

ИЗМЕНЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И ИММУНОТОКСИЧНОСТИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА И КАРБОФОСА ПОД ВЛИЯНИЕМ 2,4,6-ТРИФЕНИЛ-4Н-СЕЛЕНОПИРАНА И ИХ СВЯЗЬ С Р-450-ЗАВИСИМОЙ МОНООКСИГЕНАЗНОЙ СИСТЕМОЙ

П. Ф. Забродский, Б. И. Древко, В. Г. Мандыч, В. Г. Германчук, С. В. Балашов, А. В. Кузьмин¹

В экспериментах на неинбредных крысах установлено, что 2,4,6-трифенил-4Н-селенопиран (внутри в дозе 0,8 мг/кг в течение 3 сут) вследствие индукции цитохрома Р-450 увеличивает токсичность и иммунотоксичность тетрахлорметана, метаболизирующегося по типу “летального синтеза”, и снижает данные свойства карбофоса, биотрансформация которого происходит с образованием малотоксичных и нетоксичных метаболитов.

Ключевые слова: 2,4,6-трифенил-4Н-селенопиран, тетрахлорметан, карбофос, цитохром Р-450, иммунотоксичность

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к изучению иммуномодулирующих свойств селена и его соединений не уменьшается [8, 10, 11, 13]. Известно, что препараты селена в относительно малых дозах усиливают гуморальные и клеточные иммунные реакции (пролиферацию Т-лимфоцитов, ответ Т-лимфобластов на ИЛ-2 и тимоцитов на ИЛ-1, продукцию ИЛ-2 лимфоцитами и ИЛ-1 макрофагами, активность естественных клеток-киллеров — ЕКК) [8], повышая устойчивость животных и человека к различным инфекциям [12]. Синтезированы и используются в животноводстве, а также в качестве ингредиентов лекарственных средств селеносодержащие органические вещества (диацетофенилселенид и селенопиран), которые в отличие от неорганических препаратов селена, характеризуются значительно меньшей токсичностью, высокой липофильностью, обеспечивающей возможность их пролонгированного действия [6, 7].

Иммуномодулирующие и антимикробные эффекты селеноорганических препаратов [8, 10, 11, 13], в частности, 2,4,6-трифенил-4Н-селенопирана [1], предполагают изучение их влияния на токсичность и иммунотоксичность различных химических веществ, которые при отравлении ими способны приводить к формированию вторичных иммунодефицитных состояний и вызывать возникновение различных инфекционных осложнений и заболеваний [4, 5].

Целью исследования явилась оценка влияния селеноорганического препарата 2,4,6-трифенил-4Н-селенопирана (ТФСР) при его профилактическом использовании на токсичность и иммунотоксические эффекты химических соединений тетрахлорметана и карбофоса (с различной токсикокинетикой и токсикодинамикой) и связь данных эффектов с системой цитохрома Р-450.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на беспородных крысах обоего пола массой 180 – 240 г. Оценивали влияние ТФСР на среднелетальную дозу (DL_{50}) тетрахлорметана (ТХМ) и карбофоса (0,0-диметил-S-1,2-дикарбоэтоксидитиофосфат). ТФСР, ТХМ и карбофос вводили в желудок, ТФСР — в растворе оливкового масла в дозе 0,8 мг/кг в течение 3 сут до введения токсикантов. Эффекты ТФСР сравнивали с действием индуктора Р-450-зависимых монооксигеназ фенобарбитала (ФБ) [2, 3], который применяли *per os* в течение 3 сут в дозе 50 мг/кг до моделирования острого отравления ТХМ и карбофосом. Использование данных токсикантов обусловлено тем, что ТХМ в отличие от карбофоса метаболизируется с участием цитохрома Р-450 с образованием более токсичных метаболитов, чем исходное соединение (“летальный синтез”) [5, 9, 14, 15].

Иммунные реакции оценивали общепринятыми методами [4]. Гуморальный иммунный ответ к Т-зависимому антигену (эритроциты барана — ЭБ) оценивали через 4 сут по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке после внутрибрюшинной иммунизации крыс данным антигеном в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток. Активность ЕКК определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) спектрофотометрически по числу оставшихся неразрушенными в ходе цитотоксического теста клеток-“мишеней” через 3 сут после введения токсикантов. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) исследовали через 4 сут после иммунизации (ЭБ в дозе 10^8 клеток) крыс, используя их спленоциты, спектрофотометрическим методом. Формирование реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), отражающей функцию клеточного иммунного ответа (в частности, активность Th1-лимфоцитов, а также моноцитов и макрофагов), оценивали у крыс по приросту (в процентах) массы стопы задней лапы. При этом животных иммунизировали, вводя внутрибрюшинно 10^8 ЭБ. Разреша-

¹ Саратовский военный институт биологической и химической безопасности, Саратов, 410037, ул. 50 лет Октября, 5. E-mail: pz@renet.com.ru

ющую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут. Реакцию ГЗТ определяли через 24 ч. При исследовании гуморальных и клеточных иммунных реакций крыс иммунизировали практически одновременно с введением токсикантов в дозе 0,5 DL₅₀. При оценке иммунного ответа при действии ТФСП и ФБ животных иммунизировали на 4-е сутки после первого введения химического соединения. Изучение комбинированного действия ТФСП или ФБ с токсикантами на иммунные реакции проводили, иммунизируя крыс ЭБ, через 5–30 мин после отравления ТХМ или карбофосом.

Индукционные свойства ТФСП в отношении Р-450-зависимых монооксигеназ оценивали по длительности сна, вызванного гексобарбиталом в дозе 80 мг/кг. Методами, описанными [2, 3], в микросомальной фракции печени определяли содержание белка и цитохрома Р-450 через 3 сут после применения ТФСП. Ферментиндукционные свойства ТФСП сравнивали с действием ФБ.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Применение ТФСП и ФБ приводило к существенному снижению и увеличению DL₅₀ соответственно ТХМ и карбофоса (табл. 1). Так, ТФСП и ФБ снижают DL₅₀ ТХМ соответственно в 1,58 и 1,63 раза ($p < 0,05$) и увеличивают данный токсикометрический параметр карбофоса в 1,4 и 1,48 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Известно, что ТХМ подвергается метаболическому разложению в мембранах эндоплазматического ретикулаума печени при участии системы цитохрома Р-450. В результате происходит образование свободных радикалов (CCl_3^+ ; $O-O-CCl$; $HO-OCCCl_3$; $HO-CCl_3$), из которых высокую активность имеет CCl_3^+ [9, 14, 15]. Снижение DL₅₀ под влиянием ТФСП и ФБ при отравлении ТХМ, вероятно, связано с усилением метаболизма ТХМ и образованием упомянутых продуктов “летального синтеза”. Полученные результаты позволяют предположить, что 2,4,6-трифенил-4Н-селенопипран обладает способностью индуцировать цитохром Р-450-зависимые монооксигеназы, участвующие в

Таблица 1. Влияние 2,4,6-трифенил-4Н-селенопипрана и фенотбарбитала на DL₅₀ крыс после острого отравления тетрахлометаном и карбофосом

Серии опытов	DL ₅₀ , г/кг
ТХМ	6,7 ± 0,62
ТХМ + ТФСП	4,24 ± 0,33*
ТХМ + фенотбарбитал	4,1 ± 0,3*
Карбофос	0,82 ± 0,07
Карбофос + ТФСП	1,15 ± 0,08*
Карбофос + фенотбарбитал	1,21 ± 0,09*

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

биотрансформации токсикантов [5, 9, 15]. Метаболизм карбофоса приводит к образованию относительно малотоксичных и нетоксичных соединений [4, 5], поэтому DL₅₀ данного соединения увеличивается.

Под влиянием ТХМ и карбофоса в дозе 0,5 DL₅₀ (табл. 2) происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому антигену по сравнению с контрольным значением соответственно в 1,52 и 1,61 раза ($p < 0,05$). Аналогично изменялись и другие иммунные реакции. Так, ТХМ уменьшал АЗКЦ, активность ЕКК и функцию Тh1-лимфоцитов (а также моноцитов и макрофагов), оцениваемую по реакции ГЗТ, соответственно в 1,67, 1,47 и 1,41 раза ($p < 0,05$), а карбофос — в 1,93; 1,75 и 1,4 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Данные литературы позволяют полагать, что уменьшение показателей системы иммунитета под влиянием ТХМ обусловлено действием на молекулы мембран, цитозоля, органелл иммунокомпетентных клеток и продукцию лимфокинов, регулирующие их функцию, как самой молекулы токсиканта, так и высокотоксичных продуктов его биотрансформации [4, 5, 9, 14, 15]. Карбофос вызывает редукцию параметров иммунной системы вследствие ингибирования эстераз Т-клеток, моноцитов и макрофагов и действия кортикостероидов (вследствие активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы) на иммуноциты [4, 5].

Введение ТФСП приводило к существенному снижению и увеличению исследованных иммунных реакций ($p < 0,05$) соответственно при отравлении ТХМ и карбофосом по сравнению с показателями после интоксикации, вызванной изолированным действием токсиканта. Следует отметить, что ТФСП и ФБ при их изолированном воздействии увеличивали иммунные реакции, причем активность ЕКК — статистически значимо ($p < 0,05$), вероятно, вследствие индукции ци-

Таблица 2. Влияние 2,4,6-трифенил-4Н-селенопипрана и фенотбарбитала на показатели системы иммунитета крыс при острой интоксикации токсикантами с различным характером биотрансформации (0,5 DL₅₀) ($M + m$, $n = 8 - 11$)

Токсиканты	АОК к ЭБ, $\cdot 10^3$	АЗКЦ, %	ЕЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	37,2 ± 3,1	14,5 ± 1,5	33,1 ± 3,0	36,5 ± 2,4
ТФСП	44,8 ± 3,7	16,8 ± 1,7	43,0 ± 3,1*	41,4 ± 2,6
ТХМ	24,5 ± 2,2*	8,7 ± 1,1*	22,5 ± 2,6*	25,8 ± 2,1*
ТХМ + ТФСП	17,4 ± 1,9*#	5,6 ± 0,8*#	16,2 ± 1,5*#	19,2 ± 2,0*#
Карбофос+ТФСП	30,2 ± 2,7#	10,6 ± 1,1#	25,5 ± 2,3#	33,1 ± 2,3#
ФБ	46,0 ± 3,8	18,4 ± 1,8	42,4 ± 2,9*	43,0 ± 2,7
Карбофос + ФБ	32,0 ± 2,6#	10,1 ± 0,8#	27,0 ± 2,4#	31,8 ± 2,2

Примечание. В каждой серии использовали 9–11 крыс; * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # — $p < 0,05$ по сравнению с показателем при отравлении.

Таблица 3. Влияние 2,4,6-трифенил-4Н-селенопирана и фенобарбитала на содержание белка и цитохромов в микросомах печени крыс ($M \pm m, n = 8 - 11$)

Показатель	Контроль	ТФСП	Фенобарбитал
Гексобарбиталовый сон, мин	22,1 ± 2,4	8,1 ± 2,0*	6,2 ± 1,8*
Белок, мг/орган	59,2 ± 6,2	141,6 ± 14,3*	156,7 ± 15,1*
Цитохром Р-450, нмоль/г белка	0,97 ± 0,05*	3,09 ± 0,41*	3,98 ± 0,46*

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

тохром Р-450-зависимых монооксигеназ лимфоцитов [5].

Под влиянием ТФСП статистически значимо увеличивалось содержание белка и цитохрома Р-450 в печени (табл. 3). Аналогичное действие оказывал ФБ. Это подтверждает наше предположение о ферментиндуцирующем действии ТФСП, с которым связано увеличение токсичности и иммунотоксичности ТХМ (реализация феномена “летального синтеза”) и снижение данных свойств при назначении 2,4,6-трифенил-4Н-селенопирана до отравления карбофосом.

ВЫВОДЫ

1. 2,4,6-Трифенил-4Н-селенопиран и фенобарбитал существенно уменьшают DL_{50} тетрахлорметана и увеличивают данный показатель при остром отравлении карбофосом.

2. 2,4,6-Трифенил-4Н-селенопиран изменяет токсичность и иммунотоксичность химических веществ, метаболизирующихся соответственно по типу “летального синтеза” (тетрахлорметан) и с образова-

нием малотоксичных и нетоксичных метаболитов (карбофос) вследствие индукции цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. С. 1246566 СССР. В. Г. Харченко, Б. И. Древки, Л. К. Куликова, М. К. Крашенинникова, *Бюл. изобретений*, **10**, 26 (1998).
2. А. И. Венгеровский, И. М. Седых, А. С. Саратиков, *Экспер. и клин. фармакол.*, **56**(5), 47 – 49 (1993).
3. Т. А. Власова, А. И. Венгеровский, А. С. Саратиков, *Хим.-фарм. ж.*, **3**, 56 – 58 (1994).
4. П. Ф. Забродский, В. Г. Лим., Г. М., Мальцева, А. О. Молотков, *Иммунотропные свойства холинергических веществ*, П. Ф. Забродский (ред), Издательство “Научная книга”, Саратов (2005).
5. *Общая токсикология*, Б. А. Курляндский, В. А. Филлов (ред.), Медицина, Москва (2002).
6. Пат. 2171110 РФ, 7А61 К 33 / 04. Б. И. Древки, Р. И. Древки, В. А. Антипов и др., *Бюл. изобретений*, **21**, 2 (2001).
7. Т. Н. Радионова, М. Н. Панфилова, *Ветеринария*, **3**, 31 – 33 (2004).
8. J. R. Artur, R. C. McKenzie, and G. J. Beckett, *J. Nutr.*, **33**(5), 1457 – 1459 (2003).
9. J. V. Bruckner, R. Ramanathan, K. M. Lee, and S. Muralidhara, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **30**(2), 273 – 281 (2002).
10. S. Cunningham-Rundles, D. F. McNeeley, and A. Moon, *J. Allergy Clin. Immunol.*, **115**(6), 1119 – 1128 (2005).
11. M. Ferencik and L. Ebringer, *Folia Microbiol. (Praga)*, **48**(3), 417 – 426 (2003).
12. M. P. Rayman and M. P. Rayman, *Proc. Nutr. Soc.*, **61**(2), 203 – 215. (2002).
13. M. Ryan-Harshman and W. Aldoori, *Can. J. Diet. Pract. Res.*, **66**(2), 98 – 102 (2005).
14. S. A. Sheweita, M. A. El-Gabar, and M. Bastawy, *Toxicology*, **169**(2), 83 – 92 (2001).
15. R. C. Zangar, J. M. Benson, V. L. Burnett, and D. L. Springer, *Chem-Biol. Interact.*, **125**, 233 – 243 (2000).

Поступила 26.02.08

CHANGES IN THE TOXICITY AND IMMUNOTOXICITY OF CHEMICALS UNDER THE ACTION OF 2,4,6-TRIPHENYL-4H-SELENOPIRAN AND THEIR CONNECTION WITH CYTOCHROME P-450 DEPENDENT MONOOXYGENASE SYSTEM

P. F. Zabrodskii, B. I. Drevko, V. G. Mandych, V. G. Germanchuk, S. V. Balashov and A. V. Kuz'min

Saratov Military Institute of Radiation, Chemical and Biological Defense, ul 50-Letiya Oktyabrya 5, Saratov, 410037, Russia

It is established in experiments on noninbred rats that 2,4,6-triphenyl-4H-selenopyrane (peroral administration in a dose of 0.8 mg/kg during 3 days) induces cytochrome P450, thus increasing the toxicity and immunotoxicity of carbon tetrachloride (metabolized via “lethal synthesis”), and reduces the analogous effects of carbofos, the biotransformation of which proceeds via the formation of low-toxicity and nontoxic metabolites.