

## ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ И ЛАКТОФЕРРИН В КРОВИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ДЕЛЬТАМЕТРИНОМ И ЭНТЕРОСОРБЦИИ

В.А. ЛИХОЛОБОВ<sup>1</sup>, Ю.Н. ФЕДОРОВ<sup>2</sup>, Л.Г. ПЬЯНОВА<sup>1</sup>, Л.К. ГЕРУНОВА<sup>3</sup>,  
Т.И. ДОЛГИХ<sup>4</sup>, Т.В. ГЕРУНОВ<sup>3</sup>

При контакте с пестицидами у животных и человека возникает риск иммунотоксических эффектов, что провоцирует развитие вторичных иммунодефицитов. Пестицидная нагрузка на организм затрудняет серологическую диагностику инфекционных болезней, становясь причиной ложноположительных или отрицательных результатов. Лечение при интоксикациях базируется на методах эфферентной, симптоматической и патогенетической терапии. На модельных объектах (лабораторные беспородные крысы-самцы с массой 180-200 г) мы исследовали модифицированный углеродный энтеросорбент, который получали после его пропитки 15 % раствором аргинина. Энтеросорбция была назначена со 2-х сут после интоксикации, когда всасывание пестицида из желудочно-кишечного тракта в кровь уже произошло, что позволило оценить иммунокорригирующие эффекты модифицированного сорбента, которые обусловлены не непосредственной сорбцией токсиканта в желудочно-кишечном тракте, а его влиянием на интенсивность энтерогепатической и энтерогематической циркуляции пестицида. Нами установлено, что интоксикация крыс дельтаметрином в дозе 17,4 мг/кг ( $1/5$  LD<sub>50</sub>) вызывает повышение в крови уровней IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$  и лактоферрина. Общее свойство этой группы иммунорегуляторных молекул — их участие в формировании каскада воспалительных реакций, но при чрезмерном увеличении концентрации провоспалительных цитокинов начинают преобладать системные нежелательные процессы, сопровождающиеся гиперкатаболическим и гипердинамическим эффектами. Увеличение концентрации сывороточного лактоферрина при воздействии дельтаметрина можно расценивать как результат развития воспалительного процесса. Энтеросорбция с использованием модифицированного аргинином углеродного сорбента нивелировала отмеченные изменения.

**Ключевые слова:** дельтаметрин, провоспалительные цитокины, лактоферрин, модифицированный углеродный энтеросорбент, аргинин, энтеросорбция, иммунокоррекция.

**Keywords:** deltamethrin, proinflammatory cytokines, lactoferrin, modified carbon enterosorbent, arginine, enterosorbition, immunotherapy.

Пестициды относятся к экотоксикантам, применение которых предусмотрено современными промышленными технологиями в животноводстве, растениеводстве, а также в лесном хозяйстве, в медицине и в быту (1). При контакте с пестицидами у животных и человека возникает риск иммунотоксических эффектов, что провоцирует развитие вторичных иммунодефицитов, усугубляющих течение аллергических, инфекционных, онкологических и других заболеваний (1, 2). Пестицидная нагрузка на организм затрудняет серологическую диагностику инфекционных болезней, становясь причиной ложноположительных или отрицательных результатов (3). Острые отравления животных и человека этими соединениями чрезвычайно опасны, так как токсикологическая характеристика большей части пестицидов недостаточно изучена, антидотная терапия не разработана, не установлены отдаленные последствия их действия. Лечение при интоксикациях базируется на методах эфферентной, симптоматической и патогенетической терапии.

В связи с этим представляло интерес изучение влияния интоксикации дельтаметрином с последующей энтеросорбцией на содержание провоспалительных цитокинов и лактоферрина в крови, что и послужило целью нашего исследования.

**Методика.** В эксперименте исследовали углеродный энтеросорбент, модифицированный аргинином. Исходным материалом был выбран энтеросорбент углеродный ЗООКАРБ (ТУ 9318-003-71069834-2006), разрабо-

танный и полученный в Институте проблем переработки углеводов СО РАН (ИППУ СО РАН) по технологии матричного синтеза из пористого углеродного материала (4, 5).

Модифицирование проводили в несколько этапов: 1-й этап — пропитка углеродного сорбента 15 % раствором аргинина (рН 10,76) (соотношение сорбент:раствор — 1:5, время пропитки 1 ч, температура  $20 \pm 2$  °С, перемешивание); 2-й — сушка пропитанного сорбента при температуре  $105 \pm 2$  °С до постоянной массы; 3-й — термообработка высушенного сорбента в потоке инертного газа в течение 15 мин при температуре  $160 \pm 2$  °С (для закрепления модификатора на углеродном материале); 4-й этап — повторная пропитка и сушка сорбента при условиях, аналогичных описанным для 1-го и 2-го этапов модифицирования.

Эксперимент выполняли на белых беспородных крысах-самцах с массой тела 180-200 г. Из животных были сформированы три группы по 7 особей в каждой. В качестве токсиканта использовали Butox 50 («Intervet», Нидерланды) с содержанием 5 % синтетического пиретроида дельтаметрина. Препарат вводили в дозе 17,4 мг/кг по действующему веществу ( $1/5$  LD<sub>50</sub>) в соответствии с параметрами токсичности для крыс, представленными в базе данных физико-химических и экотоксикологических свойств пестицидов — Pesticide Properties Database, разработанной исследовательским отделом сельского хозяйства и окружающей среды (AERU — Agriculture & Environment Research Unit) в Университете Хартфордшира (the University of Hertfordshire, Великобритания). Животным из I и II групп вводили раствор пестицида внутрижелудочно однократно через зонд. При этом крысам из II группы через 1 сут после однократного введения пестицида был назначен курс энтеросорбции с применением модифицированного аргинином углеродного энтеросорбента в дозе 300 мг/кг один раз в сутки в течение 5 сут. Крысы из III группы были контрольными и получали внутрижелудочно через зонд сопоставимый объем питьевой воды. Через 5 сут животных выводили из опыта под эфирным наркозом.

Содержание цитокинов в плазме крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на автоматическом ИФА-анализаторе Multiscan-EX («Labsystems», Финляндия). Количество интерлейкина 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), хемокина — интерлейкина 8 (IL-8), фактора некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) и лактоферрина в плазме крови крыс определяли с применением наборов реагентов ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург).

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica v. 6.0 («StatSoft», США), в которой выполняли парный сравнительный анализ для независимых выборок (Mann-Whitney U test), при этом определяли медиану (*Me*) и межквартильный размах (P<sub>25</sub>; P<sub>75</sub>).

*Результаты.* Острое отравление животных сопровождалось развитием характерной клинической картины. У крыс отмечали повышенную саливацию, выраженное беспокойство, животные периодически зарывались в подстилку. Периоды чрезмерного возбуждения сменялись угнетением, при этом крысы группировались и сохраняли неподвижность. В первые часы интоксикации наблюдали повышенную реакцию на звуковые и тактильные раздражители, груминг отсутствовал. Поведение интактных животных из III группы после введения им питьевой воды через зонд не изменилось, они проявляли интерес к предложенному корму и воде. На 2-е сут эксперимента клинически значимые различия между животными из опытных групп и интактными крысами практически отсутствовали. Особи в первых двух группах совершали груминг, интересовались свежими порциями корма, хотя оставались несколько менее активными.

На 3-и сут и до окончания опыта видимых изменений в поведении животных всех трех групп не регистрировали (отметим, что специальных методик изучения поведенческих реакций мы не применяли).

В период эксперимента гибели животных не отмечали. Однако при отсутствии клинических признаков отравления регистрировали достоверные изменения иммунологических показателей (табл.), свидетельствующие о вовлечении иммунной системы в патологический процесс и нарушении гомеостаза у животных в моделируемых условиях.

**Содержание (пг/мл) цитокинов и лактоферрина в плазме крови крыс при интоксикации и энтеросорбции ( $n = 7$ )**

Группа	IL-1 $\beta$	IL-8	TNF- $\alpha$	Лактоферрин
I (дельтаметрин)	22,35* (21,5; 25,4)	6,04* (5,8; 6,9)	11,18* (10,9; 12,2)	140,11* (131,9; 153,4)
II (энтеросорбция на фоне интоксикации)	6,72** (5,9; 6,9)	3,12** (2,9; 3,2)	5,08** (4,7; 5,9)	67,53** (63,2; 70,2)
III (контроль)	2,74 (2,4; 2,9)	2,62 (2,4; 2,9)	2,82 (2,4; 2,9)	48,27 (42,2; 56,8)

Примечание. IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$  — соответственно интерлейкин 1 $\beta$ , интерлейкин 8 и фактор некроза опухоли  $\alpha$ . Приведены значения  $Me$  ( $P_{25}$ ;  $P_{75}$ ).

\*  $P_{m-w} < 0,01$  (при сравнении с группой контроля),

\*\*  $P_{m-w} < 0,01$  (относительно показателей животных, подвергшихся интоксикации).

Известно, что физиологическая роль провоспалительных цитокинов заключается в мобилизации адаптационных возможностей организма. Указанные цитокины стимулируют пролиферацию и кооперацию Т- и В-лимфоцитов, повышают их функциональную активность, усиливают синтез адгезивных молекул, обладают пирогенными свойствами, активируют синтез белков острой фазы, принимают участие в реализации реакций как специфического, так и неспецифического иммунитета, способствуют кооперации иммунной, нервной и эндокринной систем (6, 7). Общее свойство этой группы иммунорегуляторных молекул — их участие в формировании каскада воспалительных реакций, но основная опасность при развитии патологического процесса заключается в чрезмерном увеличении концентрации провоспалительных цитокинов, когда их протективный иммуностимулирующий эффект нивелируется и начинают преобладать системные нежелательные процессы, сопровождающиеся гиперкатаболическим и гипердинамическим эффектами (8). Учитывая тесную взаимосвязь иммунной и нервной систем, следует предполагать потенцирование токсичности дельтаметрина — пестицида нейротоксического действия.

Лактоферрин плазмы крови синтезируется в нейтрофильных гранулах, откуда и поступает в системный кровоток, причем во время воспаления количество высвобождающегося лактоферрина возрастает в десятки раз (9, 10). Увеличение концентрации сывороточного лактоферрина при воздействии дельтаметрина можно расценивать как результат развития воспалительного процесса в качестве защитной реакции на инфекционную агрессию со стороны желудочно-кишечного тракта вследствие нарушения барьерной функции кишечника при остром пероральном отравлении. Комплексообразующая способность лактоферрина способствует осуществлению процессов детоксикации, транспорта и представляет собой один из элементов его антимикробной активности (11).

Для минимизации постинтоксикационных осложнений и восстановления иммунной реактивности была проведена энтеросорбция с применением модифицированного аргинином углеродного энтеросорбента, детоксицирующий эффект которого способствовал у животных II группы снижению количества провоспалительных цитокинов и лактоферрина, приближая эти показатели к значениям в контрольной группе. Известно, что один из принципов терапии при отравлениях — ускоренное выведение яда

из организма (12). Однако энтеросорбция была назначена со 2-х сут после интоксикации, когда всасывание пестицида из желудочно-кишечного тракта в кровь уже произошло, что позволило оценить иммунокорректирующие эффекты модифицированного сорбента, которые обусловлены не непосредственной сорбцией токсиканта в желудочно-кишечном тракте, а его влиянием на интенсивность энтерогепатической и энтерогематической циркуляции пестицида как важной составляющей процессов естественной детоксикации организма (13). Кроме того, аргинин, высвобождающийся из матрицы сорбента, модулирует функционирование эндокринной и иммунной систем, снижает проницаемость интестинального барьера для бактерий (14, 15). При этом, будучи субстратом для продукции NO, аргинин стимулирует неоангиогенез (16), что способствует форсированному восстановлению кровеносного русла после острой интоксикации.

Таким образом, при интоксикации крыс дельтаметрином в дозе 17,4 мг/кг ( $1/5$  LD<sub>50</sub>) в сыворотке крови животных наблюдалось повышение концентрации IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$  и лактоферрина. Энтеросорбция с использованием модифицированного аргинином энтеросорбента при остром отравлении дельтаметрином способствует снижению количества провоспалительных цитокинов и лактоферрина, что указывает на возможность клинического применения энтеросорбции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Герунов Т.В., Редькин Ю.В., Герунова Л.К. Иммунотоксичность пестицидов: роль в патологии животных и человека. Успехи современной биологии, 2011, 131(5): 474-482.
2. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М., 1995.
3. Герунова Л.К., Околелов В.И., Бойко Т.В. Гематотоксическое действие пестицидов на теплокровных животных. Сельскохозяйственная биология, 2003, 4: 75-78.
4. Суровикин В.Ф. Современные тенденции развития методов и технологии получения нанодисперсных углеродных материалов. Российский химический журнал, 2007, LI(4): 92-97.
5. Пьянова Л.Г. Углеродные сорбенты в медицине и протеомике. Химия в интересах устойчивого развития, 2011, 19(1): 113-122.
6. Калинина Н.М., Кетлинский С.А., Оковитый С.В., Шуленин С.Н. Заболевания иммунной системы. Диагностика и фармакотерапия. М., 2008.
7. Лесков В.П., Чередеев А.Н., Горлина Н.К., Новоженев В.Г. Клиническая иммунология для врачей. М., 2005.
8. Лейдерман И.Н. Синдром полиорганной недостаточности. Метаболические основы. Вестник интенсивной терапии, 1999, 2: 5-10.
9. Leffell M.S., Spitznagel J.K. Fate of human lactoferrin and myeloperoxidase in phagocytosing human neutrophils: effects of immunoglobulin G subclasses and immune complexes coated on latex beads. Infect. Immun., 1975, 12(1/4): 813-820.
10. Maallen H., Sheppard K., Fletcher J. The discharge of primary and secondary granules during immune phagocytosis by normal and chronic granulocytic leukaemia polymorphonuclear neutrophils. Br. J. Haematol., 1982, 51(1/2): 201-208.
11. Oram J.D., Reiter V. Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron-chelating agents. Biochim. Biophys. Acta., 1968, 170(1/2): 351-365.
12. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система) /Под ред. А.Г. Чучалина, В.В. Яснецова. М., 2012.
13. Медицинская токсикология: национальное руководство /Под ред. Е.А. Лужникова. М., 2012.
14. Шейбок М.В., Павлюковец А.Ю. Аргинин и иммунная система — возможные механизмы взаимодействия. Вестник Витебского государственного медицинского университета, 2013, 12(1): 6-13.
15. Abumrad N., Barbul A. Arginine therapy for acute myocardial infarction. JAMA, 2006, 295(18): 2138-2139.
16. Пашков Д.В., Артюшкова Е.Б., Покровский М.В. и др. L-аргинин в фар-

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем переработки углеводов СО РАН,  
644040 г. Омск-40, ул. Нефтезаводская, 54,  
e-mail: val@ihcp.ru, medugli@ihcp.ru, medugli@rambler.ru;  
<sup>2</sup>ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности Россельхозакадемии,  
141142 Московская обл., Шелковский р-н,  
пос. Биокомбината, 17,  
e-mail: fun181@mail.ru;  
<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина,  
644122 г. Омск, ул. Октябрьская, 92,  
e-mail: gerliud@mail.ru, vsed@mail.ru;  
<sup>4</sup>ГБОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,  
644001 г. Омск, ул. 20 лет РККА, 15,  
e-mail: dolgih-ti@mail.ru

Поступила в редакцию  
20 августа 2013 года

## PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES AND LACTOFERRINE IN BLOOD OF RATS AT AN ACUTE POISONING WITH DELTAMETRIN AND AT THE ENTEROSORPTION

V.A. Likhobov<sup>1</sup>, Yu.N. Fedorov<sup>2</sup>, L.G. P'yanova<sup>1</sup>, L.K. Gerunova<sup>3</sup>,  
T.I. Dolgikh<sup>4</sup>, T.V. Gerunov<sup>3</sup>

### Summary

In animals and humans after a contact with pesticides, there is a risk of immunotoxic effects, which causes the secondary immunodeficiencies. The pesticide load on the organism makes it difficult to conduct the serological indication of infectious diseases, becoming a cause of false positive or negative results. The treatment of intoxication is based on the methods of efferent, symptomatic and pathogenetic therapy. We investigated the modified carbon enterosorbent, obtained after impregnating a 15 % solution of arginine, on the model objects (laboratory mongrel male rats with the mass of 180-200 g). Enterosorption was appointed 2 days after the intoxication, when the absorption of pesticide from the gastrointestinal tract into the blood stream has occurred. Thus, it was possible to evaluate immunocorrecting effects of the modified sorbent, which were caused not by sorption of toxicant in the gastrointestinal tract, but by its influence on the intensity of enterohepatic and enterogemetic pesticide circulation. It was established that the intoxication of rats with deltametrin in the dose of 17.4 mg/kg ( $1/5$  LD<sub>50</sub>) caused the rise of the IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$  and lactoferrine levels in blood. Participation in formation of a cascade of inflammatory reactions is a common property of this group of immunoregulatory molecules. But under the excess of pro-inflammatory cytokines, the undesirable processes accompanied with the hypercatabolic and hyperdynamic effects become dominant. The increase of serum lactoferrine concentration in animals exposed to deltametrin may be regarded as a result of inflammatory process. The arginine-modified carbon sorbent used for enterosorption leveled the described changes.

### Новые книги

Кони́чев А.С., Цветков И.Л., Попов А.П. и др. **Практикум по молекулярной биологии**: Уч. пос. для вузов. М.: изд-во «КолосС», 2012, 151 с.

Представлены прописи для проведения цикла лабораторных работ, связанных с изучением строения и функций нуклеиновых кислот и белков и использованием наиболее широко распространенных методов современной молекулярной биологии. Наряду с работами, требующими современного и в ряде случаев достаточно дорогого оборудования и реактивов, приведены прописи выпол-

нения элементарных работ, позволяющих тем не менее получить определенные качественные и количественные результаты, характеризующие свойства белков и нуклеиновых кислот. Каждая работа содержит теоретическое описание того или иного метода и наиболее важные аспекты его практического использования, целевое назначение всех необходимых реактивов и оборудования, подробное поэтапное описание лабораторных операций. Все представленные в практикуме работы прошли апробацию в учебных и научных лабораториях МГОУ и ООО «Компания «Биоком» и снабжены иллюстрациями.