

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
З

И 49 (03) – 98

© П. Ф. Забродский, 1998

© Саратовский медицинский

ISBN 5 - 7213 - 0173 - 2

университет, 1998

Глава 6

ИММУНОТОКСИКОЛОГИЯ АКРИЛАТОВ И НИТРИЛОВ

Акрилаты (производные акриловой кислоты) - метилметакрилат, бутилакрилат, а также их соединения с нитрильной или цианогруппой - нитрил ви-нилуксусной кислоты, нитрил уксусной кислоты (ацетонитрил), пропионовой кислоты (пропионитрил), акролонитрил и др. являются токсичными соединениями. Наибольшей токсичностью отличаются вещества, характери-зующиеся присутствием в их формуле нитрильной или цианогруппы - $C\equiv N$. Эти токсиканты обладают рядом общеядовитых эффектов, один из которых (наиболее важный) заключается в ингибировании ферментов тканевого дыхания.

Сведений об иммунотропности акрилатов очень мало. В экспериментах на мышах показано, что метилметакрилат не оказывает действия на первичный иммунный ответ. Бутилакрилат в дозе 0,5 ЛД₅₀ стимулирует первичный иммунный ответ, а комбинированное действие исследованных соединений в дозах 0,25 ЛД₅₀ производит потенцирующее токсическое действие, которое проявляется в подавлении первичного гуморального иммунного ответа [7].

У мышей и крыс под влиянием метилметакрилата и бутилакрилата в зависимости от дозы яда снижается число антителообразующих клеток на эритроциты барана в селезенке и количество В-лимфоцитов в крови. Кроме того, в прямой зависимости от дозы исследованных токсикантов возрастает мутагенный эффект в клетках костного мозга крыс. Более выражен иммунотоксический эффект акрилатов при их комбинированном воздействии и направлен он на различные звенья иммунной системы. Иммунотоксическое действие акрилатов снижается при применении Т-активина, левамизола, глутатиона, α -токоферола [1]. Метилметакрилат и бутилакрилат (1/8 ЛД₅₀) при сочетанном воздействии оказывает у кроликов потенцирующий эффект [11]. У крыс, которым однократно внутрибрюшинно вводили акриламид в дозах 0,2 и 0,5 ЛД₅₀, обнаружено в сыворотке крови повышение активности фруктозо-монофосфатальдолазы, снижение активности бутирилхолинэстеразы. При этом активность щелочной фосфатазы не изменялась. Гепатотоксичность акриламида сочеталась с ингибированием окислительной активности ряда субстратов и снижением подфракции цитохрома Р-450 с молекулярной массой 48 000 дальтон. Цистеин и унитиол ослабляли изменения активности ферментов, вызываемые акриламидом [8]. Интересно отметить, что снижение активности бутирилхолинэстеразы при действии акрилатов, может происходить и в Т-лимфоцитах, моноцитах, макрофагах, что реализует проявление иммуносупрессии моноцитарно-фагоцитарной системы и Т-зависимого гуморального иммунного ответа [3,5]. Из производных акриловой кислоты и нитрилов наибольшего внимания заслуживают ацетонитрил и акрилонитрил как вещества, наиболее широко используемые в химической промышленности для синтеза большого количества различных соединений.

5.1. Иммунотоксичность акрилонитрила

Акрилонитрил (нитрил акриловой кислоты - НАК, винилцианид, пропеннитрил) – высокотоксичное химическое соединение, использующееся как сырье для производства полиакрилонитриловых и модакриловых нитей, синтетических каучуков, нитриловых эластиков, акриламида, клея, оргстекла и других материалов [14]. НАК чрезвычайно опасен при загрязнении местности в случае

аварий на химических объектах. Острое действие НАК на неспецифическую резистентность организма (НРО) и систему иммунитета практически не изучено [13].

Описано экспериментальное исследование супрессивного эффекта кле-ток селезенки мышей при акрилонитриловой интоксикации. Показано, что акрилонитрил в дозе, не вызывающей лимфотоксического действия, блокирует способность селезеночных Т-клеток-супрессоров мышей родительской линии подавлять иммунный ответ у мышей - гибридов. Этот эффект акрилонитрила обусловлен нарушением выделения супрессивного гуморального фактора неспецифическими Т-супрессорами клеток селезенки [10], что на наш взгляд, представляется одним из многих проявлений иммуотропного действия акрилонитрила вследствие его возможного влияния на функцию всех субпопуляций иммуноцитов, а также на моноциты, макрофаги и другие клетки крови в связи с реализацией общетоксического эффекта - блокирования в митохондриях энзимов тканевого дыхания, содержащих железо.

Состояние иммунной регуляции и клеточной кооперации у рабочих, контактировавших в производственных условиях с продуктами синтеза химических волокон (акрилонитрилом, метилакрилатом, копролактамом, сероуглеродом), значительно колебалось и зависело от степени алергизации организма. Типы нарушений иммунного статуса коррелировали с наблюдаемыми у рабочих определенными нозологическими формами (хроническая экзема, бронхиальная астма, хронический гепатит, аллергический дерматит, крапивница и др.) и характеризовались снижением Т-лимфоцитов, КонА-индуцированных супрессоров, В-лимфоцитов, IgM, IgG, IgA, реакции бласттрансформации лимфоцитов с ФГА. Наиболее часто нарушения иммунного статуса регистрировались в условиях производства, связанного с использованием акрилонитрила [13].

Нами совместно с В. Ф. Киричуком и С.А. Ромащенко проведены эксперименты на неинбредных мышях и крысах Wistar массами соответственно 18-24 г и 180-240 г. НАК вводили подкожно в дозе 0,5 DL₅₀ (DL₅₀ для мышей и крыс составляли 36±4 и 75±7 мг/кг соответственно). Применялись уже описанные в других главах методы определения интегрального состояния НРО у мышей (по показателю летальности, среднелетальной дозе *E.coli*, среднеэффективному времени жизни животных при экспериментальной инфекции) [2], активности естественных клеток-киллеров (ЕКК), гуморального иммунного ответа к тимусзависимому (эритроцитам барана - ЭБ) и Т-независимому (Vi-Ag) антигенам после введения НАК с одновременной внутривенной иммунизацией крыс данными антигенами в дозах 2 · 10⁸ клеток и 8 мкг/кг соответственно. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) исследовали через 5 сут после иммунизации крыс 10⁸ ЭБ спектрометрическим методом [6]. Формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) оценивали по приросту массы стопы задней лапы крысы. Способность макрофагов к индукции гуморального иммунного ответа исследовали по методу [15].

В проведенных нами исследованиях установлено (табл. 6.1.), что при острой интоксикации НАК происходит незначительное увеличение летальности мышей от экспериментальной инфекции, снижение ЕД₅₀ *E.coli* (p>0,05), значительное уменьшение Et₅₀ и ЕЦ (p<0,05).

Под влиянием острой интоксикации НАК отмечали снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому (ЭБ) и тимуснезависимому (Vi-Ag) антигенам (табл. 6. 2.). При этом супрессия зависимой от Т-хелперов антителопродукция была более выражена. Так, число АОК к ЭБ снижалась в 2 раза, а к Vi-Ag - в 1,4 раза. Острая интоксикация НАК приводила к существенной редукции реакции ГЗТ, АЗКЦ, а также уменьшала способность макрофагов индуцировать гуморальный иммунный ответ.

Таблица 6.1.

**ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ АКРИЛОНИТРИЛОМ (0,5 LD₅₀)
НА ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
ОРГАНИЗМА У МЫШЕЙ**

ПОКАЗАТЕЛЬ	КОНТРОЛЬ	А Н
Летальность, %	60,0±10,6 (20)	75,0 ± 9,7 (20)
ED ₅₀ <i>E.coli</i> , 10 ⁹ микробных тел	1,82±0,21 (20)	1,43±0,18 (15)
Е t ₅₀ , ч	15,9±2,1 (20)	9,8±1,9* (15)
ЕЦ, %	27±5 (7)	14±4* (7)

Примечание: в скобках - число животных; * - различия с контролем достоверны - $p < 0,05$.

Снижение НРО, гуморальных и клеточных иммунных реакций под влиянием НАК, вероятно, происходит вследствие ингибирования цитохром-с-оксидазы (цитохромов а и а₃) в системе ферментов тканевого дыхания митохондрий иммуноцитов. Иммунотоксические эффекты, видимо, вызывают наиболее опасный продукт биотрансформации НАК циановодород, а также другие метаболиты (глицидонитрил, акрилонитрилмеркаптуровая кислота) [4]. Снижение НРО и иммунных реакций может быть обусловлено нарушением биохимических систем не только клеток лимфоидной ткани (иммуноцитов), но и других органов. Поражение Т-зависимого антителообразования в большей степени, чем Т-независимой антителопродукции акрилонитрилом, можно объяснить участием в Т-зависимом антителообразовании большего числа иммуноцитов и регуляторных белков (интерлейкинов и др.), чем в тимуснезависимой антителопродукции, что требует больших затрат энергии, основным источником которой является АТФ. Генерирование этого соединения значительно снижается вследствие ингибирования ферментов тканевого дыхания акрилонитрилом. Это приводит к уменьшению синтеза циклических нуклеотидов, необходимых для реализации процессов пролиферации и дифференцировки иммуноцитов [5].

Таблица 6.2.

**ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ АКРИЛОНИТРИЛОМ
(0,5 ЛД₅₀) НА ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО И КЛЕТОЧНОГО
ИММУНИТЕТА КРЫС ЧЕРЕЗ 1 СУТ**

ИССЛЕДОВАННЫЕ ПАРАМЕТРЫ	КОНТРОЛЬ	АН
Титр антител к ЭБ, -log ₂ титра	5,8±0,2	3,1±0,3
АОК к ЭБ, 10 ³	27,1±4,9	13,3±2,5*
АОК к Vi - Ag, 10 ³	21,3±3,4	15,2±2,6*
Реакция ГЗТ (прирост массы лапы, %)	33,2±2,1	24,0±1,3*
АЗКЦ, %	13,1±1,7	5,1±1,5*
Индукция макрофагами гуморального иммунного ответа (по АОК к ЭБ, 10 ³)	11,5±2,1	5,6±1,8*

Примечание: в каждой серии использовалось по 7 животных; * - различия с контролем достоверны - $p < 0,05$.

Таким образом, ацетонитрил снижает неспецифическую резистентность организма - НРО (показатели врожденного иммунитета), гуморальный (преимущественно Т-зависимый) и клеточный иммунитет. Полученные результаты позволяют считать, что при отравлении НАК целесообразно применение средств, активирующих НРО, антителообразование, функцию макрофагов, ЕКК и К-клеток.

6. 2. Иммунотоксичность ацетонитрила

Ацетонитрил (цианметан, метилцианид) широко используется в химической промышленности, является хорошим растворителем органических веществ, менее ядовит, чем синильная кислота, но, в связи с возможным загрязнением местности при авариях на химических объектах, очень опасен [9]. Влияние острого отравления АН на НРО и систему иммунитета изучено недостаточно [4].

Проведенные исследования показали [4], что при дозе АН, составляющей 0,2 DL₅₀, НРО (показатели врожденного иммунитета), уменьшалась, о чем свидетельствовали существенное снижение среднелетальной дозы кишечной палочки и тенденция к увеличению летальности мышей и уменьшению среднеэффективного времени их жизни (табл. 6.3.).

Таблица 6.3.

ВЛИЯНИЕ АЦЕТОНИТРИЛА (0,2 DL₅₀) НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКУЮ ИЛИ ИММУНОЛОГИЧЕСКУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЫШЕЙ

ПОКАЗАТЕЛИ	НРО		ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ	
	1	2	1	2
Летальность, %	50±8	59±10	25±7	50±6*
DL ₅₀ кишечной палочки, 10 ⁹ клеток	1,4±0,1	1,2±0,1*	4,3±0,2	3,6±0,3*
Среднеэффективное время жизни, ч	17±2	15±2	28±2	23±1*

Примечание: 1 - контроль; 2 - действие ацетонитрила. В каждой серии для определения показателей НРО и иммунологической резистентности использовались соответственно 28-30 и 36-40 животных; * - различия с контролем достоверны (p<0,05).

При изучении иммунологической резистентности, оцениваемой по показателям летальности мышей, установлено, что интоксикация АН вызывала значительное увеличение летальности животных (в 2 раза), существенное снижение среднелетальной дозы кишечной палочки и среднеэффективного времени жизни животных.

Уменьшение НРО под влиянием АН на субклеточном уровне, вероятно, связано с нарушением тканевого дыхания, вследствие чего снижается продукция клетками неспецифических факторов резистентности организма.

В результате проведенных нами на неинбредных мышах и крысах Wistar исследований установлено (табл. 6. 4.), что через 2 сут после острой интоксикации АН происходит снижение бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК), сывороточного содержания лизоцима, α-лизинов и индекса активности нейтрофилов (ИАН). Редукция исследованных показателей была прямо связана с дозой яда. Статистически значимого снижения содержания β-лизинов не отмечалось при дозе АН, составляющей 0,3 ЛД₅₀ (p>0,05). Под влиянием АН происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому (ЭБ) и тимуснезависимому (Vi-Ag)

антигенам (табл.5.5.). Следует отметить, что если к ЭБ при дозе АН 0,8 ЛД₅₀ число АОК в селезенке уменьшилось в 3,7 раза, то к Vi-Ag - в 2,5 раза. Острая интоксикация АН приводила также к существенной редукции реакции ГЗТ, естественной цитотоксичности (ЕЦ), антителозависимой клеточной цитотоксичности АЗКЦ, а также уменьшала индукцию макрофагами гуморального иммунного ответа.

Таблица 6. 4.

**ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
ОРГАНИЗМА ПОСЛЕ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ АЦЕТОНИТРИЛОМ
У КРЫС ЧЕРЕЗ 2 СУТОК**

ПАРАМЕТРЫ	ДОЗЫ АЦЕТОНИТРИЛА, LD ₅₀		
	КОНТРОЛЬ	0,3	0,8
БАСК, %	82,3±3,6 (30)	64,5±5,9* (15)	45,6±6,6* (15)
Лизоцим, мг/л	7,1±0,5 (30)	5,0±0,9* (15)	4,2±1,1* (15)
β-лизины, %	60,1±2,3 (30)	51,3±4,1 (15)	43,5±3,2* (15)
НСТ-тест (ИАН)	0,24±0,02 (30)	0,12±0,02* (15)	0,08±0,01* (15)

Примечание: в скобках - число животных в опыте; * - различия с контролем достоверны - $p < 0,05$.

Острая интоксикация АН (0,8 ЛД₅₀) через 2 сут вызывала дозозависимое уменьшение содержания в плазме крови крыс кортикостерона с 86,5±9,6 нг/мл (контроль) до 54,1±6,4 нг/мл ($p < 0,05$).

Полученные данные позволяют считать, что снижение НРО, гуморального и клеточного иммунного ответа под влиянием АН связано, вероятно, с общетоксическим действием яда: ингибированием ферментов тканевого дыхания цианидом в митохондриях иммуноцитов и нарушением различных биохимических процессов как самим АН, так и его токсичными метаболитами.

При этом реализация иммунотоксического эффекта может происходить как в результате прямого действия продуктов биотрансформации, так и вследствие вторичных нарушений, обусловленных поражением важных биохимических систем не только клеток лимфоидной ткани, но и других органов.

Проведенные эксперименты позволяют полагать, что при действии АН иммунодепрессивный эффект кортикостерона отсутствует, так как его концентрация при интоксикации АН снижалась.

Таким образом, острое отравление АН приводит к снижению НРО, гуморальных иммунных реакций (в большей степени Т-зависимого гуморального иммунного ответа), уменьшению способности макрофагов индуцировать гуморальный иммунный ответ, супрессии ЕЦ, реакции ГЗТ и АЗКЦ. Нарушение НРО и снижение клеточных и гуморальных иммунных реакций не связано с действием стресс-реакции (кортикостероидов). Полученные данные позволяют использовать имеющийся в настоящее время большой арсенал иммуностимулирующих средств [12].

Данные литературы и собственных исследований позволяют заключить, что акрилаты и нитрилы существенно снижают НРО, гуморальный и клеточный иммунный ответ. При этом у акрилатов одним из механизмов иммуно-супрессии, помимо инактивации ферментов цепи дыхательных ферментов (цитохрома а и а₃), может являться ингибирование неспецифических эстераз иммуноцитов, а нитрилы

оказывают иммунотоксическое действие, вероятно, блокируя циан-ионом ферменты системы тканевого дыхания иммунокомпетентных клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бравве В.Н., Федюкович Л.В., Ключина Г.Н. Влияние акрилатов на иммунную систему в эксперименте и пути коррекции //Всес. иммунол. съезд, Сочи, 15-17 нояб., 1989 и стенд.сообщ.: Тез. секц. Т. 1.-М., 1989.-С. 277.
2. Забродский П.Ф. Влияние армина на факторы неспецифической резистентности организма и первичный гуморальный иммунный ответ //Фармакол. и токсикол.-1987.-N 1.-С. 57-60.
3. Забродский П.Ф. Механизмы иммунотоксичных эффектов фосфорорганических соединений //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1993.-Т. 116, N 8.-С. 181-183.
4. Забродский П.Ф. Влияние острого воздействия ацетонитрилом нагревающего микроклимата на неспецифическую и иммунологическую резистентность организма //Мед. труда и пром. экология.-1994.-N 5-6.-С. 12-14.
5. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Грызунов А.В. Изменение неспецифической и иммунологической резистентности организма при остром отравлении дихлорэтаном //Бюл. эксперим. биол. и мед.-1997.-N1.-С. 51-53.
6. Зимин Ю.И., Ляхов В.Ф. Эффект кооперации в реакции зависимой от антител клеточной цитотоксичности //Иммунология.-1985.-N 1.-С. 27-30.
7. Климина Г.М., Федюкович Л.В., Бравве В.Н., Свицерская Л.Н. Влияние акрилатов на первичный иммунный ответ и мутагенез в эксперименте //Метаболич. аспекты действия на организм индустр.-хим. соед.-Красноярск, 1988.-С. 39-42.
8. Котловский Ю.В., Бекерев В.Е., Яманова М.В., Иванов В.В. Новые данные о механизме гепатотоксичности акрилатов /Метаболич. аспекты действия на организм индустр.-хим. соед.-Красноярск, 1988.-С. 43-53.
9. Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления /Пер. с нем.-М., 1983.-С. 560.
10. Устинович Л.П., Бравве В.Н., Иванов В.В. Влияние акрилонитрила на функциональную активность Т-супрессоров и гуморальный супрессивный фактор //Эксперим. исслед. патол. процессов.-Рига, 1988.-С. 152-155.
11. Федюкович Л.В., Бравве В.Н., Климина Г.М., Григорьева И.К., Оседко О.Я. Влияние акрилатов на иммунный ответ и фагоцитарную активность нейтрофилов //Сочетан. и комбинир. действие факторов внеш. среды на организм.-Воронеж, 1989.-С. 86-89.
12. Ширинский В.С., Жук Е.А. Проблемы иммуностимулирующей терапии //Иммунология.-1991.-N 3.-С. 7-10.
13. Шустов В.Я., Довжанский И.С. Анализ адаптивных реакций у рабочих в условиях производства химических волокон //Гиг. труда и проф. заболевания.-1987.-N 6.-С. 18-21.
14. Шустов В.Я., Ольховская А.Г., Кузнецов П.П., Ильина В.А. Ранняя диагностика и профилактика интоксикаций в производстве вискозного карда, капрона, нитрона.-Саратов, 1985.-144с.
15. Argyris B.F. Role of macrophages in antibody production: Immune response to sheep red blood cells //Immunol.-1967.-Vol. 99, N 4.-P. 744-750.