

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ АМИНОСТИГМИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА И СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ 3-ХИНУКЛИДИЛБЕНЗИЛАТОМ (BZ)

П. Ф. Забродский, Н. М. Трошкин, В. Г. Германчук, Н. М. Сидельникова, В. Г. Лим¹

В экспериментах на неинbredных крысах установлено, что острая интоксикация 3-хинуклидилбензилатом (вещество BZ) в дозе 1 ЛД₅₀ вызывает снижение показателей неспецифической резистентности организма, редукцию антителообразования преимущественно к Т-зависимому антигену, естественной и антителозависимой клеточной цитотоксичности, снижение реакции гиперчувствительности замедленного типа. Аминостигмин частично снижает иммунотоксические эффекты 3-хинуклидилбензилата.

Ключевые слова: 3-хинуклидилбензилат, BZ, аминостигмин, неспецифическая резистентность организма, иммунотоксичность

ВВЕДЕНИЕ

Синтетический холиноблокатор 3-хинуклидилбензилат (BZ) является боевым отравляющим веществом (БОВ) и подлежит уничтожению в странах, подписавших конвенцию о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожению [8]. Не исключено использование данного психотропного БОВ (психозомиметика) рядом слаборазвитых стран в качестве химического оружия. Возможно применение BZ для террористических целей. Кроме того, актуальность изучения м-холиноблокаторов, в частности BZ, обусловлена тем, что м-холиноблокаторы используют как антидотные средства при интоксикации фосфорорганическими соединениями (необратимыми ингибиторами холинэстеразы) и прямыми м-холиномиметиками. Не исключено использование м-холиноблокаторов (атропиноподобных препаратов) в качестве наркотических средств [9].

Иммунотропные эффекты при остром отравлении BZ на неспецифическую резистентность организма (НРО) и систему иммунитета не исследованы [5, 6]. Несомненно, что при разработке способов профилактики и лечения постинтоксикационного иммунодефицитного состояния, обусловленного действием BZ и сопровождающегося различными инфекционными осложнениями, необходимо знать характер модуляции показателей НРО и системы иммунитета антидотом BZ аминостигмином, а также возможность коррекции нарушений иммунного гомеостаза иммуностимуляторами.

Целью исследования явилось изучение влияния антидота BZ аминостигмина (АС) на изменение показате-

телей НРО и системы иммунитета после острого отравления 3-хинуклидилбензилатом (BZ).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на неинbredных крысах массой 180 – 250 г. BZ вводили подкожно в растворе оливкового масла в дозе 1 ЛД₅₀ (ЛД₅₀ – 12,5 ± 2,9 мг/кг). АС вводили внутривентриально в дозе 0,1 мг/кг 2 раза в сутки. Интегральное состояние НРО оценивали по летальности крыс (через 24 ч), ЛД₅₀ *E. coli*, Et₅₀ животных при экспериментальной инфекции, которую вызывали внутривентриальным введением суточной культуры *E. coli*, ЛД₅₀ *E. coli* и среднеэффективному времени жизни животных (Et₅₀) по методу [3]. Факторы (параметры) НРО — бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК), сывороточное содержание лизоцима, фагоцитарно-метаболическую активность нейтрофилов — оценивали общепринятыми методами [3, 4]. Гуморальный иммунный ответ к тимусзависимому (эритроцитам барана — ЭБ) и Т-независимому (брюшнотифозному Vi-Ag) антигенам исследовали через 5 суток по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке [1, 14] после введения исследуемых соединений с одновременной внутривентриальной иммунизацией крыс данными антигенами в дозах 2 · 10⁸ клеток и 8 мкг/кг соответственно. Гуморальная иммунная реакция на введение ЭБ характеризуется способностью Т-хелперов типа 1 (Th1) участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) исследовали через 5 сут после иммунизации (ЭБ в дозе 10⁸ клеток) крыс, используя их спленоциты, спектрофотометрическим методом [7]. Активность естественных клеток-киллеров (ЕКК) определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) через 3 сут после применения препаратов

¹ Саратовский военный институт радиационной, химической и биологической защиты, Саратов, 410037.

Таблица 1. Влияние аминостигмина на неспецифическую резистентность организма при остром отравлении крыс ВЗ ($M \pm m$, $n = 15 - 30$)

Показатель	Контроль	ВЗ	ВЗ + АС	$p < 0,05$
	1	2	3	4
Летальность, %	25,0 ± 9,7	46,7 ± 12,8*	33,3 ± 12,1	1 - 2, 1 - 3
LD ₅₀ <i>E. coli</i> , 10 ⁹ микр. тел	2,52 ± 0,18	1,76 ± 0,15	2,0 ± 0,12	1 - 2, 1 - 3
Et ₅₀ , ч	18,8 ± 1,6	9,4 ± 1,1	13,75 ± 1,8	1 - 2, 1 - 3, 2 - 3
БАСК, %	78,2 ± 3,8	52,3 ± 4,2	60,7 ± 5,0	1 - 2, 1 - 3
Лизоцим, мг/л	8,5 ± 1,1	4,8 ± 1,0	5,5 ± 0,9	1 - 2, 1 - 3
Индекс активности нейтрофилов (НСТ-тест)	0,38 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,32 ± 0,02	1 - 2, 1 - 3, 2 - 3

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем при использовании критерия χ^2 .

по методу [2]. Реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), отражающую функцию клеточного иммунного ответа (в частности, активность Th1), оценивали у крыс по приросту (в %) массы стопы задней лапы. При этом животных иммунизировали внутрибрюшинным введением 10⁸ ЭБ. Разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут. Реакцию ГЗТ определяли через 24 ч. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t -критерия достоверности Стьюдента и χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали (табл. 1), что под влиянием ВЗ происходило увеличение летальности крыс, снижение ЛД₅₀ *E. coli* и Et₅₀ ($p < 0,05$), а использование АС в качестве антидота статистически значимо ($p < 0,05$) снижало супрессию данных показателей. При использовании АС после отравления крыс ВЗ в дозе 1 ЛД₅₀ через 3 сут сниженные ВЗ БАСК, сывороточная активность лизоцима, фагоцитарно-метаболическая активность нейтрофилов в НСТ-тесте частично восстанавливались. При этом полного восстановления до контрольных значений значительно сниженных острым действием хинуклидинил-3-бензилата показателей НРО не происходило. Данные параметры оставались более низкими, чем в контроле ($p > 0,05$).

Установлено (табл. 2), что применение АС частично восстанавливает гуморальный иммунный ответ к Т-зависимому (ЭБ) и Т-независимому (Vi-Ag) антигенам

при остром отравлении ВЗ. Так, по сравнению с контролем острая интоксикация ВЗ снижала число АОК к ЭБ в селезенке крыс в 1,93 раза ($p < 0,05$), а применение АС приводило к увеличению показателя в 1,31 раза. При этом он оставался ниже контрольного уровня ($p < 0,05$).

Острое действие ВЗ вызывало супрессию Т-независимого антителообразования, оцениваемого по числу АОК к Vi-Ag, в 1,47 раза ($p < 0,05$), а АС по сравнению с его значением после интоксикации в 1,22 раза. При этом по сравнению с контрольным уровнем число АОК к Т-независимому антигену в селезенке животных оставалось сниженным ($p > 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о частичном восстановлении Т-независимого антителообразования при применении АС.

Проведенные нами исследования показали, что применение АС частично восстанавливает основные показатели клеточного иммунитета при острой интоксикации ВЗ. Так, по сравнению с контролем острая интоксикация ВЗ снижала реакцию ГЗТ, ЕЦ и АЗКЦ соответственно в 2,09; 2,08 и 2,15 раза ($p < 0,05$). При использовании АС реакция ГЗТ, ЕЦ и АЗКЦ по сравнению с контролем оставалась сниженной соответственно в 1,3; 1,38 и 1,44 раза ($p < 0,05$).

Механизм снижения супрессии показателей НРО, гуморальных и клеточных иммунных реакций под влиянием АС обусловлен восстановлением процессов возбуждения m -холинорецепторов клеток крови ацетилхолином при их блокаде ВЗ (при обратимом ингибировании ацетилхолинэстеразы АС), в результате

Таблица 2. Влияние аминостигмина на основные показатели системы иммунитета после острого отравления ВЗ (1 ЛД₅₀) ($M \pm m$, $n = 7 - 12$)

Показатель	Контроль	ВЗ	ВЗ + АС	$p < 0,05$
	1	2	3	4
АОК к ЭБ, 10 ³	30,5 ± 2,0	19,9 ± 2,9	29,4 ± 3,0	1 - 2, 2 - 3
АОК к Vi-Ag, 10 ³	28,9 ± 2,1	19,7 ± 2,2	24,1 ± 2,2	1 - 2
АЗКЦ, %	12,5 ± 1,4	5,8 ± 1,3	8,7 ± 1,0	1 - 2, 1 - 3, 2 - 3
ЕЦ, %	32,1 ± 3,1	15,4 ± 3,4	23,2 ± 2,8	1 - 2, 1 - 3, 2 - 3
ГЗТ, %	33,5 ± 2,0	16,0 ± 2,1	25,8 ± 1,9	1 - 2, 1 - 3, 2 - 3

чего, вероятно, восстанавливается нормальное соотношение цГМФ/цАМФ в полиморфноядерных лейкоцитах, моноцитах, макрофагах и иммунокомпетентных клетках. Это приводит к увеличению активации и пролиферации Т- и В-лимфоцитов вследствие увеличения продукции лимфокинов иммуноцитами, в частности, ИЛ-2 Т-клетками [12, 13]. Кроме того, нельзя исключить иммуностимулирующего действия ацетилхолина [4, 5], а также влияния на реализацию иммунных реакций после острой интоксикации ВЗ эффектов АС, связанных с изменением состояния нейроэндокринной системы [5, 6].

Можно предположить, что стимуляция обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы АС Т-независимого антителообразования при остром отравлении ВЗ может быть обусловлена непрямым влиянием антидота на макрофаги [10], в результате которого они вследствие действия ацетилхолина увеличивают продукцию ИЛ-1, являющегося помимо антигена фактором, участвующим в независимой от тимуса антителопродукции [6, 11].

Таким образом, применение после острого отравления ВЗ (1 ЛД₅₀) аминостигмина в дозе 0,1 г/кг (2 раза в сутки) частично восстанавливало основные показатели НРО и системы иммунитета.

ВЫВОДЫ

1. Острая интоксикация 3-хинуклидилбензилатом (ВЗ) в дозе 1 ЛД₅₀ вызывает снижение показателей неспецифической резистентности организма, редукцию антителообразования преимущественно к Т-зависимому антигену, снижение естественной и антителозависимой клеточной цитотоксичности, реакции гиперчувствительности замедленного типа.

2. При острой интоксикации ВЗ аминостигмин (0,1 мг/кг 2 раза в сутки) частично восстанавливает основные показатели НРО — летальность животных

от экспериментальной инфекции, бактерицидную активность сыворотки крови, сывороточное содержание лизоцима, фагоцитарно-метаболическую активность нейтрофилов, а также антителообразование преимущественно к Т-зависимому антигену, естественную и антителозависимую клеточную цитотоксичность, реакцию гиперчувствительности замедленного типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. А. Белокрылов, В. Х. Хавинсон, В. Г. Морозов, *Ж. микробиол.*, № 3, 97 – 99 (1980).
2. С. М. Гордиенко, *Иммунология*, № 1, 31 – 36 (1984).
3. П. Ф. Забродский, *Фармакол. и токсикол.*, **49**(2), 57 – 60 (1987).
4. П. Ф. Забродский, *Бюл. exper. биол.*, № 5, 541 – 543 (1996).
5. П. Ф. Забродский, *Иммуотропные свойства ядов и лекарственных средств*, Изд. СГМУ, Саратов (1998).
6. П. Ф. Забродский, *Общая токсикология*, Б. А. Курляндский, В. А. Филлов (ред.), Медицина, Москва (2002), сс. 352 – 384.
7. Ю. И. Зимин, В. Ф. Ляхов, *Иммунология*, № 1, 27 – 30 (1985).
8. *Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожения. Международная конференция по подписанию Конвенции*, Париж (1993).
9. С. С. Крылов, Г. А. Ливанов, А. П. Петров и др., *Клиническая токсикология лекарственных средств. Холинотропные препараты*, Издательство “Лань”, СПб (1999).
10. В. А. Таранов, М. Н. Короткова, *Интерлейкины и другие медиаторы в клинической иммунологии*, Мосева (1989), сс. 56 – 60.
11. R. V. Gilbert, M. K. Hoffmann, *J. Immunol.*, **135**(3), 2084 – 2089 (1985).
12. R. G. Coffey and J. W. Hadden, *Red. Proc.*, **44**(1), 112 – 117 (1985).
13. H. Holte, P. Torjesen, H. Blomhoff, et al., *Eur. J. Immunol.*, **18**(9), 1359 – 1366 (1988).
14. N. K. Jerne and A. A. Nordin, *Science*, **140**(4), 405 (1963).

Поступила 08.09.04

THE INFLUENCE OF AMINOSTIGMINE ON THE PARAMETERS OF NONSPECIFIC RESISTANCE AND IMMUNE SYSTEM OF THE ORGANISM UPON ACUTE POISONING OF BENZYL 3-QUINUCRIDYLATE

P. F. Zabrodskii, N. M. Troshkin, V. G. Germanchuk, N. M. Sidelnikova, and V. G. Lim

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

The results of experiments on outbred rats weighing 180 – 240 g showed that the acute poisoning with benzyl 3-quinuclidylate decreases the parameters of nonspecific resistance of the organism, reduces the antibody production mainly to T-dependent antigens (sheep red blood cells), decreases the activity of natural killers and the antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, and suppresses the formation of delayed-type hypersensitivity. Aminostigmine partly inhibits the immunotoxicity benzyl 3-quinuclidylate.