

АКТИВАЦИЯ Р-450-ЗАВИСИМЫХ МОНООКСИГЕНАЗ ИЗМЕНЯЕТ ИММУНОТОКСИЧНОСТЬ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ХАРАКТЕРА ИХ МЕТАБОЛИЗМА

П.Ф. Забродский — Саратовский военный институт биологической и химической безопасности, заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры технологии уничтожения химического оружия и токсичных веществ Саратовского военного института биологической и химической безопасности, профессор, доктор медицинских наук; **В.Ф. Киричук** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой нормальной физиологии человека, профессор, доктор медицинских наук; **В.Г. Лим** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, доцент кафедры наркологии Саратовского государственного медицинского университета, доктор медицинских наук; **И.Х. Яфарова** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, старший преподаватель кафедры Военной и экстремальной медицины.

ACTIVATION OF P-450-DEPENDENT MONOOXYGENASES CHANGING IMMUNOTOXICITY OF PHOSPHOROORGANIC COMPOUNDS DUE TO THEIR METABOLISM CHARACTER

P.F. Zabrodsky – Saratov Military Institute of Biological and Chemical Safety, Department of Technology of Destruction of Chemical Weapon and Toxic Substances, Professor, Doctor of Medical Science; **V.F. Kirichuk** – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Head of Department of Normal Human Physiology, Professor, Doctor of Medical Science; **V.G. Lim** – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Narcology, Assistant Professor, Doctor of Medical Science; **I.Kh. Yafarova** – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Military and Extreme Medicine.

Дата поступления — 13.01.09 г.

Дата принятия в печать — 15.02.10 г.

П.Ф. Забродский, В.Ф. Киричук, В.Г. Лим, И.Х. Яфарова. Активация р-450-зависимых монооксигеназ изменяет иммунотоксичность фосфорорганических соединений в зависимости от характера их метаболизма. Саратовский научно-медицинский журнал, 2010, том 6, № 1, с. 46–48.

В экспериментах на беспородных белых крысах установлено, что применение индукторов монооксигеназной системы (ИМС) фенобарбитала и бензонала до острого отравления животных хлорофосом в дозе 1,0 ЛД₅₀, метаболизирующегося в организме до соединений с более высокой токсичностью, вызывает увеличение его иммунотоксических свойств. Острое отравление диметилдихлорвинилфосфатом (ДДВФ) (1,0 ЛД₅₀), биотрансформация которого протекает с образованием малотоксичных и нетоксичных соединений после введения ИМС вызывает снижение его супрессирующего влияния на показатели системы иммунитета.

Ключевые слова: цитохром Р-450, карбофос, диметилдихлорвинилфосфат, иммунотоксичность, фенобарбитал, бензонал.

P.F. Zabrodsky, V.F. Kirichuk, V.G. Lim, I.Kh. Yafarova. Activation of p-450-dependent monoxygenases changing immunotoxicity of phosphoroorganic compounds due to their metabolism character. Saratov Journal of Medical Scientific Research, 2010, vol. 6, № 1, p. 46–48.

It was established that the application of the monoxygenase system inductors (MSI) of phenobarbital and benzonal up to acute poisoning of animals by trichlorfom in a dose of 1,0 LD₅₀, metabolized in the organism till production of compounds with higher toxicity caused its immunotoxic properties increase. The experiment was carried out on outbred white rats. The acute dimethylchlorvinylphosphate (1,0 LD₅₀) poisoning, biotransformation of which proceeded with formation of less-toxic and non-toxic compounds after MSI introduction, caused its decrease of suppression influence on immunity system indices.

Keywords: cytochrome P-450, chlorophos, dimethylchlorvinylphosphate, immunotoxycity, phenobarbital, benzonal.

Введение. Индукции цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ барбитуратами, зиксорином и другими средствами является одним из способов терапии отравлений фосфорорганическими соединениями (ФОС) [1, 2]. Монооксигеназная система – МС – (система цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ) тесно связана с иммунологическими механизмами в системе поддержания химического гомеостаза [3, 4]. Ферменты МС содержатся в основном в печени, в меньших количествах они находятся и в других тканях (лимфоидных органах, почках, коже). Барбитураты и другие соединения, индуцируя энзимную активность МС, увеличивают ее способность осуществлять биотрансформацию ксенобиотиков в десятки раз [3, 5, 6]. В лимфоидной ткани животных и человека идентифицированы следующие формы цитохрома Р-450: Р-450РВ-1, Р-450РВ-4, Р-450МС-1α, Р-450МС-1β, а

также бензпиренгидроксилаза, этоксирезорурфин-О-деэтилаза, аминопирин-н-деметилаза [5].

Данные литературы позволяют полагать, что под влиянием индукторов МС токсичные химические вещества (ТХВ), не метаболизирующиеся по типу «летального синтеза» (а это большинство токсикантов), могут ослаблять их иммунотоксические эффекты, в то же время, образование более токсичных продуктов в процессе биотрансформации, может приводить к обратному эффекту [3, 4].

Целью исследования являлось изучение влияния индукторов Р-450-зависимых монооксигеназ (фенобарбитала, бензонала) на иммунотоксические свойства метаболитов фосфорорганических соединений – хлорофоса и диметилдихлорвинилфосфата (ДДВФ), которые метаболизируются до более (хлорофос) и менее (диметилдихлорвинилфосфата (ДДВФ) токсичных веществ.

Методы. Опыты проводили на неинбредных крысах обоих полов массой 180-250 г. В течение трех суток до острой интоксикации ФОС животным вну-

Ответственный автор — Забродский Павел Францевич
410000, Саратов, а/я 10.
Тел.: (845-2) 22-76-25, сот. 8(905)3232751,
E-mail: pz@renet.com.ru

трижелудочно вводили индукторы микросомальных энзимов печени фенобарбитал (ФБ) или бензонал (БЗ) в дозах 50 и 70 мг/кг соответственно. После введения хлорофоса и ДДВФ подкожно в дозе 1,0 DL50, которая для данных токсикантов составляла соответственно 430±27,2 и 64,5±2,3 мг/кг, показатели системы иммунитета оценивали общепринятыми методами в экспериментальной иммунотоксикологии [3]. Гуморальную иммунную реакцию к тимусзависимому (эритроцитам барана — ЭБ) и тимуснезависимому (брюшнотифозному Vi-антигену — Vi-Ag) антигенам оценивали через 5 суток по числу АОК в селезенке после острой интоксикации ТХВ с одновременной внутрибрюшинной иммунизацией крыс данными антигенами в дозах 2·10⁸ клеток и 8 мг/кг соответственно. В использованном тесте гуморальная иммунная реакция на введение ЭБ характеризует способность Т-хелперов типа 1 (Th1) участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM, а гуморальный иммунный ответ на Vi-Ag отражает активность синтеза этими клетками IgM без участия Th1 [3]. Активность естественных клеток-киллеров (ЕКК) определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) через 48 ч после острого отравления ФОС спектрофотометрически. Функцию К-клеток оценивали по показателю антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) через 5 суток после иммунизации крыс 10⁸ ЭБ, используя их спленоциты, спектрофотометрическим методом. Формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) определяли у животных по приросту массы стопы задней лапы (в %). При этом крыс внутрибрюшинно иммунизировали 10⁸ ЭБ через 30 мин после введения ТХВ. Разрешающую дозу ЭБ (5·10⁸) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 суток. Реакцию ГЗТ определяли через 24 ч.

Ферментиндуцирующие свойства ФБ и БЗ оценивали по длительности сна, вызванного гексобарбиталом в дозе 80 мг/кг. По методикам, описанным [7, 8], в микросомальной фракции печени определяли содержание белка и цитохромов P-450 и b-5 через 3 суток после применения индукторов МС.

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

Результаты. Применение ФБ (табл. 1) приводило к незначительному увеличению гуморального иммунного ответа к Т-зависимому и Т-независимому антигенам, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 1,26; 1,20; 1,25 и 1,17 раза ($p>0,05$), а после использования БЗ — соответственно в 1,24; 1,16; 1,31 и 1,22 раза ($p>0,05$). Под влиянием ФБ и БЗ активность ЕКК повышалась соответственно в 1,24 и 1,36 раза ($p<0,05$). Иммуностимулирующие эффекты ФБ и БЗ практически не отличались.

Острая интоксикация ДДВФ вызывала снижение Т-зависимого, Т-независимого ответа гуморальной иммунной реакции, ЕЦ, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 1,77; 1,38; 1,71; 1,69 и 1,98 раза ($p<0,05$), а хлорофосом соответственно в 2,10; 1,75; 1,49; 1,59 и 2,07 раза ($p<0,05$).

После действия ФОС с различным характером метаболизма (хлорофос и ДДВФ) после трехдневного введения ФБ и БЗ вызывали статистически значимую редукцию показателей системы иммунитета по сравнению с контролем и параметрами иммунного статуса только после интоксикации ТХВ без применения индукторов МС ($p<0,05$). При этом хлорофос, метаболизирующийся до более токсичного ДДВФ [6], после применения ФБ вызывал супрессию антителопродукции (к Т-зависимому и Т-независимому антигенам), активности ЕКК, уменьшение АЗКЦ и функции Th1-лимфоцитов (реакции ГЗТ) соответственно в 3,43; 2,72; 1,82; 2,64 и 3,23 раза ($p<0,05$), а после использования БЗ — в 3,24; 3,19; 2,57; 2,49 и 3,71 раза ($p<0,05$) соответственно. Полученные данные свидетельствуют о том, что редукция параметров иммунного статуса под влиянием ферментиндуцирующих средств (ФБ и БЗ) после острой интоксикации ТХВ, в частности хлорофосом, метаболизирующимися до более токсичных соединений (феномен «летального синтеза») более выражена, чем при остром действии ДДВФ (метаболита хлорофоса) ($p<0,05$).

Иммуноотсичность при остром действии ДДВФ, который биотрансформируется до менее токсич-

Таблица 1

Действие острого отравления хлорофосом и ДДВФ на показатели системы иммунитета у крыс после применения индукторов монооксигеназной системы печени ($M\pm m$, $n=9-12$)

Серии опытов	АОК к ЭБ, 103	АОК к Vi-Ag, 103	ЕЦ, %	АЗКЦ, %	ГЗТ, %
Контроль	30,5±3,0	22,3±2,4	27,0± 2,0	13,2± 1,4	33,0±2,6
Фенобарбитал	38,4±3,1	26,8±2,2	33,9± 2,5	16,5±1,7	38,7±2,5
Бензонал	37,9±3,2	25,9±2,8	36,8±2,7	17,3±1,6	40,2±3,1
ДДВФ	17,2±2,3*	16,2±2,0*	15,7±1,7*	7,8±1,5*	16,7±1,9*
Хлорофос	14,4±2,1*	12,6±1,4*	18,0±1,8*	8,4±1,3*	16,0±1,7*
Фенобарбитал + хлорофос	8,8±1,3**	8,1±1,3**	14,7±1,4*	4,9±1,1*	10,1±2,0**
Бензонал + Хлорофос	9,3±1,2**	6,9±1,5**	10,4±1,1**	5,5±1,0	8,8 ±1,3**
Фенобарбитал + ДДВФ	24,1±2,4	17,9±2,3	22,8±1,9	9,2±1,3	27,5±2,3
Бензонал + ДДВФ	26,7±2,6	20,0±2,1	25,5±2,2	10,5±1,4	28,0±2,7

Примечание: * $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** $p<0,05$ по сравнению с контролем и показателем после интоксикации ТХВ без применения индукторов МС.

Влияние фенобарбитала и бензонала на содержание белка и цитохромов в микросомах печени крыс ($M \pm m$, $n=9-12$)

Показатели	Контроль	Фенобарбитал	Бензонал
Гексобарбиталовый сон, мин	21,4±2,5	5,3±1,8*	9,1±2,1*
Белок, мг/орган	54,7±6,1	145,2±14,3*	135,3±12,9*
Цитохром P-450, нмоль/г белка	0,92±0,05*	4,41±0,43*	3,36±0,35*
Цитохром b5, нмоль/г белка	0,38±0,03	0,63±0,04*	0,78±0,07*

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

ных или нетоксичных веществ (диметилфосфата, дихлорвинилового спирта, дихлорацетальдегида, а также дихлорэтанола, дихлоруксусной кислоты) [6] после индукции ФБ и БЗ цитохром P-450-зависимых монооксигеназ значительно снижалась по сравнению с действием диметилдихлорвинилфосфата без применения индукторов МС и была несущественно ниже контрольных значений ($p > 0,05$). Под влиянием ФБ и БЗ статистически значимо уменьшилось время гексенолового сна, содержание белка и цитохромов P-450 и b5 в печени (табл. 2), что, вероятно, обуславливает повышение показателей системы иммунитета.

Обсуждение. Увеличение показателей, характеризующих состояние иммунного статуса у животных, при назначении ФБ и БЗ, может быть обусловлено индукцией цитохром P-450-зависимых монооксигеназ в лимфоидной ткани (иммунокомпетентных клетках - ИКК). Известно, что витамин А, левамизол, фенобарбитал и другие вещества, индуцирующие МС, способны повышать активность Т-лимфоцитов, ЕКК в результате индукции в ИКК цитохром-P-450-зависимых монооксигеназ [4].

Цитохром P-450-зависимые монооксигены печени и лимфоидной ткани, значительно повышая биотрансформацию хлорофоса, превращают его в более токсичный ДДВФ (феномен «летального синтеза») [2, 6], что существенно увеличивает иммунотоксичность подвергнувшегося биотрансформации хлорофоса.

Угнетение реакций иммунной системы ДДВФ, снижается предварительной индукцией МС, энзимы которой приводят к образованию менее ядовитых (или нетоксичных) соединений. Следует отметить, что при действии хлорофоса иммунотоксичность обусловлена как самим ФОС, так и его метаболитом ДДВФ, а при интоксикации ДДВФ супрессия иммунных реакций связана только с действием диметилдихлорвинилфосфатом (его метаболиты малотоксичны или нетоксичны) [3, 6].

Таким образом, в зависимости от характера метаболизма ФОС (образующихся при их биотрансформации продуктов) цитохром P-450-зависимые монооксигеназы могут повышать или снижать их иммунотоксичность.

Закключение.

1. Использование индукторов монооксигеназной системы фенобарбитала и бензонала перорально в течение трех суток в дозах соответственно 50 и 70 мг/кг до острого отравления животных хлорофосом, метаболизирующегося в организме до высокотоксичного соединения диметилдихлорвинилфосфата (ДДВФ), вызывает увеличение его иммунотоксических свойств.

2. Применение индукторов цитохром P-450-зависимых монооксигеназ до острой интоксикации диметилдихлорвинилфосфата (ДДВФ), который биотрансформируется в организме до малотоксичных или нетоксичных веществ, существенно уменьшают его супрессирующее действие на показатели системы иммунитета.

Библиографический список

1. Забродский, П.Ф. Оценка защиты фармакологическими средствами, индуцирующими монооксигеназные энзимы от пестицидов по показателям летальности / П.Ф. Забродский, М.Н. Линючев // Эксперим. и клин. фармакол., 1993. – Т. 56. – №5. – С. 47-49.
2. Каган, Ю.С. Использование индукции цитохрома P-450 как один из новых принципов терапии отравлений фосфорорганическими инсектицидами / Ю.С. Каган, Н.В. Кокшарева, Л.М. Овсянникова // Вестн. АМН СССР – 1980. – № 8. – С. 55-57.
3. Забродский, П.Ф. Иммунотоксикология ксенобиотиков / П.Ф. Забродский, В.Г. Мандыч. – Саратов: СВИБХЗ, 2007. – С. 420.
4. О взаимосвязи активности цитохрома P-450 в лимфоцитах с их иммунной функцией / А.Н. Саприн, А.В. Караулов, Л.А. Пирузян // Докл. АН СССР. – 1982. – Т. 267. – № 5. – С. 1276-1280.
5. Козлов, В.А. Активность цитохром P-450-зависимых монооксигеназ и функции иммунокомпетентных клеток / В.А.Козлов, Г.Ю. Любимов, Н.Н. Вольский // Вестн. АМН СССР – 1991. – № 12. – С. 8-13.
6. Общая токсикология // Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – С. 56-58.
7. Венгеровский, А.И. Эффективность ферментиндуцирующих средств при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном / А.И. Венгеровский, И.М. Седых, А.С. Саратиков // Эксперим. и клин. фармакол. – 1993. – Т.56. – № 5. – С. 47-49.
8. Власова, Т.А. Определение содержания белка, цитохромов P-450 и b-5 после применения индукторов монооксигеназной системы / Т.А. Власова, А.И. Венгеровский, А.С. Саратиков // Хим.-фарм. журн. – 1994. – №3. – С. 45-47.

УДК 616-006.448-031.14-02:616.71-008.9-052(045)

Обзор

ОСОБЕННОСТИ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

А.А. Свистунов – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, проректор по общим вопросам, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, профессор, доктор медицинских наук; **А.В. Рута** – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, кандидат медицинских наук; **О.В. Шевченко** – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, кандидат медицинских наук.

PECULIARITIES OF BONE METABOLISM IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA

A.A. Svistunov – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Pro-rector on Common Matters, Head of Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Professor, Doctor of Medical Science; **A.V. Ruta** – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Assistant, Candidate of Medical Science;