

**ИММУНОТОКСИЧЕСКИЙ И ЭНДОКРИН-РАЗРУШАЮЩИЙ ЭФФЕКТЫ
ПЕСТИЦИДОВ НА ПОТОМСТВО В УСЛОВИЯХ ИХ ПОСТУПЛЕНИЯ
ЧЕРЕЗ ОРГАНИЗМ МАТЕРИ****Н.К. Тухтаев, Н.Б. Зокирова**
Ташкентская медицинская академия**Ключевые слова:** иммунотоксический эффект, пестициды, потомство.**Таянч сўзлар:** иммунотоксик таъсир, пестицидлар, авлодлар.**Key words:** immunotoxic effect, pesticides, posterity.

Целью исследования было выявление токсического эффекта внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов на развитие эндокринной и иммунной системы потомства. Эксперименты проводили на белых взрослых самцах крыс, которые соответственно получали пестициды лямбда-цигалотрин или фипронил в период беременности и лактации. Потомство от экспериментальных и контрольных животных изучался на 3, 7, 14, 21 и 30 дни после рождения с использованием методов морфологии, электронной микроскопии, иммуногистохимии и биохимии. Было показано, что токсический эффект воздействия пестицидов во время беременности и лактации проявляется в виде замедления роста и формирования тимуса, лимфатических узлов, селезенки и щитовидной железы потомства. В механизме токсического действия пестицидов на иммунно-эндокринную систему, ведущую роль играет дисбаланс между пролиферацией и апоптозом клеток, вызванный как прямым токсическим действием препаратов, так развивающимся гипотиреозом и окислительным стрессом у матери и потомства. Это обуславливает необходимость раннего выявления гипотиреоза и окислительного стресса у беременных женщин и новорожденных, с последующей их фармакологической коррекцией.

**ОНА ОРГАНИЗМИ ОРҚАЛИ КИРГАН ПЕСТИЦИДЛАРНИНГ АВЛОДГА КЎРСАТАДИГАН
ИММУНОТОКСИК ВА ЭНДОКРИН БУЗУВЧИ ТАЪСИР САМАРАЛАРИ****Н.К. Тўхтаев, Н.Б. Зокирова**

Тошкент тиббиёт академияси

Тадқиқот мақсади – эмбрионал ва илк постнатал даврларда она организми орқали таъсир эттирилган пестицидларнинг авлод эндокрин ва иммун тизимлари тараққиётига кўрсатадиган токсик самарасини аниқлашдир. Тажрибалар вояга етган ургочи оқ каламушларда олиб борилиб, улар хомиладорлик ва лактация даврларида лямбда-цигалотрин ёки фипронил пестицидлари билан заҳарланди. Заҳарланган ва назорат гуруҳларидан туғилган авлоддан олинган материал туғилишининг 3, 7, 14, 21 ва 30 кунларида морфологик, электрон микроскопик, иммуногистохимёвий ва биокимёвий усуллар ёрдамида текширилди. Пестицидларнинг токсик самараси авлод тимуси, лимфа тугунлари, талоқ ва қалқонсимон безининг шаклланиши суръатининг сезиларли даражада сусайиши билан ифодаланиши аниқланди. Иммун-эндокрин тизимга кўрсатилган токсик таъсир механизмида хужайралар пролиферацияси ва апоптози орасидаги мувозанатнинг бузилиши (дисбаланс) асосий ўрин тутиши, бу эса ўз навбатида, заҳарнинг бевосита таъсири билан бир қаторда, она ва болада ривожланувчи гипотиреоз ва оксидланиш стресси билан чамбарчас боғлиқлиги очиб берилди. Буларнинг бари хомиладор аёллар ва чақалоқларда гипотиреоз ва оксидланиш стресси ривожланишини эрта аниқлашни ва уларни фармакологик йўл билан тезкор бартараф қилишни тақозо этади.

**IMMUNOTOXIC AND ENDOCRINE-DISRUPTING EFFECTS OF PESTICIDES ON OFFSPRING IN THE
CONDITIONS OF THEIR ENTRY THROUGH THE MOTHER'S ORGANISM****N.K. Tukhtaev, N.B. Zokirova**

Tashkent Medical Academy

The aim of the study was to identify the toxic effect of intrauterine and early postnatal exposure to pesticides on the development of the endocrine and immune system of offspring. The experiments were performed on white adult male rats, who respectively received pesticides lambda-cyhalothrin or fipronil during pregnancy and lactation. Progeny from experimental and control animals was studied on the 3rd, 7th, 14th, 21st and 30th days after birth using methods of morphology, electron microscopy, immunohistochemistry and biochemistry. It has been shown that the toxic effect of pesticide exposure during pregnancy and lactation is manifested in the form of growth retardation and formation of the thymus, lymph nodes, spleen and thyroid glands of offspring. In the mechanism of toxic effect of pesticides on the immune-endocrine system, the leading role is played by the imbalance between proliferation and apoptosis of cells, caused both by direct toxic effects of drugs, both developing hypothyroidism and oxidative stress in mother and offspring. This causes the need for early detection of hypothyroidism and oxidative stress in pregnant women and newborns, followed by their pharmacological correction.

Иммунная и эндокринная системы, наряду с нервной, являются чрезвычайно чувствительными к действию большинства загрязнителей окружающей среды химических веществ [1;2;3]. Уже более трех десятилетий в литературе прочно закрепились термины «иммунотоксичность» (ИТ, immunotoxicity) и «эндокрин-разрушающие химикаты» (ЭР, endocrine-disrupting chemicals or endocrine disruptors) [4;5]. Эндокрин-разрушающие химикаты неблагоприятно влияют на различные этапы синтеза, транспорта и функции гормонов, а также могут действовать как агонисты или антагонисты естественных гормонов, и вызывать в организме определенный гормональный дисбаланс [15;16]. Под термином «иммунотоксичность» подразумевается не только, и не столько прямое токсическое воздействие различных загрязнителей окружающей среды на иммунные клетки, но и нарушения процессов регуляции иммуногенеза и иммунных реакций организма, включая иммуносупрессии, аллергические реакции, аутоиммунные заболевания и другие иммунопатологические состояния. Преобладающую часть загрязнителей окружающей среды составляют пестициды, без использования которых невозможно перспективное развитие сельского хозяйства [8;9]. В настоящее время установлено, что ряд пестицидов, в том числе и последних поколений, обладают иммунотоксическими и эндокрин-разрушающими свойствами [10]. Однако, подавляющее большинство работ по изучению механизмов иммунной и эндокринной токсичности пестицидов проведены у взрослых людей и на половозрелых особях животных, или в условиях *in vitro* [9]. Между тем, иммуно-эндокринная система плода и новорожденных несравненно более чувствительная к действию различных токсических веществ по сравнению с взрослыми. За последние годы все больше появляется доказательств, что воздействие пестицидов во внутриутробном или в раннем детском периоде приводит к существенному возрастанию хронических заболеваний у детей, таких, как астма, аутоиммунные, инфекционные и другие, включая онкологические заболевания [1;2]. К сожалению, проблема «иммунотоксичности развития» (developmental immunotoxicity), то есть, механизмов неблагоприятного эффекта пестицидов на развивающуюся иммунную систему потомства, еще далека от окончательного решения [3]. Имеющиеся в этом плане исследования носят фрагментарный характер и не дают полного представления о механизмах токсического воздействия пестицидов новорожденных и детей в условиях их поступления через организм матери [3;4]. Несомненно, выявление механизмов иммунотоксического и эндокрин-разрушающего эффектов пестицидов будут способствовать разработке способов вторичной профилактики и патогенетической терапии токсических эффектов пестицидов на подрастающее поколение в условиях интоксикации через материнский организм.

Цель работы. Выявление структурно-функциональных механизмов токсического эффекта пестицидов на постнатальное развитие иммунной и эндокринной систем потомства в условиях их воздействия через организм матери.

Материал и методы исследования. Для экспериментов были отобраны широко применяемые в нашей стране и во всем мире пиретроидный инсектицид ламбда-цигалотрин (ЛСТ) и пестицид бензопиразолового ряда фипронил (ФПН). Опыты проводились на белых половозрелых нерожавших крысах самках Вистар массой тела 150-180 г, половозрелые крысы самцы использовались только для оплодотворения. Крысы самки были разделены на три группы по 45 крыс в каждой. Первой (I опытной) группе крыс вводили через рот с использованием зонда разбавленный в физиологическом растворе ЛСТ из расчета 8 мг/кг/ежедневно. Второй (II опытной) группе крыс таким же способом вводили ФПН из расчета 3,6 мг/кг/ежедневно. Доза обоих препаратов составляла 1/100 часть от ЛД₅₀ препарата. Третья группа (контрольная) получала равный объем стерильного физиологического раствора. Введение обоих пестицидов опытным группам крыс проводилось ежедневно в течение 75 дней вплоть до окончания экспериментов. На 31 день опытов самки всех групп соединялись с самцами для оплодотворения. Наступление беременности контролировали по наличию сперматозоидов во влагалищных мазках. После наступления беременности самки отделены от самцов и помещены в отдельные клетки для дальнейших исследований. Забой

потомства от всех групп животных было произведено на 7, 14, 21 и 30 дни после рождения, в утренние часы, натошак, под легким эфирным наркозом. Вилочковую железу (тимус, Тм), мезентериальные лимфатические узлы (Млу), селезенку (Сел) и щитовидную железу (Щж) изучали с помощью морфометрических, ультраструктурных и иммуногистохимических методов. Кроме того, у всех животных в сыворотке крови определяли концентрацию тиреоидных и тиреотропного гормонов, а также основные показатели свободно радикального окислительного стресса [9;10;11;12]. Все цифровые данные статистически обработаны с использованием пакета компьютерных программ, достоверными считались различия, удовлетворяющие $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Воздействие пестицидов на потомство через организм матери приводило к иммунотоксическому эффекту, который проявлялся в виде нарушения постнатального роста и становления органов иммунной системы. Формирование структурно-функциональных Т- и В-зависимых зон Млу и Сел у опытных крысят значительно отставало, осуществляясь на 7-10 дней позднее по сравнению с контролем. Причем, замедление темпов становления зон МЛУ было более выраженным при интоксикации ФПН по сравнению с воздействием ЛСТ. Электронно-микроскопические исследования выявили высокую функциональную активность макрофагов и деструктивные изменения субклеточных оргanelл лимфоидных клеток. Эти изменения преимущественно наблюдались в Т-зависимых зонах (паракортикальная зона Млу и периартериолярная зона белой пульпы Сел) органов и встречались значительно чаще при воздействии ФПН. Морфометрические исследования также показали существенное снижение темпов роста и становления лимфоидной ткани органов у потомства, полученного в условиях воздействия пестицидов через организм матери. Иммуногистохимические исследования показали, что воздействие пестицидов приводит к ингибированию пролиферативной активности лимфоидных клеток Млу и Сел, особенно, в Т-зависимых зонах органов. При воздействии ЛСТ пролиферативный индекс клеток в этих зонах на 10-15%, а при воздействии ФПН – на 15-30% был ниже показателей контроля. В то же время внутриутробное и раннее постнатальное воздействие пестицидов привело к значительному увеличению степени апоптоза клеток. Апоптозные клетки наиболее часто встречались в Т-зависимых зонах, по сравнению с лимфатическими фолликулами (В-зависимые зоны). Наибольшее повышение индекса апоптоза наблюдалось на 14-21 сутки после рождения, когда показатели опытных животных в 3,2-4,3 раза превышали контрольные показатели. При этом индукция апоптоза клеток проявлялась в существенно более высокой степени при воздействии ФПН, нежели при интоксикации ЛСТ. Иммунотоксический эффект пестицидов в наибольшей степени проявлялся в вилочковой железе. Темпы роста средней площади дольки тимуса под влиянием ЛСТ на 10-15%, а при применении ФПН на 15-30% отставали от контрольных параметров. Площадь, занимаемая корковой зоной тимуса, уменьшилась соответственно на 15-25% и 20-40%. Наряду с этим, были выявлены определенные нарушения постнатального роста и развития клеток микроокружения Тм потомства. Начиная с момента рождения, в Тм опытных животных наблюдалось тенденция к уменьшению числа эпителио-ретикулярных клеток (ЭРК) на единицу площади дольки. Причем, среднее количество ЭРК более наглядно уменьшалось в корковой зоне тимуса. При электронной микроскопии в ЭРК опытных животных обнаружена гипоплазия эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, а также гетерогенность секреторных вакуолей, указывающие на нарушение секреторной активности клеток. В их цитоплазме выявлялось большое число гетерофагосом с остатками тимоцитов. Воздействие пестицидов приводило к ингибированию пролиферативной активности лимфоидных клеток тимуса (тимоцитов), особенно, в корковой зоне органа. При воздействии ЛСТ пролиферативный индекс клеток в этих зонах на 35-40%, а при воздействии ФПН – на 45-55% был ниже показателей контроля. Одновременно с этим, иммунотоксическое воздействие пестицидов способствовало значительному усилению апоптоза тимоцитов. Клетки, подвергнутые апоптозу, наиболее часто встречались в корковой зоне тимуса. Количественный подсчет показал, что при воздействии ЛСТ индекс

апоптоза тимоцитов в этой зоне в среднем на 40-45%, а при воздействии ФПН – на 50-55% превышал показатели контрольной группы.

Результаты показали, что иммунная токсичность использованных пестицидов тесно связана с их эндокрин-разрушающим (ЭР) действием, как на материнский организм, так и на потомство. ЭР эффект пестицидов проявлялся главным образом в виде нарушения тиреоидной функции у крыс самок и их потомства. Несмотря на высокий уровень тиреотропного гормона (ТТГ), концентрация свободного тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3) оставалась значительно ниже по сравнению с контролем. Морфометрические исследования показали, что темпы роста общей площади эпителия фолликулов под воздействием ЛСТ на 10-17%, а при воздействии ФПН - на 15-30% отстает от контрольных параметров. Однако отрицательный эффект пестицидов не ограничивался только ингибированием образования новых фолликулов. Было обнаружено, что воздействие пестицидов приводит к уменьшению площади фолликула в целом, за счет снижения площадей эпителия фолликула и тироцита. Темпы роста средней площади тироцита при воздействии ЛСТ на 10-20%, и при воздействии ФПН - на 15-30% отставали от контрольных показателей. Замедление роста и образование щитовидной железы сопровождалось значительным снижением функциональной активности органа. Наиболее выраженный гипотиреоз наблюдался у потомства под влиянием ФПН по сравнению с ЛСТ. Электронно-микроскопически было обнаружено уменьшение размеров митохондрий, а также компонентов эндоплазматической сети и комплекса Гольджи тироцитов, что свидетельствовало о снижении секреторной активности клеток. Воздействие пестицидов привело к ингибированию пролиферативной активности клеток щитовидной железы. В то же время внутриутробное и раннее постнатальное воздействие пестицидов привело к значительному увеличению степени апоптоза клеток щитовидной железы. В щитовидной железе потомства под воздействием ЛСТ индекс апоптоза в 3,5-4 раза, а при воздействии ФПН - в 4,5-5 раза превышал показатели контроля.

Полученные данные показывают, что токсический эффект пестицидов на развитие эндокринной и иммунной системы потомства обусловлен рядом метаболических изменений в органах и тканях. Наши исследования показали эндокрин-разрушающее, точнее, тироид-разрушающее действие пестицидов, что приводило к развитию гипотиреоза у матери и потомства [13; 14]. Кроме того, нами обнаружена важная роль окислительного стресса - как основного индуктора апоптоза клеток [11;12]. Отсюда можно заключить, что индукция апоптоза у потомства обусловлена не только, и не столько прямым токсическим эффектом пестицидов. Индукция апоптоза в значительной степени опосредуется ослаблением регулирующей роли гормонов щитовидной железы на процессы пролиферации и апоптоза клеток вследствие гипотиреоза, а также увеличением числа свободных радикалов в результате окислительного стресса [6;7].

Выводы:

Воздействие даже относительно низких доз пестицидов в периоды беременности и грудного вскармливания приводит к развитию иммунотоксического и эндокрин-разрушающего эффектов у потомства; при этом пестицид ФПН оказывает более выраженный токсический эффект по сравнению с ЛСТ.

Имунотоксический эффект пестицидов проявляется в виде замедления постнатального роста и становления периферических иммунных органов, нарушением секреторной функции тимуса и формирования тимус-зависимых зон Млу и Сел.

Эндокрин-разрушающий эффект обусловлен преимущественным нарушением структуры и функции щитовидной железы, приводящим к развитию гипотиреоза как у матери, так и потомства.

В патогенезе иммунотоксического и эндокрин-разрушающего эффектов ведущую роль играют гипотиреоз и окислительный стресс, способствующие индукции апоптоза при подавлении процессов пролиферации клеток иммунно-эндокринной системы.

Раннее выявление гипотиреоза и окислительного стресса у беременных и новорожден-

ных, и своевременная их фармакологическая коррекция будут способствовать предотвращению или уменьшению негативных последствий токсических эффектов пестицидов на подрастающее поколение.

Использованная литература:

1. Corsini E, Sokooti M, Galli CL, Morettoc A, Colosio C. Pesticide induced immunotoxicity in humans: A comprehensive review of the existing evidence//*Toxicology*. 2013. Vol. 307. p.123– 135.
2. Dhouib I, Jallouli M, Annabi A, Marzouki S, et al. From immunotoxicity to carcinogenicity: the effects of carbamate pesticides on the immune system. // *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016. Vol.23. p. 9448-9458.
3. Dietert RR. Role of developmental immunotoxicity and immune dysfunction in chronic disease and cancer. // *Reprod Toxicol*. 2011. Vol.31. p. 319-326.
4. Hessel EV, Tonk EC, Bos PM, van Loveren H, Piersma AH. Developmental immunotoxicity of chemicals in rodents and its possible regulatory impact. // *Crit Rev Toxicol*. 2015. Vol.45. p. 68-82.
5. Jabłońska-Trypuć A, Wołejko E, Wydro U, Butarewicz A. The impact of pesticides on oxidative stress level in human organism and their activity as an endocrine disruptor. // *J Environ Sci Health B*. 2017. Vol.52. p. 483-494.
6. Kumar A., Sasmal D., Sharma N. Mechanism of deltamethrin induced thymic and splenic toxicity in mice and its protection by piperine and curcumin: in vivo study. // *Drug Chem Toxicol*. 2018. Vol.41. p. 33-41.
7. Lin HY, Glinsky GV, Mousa SA, Davis PJ. Thyroid hormone and anti-apoptosis in tumor cells. // *Oncotarget*. 2015. Vol.17. p. 14735-14743.
8. Mokarizadeh A, Faryabi MR, Rezvanfar MA, Abdollahi M. A comprehensive review of pesticides and the immune dysregulation: mechanisms, evidence and consequences. // *Toxicol Mech Methods*. 2015. Vol.25. p.258-278.
9. Mostafalou S, Abdollahi M. Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. // *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013. Vol. 268. p. 157-177.
10. Skolarczyk J, Pekar J, Nieradko-Iwanicka B. Immune disorders induced by exposure to pyrethroid insecticides. // *Postepy Hig Med Dosw*. 2017. Vol.8. pp. 446-453.
11. Tukhtaev K. R., Tulemetov S. K., Zokirova N. B., Tukhtaev N. K. Effect of long term exposure low doses of lambda-cyhalothrin on the level of lipid peroxidation and antioxidant enzymes of the pregnant rats and their offspring. // *Medical and Health Science Journal*. 2012. Vol. 13. p. 93-98. www.pradec.en
12. Tukhtaev K. R., Tulemetov S. K., Zokirova N. B., Tukhtaev N. K. et al. Prolonged exposure of low doses of Fipronil causes oxidative stress in pregnant rats and their offspring. // *The Internet Journal of Toxicology*. 2013. Vol. 10. №1. www.ispub.com/IJTO/10/1/14550.
13. Tukhtaev K. R., Zokirova N. B., Tulemetov S. K., Tukhtaev N. K. Effect of prolonged exposure of low doses of lamda-cyhalothrin on the thyroid function of the pregnant rats and their offspring // *Medical and Health Science Journal* 2012. Vol. 13. p. 86-92. www.pradec.en
14. Tukhtaev K. R., Zokirova N. B., Tulemetov S. K., Tukhtaev N. K. Effect of prolonged exposure low doses of fipronil on thyroid function of pregnant rats and their offspring. // *The Internet Journal of Toxicology*. 2013. Vol. 10. №. 1. www.ispub.com/IJTO/10/1/14549.
15. Tukhtaev N. K., Zokirova N. B. The influence of in utero and early postnatal exposure to pesticides on the process of cells apoptosis and proliferation in immune and endocrine organs of the offspring // *European Science Review –Austria, Vienna*, 2017. №3-4, p. 57-58.
16. Tukhtaev N. K., Zokirova N. B., Tulemetov S. K., Tukhtaev K.R. Mechanisms of the toxic effect of intrauterine and early postnatal exposure to pesticides on the development of the immune system of offspring// *European Science Review –Austria, Vienna*, 2018. №3-4, p. 196-199.