

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИУТРОБНОГО И РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА РОСТ И СТАНОВЛЕНИЕ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОТОМСТВА

Н.К. ТУХТАЕВ

Ташкентская медицинская академия, Республика Узбекистан, г. Ташкент

ҲОМИЛАДОРЛИК ВА ИЛК ПОСТНАТАЛ ДАВРЛАРДА ОНА ОРГАНИЗМИ ОРҚАЛИ ЎТГАН ПЕСТИЦИДЛАРНИНГ АВЛОД АЙРИСИМОН БЕЗИНИНГ ЎСИШИ ВА ШАКЛЛАНИШИГА ТАЪСИРИ

Н.Қ. ТЎХТАЕВ

Тошкент Тиббиёт Академияси, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

INFLUENCE OF INTRAUTERINE AND EARLY POSTNATAL EXPOSURE TO PESTICIDES ON THE GROWTH AND FORMATION OF THE THYMUS GLAND OF OFFSPRING

N.K. TUKHTAEV

Tashkent Medical Academy, Republic of Uzbekistan, Tashkent

Тадқиқот мақсади – эмбрионал ва илк постнатал даврларда она организми орқали таъсир эттирилган пестицидларнинг авлод айрисимон бези (тимус) тараққиётига кўрсатадиган токсик самарасини аниқлашдир. Тажрибалар вояга етган ургочи оқ каламушларда олиб борилиб, улар ҳомиладорлик ва лактация даврларида ламбда-цигалотрин ёки фипронил пестицидлари билан заҳарланди. Заҳарланган ва назорат гуруҳларидан туғилган авлоддан олинган материал туғилгандан сўнг 3, 7, 14, 21 ва 30 кунларда морфологик, электрон микроскопик ва иммуногистокимёвий усуллар ёрдамида текширилди. Пестицидларнинг токсик самараси авлод тимуси шаклланиши суръатининг сезиларли даражада сусайиши билан ифодаланланди. Шу билан бирга пестицидлар таъсири тимус эпителио-ретикуляр ҳужайралари секретор фаоллиги сусайишига ва оқибатда тимус бошқарув фаолияти бузилишига олиб келди. Имун тизимга кўрсатилган токсик таъсир механизмида ҳужайралар пролиферацияси ва апоптози орасидаги муносабатнинг бузилиши (дисбаланс) асосий ўрин тутуши, бу эса ўз навбатида, заҳарнинг бевосита таъсири билан бир қаторда, она ва болада ривожланувчи гипотиреоз ва оксидланиш стресси билан чамбарчас боғлиқлиги очиқ берилди. Буларнинг бари ҳомиладор аёллар ва чақалоқларда гипотиреоз ва оксидланиш стресси ривожланишини эрта аниқлашни ва уларни фармакологик йўл билан тезкор бартараф қилишни тақозо этади.

Калит сўзлар: пестицидлар, лимфа тугунлари, талоқ, ҳужайра апоптози.

The aim of the study was to identify the toxic effect of intrauterine and early postnatal exposure to pesticides on the development of the thymus gland of offspring. The experiments were performed on white adult male rats, who respectively received pesticides 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 and immunohistochemistry. It was shown that the toxic effect of pesticide exposure during pregnancy and lactation is manifested in the form of slowing growth and formation of the thymus of offspring. Along with the increase in death of thymocytes within the body, the action of pesticides leads to a decrease in the secretory activity of epithelio-reticular cells Tm, indicating violations of the regulatory function of the thymus. In the mechanism of toxic effect of pesticides on the immune system, the imbalance between proliferation and apoptosis of cells is caused by both 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.

Key words: pesticides, lymph nodes, spleen, apoptosis cell.

Введение. Одной из особенностей развивающейся иммунной системы является ее чрезвычайно повышенная чувствительность, по сравнению с иммунной системой взрослого организма, к большинству загрязняющих окружающую среду химикатов [1, 2, 3]. Пестициды являются одним из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды. Широкое использование пестицидов в сельском хозяйстве, в повседневной жизни и общественном здравоохранении вызыва-

ет неизбежное их попадание, хотя и в малых количествах, в организм человека и животных. Воздействие малых доз пестицидов может негативно отражаться на заболеваемости населения в целом, и особенно, на показателях здоровья женщин и детей [8]. В этом плане пестициды представляют наибольшую опасность для беременных женщин и их потомства в связи с высокой чувствительностью развивающихся эндокринной и иммунной систем плода и новорожденного к токсическим

воздействиям. Показано, что введение даже малых доз пестицидов в организм беременных и кормящих грудью самок отрицательно влияет на состояние щитовидной железы их потомства [11, 12]. В этой связи в настоящее время весьма актуальна проблема изучения механизмов иммуотоксического действия пестицидов, поиска средств и методов выявления доклинических негативных изменений в организме человека и животных [5, 7, 14]. Следует отметить, что подавляющее большинство работ по изучению механизмов иммуотоксичности проводилось на половозрелых особях животных или в условиях *in vitro*. В то же время проблема «иммуотоксичности развития» (developmental immunotoxicity), то есть, механизмов неблагоприятного эффекта пестицидов на развивающуюся иммунную систему потомства, все еще остается недостаточно изученной [3, 15]. Несомненно, разработка данной проблемы будет способствовать раскрытию механизмов иммуотоксического эффекта пестицидов и позволяет разработать меры вторичной профилактики и патогенетической терапии иммуотоксических эффектов.

Цель работы – выявление структурно-функциональных особенностей постнатального роста и становления вилочковой железы потомства, полученного в условиях воздействия пестицидов через организм матери.

Объект и методы исследования. Для экспериментов был использован инсектицид титан, производимый в республике Узбекистан ООО «Euro-Team». Действующим веществом титана является пиретроидный пестицид ламбда-цигалотрин (ЛСТ). Другим препаратом, зарегистрированным в нашей Республике в качестве эффективного инсектицида, является вигор, действующим веществом которого является 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 кон-

тролировали 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, натощак, под легким эфирным наркозом. Вилочковую железу или тимус (Тм) изучали с помощью морфометрических, ультраструктурных и иммуногистохимических методов. Кроме того, у всех животных определяли концентрацию тироидных 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 их обсуждение. Воздействие пестицидов через организм матери в период беременности и лактации существенно снижало темпы роста и становления Тм у потомства. Морфометрические исследования показали, что темпы роста общей площади дольки тимуса под воздействием ЛСТ на 10-15%, а при воздействии ФПН - на 15-30% отстают от контрольных параметров. Наибольший пик уменьшения средней площади дольки тимуса у потомства опытных животных отмечен на 14-21 сутки после рождения, к 30 суткам этот показатель достоверно не отличался от контроля. Уменьшение средней площади долек сопровождалось выраженным снижением площади корковой зоны. Темпы роста средней площади, занимаемой корковой зоной тимуса под влиянием ЛСТ на 15-25%, а при применении ФПН - на 20-40% отставали от контрольных параметров. При этом относительная площадь мозговой зоны несколько увеличивается. Наряду с этим, выявлены определенные нарушения постнатального роста и развития клеток микроокружения Тм потомства. Начиная с момента рождения, в Тм опытных животных наблюдалась 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 паренхиме тимуса, особенно в корковой его зоне, обнаруживалось большое количество макрофагов с ультраструктурными признаками высокой функциональной активности. В их цитоплазме выявлялось большое число гетерофагосом с остатками апоптозных и лизированных тимоцитов. Все это указывало на то, что воздействие пестицидов через организм матери оказывает имму-

нотоксический эффект, который проявляется в замедлении роста и формирования тимуса на потомство, снижении секреторной активности эпителио-ретикулярных клеток и усилении гибели тимоцитов внутри органа. Следует также отметить, что воздействие пестицидом ФПН оказывал более выраженный иммунотоксический эффект по сравнению с пиретроидным пестицидом ЛСТ.

Воздействие пестицидов через организм матери в период беременности и лактации привело к выраженному дисбалансу между процессами пролиферации и апоптоза (запрограммированной гибели) тимоцитов. Иммуногистохимические исследования показали, что воздействие пестицидов приводит к ингибированию пролиферативной активности лимфоидных клеток тимуса (timoцитов), 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 (P_1 , $P_2 < 0,05$). 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 (P_1 , $P_2 < 0,05$).

Таким образом, внутриутробное и раннее постнатальное воздействие пестицидов существенно нарушает равновесие между процессами пролиферации и апоптоза, которое проявляется в виде подавления процессов пролиферации при усилении апоптоза тимоцитов. Развивающийся дисбаланс между этими процессами, в определенной мере позволяет объяснить обнаруженные нами морфометрические изменения в виде снижения темпов роста корковой зоны тимуса, при относительном увеличении показателей мозговой зоны. Нарушения равновесия между процессами пролиферации и апоптоза клеток тимуса являются, на наш взгляд, одной из причин гипоплазии и атрофии корковой зоны тимуса.

Анализ полученных нами и литературных данных показывает, что механизмы токсического эффекта пестицидов на развитие иммунной системы потомства неоднозначны и обусловлены рядом метаболических изменений в органах и тканях. Выявлено, что некоторые пиретроидные пестициды в условиях *in vitro* блокируют рецепторы CD4, CD8 клеток (Т-лимфоцитов) тимуса и селезенки, вызывают развитие окислительного стресса и выраженную индукцию апоптоза клеток [5]. Усиление апоптоза иммунных клеток при воздействии пестицидов отмечено и другими авторами [4; 5]. Это объясняется, прежде всего,

прямым цитотоксическим действием пестицидов на иммунные клетки и развивающимся окислительным стрессом [4, 8, 13, 15]. Нами ранее показано, что пестициды ФПН и ЛСТ обладают эндокрин-разрушающим, точнее, тироид-разрушающим действием, что проявляется в виде различной степени гипотиреоза, как у матери, так и у потомства [11, 12]. Известно, что тироидные гормоны, наряду с регуляцией процесса пролиферации клеток, обладают выраженным антиапоптотическим действием [6]. Отсюда следует, что индукция апоптоза у потомства обусловлена не только, и не столько прямым токсическим эффектом пестицидов. Усиление апоптоза, по нашим данным, в значительной степени опосредуется ослаблением антиапоптотической функции гормонов щитовидной железы вследствие гипотиреоза, а также увеличением числа свободных радикалов в результате окислительного стресса [9, 10, 11, 12, 14].

Выводы:

1. Токсический эффект воздействия пестицидов через организм матери во время беременности и лактации проявляется в виде замедления роста и формирования вилочковой железы потомства.
2. Воздействие пестицидов приводит к снижению секреторной активности эпителио-ретикулярных клеток Тм, свидетельствующих о нарушениях регуляторной функции тимуса.
3. В механизме токсического действия пестицидов на иммунную 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.
4. Это обуславливает необходимость раннего выявления гипотиреоза и окислительного стресса у беременных женщин и новорожденных, с последующей их фармакологической коррекцией.

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. – pp.123–135.
2. Dhoubi 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. – pp. 9448-9458.
3. Dietert RR. Role of developmental immunotoxicity and immune dysfunction in chronic disease and cancer. //Reprod Toxicol. -2011.- Vol.31. – pp. 319-326.
4. Fukuyama, T., Kosaka, T., Tajima, Y., Ueda, H., et al. Prior exposure to organophosphorus and organo-

chlorine pesticides increases the allergic potential of environmental chemical allergens in a local lymph node assay. //Toxicol. Lett. – 2010. – Vol. 199. – pp. 347-356.

5. 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. – pp. 33-41.

6. Lin HY, Glinsky GV, Mousa SA, Davis PJ. Thyroid hormone and anti-apoptosis in tumor cells. //Oncotarget. - 2015. -Vol.17. - pp. 14735-14743.

7. 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. – pp.258-278.

8. Oripov F. S. Morphology of neuroendocrine-immune system of jejunum in early postnatal ontogenesis //European science review. – 2017. – №. 1-2. – С. 95-98.

9. 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.

10. 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. - pp. 93-98. www.pradec.en

11. 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. - N. 1. www.ispub.com /IJTO/10/1/14550.

12. Tukhtaev K. R., Zokirova N. B., Tulemetov S. K., Tukhtaev N. K. Effect of prolonged exposure of low doses of lambda-cyhalothrin on the thyroid function of the pregnant rats and their offspring //Medical and Health Science Journal – 2012. - Vol. 13. - pp. 86-92. www.pradec.en

13. 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. - N. 1. www.ispub.com /IJTO/10/1/14549.

14. 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, – pp. 57-58.

15. 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, – pp. 196-199.

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИУТРОБНОГО И РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА РОСТ И СТАНОВЛЕНИЕ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОТОМСТВА

Н.К. ТУХТАЕВ

Ташкентская медицинская академия,
Республика Узбекистан, г. Ташкент

Целью исследования было выявление токсического эффекта внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов на развитие вилочковой железы (тимус) потомства. Эксперименты проводили на белых взрослых самцах крыс, которые соответственно получали пестициды ламбда-цигалотрин или фипронил в период беременности и лактации. Потомство от экспериментальных и контрольных животных изучалось на 3, 7, 14, 21 и 30 дни после рождения с использованием методов морфологии, электронной микроскопии и иммуногистохимии. Было показано, что токсический эффект воздействия пестицидов во время беременности и лактации проявляется в виде замедления роста и формирования тимуса потомства. Наряду с усилением гибели тимоцитов внутри органа, воздействие пестицидов приводит к снижению секреторной активности эпителио-ретикулярных клеток Тм, свидетельствующих о нарушениях регуляторной функции тимуса. В механизме токсического действия пестицидов на иммунную 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.

Ключевые слова: пестициды, лимфатические узлы, селезенка, апоптоз клеток.