28. Кащенко Л.А., Разибакиевич Р.М., Федорина Л.А. Т- и В-система иммунитета у больных интоксикацией пестицидами //Гиг. труда и проф. заболеваний.-1981.-N 4.-С. 17-19.
29. Корнева Е.А. Нервная система и иммунитет //Вестник АМН СССР.-1988.-N 11.-С. 76-85.
30. Кузьминская У.А. Иваницкий В.А. Шилина В.Ф. Патогенетическое значение изменений состояния биогенных аминов в патологии, связанной с воздействием химических факторов внешней среды //Эндокринная система организма и токсические факторы внешней среды. Л., 1980.-С. 210-219.
31. Кульберг А.Я. Молекулярная иммунология //М.: Высш. школа.-1985.-287 с.

32. Лазарева Д.Н., Алехин Н.К. Стимуляторы иммунитета.-М.: Медицина, 1985.-256 с.
33. Ляшко В.Н., Сухих Г.Т. Межлинейные различия в клеточной реакции глюкокортикоидов у мышей и степень подавления активности нормальных киллеров при иммобилизационном стрессе //Бюл. эксперим. биол и мед.-1987.-Т. 103.-N 3.-С. 273-276.
34. Манько В.М. Хаитов Р.М. Макрофаги: гетерогенность и роль в иммунных реакциях //Успехи современной биологии.-1985.-Т. 99, вып. 1.-С. 110-122.
35. Маянский Д.Н. Система фагоцитов: методические проблемы //Патол. физиол. и эксперим. терапия.-1986, вып. 2.-С. 83-86.
36. Михеева А.Н. Кардос В.С., Клионский А.Г. и др. О нормах ферментативной активности лейкоцитов //Лаб. дело.-1970.-N 1.-С. 5-7.
37. Николаев А.И. Пономарева Л.А. Гиллер И.С. и др. Иммунодепрессивное действие некоторых ядохимикатов //Фармакол. и токсикол.-1972.-Т. 35, С. 352-355.
38. Перельгин В.М. Шнирт М.Б., Арипов О.А. Действие некоторых пестицидов на иммунологическую реактивность // Гигиена и санитария.-1971.-N 12.-С. 29-33.
39. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Миграция стволовых клеток из экранированного костного мозга у неравномерно облученных мышей //Радиология.-1972.-N 1.-С. 69-76.
40. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Иммунологические механизмы клеточного гомеостаза //Гомеостаз.-М.: Медицина, 1981.-С. 312-362.
41. Пирихалава А.В. Гетерогенная реакция острого отравления организма хлорофосом //Сообщ. АК ГССР.-1989.-Т. 133, N 2.-С. 421-424.
42. Присяжнюк Т.Н., Петровская О.Г., Кузьменко Н.М. Особенности воздействия хлорофоса на организм теплокровных //Гигиена и санитария.-1986.-N 6.-С. 65-67.
43. Решетова Н.В., Мамонов А.В. Косников В.В., Малашенькова И.К. /Тр. 2 Науч. конф. мол. ученых НИИ физ.-хим. мед., Москва, 26 марта, 1987. //НИИ физ.-хим. мед., М., 1987.-С. 49-54.
44. Сухих Г.Т., Малайцев В.В. Богданова И.М. Интерлейкин-2 и его возможная роль в патогенезе стрессорных изменений иммунной системы //Докл. АМ СССР, 1984.-Т. 278, N 3.-С. 762-765.
45. Сухих Г.Т., Меерсон Ф.З. Предупреждение депрессии активности нормальных киллеров при стрессе с помощью адаптации к периодическому действию гипоксии //Бюл. эксперим. биологии и медицины.-1985, XCIX, С. 458-459.
46. Федоров С.М., Мазина Н.М., Бухова В.П., Куршакова Т.С. Иммунологические показатели у больных профессиональными дерматозами, вызванными фосфорорганическими пестицидами //Вестн. дерматол. и венерол.-1988.-N 8.-С. 46-48.
47. Феерман И.С., Бонгард Э.М., Лашенко Н.С. К вопросу о хронической интоксикации хлорофосом //Гиг. труда.-1964.-N 11.-С. 36-38.

48. Фризман Г.И. Влияние севина, хлорофоса и ДДТ на некоторые специфические иммунологические показатели иммунобиологической и общей реактивности организма (к проблеме токсических воздействий малой интенсивности) //Вопросы гигиены и токсикологии пестицидов. М.: Медицина, 1970.-С. 139-145.
49. Хамидов М.Х., Мухтарова М.И. Влияние гексохлорана на фагоцитарную активность нейтрофилов //Мед. журн. Узбекистана.- 1984.-N 5.- С. 49-51.
50. Хейхоу Ф.Г.Дж, Кваглино Д. Иммунологическая цитохимия.-М.: Медицина, 1983.-319 с.
51. Ховиева Л.А., Штенберг А.И. Иммунологическое состояние организма при воздействии малых доз хлорофоса и метилнитрофоса //Гиг. и санитария.-1976.-N 1.-С. 98-100.
52. Хусинов А.А., Хайдарова Д.С., Гущин Г.В., Лесникова М.П. Нейроэндокринная система и специфические факторы иммунитета при отравлении пестицидами //Бюл. эксперим. биологии и мед.-1991.-Т. 111, N 12.-С. 623-624.
53. Чугунихина Н.В., Хасанова М.И. Влияние пестицидов на неспецифическую сопротивляемость организма инфекции. //Гиг. и санитария.-1994.-N 1.-С. 19-21.
54. Шафеев М.Ш. Влияние некоторых пестицидов и их комбинаций на показатели иммунитета и неспецифической реактивности организма: Автореф. дис. канд. мед. наук.-Казань, 1978.-С. 26.
55. Шафеев М.Ш. Влияние хлорофоса на некоторые показатели иммунологической реактивности организма//Изучение экстремальных состояний.- Казань, 1976.-С. 60-63.
56. Штенберг А.И., Джунусова Р.М. Угнетение иммунологической реактивности организма животных под влиянием некоторых ФО пестицидов //Бюл. эксперим. биол.- 1968.-N 3.-С. 86-88.
57. Audre F., Gillon., Lafout S., Yourdan G. Pesticide-containing diets augments anti-sheep red blood cell njn reaginic antibody responses in mice but viay prolong murine infection with Giardia muris //Environ. Res.-1983.-Vol. 32, N 1.-P. 145-150.
58. Austen K. F., Becker E.L. Mechanisms of immunologic injuru of rat peritoneal mast cells. II. Complement requizement and phosphonate ester inhibition of release of histamine by rabbit anti-rat gamma globulin //J. exp. med.-1966.-Vol. 124, N 3.-P. 397-416.
59. Becker E.Z. Concerning the mechanism of complement activity by di-isopropilfluorophosphate. //J. Immunol.-1956.-Vol. 77, N 6.-P. 462-468.
60. Becker E.Z., Austen K.F. A comparison the specificity of inhibbition by phosphonate esters of the first cjmponent of cjmpltment and the antigen-induced release of histamine from guinea hig lung. //J. Exp. Med.-1964.-Vol. 120, N 4.-P. 491-506.
61. Becker E.Z., Austen K.F. Mechanisms of immunologic injuru of rat peritoneal mast cells. I. The effect of phosponate inhibitors on the homocytotropic component of rat complement. // J. exp. med.-1966.-Vol. 124, N 3.-P. 379-395.

62. Becker E.Z., Phosphonate inhibition of the accumulation and retention of K⁺ by rabbit neutrophils in relation to chemotaxis //J. Immunol.-1971.-Vol. 106, N 3.-P. 689-697.
63. Becker E.Z., Koza E. P., Sigman M. Organophosphorus inhibition of lysosomal enzyme secretion from polymorphonuclear leukocytes. Evidence of lack of a requirement for esterase activation //Immunology.-1978.-Vol. 35, N 5.-P. 373-380.
64. Becker E.L., Unanue E.R. The requirement for esterase activation in the anti-immunoglobulin-triggered movement of B lymphocytes //J.Immunol.-1976.-Vol. 117, N 1.-P. 27-32.
65. Becker E.L., Ward P.A. Partia 1. Biochemical characterization of the activated esterase required in the complement-dependent chemotaxis of rabbit polymorphonuclear leucocytes //J.Exp.Med.-1967.-Vol.125, N 6.-P. 1021-1030.
66. Brzezinski J. The effect of poisoning with phosphorus organic insecticides on the catecholamine levels in rat plasma brain and adrenals //Diss. pharm. et pharmacol. PAN.-1972. -Vol.24, N 2.-P. 217-220.
67. Casale G.P., Cohen S.D., DiCapva. R.A. The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody response to sheep erythrocytes in inbred mice //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1983.-Vol. 68, N 2.-P. 198-205.
68. Casale G.P., Cohen S.D.,DiCapva R.A. Pavathion of humoral immunity in inbred mice //Toxicol. Lett.-1984.-Vol. 23, N 2.-P. 239-247.
69. Descotes G., Mazue G. Immunotoxicology /Adv. Vet. Sci. and Comp. Med. Vol. 31.-Orlando e. a., 1987.-P. 95-119.
70. Desi I., Palotas M., Vetro G. et al. Biological monitoring and health surveillance of a group of greenhouse pesticide sprayers //Toxicol.Lett.-1986.-Vol. 33, N 153.-P. 91-105.
71. Desi I., Varga L., Farkas I. The effect of DDVP, on organophosphorus pesticide on the humoral and cell-mediated immunity of rabbits /Further studies in the assessment of toxic action //Arch. Toxicol.-1980.-Suppl. 4.-P. 171-174.
72. Desi I., Varga L. Immuntoxikologische Untersuchungen der Pestizide von hygienischen Standpunkt //Zbl. Pharm. Pharmakotherap. und Laboratoriumsdiagn.-1983.-Vol. 122, N 2 (22 Jahrestag Yes. Pharmakol. und Toxicol. DDR, Neubrandenburg, 2-4, Sept., 1982), P. 154-155.
73. Devens B.H., Grayson H.M, Imamura T., Rodgers K.E. O,O,S-trimethyl phosphorothionate effects on immunocompetence //Pestic. Biochem. and Physiol.-1985.-Vol. 24, N 2.-P. 251-259.
74. Dulis B.H., Gordon M.A., Wilson J.B. Identification of muscarinic binding sites in human neutrophils by direct binding //Molec. Pharmacol.-1979.-Vol. 15, N 1.-P. 28-34.
75. Ferluga J., Asherson G.L., Becker E.L. The effect of organophosphorus inhibitors, p-nitrophenol and cytocholasin-B on cytotoxic killing of tumor cells by immune spleen cells and the effect of shaking //Immunol.-1972.-Vol. 23, N 4.-P. 577-590.

76. Garoroy M.R., Strom T.B., Kaliner M., Carpenter C.B. Antibody-dependent lymphocyte mediated cytotoxicity mechanism and modulation by cyclic nucleotides //Cell. Immunol.-1975.-Vol. 20, N 2.-P. 197-204.
77. Grabczewska E., Lascowska-Bozek H., Maslinski M., Ryzewski J. Receptory muskarinowe na limfocytach ludzkich stymulowanych fitohemaglutynina //Reumatologia.-1990.-T. XXVIII, N 4.-P. 171-179.
78. Hermanowicz A., Kossman S. Neutrophil function and infectious disease in workers occupationally expased to phosphoorganic pesticides: role of mononuclear-derived chemotactic factor for neutrophils //Clin. Immunol. and Immunopathol.-1984.-Vol. 33, N 1.-P. 13-22.
79. Heideman M., Bentgson A. Immunological interference of high dose corticosteroids //Acta chir. scand.-1985.-Vol.151, N 526.-P. 48-55.
80. Henson P.M., Oades Z.G. Activation of platelets by platelet-activating factor (PAF) derived from IgE-sensitired basophils. II. The role of serine proteases, cyclic nucleotides, and contractile elements in PAF-induced secretion //J. Exp. Med.-1976.-Vol. 143, N 4.-P.953-968.
81. Koller L.D., Exon J.H., Roan J.G. Immunological surveilance and toxicity in mice exposed to the organophosphate pesticide coptophos //Envir. Res.-1976.-Vol. 12, N 12.-P. 238.
82. Kossman S., Konieczny B., Panek E. Immunoelektroforogram oraz sterenie immunoglobulin G, A, M, W surowicy krwi procownikov zatrunionych przy produkcji pestycydow fosforoorganicznych //Med. pr. -1985.-Vol. 36, N 1.-P. 27-30.
83. Lee T.P., Moscati R., Park B.H. Effects of pesticides on human leukocyte functions //Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.-1979.-Vol. 23, N 1.-P. 597-601.
84. Levine L. Inhibition of immune hemolysis by di-isopropylfluorophosphate //Biochem. of Biophisica Acta.-1955.-Vol. 18, N 2.-P. 283-284.
85. MacManus J.P.,Bounton A.L.,Whitefield J.F. et al. Aceytlcholine-induced initiation of thymic lymphoblast DNA synthesis and proliferation //J. Cell. Physiol.-Vol. 85, N 2.-P. 321-330.
86. Masini E., Fantozzi R., Conti A. et al. Mast cell heteroheneity in response to cholinergic stimulation //Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol.-1985.-Vol. 77, N 1-2.-P. 184-185.
87. Maslinski W., Krystyniak K., Grabczewska E. et al. Muscarinic acetylcholine receptous of rat lymphocytes //Biochim. biophys. Acta.-1983.-Vol. 758, N 1.-P. 93-97.
88. Mc Grath J., Wong S. Immunotoxicology of inhalants and methods of evaluation //Inhal. Toxicol.: Res. Meth., Appl., and Eval.-New-York, Basel, 1987.-P. 255-291.
89. Moody-Corbert F., Brehm P. Acethylholine reduces rectification on thymus-derived macrophage cells in culture //Can. J. Phisiol. and Pharmacol.-1987.-Vol. 65, N 3.-P. 348-351.
90. Musson R.A, Becker E.L. The role of an activatuble esterase in immune-dependent phagocytosis by human neutrophils //J. Immunol.-1977.-Vol. 118, N 4.-P. 1354-1355.
91. Newcombe D.S. Immune surveillance, organophosphorus exposure, and lymphomagenesis //Lancet.-1991.-N 8792.-P. 539-541.

92. Padgett E.L., Barnes D.B., Pruett S.B. Disparate effects of representative dithiocarbamates on selected immunological parameters in vivo and cell survival in vitro in female B6C3F1 mice //J. Toxicol. and Environ. Health.-1992.-Vol. 37, N 4.-P. 559-571.
93. Pearlman D.S., Ward P.A., Becker E.L. The requirement of serine esterase function in complement-dependent erythrophagocytosis //J. exp. Med.-1969.-Vol. 130, P. 745-764.
94. Pedersen B.K., Beyer J.M. Characterization of the in vitro effects of glucocorticosteroids on NK cell activity //Allergy.-1986.-Vol. 4, N 3.-P. 220-224.
95. Quliroz L., Oliveina L. Immunologic phagocytosis by macrophages: effect of cholinergic drugs and cyclic GMP //Rev. brasil. pes quesis med. biol.-1975.-Vol. 8, N 2.-P. 119-123.
96. Ratnoff O.D., Lepow J.H. Some properties of an esterase derived from preparations of the first component of complement //J. Exp. Med.-1957.-Vol. 106, N 2.-P. 327-343.
97. Richman D.P., Arnason B.G.W. Nicotinic acetylcholine receptor: evidence for a functionally distinct receptor on human lymphocytes //Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1979.-Vol. 76, N 9.-P. 4632-4635.
98. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Effects of subchronic treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate on cellular and humoral immune response systems //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1985.-Vol. 81, N 2.-P. 310-318.
99. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Investigation into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate. I. Characterization of the immune cell population affected //Immunopharmacology.-1985.-Vol. 10, N 3.-P. 171-180.
100. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethylphosphorothioate. II. Effect on the ability of murine macrophages to present antigen //Immunopharmacology.-1985.-Vol. 10, N 3.-P. 181-189.
101. Rodgers K.E., Imamura T., Devens B.H. Organophosphorus pesticide immunotoxicity: effects of O,O,S-trimethylphosphorothioate on cellular and humoral immune response systems //Immunopharmacology.-1986.-Vol. 12, N 3.-P. 193-202.
102. Rodgers K.E., Leung N., Wae C.F. et al. Lack of acute and subacute administration of malathion on murine cellular and humoral immune responses //Pestic. Biochem. and Physiol.-1986.-Vol. 25, N 3.-P. 358-365.
103. Rodgers K.E., Leung N., Imamura T., Devens D.H. Rapid in vitro screening assay for immunotoxic effects of organophosphorus and carbamate insecticides on the generation of cytotoxic T-lymphocyte responses. //Pestic. Biochem. And Physiol.-1986.-Vol. 26, N 3.-P. 292-301.
104. Rodgers K.E., Imamura T., Devens D.H. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethylphosphorothioate: generation of suppressive macrophages from treated animals //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1987.-Vol. 88, N 2.-P. 270-281.

105. Rodica G., Srefania M. Effects of some insecticides on the bursa of Fabricius in chictren //Arch. Exp. Vetetinarmed.-1973.-Vol. 27, N 4.-P. 723-728.
106. Rossi A.,Tria M.A., Baschieri S. et al. Cholinergic agonists selectively of induce proliferative responses in the mature subpopulation of murine thymocytes in the mature subpopulation of murine thymocytes //J. Neurosci. Res.-1989.-Vol. 24, N 3.-P. 369-373.
107. Rupa D.S., Reddy P.P., Peddi O.S. Frequencies of chromosomal aberrations in smokers exposed to pesticides in cotton fields. //Mutat. Res. Genet. Toxicol. Test.-1989.-Vol. 22, N 1.-P. 37-41.
108. Street J.C., Sharma R.P. Alteration of induced cellular and humoral immune responses by pesticides and chemicals of environ-mental concern: quantitative stadies of immunosuppression by DDT, aroclor 1254, cfrbarul //Toxicol. Appl. Pharmacol.-1975.-Vol. 32, N 3.-P. 587-602.
109. Sunil Kumar K.B., Ankathil R., Devi K.S. Chromosomal aberations induced by methyl parathion in human peripheral lymphocyty of alcoholics and smokers //Hum. and Exp. Toxicol.- 1993.-Vol. 12, N 4.-P. 285-287.
110. Szot R.J., Murphy S.D. Phenobarbital and doxamethasone ingibition of the adrenocortical response of rats to toxic chimicals and other stresses //Toxicol. Applied Pharmacol.-1970.- Vol. 17, N 3.-P. 761-773.
111. Taurog J.D., Fewtrell C., Becker E.L. IgE mediated triggering of rat basophil leukemia cells: lack of evidence for serine esterase activation //J. Immunol.-1979.-Vol. 122, N 6.- P. 2150-2153.
112. Thomas I.K., Imamura T. Immunosuppressive effect of an impurity of malathion: inhibition of murine sive effect of an impurity of malathion inhibition of murine T and B lymphocyte responses by O,O,S-trimethyl phosphorothioate //Toxicol. and Appl. Pharmacol.-1986.-Vol. 83, N 3.-P. 456-464.
113. Thomas I.K., Imamura T. Modulation of cellular and humoral immune responces by O,O,S-trimethyl phosphorodithioate,an impurity of commercial malathion //Toxicologist.-1986.- Vol.6, N 1.-P. 169.
114. Thomas I.K., Koizumi A., Imamura T. Suppressive effect of O,O,-dimethyl,S-ethyl phosphorothioate on immune response //J. Toxicol. and Environ. Health.- 1986.- Vol. 19, N 4.- P. 465-476.
115. Tiefenbach B., Lange P. Studies on the action of dimethoate on the immune system //Arch. Toxicol.-1980.- Suppl. 4.- P. 167-170.
116. Tiefenbach B., Hennighauzen G., Lange P. Zum Mechanismus der akuten Wirkungen phosphororganischer Pestizide auf Las Immunsystem //Zbl. Pharm.-1983.-Bd. 122, H. 2.-S. 156.
117. Tiefenbach B ., Wichner S. Dosisabhängigkeit und Mechanismus der acuten Wirkung von Methamidophos auf das Immunsystem der Maus //Z. gesamte Hyg. und Grenzdeb.-1985.-Bd. 31, N 4.-S. 228-231.

118. Till J.E., McCulloch E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells //Rad. Research. -1961. -Vol. 14, N 2. -P. 213-222.
119. Tominaca K., Kinoshita Y., Hato F. et al. Effects of cholinergic agonists on the protein synthesis in a cultured thymic epithelial cell line //Cell. and Mol. Biol.-1989.-Vol. 35, N 6.-P. 679-686.
120. Trinchievi G., M. de Marchi. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in humans III. Effect of protease inhibitors and substrates //J. Immunol.-1976.-Vol. 116, N 4.-P. 885-891.
121. Ward P.A., Berker E.L. Mechanisms of the inhibition of chemotaxis by phosphonate esters //J. Exp. Med.-1967.-Vol. 125, N 6.-P. 1001-1020.
122. Ward P.A., Becker E.L. Biochemical demonstration of the activatable esterase of the rabbit neutrophil involved in the chemotactic response //J. Immunol.-1970.-Vol. 105, N 5.-P. 1057-1067.
123. Wietrow R.W., Ercegovich C.D., Cegowski W.S. Humoral immunity in mice following oral administration of selected pesticides //Bull. Environ. Contam. Toxicol.-1978.-Vol. 20, N 3.-P. 423-431.
124. Woodin A.M., Harris A. The inhibition of locomotion of the polymorphonuclear leukocyte by organophosphorus compounds //Exp. cell Research.-1973.-Vol. 77, N. 1-2.-P. 41-46.
125. Woodin A.M., Wieneke A.A. The action of phosphonates on the leukocyte in relation to the mode of action of leucocidin. The properties of the potassium pump and the inhibition of chemotaxis //Brit. J. Exp. Path.-1969.-Vol. 50, N 3.-P. 295-308.