

# ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

## ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПОЛИОКСИДОНИЯ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫМИ ТОКСИЧНЫМИ ХИМИКАТАМИ

П. Ф. Забродский, В. Г. Мандыч, В. Г. Германчук<sup>1</sup>

В экспериментах на неинбредных крысах установлено, что при остром отравлении токсичными химикатами (зарин, вещество VX) в дозе 1 DL<sub>50</sub> и применении атропина (10 мг/кг) введение полиоксидония в дозе 100 мкг/кг в течение 4 сут (ежедневно, однократно) частично восстанавливает вызванную ими супрессию показателей системы иммунитета и снижает индуцированное токсикантами перекисное окисление липидов.

**Ключевые слова:** зарин, VX, иммунотоксичность, полиоксидоний, перекисное окисление липидов

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время химическое оружие (ХО), основным элементом которого являются токсичные химикаты (ТХ) — вещество VX, зарин, иприт, люизит — подлежит уничтожению согласно международным соглашениям на специальных промышленных объектах [2, 7]. Позитивные шаги международного сообщества, в том числе и России, в области ликвидации и полного запрета ХО не уменьшили реальность его использования в террористических и криминальных целях [3, 7, 11]. Кроме того, существует возможность возникновения аварийных ситуаций в процессе уничтожения ХО, которые могут сопровождаться выбросом в окружающую среду отравляющих веществ (ОВ) или продуктов их деструкции и приводить к поражению персонала объектов уничтожения ХО или населения прилегающих территорий [7]. Нельзя исключить и возможность использования ХО в локальных вооруженных конфликтах [12].

В настоящее время за рубежом ведутся поиски высокоэффективных антидотных средств при поражении ТХ — заринном и веществом VX, которые являются ОВ нервно-паралитического действия (фосфорорганические отравляющие вещества — ФОВ), обладают антихолинэстеразным свойством [9, 10, 14]. Анализируются их отдаленные эффекты [13].

Острые отравления ТХ могут сопровождаться инфекционными осложнениями и заболеваниями, связанными со снижением неспецифической резистентности организма и показателей иммунного статуса [3, 5]. Антиоксидантные, иммуностимулирующие, детоксикационные, мембраностабилизирующие свойства полиоксидония [8] позволяют предполагать возможность снижения при его применении поражения

иммунной системы различными токсикантами, которые могут приводить к формированию вторичных иммунодефицитных состояний [4].

Целью исследования являлась оценка иммуностимулирующих свойств полиоксидония при остром отравлении антихолинэстеразными ФОВ, относящимися к ТХ, заринном и веществом VX и применении в качестве антидота атропина.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на беспородных крысах обоего пола массой 180 – 240 г. ТХ вводили подкожно в дозе 1 DL<sub>50</sub>. DL<sub>50</sub> зарина и VX при подкожном введении составляли соответственно  $0,21 \pm 0,02$ ,  $0,018 \pm 0,004$  мг/кг. После применения ФОВ через 15 мин подкожно вводили атропин (АТ) в дозе 10 мг/кг. Полиоксидоний (ПО) вводили внутримышечно в течение 4 суток в дозе 100 мкг/кг после применения ТХ (ежесуточно, однократно). Показатели системы иммунитета оценивали общепринятыми методами в экспериментальной иммунотоксикологии [3]. Гуморальный иммунный ответ к тимусзависимому (эритроцитам барана — ЭБ) и Т-независимому (брюшнотифозному Vi-антигену — Vi-Ag) антигенам оценивали через 5 суток по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке после введения ТХ (токсиканта и АТ) с одновременной внутрибрюшинной иммунизацией крыс данными антигенами в дозах  $2 \cdot 10^8$  клеток и 8 мкг/кг соответственно. Данные тесты характеризуют синтез IgM В-клетками с участием Th1-лимфоцитов и без них, соответственно. Активность естественных клеток-киллеров (ЕКК) определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) через 5 суток после острого отравления ТХ спектрофотометрически. Антителозависимую клеточную цитотоксичность — АЗКЦ (функцию К-клеток) исследовали через 5 суток после иммунизации крыс  $10^8$  ЭБ, используя их

<sup>1</sup> Саратовский военный институт радиационной, химической и биологической защиты, Саратов, 410037, ул. 50 лет Октября, 5.

Таблица 1. Влияние полиоксидония на показатели системы иммунитета крыс при острой интоксикации антихолинэстеразными токсичными химикатами (1 ЛД<sub>50</sub>) и применении в качестве антидота атропина ( $M \pm m$ ,  $n = 7 - 12$ )

Серии опытов	АОК к ЭБ, 10 <sup>3</sup>	АОК к ViAg, 10 <sup>3</sup>	АЗКЦ, %	ЕЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	37,2 ± 3,1	28,7 ± 2,5	14,5 ± 1,5	33,3 ± 3,2	36,5 ± 2,4
VX	15,2 ± 1,6*	18,5 ± 1,9*	8,4 ± 1,1*	14,5 ± 2,5*	18,1 ± 2,0*
VX + АТ	10,1 ± 1,3*	15,2 ± 1,7*	6,5 ± 1,0*	11,0 ± 2,0*	15,7 ± 1,6*
VX + АТ + ПО	30,8 ± 2,9	26,3 ± 2,2	12,1 ± 1,3	29,1 ± 2,9	33,0 ± 2,5
Зарин	17,5 ± 2,0*	20,1 ± 1,8*	9,5 ± 0,9*	18,4 ± 2,5*	19,9 ± 2,2*
Зарин + АТ	12,1 ± 1,7*	17,2 ± 1,5*	6,9 ± 1,1*	14,2 ± 1,8*	16,8 ± 1,8*
Зарин + АТ + ПО	31,4 ± 3,0	25,7 ± 2,6	13,0 ± 1,4	30,2 ± 3,0	32,3 ± 2,3

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

спленоциты, спектрофотометрическим методом. Формирование гиперчувствительности замедленного типа — ГЗТ (в частности, активность Th1-лимфоцитов) оценивали у животных по приросту массы стопы задней лапы в процентах. При этом крыс внутрибрюшинно иммунизировали 10<sup>8</sup> ЭБ через 30 мин после введения ТХ (ОВ и антидота). Разрешающую дозу ЭБ (5 · 10<sup>8</sup>) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 суток. Реакцию ГЗТ определяли через 24 ч. При исследовании гуморальных и клеточных иммунных реакций крыс иммунизировали практически одновременно с введением ТХ. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) оценивали по суммарной продукции радикалов (СПР) методом люминолзависимой хемилюминесценции, активированной форболовым эфиром (0,156 МКм) [15], по содержанию малонового диальдегида (МДА) [6], активности каталазы и пероксидазы в крови спектрофотометрически [1] через 5 суток после применения ТХ. При этом активность каталазы и пероксидазы являлась показателем функции антиоксидантной системы (АОС).

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

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Под влиянием зарина и вещества VX в дозе 1 DL<sub>50</sub> (табл. 1) происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому антигену по сравнению с контрольным уровнем соответственно в 2,13 и 2,45

раза ( $p < 0,05$ ) и в меньшей степени — к Т-независимому — соответственно в 1,55 и 1,41 раза ( $p < 0,05$ ). После действия ТХ отмечалась также существенная редукция АЗКЦ, активности ЕКК и реакции ГЗТ ( $p < 0,05$ ).

Антидот ФОВ атропин приводил к увеличению супрессии всех исследованных показателей системы иммунитета. Введение ПО вызывало восстановление параметров после острого отравления ТХ и применения атропина практически до контрольных значений.

Токсиканты активировали ПОЛ, существенно снижая активность АОС (каталазы, пероксидазы) и увеличивая содержание в крови СПР и МДА (табл. 2). Применение атропина практически не влияло на данный эффект. Использование ПО приводило к восстановлению показателей практически до контрольных уровней.

Данные литературы позволяют полагать, что уменьшение показателей системы иммунитета под влиянием ФОВ обусловлено ингибированием эстераз Т-клеток, действием кортикостероидов на иммуоциты вследствие активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, мембранотоксическим эффектом [3, 4]. Атропин, блокируя М-холинорецепторы, усиливает иммуносупрессивный эффект ФОВ [5].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что одним из механизмов снижения параметров системы иммунитета под влиянием ФОВ является инициация ПОЛ (реализация одного из механизмов общей имму-

Таблица 2. Влияние полиоксидония на показатели ПОЛ крыс при острой интоксикации антихолинэстеразными токсичными химикатами (1 ЛД<sub>50</sub>) и применении атропина в качестве антидота ( $M \pm m$ ,  $n = 7 - 12$ )

Серии опытов	Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Суммарная продукция радикалов, усл. ед.	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	277,8 ± 27,3	40,8 ± 3,6	25,4 ± 3,8	5,95 ± 0,36
VX	154,0 ± 15,4*	23,6 ± 2,7*	45,3 ± 4,7*	7,90 ± 0,37*
VX + АТ	172,4 ± 18,5*	27,1 ± 2,6*	41,2 ± 4,1*	7,51 ± 0,30*
VX + АТ + ПО	245,1 ± 22,7	34,4 ± 3,0	30,1 ± 3,9	6,43 ± 0,31
Зарин	168,7 ± 20,2*	25,2 ± 2,2*	40,9 ± 4,3*	7,88 ± 0,35*
Зарин + АТ	150,6 ± 24,1*	29,0 ± 2,5*	37,5 ± 4,0*	7,36 ± 0,40*
Зарин + АТ + ПО	251,5 ± 21,0	35,3 ± 3,3	32,6 ± 3,6	6,75 ± 0,41

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

нотоксичности ядов [4]). Это подтверждается высокими коэффициентами корреляции (КК) между количеством АОК к ЭБ при остром отравлении заринном и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс (число коррелируемых пар —  $n = 7$ ), которые составляли соответственно  $0,764 \pm 0,157$  ( $p < 0,05$ ) и  $0,709 \pm 0,188$  ( $p < 0,05$ ). КК при острых отравлениях VX между ЕЦ и содержанием каталазы и пероксидазы в крови крыс были равны  $0,776 \pm 0,15$  и  $0,759 \pm 0,16$  ( $n = 7$ ,  $p < 0,05$ ). Установлена обратная корреляция между числом АОК к ЭБ при остром действии вещества VX и содержанием МДА, значение коэффициента которой составило  $-0,761 \pm 0,159$  ( $n = 7$ ,  $p < 0,05$ ).

ПО практически полностью восстанавливает параметры системы иммунитета и связанные с ними показатели ПОЛ (и АОС) вследствие его антиоксидантных, иммуностимулирующих, детоксикационных и мембраностабилизирующих свойств [8].

## ВЫВОДЫ

1. Острое отравление токсичными химикатами заринном и веществом VX в дозе 1 DL<sub>50</sub>, а также их действие в комбинации с их антидотом атропином (10 мг/кг) снижает показатели системы иммунитета.

2. Применение полиоксидония в дозе 100 мкг/кг в течение 4 суток (ежедневно, однократно) после острого отравления заринном и веществом VX (1 DL<sub>50</sub>) в комбинации с атропином практически полностью восстанавливает параметры иммунной системы и связанные с ними показатели ПОЛ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. И. Х. Валеева, Л. Е. Зиганшина, З. А. Бурнашова, А. У. Зиганшин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(2) 40 – 43 (2002).
2. В. Е. Жуков, В. В. Клаучек, П. Е. Шкодич, *Токсикол. вестн.*, № 5, 31 – 35 (2002).
3. П. Ф. Забродский, В. Г. Лим, Г. М. Мальцева, А. О. Молотков, *Иммуотропные свойства холинергических веществ*, П. Ф. Забродский (ред.), Издательство “Научная книга”, Саратов, (2005).
4. П. Ф. Забродский, *Общая токсикология*, Б. А. Курляндский, В. А. Филов (ред.), Медицина, Москва (2002), сс. 352 – 384.
5. П. Ф. Забродский, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 2, 49 – 51 (1995).
6. Э. Н. Коробейникова, *Лаб. дело*, № 7, 8 – 10 (1989).
7. А. П. Петров, Г. А. Софронов, С. П. Нечипоренко, И. Н. Солин, *Рос. хим. ж.*, **XLVIII**(2), 110 – 116 (2004).
8. Р. М. Хайтов, Б. В. Пинегин, *Иммунология*, **26**(4), 197 (2005).
9. G. Amitai, R. Adani, E. Fishbein, et al., *J. Appl. Toxicol.*, **26**(1), 81 – 87 (2006).
10. D. E. Lenz, D. M. Maxwell, I. Korlovich, et al., *Chem. Biol. Interact.*, **157 – 158, 158**: 205 – 210, (2005).
11. N. Masuda, M. Tahatsu, Y. Mjnnau, and T. Ozawa, *Lancet*, **8962**, 1446 – 1447 (1995).
12. R. N. Saladi, E. Smith, and A. N. Persaud, *Clin. Exp. Dermatol.*, **1**(6), 1 – 5 (2006).
13. D. Sharp, *Lancet*, **14**(367(9505)), 95 – 97 (2006).
14. T. M. Shin, R. K. Kan, and J. H. McDonough, *Chem. Biol. Interact.*, **157 – 158**, 293 – 303 (2005).
15. F. Takayama, T. Egachira, and Y. Yamanaka, *Nippon Yakurigaku Zasshi.*, **111**, 177 – 186 (1998).

Поступила 03.04.06

## IMMUNOSTIMULANT PROPERTIES OF POLYOXIDON ON THE MODEL OF ACUTE POISONING WITH ANTICHOLINESTERASE CHEMICALS IN RATS

P. F. Zabrodskii, V. G. Mandych, and V. G. Germanchuk

Saratov Military Institute of Radiation, Chemical, and Biological Defense, Saratov, 410037, Russia

Experiments on noninbred rats showed that, upon acute poisoning with toxic chemicals (sarin, VX agent; 1.0 LD<sub>50</sub>) and the treatment with atropine (10 mg/kg), the administration of polyoxidon in a daily dose of 100 mg/kg over 4 days partly reduces the degree of immune system suppression and the level of lipid peroxidation induced by toxic chemicals