



**АКТИВНОСТЬ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ЛИМФОЦИТОВ КРЫС
ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМ ПЕСТИЦИДОМ АНТИО**

Хайдарова Дилором Сафоевна

Кафедра преклинических наук

Университета Зармед, Республика Узбекистан, Самарқанд

АННОТАЦИЯ.

В ходе хронического эксперимента, в котором крысы получали фосфорорганический пестицид антио в дозах 3,5 мг/кг/день и 17,5 мг/кг/день (что составляет 1/100 и 1/20 от летальной дозы (ЛД₅₀) соответственно), было обнаружено наличие ацетилхолинэстеразной активности в их лимфоцитах. Исследование показало, что активность ацетилхолинэстеразы отличается у разных субпопуляций лимфоидных клеток.

Дозозависимое угнетение ацетилхолинэстеразы лимфоцитов крыс, которое наблюдалось при хроническом введении фосфорорганического пестицида антио, позволяет предположить существование ранее неизвестного механизма иммунодепрессивного воздействия фосфорорганических соединений, связанного, возможно, с влиянием их на процессы нейромедиаторной регуляции функций лимфоидных клеток.

Ключевые слова: хроническая интоксикация, фосфорорганические пестициды, лимфоциты крыс, ацетилхолинэстеразная активность, угнетение ацетилхолинэстеразы.

ABSTRACT

Chronic poisoning of rats with the organophosphate pesticide antio at doses of 3.5 mg/kg/day and 17.5 mg/kg/day (1/100 and 1/20 LD₅₀, respectively) in the experiment revealed the presence of acetylcholinesterase activity in their lymphocytes. The results of the experiment showed that the activity of acetylcholinesterase is not the same in different subpopulations of lymphoid cells. The revealed dose-dependent inhibition of acetylcholinesterase in rat lymphocytes



during chronic administration of the organophosphorus pesticide antio suggests that there may be a previously unknown mechanism of the immunosuppressive effect of organophosphorus compounds, implemented through the interference of these drugs in the processes of neurotransmitter regulation of the functions of lymphoid cells.

Keywords: chronic poisoning, organophosphate pesticides, rat lymphocytes, acetylcholinesterase activity, acetylcholinesterase inhibition

Введение. Использование пестицидов в сельском хозяйстве в больших объёмах привело к возникновению проблемы негативного влияния этих веществ на здоровье людей.

Одним из механизмов, который способствует снижению резистентности и подавлению иммунной системы при контакте с пестицидами, является их токсическое воздействие на внутренние органы, нарушение обмена веществ и механизмов нейрогуморальной регуляции защитных реакций организма.

Известно, что на поверхности лимфоцитов человека есть не только рецепторы к ацетилхолину, но и фермент ацетилхолинэстераза (АХЭ). Это даёт основание предполагать, что ацетилхолин, который высвобождается нервными окончаниями в микроокружение лимфоидных клеток, является естественным фактором регуляции их активности. АХЭ лимфоцитов, в свою очередь, ограничивает иммуномодулирующее действие нейромедиатора. В связи с этим возникает вопрос о возможной связи иммуносупрессивного эффекта пестицидов с их антихолинэстеразной активностью и нарушением физиологических механизмов холинергической регуляции функций клеток иммунной системы организма.

Целью работы являлось изучение влияния хронического введения широко применяемого фосфорорганического пестицида антио на активность АХЭ лимфоцитов крыс в первичных и вторичных лимфоидных органах.

Методика исследования. В ходе эксперимента на самцах крыс породы Вистар с массой тела 180–240 граммов были проведены исследования. В течение двух месяцев животные получали раствор пестицида антио



перорально с помощью зонда. Дозировка составляла 3,5 мг/кг/день и 17,5 мг/кг/день, что соответствует 1/100 и 1/20 ЛД₅₀ соответственно. Контрольные особи получали равный объём растворителя.

Сам по себе антио не обладает антихолинэстеразным действием, но в организме подвергается окислительной десульфурации и превращается в Р-О-производное, которое становится сильным ингибитором АХЭ.

По завершении периода затравки животных подвергали одномоментной декапитации, извлекали тимус и селезёнку. Лимфоциты выделяли общепринятыми методами: орган мягко раздавливали, фильтровали через капроновый фильтр, центрифугировали в градиенте плотности фиккола-верографина с удельной плотностью 1,090, затем отмывали суспензию в холодном буферном фосфатном физиологическом растворе с рН 7,2. Подсчитывали количество лимфоцитов в суспензии.

Далее суспензии лимфоцитов из опытных и контрольных групп гомогенизировали в гомогенизаторах Поттера. В гомогенате лимфоцитов определяли активность АХЭ с использованием ацетилхолина в качестве субстрата и неспецифических эстераз (НСЭ), включая карбоксилэстеразы, для которых субстратом служил п-нитрофенилацетат.

Полученные данные были обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Длительное воздействие ФОС антио в дозах, составляющих 1/100 и 1/20 ЛД₅₀, не оказало заметного влияния на общее состояние и поведение крыс. Опытные животные набирали вес так же, как и контрольные. Все крысы, участвовавшие в эксперименте, дожили до его завершения.

При анализе активности АХЭ в гомогенатах лимфоцитов было обнаружено значительное различие в активности этого фермента в клетках тимуса и селезёнки. Активность АХЭ в клетках селезёнки (спленоцитах) была в 15–20 раз выше, чем в клетках тимуса (timoцитах).



При исследовании активности НСЭ лимфоцитов различия между органами были не столь существенными. Активность НСЭ в спленоцитах в среднем в 4 раза превышала активность этого фермента в тимоцитах (табл)

Препарат и доза	Тимоциты		Спленоциты	
	АХЭ	НСЭ	АХЭ	НСЭ
Контроль	1,30±0,30 (n=10)	15,5±4,1 (n=10)	29,7±5,3 (n=11)	67,3±8,5 (n=11)
Антио 3,5 мг/кг/день	0,90± 0,30 (n=9)	10,8±2,8 (n=9)	15,2±2,2* (n=9)	44,4±9,1 (n=9)
Антио 17,5 мг/кг/день	0,74±0,18 (n=9)	10,6±1,3 (n=9)	11,9±1,6* (n=9)	48,3±4,9 (n=9)

Примечание: * - статистически достоверное ($p < 0,05$) отличие от контроля;
n – число исследованных животных

Причины, которые определяют разницу в активности АХЭ лимфоцитов тимуса и селезёнки, пока не ясны. Вероятно, более высокая активность фермента в гомогенатах клеток селезёнки не связана с примесью эритроцитов, поскольку расчёты показывают, что такая примесь в используемых суспензиях может увеличить активность АХЭ максимум на 1,5%.

Скорее всего, причина кроется в том, что тимус и селезёнка — это первичные и вторичные органы иммуногенеза, в которых содержатся разные популяции лимфоцитов. Известно, что тимоциты — это преимущественно незрелые Т-лимфоциты, а спленоциты — это смесь зрелых Т- и В-лимфоцитов.

Поэтому можно предположить, что высокая активность АХЭ в гомогенатах клеток селезёнки связана с присутствием В-лимфоцитов в суспензии. С другой стороны, Т-лимфоциты — это зрелые иммунокомпетентные клетки, которые в селезёнке вступают в контакт с антигеном и активируются. Поэтому нельзя исключать, что как созревание, так и активация Т-клеток могут сопровождаться увеличением активности АХЭ на их мембране.



На необходимость учитывать такую возможность указывают данные о том, что созревание или активация Т-лимфоцитов митогенами или антигенами приводит к увеличению числа м-холинорецепторов на их мембране.

Обсуждение. Имеющиеся сведения позволяют предположить, что более высокая активность АХЭ в спленоцитах может быть связана с присутствием В-лимфоцитов, зрелых Т-лимфоцитов или активированных Т-лимфоцитов в селезёнке. Это свидетельствует о различиях в активности АХЭ у разных субпопуляций лимфоцитов.

Для более точного понимания этого вопроса необходимы дальнейшие исследования.

Антихолинэстеразная активность АХЭ лимфоцитов селезёнки снижается под воздействием антихолинэстеразного препарата, в то время как для тимоцитов наблюдается лишь тенденция к снижению активности этого фермента (см. таблицу).

Важно отметить, что более высокие дозы препарата вызывают более значительное подавление активности АХЭ лимфоцитов селезёнки. Что касается неспецифической холинэстеразы, то интоксикация пестицидным препаратом несколько снижает активность этого фермента, но статистически значимое снижение не наблюдается.

Заключение. Таким образом, проведённые эксперименты показали наличие ацетилхолинэстеразной активности в лимфоцитах крыс и выявили существенные различия в активности АХЭ у разных субпопуляций лимфоидных клеток.

Обнаруженное дозозависимое подавление активности АХЭ лимфоцитов крыс при хроническом введении фосфорорганического пестицида антио позволяет предположить существование ранее неизвестного механизма иммунодепрессивного действия пестицидов, который может быть связан с вмешательством этих веществ в процессы нейромедиаторной регуляции функций лимфоидных клеток.



Литература:

1. Анучина А.В. Токсическое действие пестицидов на организм человека и животных // Международный студенческий научный вестник. – 2019. – № 1.
2. Герунов Т.В., Редькин Ю.В., Герунова Л.К. Иммунотоксичность пестицидов: роль в патологии животных и человека // Успехи современной биологии. – 2011. – Т. 131, № 5. – С. 474–482.
3. Забродский П.Ф. Иммунотоксикология фосфорорганических соединений. - Саратов. Издательство «Саратовский источник». - 2016. - 289 с.
4. Калоянова-Симеонова Ф. Пестициды. Токсическое действие и профилактика. – Москва: Медицина, 1980. – 304 с.
5. Розенгарт В.И., Шерстобитов О.Е. Избирательная токсичность фосфорорганических инсектоакарицидов. Сравнительно-биохимические аспекты. - Л.: Наука 1978. - 173 с.
6. Телябаев З. Свойство холинэстеразы и карбоксилэстеразы ганглиев саранчи // Биохимия, 1979. – Т. 44. – С. 2083
7. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Anders, V. & Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88–95 (1961).
8. Singh, K.D., Labala, R.K., Devi, T.B. *et al.* Biochemical efficacy, molecular docking and inhibitory effect of 2, 3-dimethylmaleic anhydride on insect acetylcholinesterase. *Sci Rep* 7, 12483 (2017)
9. Wang X., Anadón A., Wu Q. *et al.* Mechanism of Neonicotinoid Toxicity: Impact on Oxidative Stress and Metabolism // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2018. – Vol. 58. – P. 471–507.