

// Свиноводство. – 2004. – №6. – С. 30-33.

8. **Федорчук Е.Г., Походня Г.С.** Повышение воспроизводительной функции хряков. – Белгород: Изд-во ИП Остащенко А.А., 2014. – 228 с.

9. **Нормы** и рационы кормления сельскохозяйственных животных: справ. пособие / под ред. А.П. Калашникова, В.И. Фисинина, В.В. Щеглова, Н.И. Клейменова. – 3-е изд. перераб. и доп. – М., 2003. – 456 с.

10. **Сучасні** методики досліджень у свинарстві. – Полтава, 2005. – 228 с.

11. **Великжанин В.И., Васильева Е.Н., Куликов В.Б.** Азбука элементов и актов поведения // Методические рекомендации по изучению поведения сельскохозяйственных животных. – 1975. – №1. – С. 10-15.

УДК 619:615.9. 619:616-092:619:615

ОСОБЕННОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДА НА МЕХАНИЗМЫ ИММУНОКОМПЕТЕНТНОСТИ



БУРЯТСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

¹П.Б. Цыремпилов, *доктор ветеринарных наук*

²С.А. Константинова, *кандидат биологических наук*

¹Бурятская государственная сельскохозяйственная академия им. В.Р. Филиппова

²Бурятский государственный университет

Ключевые слова: иммунологическая реактивность, лимфоциты, пестициды, иммунотоксичность, иммунодефицитное состояние

В статье описываются результаты изучения действия пестицида на состояние отдельных клеточных и гуморальных звеньев иммунитета.

ESPECIALLY THE TOXIC EFFECT OF THE PESTICIDE ON THE MECHANISMS OF IMMUNOCOMPETENT

P.B. Tsyrempilov, S.A. Konstantinova

Key words: immunological responsiveness, lymphocytes, pesticides, immunotoxicity, immune deficiency

The paper presents the results of the study into the influence of a pesticide of the state of certain cell and immunity humoral chains

Особую актуальность в настоящее время приобретают исследования реакций иммунной системы на экстремальные экологические воздействия. Необходимость изучения состояния иммунной системы диктуется, прежде всего, ее важностью для поддержания генетического постоянства организма и серьезностью риска возникновения патологических состояний инфекционной и неинфекционной природы [1]. Среди техногенных факторов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека и животных, наиболее распространенным и проблемным становятся пестициды. Поэтому различные аспекты действия пестицидов на организм человека и животных, а также окружающую среду в целом интенсивно изучаются во всех странах мира [2-5]. В гораздо меньшей степени освещаются в литературе вопросы влияния пестицидов на состояние системы иммунологического гомеостаза.

Цель исследования – изучить состояние отдельных клеточных и гуморальных звеньев иммунитета подопытных животных при воздействии пестицида диметиламмониевой соли 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-ДДМА).

Эксперимент был проведен в течение 2 месяцев на 21 кролике породы шиншилла в возрасте 1 года, разделенных на 3 равные группы: две опытные и одну контрольную. Экспериментальные группы животных формировали методом случайной выборки с учетом массы тела в качестве определяющего показателя. При проведении экспериментов ежедневно наблюдали за общим состоянием животных, потреблением корма и воды; один раз в неделю определяли массу тела. Пестицид 2,4-ДДМА давали ежедневно внутрь в течение двух месяцев: животным 1-й группы – в дозе 1 мг/кг массы тела, 2-й – 10 мг/кг. Животные 3-й группы служили контролем.

Состояние клеточного звена иммунитета оценивали параметрами количественной и функциональной активности Т-лимфоцитов в периферической крови. Относительное количество Т-клеток определяли методом розеткообразования (Е-РОК).

Для оценки гуморального звена иммунитета определяли относительное количество В-лимфоцитов в периферической крови реакцией розеткообразования (ЕАС-РОК). Одновременно определяли абсолютное количество этих клеток в крови. Показатели определяли до введения пестицида и через каждые 10 дней опытного периода.

Функциональное состояние и потенциальная активность лимфоцитов в реакции, обусловленных действием антигена *in vivo*, оценивали морфологическим методом в реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) *in vitro*, путем неспецифической стимуляции митогеном фитогемагглютинином (ФГА) по традиционной методике Н.Л. Самойлиной [6]. В работе использовали Т-клеточный митоген – фитогемагглютинин (ФГА) («ПанЭко», Россия). Учет результатов проводили в световом микроскопе путем подсчета процента бластных клеток при просмотривании 300-500 клеток. В присутствии различных митогенов лимфоциты трансформируются в бластные формы. Под влиянием митогена происходит стимуляция аденилатциклазы мембраны, последующее увеличение циклических АМФ, усиление синтеза РНК и ДНК, переход клеток в бластные формы. Количественная характеристика этих превращений определяет функциональную активность лимфоцитов.

Результаты изучения влияния 2,4-ДДМА на уровень в крови кроликов Т- и В-лимфоцитов приведены в табл. 1.

Установлено, что при ежедневном поступлении в организм животных 2,4-ДДМА происходят изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета. У кроликов, которым в течение 2 месяцев ежедневно вводили 2,4-ДДМА в дозе 1 мг/кг массы тела, наблюдали достоверное снижение относительного числа Т-клеток в периферической крови к

50-му дню опыта, которое продолжалось до конца опыта. При использовании 2,4-ДДМА в дозе 10 мг/кг достоверное снижение этого показателя отмечалось к 30-му дню, однако это снижение было значительно сильнее выражено, чем в предыдущей группе. В конце опыта относительное количество Т-лимфоцитов в периферической крови у животных 1-й группы было в 1,3, а во 2-й группе – в 1,7 раза меньше аналогичного показателя контроля.

Напротив, динамика изменений абсолютного числа Т-клеток имела двухфазный характер. Вначале отмечалась фаза повышения. Длительность и выраженность пика первой фазы повышения абсолютного числа этих клеток находилась в прямой зависимости от дозы 2,4-ДДМА. Эта же закономерность сохранялась и во второй фазе снижения. Так, абсолютное содержание абсолютного числа Т-клеток в конце эксперимента было меньше у животных 1-й группы в 2,3 раза, а у животных 2-й группы – в 4,3 раза, чем аналогичный показатель в контроле.

Аналогичные изменения были выявлены в гуморальном звене иммунитета и выражались достоверным снижением процентного содержания В-клеток в периферической крови к 60-му дню у животных 1-й группы, и к 30-му дню – 2-й группы. В конце опыта количество этих клеток составляло соответственно 13,3 ± 0,8 и 10,3 ± 0,8% при 16,7 ± 1,3% в контроле. В динамике абсолютного количества В-лимфоцитов наблюдалась тенденция к увеличению числа этих клеток в течение первых 20-30 дней. В последующем, соответственно с 50-го и 40-го дня, у животных 1-й и 2-й группы число этих клеток достоверно уменьшалось, и в конце опыта было соответственно в 2,2 и 4,2 раза меньше аналогичного показателя в контроле. Таким образом, абсолютный лимфоцитоз, отмечавшийся в начальный период, вероятно, есть ответная реакция кроветворных органов на раздражающее действие токсического вещества как на стресс-фактор, проявляющаяся выбросом этих клеток из костного мозга в периферическую кровь.

Таблица 1

Уровень Т- и В-лимфоцитов в крови кроликов при применении 2,4-ДДМА (М ± m), %; 10/л

Дни исследо- вания	Группы животных					
	1-я группа		2-я группа		3-я группа (контроль)	
	Количество лимфоцитов					
	отн.	абс.	отн.	абс.	отн.	абс.
	Т-лимфоциты					

Исходный уровень	71,7 ± 2,6 70,3 ± 2,0	3,81 ± 0,14 5,04 ± 0,14*	72,3 ± 1,7 67,1 ± 1,5	3,90 ± 0,09 4,93	71,8 ± 1,7	3,55 ± 0,08 3,83 ± 0,07
10-й	66,8 ± 1,3	4,38 ± 0,08*	64,7 ± 1,3	± 0,11*	68,1 ± 1,4	3,89 ± 0,09 4,09 ± 0,07
20-й	71,1 ± 1,4	5,90	58,8 ± 1,4*	3,94	67,7 ± 1,6	3,73 ± 0,08 3,59 ± 0,07
30-й	65,3 ± 1,5	± 0,12*	54,3 ± 1,2*	± 0,08*	68,8 ± 1,2	3,96 ± 0,08
40-й	60,4 ± 1,3*	3,15	46,8 ± 1,6*	3,46	69,4 ± 1,5	
50-й	54,5 ± 1,5*	± 0,07*	42,2 ± 1,9*	± 0,08*	70,1 ± 1,4	
60-й		2,06		1,73	71,3 ± 1,4	
Исходный уровень		± 0,04*		± 0,04*		
10 день		1,71 ± 0,05*		1,18		
20 день				± 0,04*		
30 день				0,91 ± 0,04*		
40 день	<i>В-лимфоциты</i>					
50 день	14,7 ± 1,5	0,780 ± 0,08	14,3 ± 0,9	0,771 ± 0,05	14,0 ± 1,2	0,692 ± 0,06
60 день		1,154 ± 0,11	15,3 ± 1,3	1,125 ± 0,09		
	16,1 ± 1,6	0,918 ± 0,09	13,1 ± 1,1	0,797 ± 0,06	16,1 ± 1,3	0,905 ± 0,07
	14,0 ± 1,5	1,270 ± 0,13	13,0 ± 1,3*	0,760 ± 0,08	15,8 ± 1,5	0,907 ± 0,08
	15,3 ± 1,6	0,710 ± 0,05	11,7 ± 0,8*	0,372 ± 0,02*	17,1 ± 1,5	1,017 ± 0,09
	14,7 ± 1,2	0,495 ± 0,04*	11,2 ± 0,9*	0,282 ± 0,02*	16,8 ± 1,5	0,903 ± 0,08
	14,5 ± 1,2	0,418 ± 0,02*	10,3 ± 0,8*	0,223 ± 0,02*	17,3 ± 1,0	0,886 ± 0,05
	13,3 ± 0,8*				16,7 ± 1,3	0,926 ± 0,07

* P < 0,05.

По мере увеличения продолжительности воздействия 2,4-ДДМА на животных лимфоцитоз сменялся лимфопенией, что свидетельствует об истощении адаптационных возможностей кроветворных органов и угнетении пролиферативной активности недифференцированных клеток-предшественников в костном мозге и лимфоидных органах.

Результаты исследования функциональной активности лимфоцитов крови при воздействии 2,4-ДДМА представлены в табл. 2.

Таблица 2

Функциональная активность лимфоцитов крови кроликов при применении 2,4-ДДМА (М ± m), %

Дни исследования	1-я группа	2-я группа	3-я группа (контроль)
	Трансформация		

ия	спонтанная	стимулирова нная	спонтанн ая	стимулиров анная	спонтанная	стимулиро ванная
Исходный	1,28 ± 0,39	50,21 ± 0,88	1,14 ± 0,3	49,35 ± 1,33	1,21 ± 0,21	50,57 ± 0,6
уровень	1,07 ± 0,27	52,28 ± 1,51	4	44,28 ± 1,86	1,14 ± 0,30	7
10-й	1,28 ± 0,30	50,57 ± 1,18	1,00 ± 0,2	*	1,21 ± 0,21	51,35 ± 1,1
20-й	1,21 ± 0,34	46,35 ± 1,12	7	43,14 ± 1,88	1,28 ± 0,32	6
30-й	1,21 ± 0,18	41,50 ± 1,57	1,00 ± 0,1	*	1,36 ± 0,26	49,93 ± 1,4
40-й	1,07 ± 0,17	38,28 ± 1,47*	5	39,85 ± 1,42	1,28 ± 0,24	1
50-й	0,86 ± 0,14	37,70 ± 1,65*	1,14 ± 0,2	*	1,43 ±	48,93 ± 0,9
60-й			1	34,71 ± 1,65	0,33	8
			1,00 ± 0,2	*		49,28 ± 1,5
			2	33,50 ± 2,33		2
			0,83 ± 0,1	*		47,5 ± 1,02
			7	31,91 ± 1,98		49,42 ± 1,3
			0,83 ± 0,1	*		6
			6			

* P < 0,05.

Степень трансформации лимфоцитов у контрольных животных за опытный период существенно не изменилась и оставалась в пределах 1,14-1,43% при спонтанной реакции и 47,57-51,35% неспецифической стимуляции митогеном.

Показатель спонтанной трансформации лимфоцитов на протяжении всего периода применения 2,4-ДДМА оставался практически без изменений. Напротив, при этих же условиях эксперимента показатель стимулированной трансформации достоверно снизился к 40-му дню от дозы 1 мг/кг, и к 10-му дню от дозы 10 мг/кг и в дальнейшем продолжал снижаться.

Таким образом, снижение числа Т- и В-розеткообразующих клеток (Е-РОК, ЕАС-РОК) в циркуляции, вероятно, обусловлено цитотоксическим действием изучаемого пестицида на процессы дифференцировки этих клеток, приводящей к снижению экспрессии рецепторов на их поверхности.

Снижение числа лимфоцитов, трансформирующихся в бласты, свидетельствует об угнетении пролиферативных процессов в этих клетках под воздействием изучаемого пестицида.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Эрнст Л.К. Научно-технический прогресс в животноводстве // Животноводство. – 1985. – № 11.
2. Локтионов В.Н., Цыремпилов П.Б. Токсичность 2,4-Д диметил-аммониевой соли для животных // Ветеринария. – 1987. – № 7. – С. 70-71.
3. Притулин П.И., Калмыкова Т.П. Экологическая патология животных // Вестн. с.-х. науки. – 1990. – № 4. – С. 78-82.
4. Цыремпилов П.Б., Константинова С.А. Исследование влияния пестицидов на состояние механизмов естественной резистентности // Вестн. Бурят. гос. ун-та. – 2010. – № 12. – С. 229-237.

5. **Цыремпиллов П.Б., Константинова С.А.** Воздействие пестицидов на биосинтез белка, состояние лизосомальных мембран и эффективность иммунизации // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2010. – № 9. – С. 55-61.

6. Самойлина Н.Л. Морфологический метод оценки бластной трансформации лимфоцитов в культуре с фитогемагглютинином // Лабораторное дело. – 1970. – № 8. – С. 455-463.