



Биолог. журн. Армении, 1 (64), 2012

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГА ОДНОКРАТНОГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПО СНИЖЕНИЮ МАССЫ ТИМУСА ЖИВОТНЫХ

Փ.Ր.ՍԵՏՐՈՍՅԱՆ¹, Զ.Տ.ՎՕՏԿԱՅԱՆ¹, Վ.Տ.ՎՕՏԿԱՅԱՆ²

¹ՀԱՕ "Զավոդ Ուարիտ"

²Արմյանսկիի պետական տնտեսական համալսարան

Острая интоксикация животных различными группами химических веществ вызывает дозозависимое снижение массы центрального органа иммуногенеза – тимуса, в связи с чем рекомендуется применение этого теста в качестве дополнительного чувствительного метода для определения порога однократного действия химических соединений в токсикологических исследованиях.

Порог однократного действия – химические соединения – тимус

Կենդանիների սուր (միանվագ) թունավորումը տարբեր խմբերի քիմիական նյութերով առաջացնում է իմունային համակարգի կենտրոնական օրգանի՝ ուրցագեղձի զանգվածի դրականախալ նվազում, ուստի տվյալ թեստը առաջարկվում է օգտագործել թունաբանական հետազոտություններում որպես քիմիական միացությունների միանվագ ազդեցության շեմբային մակարդակի որոշման զգայուն լրացուցիչ եղանակ:

Միանվագ ազդեցության շեմբ – քիմիական միացություններ – ուրցագեղձ

The acute (single) poisoning of animals with the chemical agents of different groups generates the dose-dependent decrease of mass of thymus, that is the central body of an immune system. It is suggested that it may be used in toxicological studies as an additional sensitive method for decision of threshold level of the chemical compounds single influence.

Single influence, threshold – chemical compound – thymus

Основой для установления гигиенических нормативов химических веществ является концепция пороговости их вредного действия. Порог вредного действия – минимальная концентрация (доза) вещества в объекте окружающей среды, при воздействии которой в организме (при конкретных условиях поступления вещества и стандартной статистической группе животных) возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций, или скрытая (временно компенсированная) патология [1, 3]. Порог однократного, как и пороги хронического и отдаленных действий являются основными и обязательными токсикологическими показателями, применяющимися при обосновании и утверждении предельно допустимых концентраций химических веществ в объектах окружающей среды [3, 4].

Согласно действующим методическим указаниям, для определения порогов однократного действия химических веществ рекомендуются различные показатели, позволяющие оценивать как общее состояние организма (интегральные, неспецифические), так и отдельных органов или систем (патогенетические, специфические). В качестве интегральных показателей рекомендуются: масса тела, потребление кислорода, суммационно-пороговый показатель (СПП), работоспособность, гексеналовый сон, бромсульфалеиновая проба, частота дыхания и пульса, естественные поведенческие акты и др.

Целью работы являлось обоснование дозозависимого снижения массы тимуса, характеризующего иммунобиологический статус организма, при остром отравлении животных химическими веществами различных групп и предложение применения этого теста в токсикологических исследованиях в качестве интегрального порога однократного действия.

Материал и методика. Опыты проведены на белых беспородных половозрелых крысах и мышах массой соответственно 150-180 г и 24-28 г. Животные подвергались интоксикации ингаляционным способом в 100-литровых камерах, однократно, крысы по 4 ч, мыши по 2 ч в концентрациях порогов однократного действия (Lim_{ac}), установленных по СПП, потреблению кислорода, гексеналовому сну или работоспособности; на уровнях 1/3 и 1/5 Lim_{ac} и в 3-5 раз превышающих Lim_{ac} . В каждую группу брали по 10 животных обоего пола. Животных забивали через 24 ч после отравления, вскрывали, определяли массу и массовые коэффициенты тимуса, а кусочки органа подвергали гистологическому исследованию.

Было испытано 52 химических соединения, в том числе 31 хлорорганическое насыщенное и ненасыщенное вещество ряда бутана (хлорбутаны, хлорбутены, хлорбутадиены, хлорспирты), 4 непредельных углеводорода ряда ацетилена, винную кислоту и ее 8 солей, а также 8 соединений различных групп (табл.1).

Результаты и обсуждение. Тимус (зобная, вилочковая железа) как центральный орган иммуногенеза контролирует все иммунологические реакции организма [10]. Этот орган привлекает особое внимание ученых в последние полвека, после исследований Miller [9] и Good et al. [6] показавших, что новорожденные мыши, которым удаляли зобную железу, не способны отвечать на антигенную стимуляцию. Тимус располагается в переднем средостении, непосредственно за грудиной. У половозрелых белых крыс тимус весит 0,35-0,5 г, у белых мышей (0,04-0,07 г или 0,17-0,25% от массы тела обоих видов [2].

Результаты исследования показывают, что при отравлении животных испытываемыми химическими веществами происходит закономерное, дозозависимое снижение массовых коэффициентов тимуса (табл.1)*. Так, в группе крыс, подвергнутых интоксикации в концентрациях 1/3-1/5 Lim_{ac} , снижение массового коэффициента тимуса по сравнению с контрольными животными составило в среднем 12,3% (размах колебаний 6-17%). При воздействии на уровне Lim_{ac} потеря массы этого органа доходила до 24,1% (12,8-33,8%), а при отравлении на уровнях, превышающих Lim_{ac} в 3-5 раз, снижение массового коэффициента тимуса равнялось 35,6% (24,1-45,3%). При отравлении мышей на уровнях 1/3-1/5 Lim_{ac} , снижение массового коэффициента тимуса составило 10,1% (6,0-13,2%), при Lim_{ac} - 19,5% (8,9-27,8%), в концентрации, превышающей Lim_{ac} в 3-5 раз - 31,7% (20,2-41,0%). При этом интоксикация крыс на уровнях Lim_{ac} в 82,7 случаях (у 43 соединений из 52 испытанных) приводила к статистически достоверному коэффициенту тимуса. У мышей значимое снижение массового коэффициента тимуса наблюдалось в 71,1% случаях (у 37 веществ из 52).

Таблица 1. Массовые коэффициенты (г/кг) тимуса белых крыс при однократном ингаляционном отравлении (M±m)

№№ п/п	Вещества	Контроль	Отравление на уровне 1/3-1/5 Lim _{ac} .	Отравление на уровне Lim _{ac} .	Отравление на уровне свыше Lim _{ac} . в 3-5 раз
1.	2,3-Дихлорбутан	1,51±0,14	1,36±0,11	1,13±0,12*	0,95±0,15*
2.	1,2,3,3-Тетрахлорбутан	1,48±0,12	1,39±0,13	1,10±0,14*	1,05±0,17*
3.	1,2,3,4-Тетрахлорбутан	1,50±0,11	1,34±0,12	1,19±0,08*	1,12±0,13*
4.	1,1,2,3,4-Пентахлорбутан	1,62±0,15	1,47±0,15	1,17±0,13*	1,04±0,11*
5.	1,2,2,3,4-Пентахлорбутан	1,39±0,16	1,22±0,14	0,91±0,14*	0,81±0,12*
6.	1,1,2,2,3,4-Гексахлорбутан	1,50±0,17	1,33±0,12	1,19±0,12*	0,87±0,14*
7.	2-Хлорбутен-2	1,51±0,09	1,37±0,11	1,24±0,13*	1,07±0,15*
8.	1,3-Дихлорбутен-2	1,39±0,11	1,20±0,16	1,06±0,10*	0,91±0,12*
9.	1,4-Дихлорбутен-2	1,48±0,08	1,31±0,13	1,11±0,12*	0,84±0,16*
10.	2,3-Дихлорбутен-1	1,41±0,10	1,32±0,11	1,23±0,11*	1,07±0,10*
11.	3,4-Дихлорбутен-1	1,45±0,09	1,26±0,14	1,15±0,12*	1,01±0,14*
12.	1,2,3-Трихлорбутен-2 (ЦИС)	1,41±0,13	1,29±0,12	1,11±0,08*	0,89±0,13*
13.	1,2,3-Трихлорбутен-2 (транс)	1,54±0,12	1,28±0,14	1,15±0,13*	0,92±0,16*
14.	1,2,4-Трихлорбутен-2	1,47±0,15	1,22±0,13	1,09±0,15*	0,83±0,13*
15.	2,3,3-Трихлорбутен-1	1,43±0,11	1,27±0,10	0,93±0,14*	1,01±0,12*
16.	2,3,4-Трихлорбутен-1	1,40±0,10	1,19±0,13	0,98±0,14*	0,81±0,15*
17.	1,1,2,4-Тетрахлорбутен-2	1,44±0,12	1,26±0,11	1,12±0,12*	0,95±0,13*
18.	1,2,3,4-Тетрахлорбутен-1	1,46±0,13	1,31±0,14	1,14±0,09*	1,03±0,11*
19.	1,2,3,4-Тетрахлорбутен-2	1,52±0,16	1,34±0,13	1,12±0,14*	1,03±0,16*
20.	1,1,2,3,4-Пентахлорбутен-1	1,42±0,08	1,23±0,12	1,01±0,08*	0,92±0,12*
21.	1,2,3,3,4-Пентахлорбутен-1	1,57±0,12	1,37±0,14	1,15±0,13*	1,02±0,17*
22.	1-Хлорбутадиен-1,3	1,60±0,13	1,38±0,15	1,18±0,14*	1,06±0,12*
23.	2-Хлорбутадиен-1,3	1,43±0,09	1,21±0,13	1,06±0,11*	0,88±0,16*
24.	1,2-Дихлорбутадиен-1,3	1,51±0,11	1,33±0,16	1,17±0,10*	1,05±0,14*
25.	2,3-Дихлорбутадиен-1,3	1,48±0,14	1,24±0,11	1,03±0,16*	0,85±0,12*
26.	1,1,2-Трихлорбутадиен-1,3	1,42±0,13	1,19±0,12	1,03±0,09*	0,79±0,10*
27.	1,2,3-Трихлорбутадиен-1,3	1,39±0,08	1,21±0,14	0,99±0,12*	0,82±0,09*
28.	1,1,2,3-Тетрахлорбутадиен-1,3	1,41±0,07	1,24±0,10	1,08±0,11*	0,94±0,08*
29.	Димеры хлоропрена	1,49±0,12	1,28±0,09	1,13±0,14*	1,05±0,13*
30.	3-Хлорбутенол	1,52±0,14	1,38±0,11	1,29±0,10	1,17±0,11*
31.	2,3-Дихлорбутенол	1,44±0,11	1,27±0,13	1,09±0,12*	0,96±0,14*
32.	Винилацетилен	1,52±0,09	1,33±0,09	1,16±0,15*	1,01±0,08*
33.	Дивинилацетилен	1,47±0,10	1,29±0,12	1,11±0,13*	0,92±0,12*
34.	Метилацетилен	1,39±0,14	1,25±0,16	1,12±0,09	0,95±0,12*
35.	Метилвинилацетилен	1,45±0,12	1,27±0,11	1,08±0,14*	0,89±0,13*
36.	Винная кислота	1,49±0,12	1,30±0,10	1,14±0,11*	0,94±0,10*
37.	Натрий винноокислый - Na ₂ BK	1,54±0,10	1,37±0,15	1,17±0,16*	1,00±0,13
38.	Калий винноокислый - K ₂ BK	1,57±0,16	1,29±0,14	1,12±0,14*	0,91±0,12*
39.	Калий натрий винноокислый - NaBK	1,44±0,17	1,28±0,13	1,11±0,12	1,03±0,11*
40.	Натрий винноокислый кислый - NaH-BK	1,40±0,13	1,25±0,12	1,07±0,15	0,89±0,16*

41.	Аммоний виннокислый средний - (NH ₄) ₂ BK	1,46±0,12	1,29±0,09	1,08±0,10*	0,88±0,14*
42.	Калий виннокислый кислый - КН-ВК	1,52±0,15	1,35±0,13	1,18±0,12	1,04±0,11*
43.	Калий сурьяно виннокислый - KSbO-ВК	1,51±0,13	1,37±0,15	1,00±0,09*	0,83±0,13*
44.	N-Дибутилдитиокарбомат	1,55±0,14	1,42±0,08	1,25±0,13	1,07±0,10*
45.	Тетра этилтиурамдисульфид	1,60±0,13	1,36±0,11	1,17±0,15*	1,02±0,16*
46.	Метилвинилкетон	1,61±0,14	1,32±0,17	1,15±0,16*	0,88±0,12*
47.	Диметилвинилэтинилкарбинол	1,62±0,10	1,38±0,12	1,19±0,14*	1,08±0,13*
48.	Дитретбутиловый эфир пирометилсульфоновой кислоты	1,65±0,16	1,40±0,14	1,19±0,15	1,03±0,11*
49.	Итаконная кислота	1,62±0,09	1,44±0,13	1,17±0,12*	0,94±0,13*
50.	DL-Аминофенилуксусная кислота	1,46±0,14	1,29±0,10	1,08±0,09*	0,90±0,12*
51.	4-Амино-1,2,4-Триазол	1,59±0,16	1,41±0,12	1,13±0,14*	0,87±0,14*
52.	Аммоний виннокислый кислый - (NH ₄ H-ВК)	1,46±0,12	1,32±0,13	1,19±0,15	1,03±0,11*

При отравлении крыс 17 соединениями (32,7%) достоверная потеря массы тимуса отмечена также при концентрациях 1/2 Limac.

Снижение массы тимуса получает морфологическое подтверждение в виде выраженной акцидентальной инволюции, характеризующейся альтеративными изменениями лимфоидной ткани и нарушениями сосудистой системы: полнокровием сосудов мозгового слоя органа, отеком, кровоизлияниями, инфильтрацией эозинофилов и нейтрофилов. Альтернативные явления лимфоидной ткани тимуса проявлялись: в корковом слое - пикнозом и кариорексисом тимоцитов, вследствие чего границы его сокращались пропорционально потере массы органа; в мозговом слое - сокращением количества телец Гассала за счет деструктивных изменений и их гибели. При выраженном снижении массы тимуса (40-45%) от коркового слоя остается небольшой "ободок" вокруг (или в виде полукруга) мозгового слоя. Сокращение границ коркового слоя объясняется также выбросом большого числа тимоцитов в периферийные органы иммуногенеза [11].

Анализируя гистоструктуру тимуса, можно предположить, что если исключить сопутствующие альтернативным изменениям гемодинамические нарушения (полнокровие сосудов и отек стромы органа, снижение массы этого органа было бы намного значительнее.

Снижение массы тимуса отмечено также при отравлении бутадиеном, 2,5-гександиеном, тетрахлор-п-диоксином, 1,3-дихлорбутеном многими антибластомными средствами и др. [5, 7, 8, 11, 12].

Таким образом, результаты экспериментальных исследований позволяют заключить, что острая интоксикация животных различными группами химических веществ вызывает дозозависимое снижение массового коэффициента центрального органа иммуногенеза – тимуса, в связи с чем рекомендуем применение этого теста в качестве дополнительного чувствительного метода при определении порога однократного действия химических соединений в токсикологических исследованиях. В то же время снижение массового коэффициента тимуса вкупе с его морфологическими изменениями является чувствительным показателем иммунологической реактивности организма в ответ на токсическое воздействие (иммунотоксический эффект).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аникиев В.В., Захаров П.В.* Интегральный критерий качества окружающей среды . Геоинформатика, 1, с.18-21, 2002.
2. *Кузнецов С.Л., Мушамбаров Н.Н.* Гистология, цитология и эмбриология. М., МИА, 2007.
3. *Общая токсикология.* Под ред. Б.А.Курляндского, В.А.Филова. М., 2002.
4. *Линигин М.А.* Состояние и перспективы количественной оценки влияния химического загрязнения атмосферы на здоровье населения. Гигиена и санитария, 5, с. 8-10, 2001.
6. *Bartels M.J. et al.* Pharmacokinetics and metabolism of 1,3-dichlorobutene in the Fischer 344 and B6C3F1 mouse. *Xenobiotica*, 34, pp.193-213, 2004.
7. *Good R.A. et al.* The role of the thymus in development of immunologic capacity in rabbits and mice. *Exp. Med.*, 116, 5, pp. 773-781, 1962.
8. *Hurst C.V. et al.* Acute administration of 2,3,7,8-TCDD in pregnant Zong Evans rats; association of measured tissue concentrations with developmental effects. *Toxicol.Sci.*, 53, 2, pp. 411-420, 2000.
9. *Lee I.E., Dietert R.R.* Developmental immunotoxicity of lead: impact on thymic function *Birth Defects Res., Clin and Mol.Teratol.*, 6, 10, pp. 861-867, 2003.
10. *Miller J.F.* Immunological function of the thymus. *Lancet*, 11, pp. 748-749, 1961.
11. *Ribatti D. et al.* Miliers several studies on the role of thymus in immunity. *Clin.exp.immunol*, Jun., 144, 3, pp. 371-375. 2006,
12. *Vos J.G.* Dioxin – induced thymic atrophy and suppression of thymus-dependant immunity. *Biol. Mech. Dioxin Act.* Cold. Spring Harbor. New-Jork, pp. 401-409, 1984.
13. *Zimecki M. et al.* Calf thymus extract attenuates severity of experimental encephalomyelitis in Lewis rats. *Folia Neuropathol.*, 48, 4, pp.246-257, 2010

Поступила 09.08.2011