

ВЛИЯНИЕ ИМУНОФАНА НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПОСЛЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ТОКСИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

П. Ф. Забродский², В. Г. Германчук², М. Л. Нодель², О. А. Василенко¹, А. Н. Аретаков¹

В опытах на крысах линии Вистар установлено, что имунофан в дозе 10 мкг/кг при применении в течение 4 сут восстанавливал основные показатели иммунного статуса (Т-зависимого антителообразования, антителозависимой клеточной цитотоксичности, активности естественных клеток-киллеров, реакции гиперчувствительности замедленного типа) и прямо связанные с ними параметры перекисного окисления липидов после острого действия (0,75 ЛД₅₀) заринном (изопропилметилфторфосфонатом), люизитом (β-хлорвинилдихлорарсином), хлоридом мышьяка и дихлорэтаном.

Ключевые слова: имунофан, токсичные химические вещества, иммунный статус, иммуноцитотоксичность, перекисное окисление липидов

ВВЕДЕНИЕ

Исследование влияния различных токсичных химических веществ (ТХВ) на иммунную систему с целью снижения частоты постинтоксикационных инфекционных осложнений и заболеваний путем использования иммуностимуляторов [3, 11] является одной из актуальных задач токсикологии и фармакологии, в связи с не уменьшающейся тенденцией роста частоты острых интоксикаций различными веществами [9]. Данная проблема имеет большую научно-практическую значимость в связи с начавшимся широкомасштабным уничтожением боевых отравляющих веществ (БОВ) — соединений, обладающих кожно-резорбтивным действием (люизита, сернистого иприта) [14] фосфорорганических веществ (ФОВ) и других [6]. Не исключена возможность аварий на химических объектах, которые могут приводить к возникновению массовых острых отравлений БОВ, продуктами их утилизации а также другими токсикантами [10].

Имунофан (аргинил-альфа-аспартил-лизил-тирозил-аргинин) — гексапептид с молекулярной массой 836 Д. Препарат относится к синтетическим иммуностимуляторам, обладающим иммунорегулирующим, детоксикационным, гепатопротективным действием [5]. Влияние данного иммуностимулятора на восстановление показателей системы иммунитета, антиоксидантной системы (АОС) и снижение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при острых отравлениях различными токсикантами, в частности, ФОВ, соединениями мышьяка (СМ) и дихлорэтана (ДХЭ), не исследовано. Описанное в литературе нарушение иммунного гомеостаза под влиянием различных ТХВ [3, 4, 6] свидетельствует о возможности ис-

пользования имунофана для коррекции постинтоксикационных нарушений иммунного гомеостаза. Необходимо подчеркнуть, что имунофан способен оказывать не только иммуностимулирующее влияние на все звенья системы иммунитета, но и обеспечивать детоксицирующий, гепатопротективный и антиоксидантный эффекты [5].

Целью исследования являлась оценка возможности восстановления сниженных острым действием ТХВ (заринном, люизитом, хлоридом мышьяка, ДХЭ) показателей системы иммунитета и ПОЛ применением иммуностимулятора и антиоксиданта имунофана.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на крысах линии Вистар массой 180 – 250 г. ТХВ вводили подкожно в дозе 0,75 ЛД₅₀ (1,0 ЛД₅₀ зарина, люизита, хлорида мышьяка, и ДХЭ составляли соответственно $0,2 \pm 0,5$ мг/кг, $3,8 \pm 0,7$; $22,0 \pm 5,0$; $7,3 \pm 2,4$ и $450,7 \pm 33,2$ мг/кг соответственно). Имунофан применяли подкожно в дозе 10 мкг/кг через 30 мин после введения ТХВ и в последующие 4 сут ежедневно однократно. Гуморальный иммунный ответ к Т-зависимому антителообразованию (эритроцитам барана — ЭБ) оценивали через 5 сут по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке [13] после введения ТХВ с одновременной внутрибрюшинной иммунизацией крыс ЭБ в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток. Гуморальная иммунная реакция на введение ЭБ характеризует способность ThI-лимфоцитов участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) исследовали через 5 сут после иммунизации крыс в дозе 10^8 ЭБ, используя их спленоциты, спектрофотометрическим методом [7]. Активность естественных клеток-киллеров (ЕКК) определяли по показателю естественной цитотоксичности спектрофотометрически по числу оставшихся неразрушенными в

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

² Саратовский государственный медицинский университет, Саратов, 410037, ул. Большая казачья, 112.

Таблица 1. Влияние имунофана (И) на показатели системы иммунитета при острой интоксикации (0,75 ЛД₅₀) токсичными химическими веществами (ТХВ) крыс через 6 сут ($M \pm m$)

ТХВ	АОК к ЭБ, 10 ³	АЗКЦ, %	ЕЦ, %	ГЗТ, по приросту массы стопы, %
Контроль	34,7 ± 3,3	12,1 ± 1,4	28,0 ± 4,1	27,8 ± 2,1
Зарин	15,1 ± 2,1*	5,1 ± 1,1*	16,5 ± 3,1*	16,0 ± 1,7*
Зарин + И	27,9 ± 3,6	10,1 ± 1,2	24,0 ± 3,6	25,3 ± 1,9
Люизит	10,2 ± 2,2*	5,2 ± 0,9*	11,9 ± 3,0*	14,9 ± 2,0*
Люизит + И	26,0 ± 3,3	9,0 ± 1,1	20,0 ± 3,2	23,3 ± 1,8
Хлорид мышьяка	14,7 ± 3,4*	6,5 ± 1,3*	17,1 ± 2,3*	18,5 ± 2,4*
Хлорид мышьяка + И	29,5 ± 3,7	10,2 ± 1,0	21,3 ± 3,7	25,5 ± 2,2
ДХЭ	20,3 ± 2,8*	6,9 ± 1,3*	15,5 ± 1,5*	19,8 ± 2,0*
ДХЭ + И	35,0 ± 3,2	14,3 ± 1,5	24,0 ± 3,9	29,6 ± 2,3

Примечание: АЗКЦ — антителозависимая клеточная цитотоксичность, ЕЦ — естественная цитотоксичность. Здесь и в табл. 2: в каждой серии использовали 8–11 крыс. * — различия контролем достоверны, $p < 0,05$.

ходе цитотоксического теста клеток мишеней по методу [2] через 5 сут после введения ТХВ. Формирование реакции гиперчувствительности замедленного действия (ГЗТ), отражающей функцию клеточного иммунного ответа (в частности, активность Th1-клеток), оценивали у крыс по приросту (в %) массы стопы задней лапы. При этом животных иммунизировали введением 10^8 ЭБ внутрибрюшинно. Разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут. Реакцию ГЗТ определяли через 24 ч. Показатели ПОЛ и связанные с ними параметры АОС крыс оценивали по активности каталазы и пероксидазы методом [1], содержанию малонового диальдегида (МДА) в крови фотометрически на калориметре КФК-2 (λ 540 нм) в 1 см кювете против бутанола [8] через 5 сут после применения ТХВ.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено (табл. 1) снижение существенное снижение основных показателей системы иммунитета после острой интоксикации различными химическими ксенобиотиками в дозе 0,75 ЛД₅₀. Применение имунофана в дозе 10 мкг/кг через 5 сут после отравления ТХВ восстанавливало Т-зависимое антителообразование, АЗКЦ, активность ЕКК, реакции ГЗТ. Острые отравление ФОВ (зарин), соединениями мышьяка (СМ) и ДХЭ сопровождались статистически значимым снижением показателей АОС — каталазы и пероксидазы и достоверным ($p < 0,05$) увеличением содержания в крови МДА (табл. 2). Изменения показателей ПОЛ в крови, несомненно, отражают процесс свободнорадикального окисления липидов, как всех клеток различных органов в целом, так и органов системы иммунитета и, в частности, лимфоцитов.

Применения имунофана после острого отравления ТХВ практически полностью восстанавливало показа-

тели АОС и снижало содержание в крови МДА до контрольного значения.

Механизмы снижения основных показателей системы иммунитета под влиянием ФОВ, СМ и ДХЭ исследованы [3, 4, 6, 12]. Проведенные эксперименты показали, что инициация ПОЛ под влиянием ТХВ может являться одним из общих механизмов иммунотоксичности различных химических ксенобиотиков. Имунофан, вызывая инактивацию свободнорадикальных и перекисных соединений, способствует восстановлению иммунного статуса. Фармакологическое действие данного пептидного иммунооксидредуктанта основано на коррекции иммунной, АОС и тесно связанной с ней ПОЛ [5].

ВЫВОДЫ

1. Имунофан в дозе 10 мкг/кг при подкожном применении в течение 4 сут (ежедневно, однократно) восстанавливает основные показатели иммунного статуса — Т-зависимое антителообразование, антителозависимую клеточную цитотоксичность, активность есте-

Таблица 2. Действие острых отравлений ТХВ (0,75 ЛД₅₀) на показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов у крыс через 5 сут ($M \pm m$)

Вещества	Каталаза, мккатал/мл	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	МДА, нмоль/мл
Контроль	776,4 ± 70,4	55,3 ± 5,8	5,17 ± 0,27
Зарин	460,0 ± 43,1*	40,1 ± 3,6*	5,57 ± 0,25*
Зарин + И	714,3 ± 67,0	50,2 ± 5,5	5,01 ± 0,23
Люизит	430,4 ± 46,1*	30,5 ± 4,1*	6,03 ± 0,21*
Люизит + И	702,3 ± 65,8	47,0 ± 4,8	5,22 ± 0,28
Хлорид мышьяка	507,8 ± 50,9*	37,5 ± 3,6*	5,95 ± 0,24*
Хлорид мышьяка + И	736,0 ± 71,5	52,0 ± 4,1	5,07 ± 0,20
ДХЭ	438,5 ± 44,9*	30,2 ± 3,1*	6,14 ± 0,25*
ДХЭ + И	701,0 ± 65,7	48,1 ± 4,5	5,19 ± 0,22

Примечание. И — имунофан.

ственных клеток-киллеров, реакцию гиперчувствительности замедленного типа после острых отравлений (0,75 ЛД₅₀) заринном (изопропилметилфторфосфонатом), люизитом (β-хлорвинилдихлорарсином), хлоридом мышьяка и дихлорэтаном.

2. Применение имунофана (10 мкг/кг, подкожно, 4 сут, ежедневно, однократно) приводило к восстановлению параметров антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов после острого действия зарина (изопропилметилфторфосфоната), люизита (β-хлорвинилдихлорарсина), хлорида мышьяка и дихлорэтана в дозе 0,75 ЛД₅₀.

3. Иммунотоксические эффекты изопропилметилфторфосфоната, β-хлорвинилдихлорарсина, хлорида мышьяка и дихлорэтана в дозе 0,75 ЛД₅₀ прямо связаны с постинтоксикационной активацией перекисного окисления липидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Х. Валеева, Л. Е. Зиганшина, З. А. Бурнашова, А. У. Зиганшин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(2), 40 – 43 (2002).

2. С. М. Гордиенко, *Иммунол.*, № 1, 31 – 36 (1984).
3. П. Ф. Забродский, *Иммунотропные свойства ядов и лекарственных средств*, Изд. Саратов. ун-та (1998).
4. П. Ф. Забродский, В. Ф. Киричук, А. В. Грызунов, *Бюл. экпер. биол.*, **123**(1), 51 – 53 (1997).
5. П. Ф. Забродский, В. Г. Германчук, Н. М. Трошкин, *Иммуностимуляторы*, “Акварнус”, Саратов (2001).
6. П. Ф. Забродский, В. Г. Германчук, М. Л. Нодель, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(5), 53 – 55 (2002).
7. Ю. И. Зимин, В. Ф. Ляхов, *Иммунол.*, № 1, 27 – 30 (1985).
8. Э. Н. Коробейникова, *Лаб. Дело*, № 7, 8 – 10 (1989).
9. Е. А. Лужников, Л. Г. Костомарова, *Острые отравления: Руководство для врачей. 2-е изд.*, перераб и доп., Медицина, Москва (2000).
10. Н. В. Саватеев, С. А. Куценко, *Воен.-мед. ж.*, № 6, 36 – 40 (1983).
11. Б. С. Утешев, А. С. Сергеев, С. А. Коростелев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **58**(3), 3 – 7 (1995).
12. L. A. Bums, L. E. Batterworth, and A. R. Munson, *J. Pharmacol. and Exper. Ter.*, **264**(2), 695 – 700 (1993).
13. N. K. Jerne and A. A. Nordin, *Science.*, **140**(4), 405 (1963).

Поступила 06.02.03.

THE EFFECT OF IMMUNOFAN ON THE IMMUNITY SYSTEM CHARACTERISTICS AND LIPID PEROXIDATION PARAMETERS UPON ACUTE CHEMICAL POISONING

P. F. Zabrodskii², V. G. Germanchuk², M. N. Nodel², O. A. Vasilenko¹, and A. N. Aredakov¹

¹ Saratov Military Institute of Radiation, Chemical, and Biological Defense, Saratov, Russia;

² Toxicology Department, Saratov State Medical University, ul. Bol'shaya Kazach'ya 112, Saratov, 410710 Russia

The results of experiments on Wistar rats under conditions of acute poisoning with 0.75 LD₅₀ of zarin (isopropylmethyl fluorophosphonate), luisite (β-chlorovinyl dichloroarsine), arsenic chloride, and dichloroethane showed that a four-day treatment with immunofan in a dose of 10 μg/kg restored the immune status characteristics (antibody formation to T-dependent antigen, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, natural killer cell activity, and delayed type hypersensitivity) and the related LPO parameters.