

РАННІ ІМУНОЛОГІЧНІ І МОРФОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ ПРИ НАШКІРНИХ АПЛІКАЦІЯХ БЕНЗ(А)ПІРЕНУ

* О. І. Винарська, ** С. І. Плоскіна, ** О. В. Сирота

*Інститут гігієни та медичної екології ім. О. М. Марзєєва
Академії медичних наук України

** Національний авіаційний університет
maluwka_555556@mail.ru

Наведено частину методів, за результатами яких було проаналізовано статистично оброблені дані. Досліджено методи: визначення вмісту лейкоцитів та їх якісного складу методом мікроскопії мазків крові; визначення кількості Т- та В - лімфоцитів, природних клітин-кілерів; реакція фагоцитозу тощо.

The results of studying of dynamic early immunological reactions of organisms reaction of organism mice changes and morphological alterations of mice after skin application during benz(a)pyrene administration are presented.

Одним з негативних і найбільш тяжких наслідків дії забруднень довкілля на населення є зростання онкологічної захворюваності.

За даними Міжнародного агентства з вивчення раку (МАВР) та відомих фахівців в області канцерогенезу до 75—90 % випадків захворювання на рак у світі зумовлено дією зовнішніх факторів, у тому числі забруднення навколишнього природного середовища хімічними канцерогенами.

Деякі дані свідчать про те, що останнім тисячоліттям значно змінилися характеристики захворюваності у дітей з розвинених країн. Класичні інфекційні захворювання істотно зменшились і більше не є провідними захворюваннями, які призводять до смерті.

Сьогодні найбільш серйозними захворюваннями для дітей США, а також інших індустріально розвинених країн є група хронічних станів мультифакторної природи, які були названі «новою педіатричною захворюваністю».

Наприклад, астма: кількість випадків захворюваності зросла більш, ніж у два рази; дитячий рак — спостерігається значне збільшення деяких типів; порушення нервово-психічного розвитку; деякі вроджені вади.

Важливим невирішеним питанням є те, якою мірою хімічні забруднення навколишнього середовища впливають на ці особливості педіатричної захворюваності, що змінюється [1].

Враховуючи цей аспект, однією з найбільш гострих проблем у збереженні навколишнього середовища ХХІ ст. є наростаючі з кожним роком тисячі антропогенних хімічних сполук, для яких ще не встановлені гігієнічні регламенти.

Обґрунтування та вибір скринінгових тестів, які дають змогу скоротити час, необхідний для оцінки канцерогенності від 2-х років до 3-6 місяців, є одним з основних завдань гігієни, як основи первинної профілактики екологічно обумовлених злякисних новоутворень.

У зв'язку з цим привертають до себе увагу дослідження, що присвячені встановленню можливості використання імунологічних тестів при оцінюванні канцерогеннонебезпечних чинників довкілля. Проведені авторами дослідження на гризунах свідчать, що ксенобіотики, які викликають імунотоксичний ефект з вірогідністю $p = 0,019$ проявляють канцерогенну активність [2]. Відомо 50 % хімічних сполук, що викликають контактну гіперчутливість сповільненого типу, які дали позитивний результат у біотестуванні на канцерогенність [3].

Комбінована й імунотоксиканта дія канцерогену сприяли виникненню максимального ефекту, що проявлялося в кількісних та якісних індексах канцерогенності (індекси пухлин, локалізації, множинності та часу виникнення) [4].

Детальний літературний огляд, проведений І. О. Черниченко (2009 р.), свідчить про необхідність пошуку прискорених методів для гігієнічної оцінки канцерогенної небезпеки чинників довкілля, одним з яких є імунологічні [4; 5]. Особливо це важливо під час вивчення комбінованої дії канцерогену, так званих, модифікаторів канцерогенезу [6].

Мета цієї роботи — вивчення ранніх імунологічних змін при канцерогенезі як можливих критеріїв для прогнозування і гігієнічної активності хімічних сполук.

У статті наведено незначну частину імунологічних досліджень. Публікації результатів продовжуватиметься по мірі їх отримання.

Об'єкти та методи досліджень

У статті наведено лише ту частину методів, за результатами яких було проаналізовано статистично оброблені дані.

Об'єктами для досліджень були експериментальні тварини (безпорідні білі миші), хімічний канцерогенний бенз(а)пірен, модифікатор канцерогенезу фенол, гематологічні та імунологічні показники.

Досліджувані сполуки тварини отримували перорально ізольовано та у комбінації протягом місяця.

У дослідженнях було використано такі методи: визначення вмісту лейкоцитів та їх якісного складу методом мікроскопії мазків крові; визначення кількості *T*- та *B*-лімфоцитів, природних клітин-кілерів; реакція фагоцитозу [7].

Експериментальні тварини було поділено на шість груп по шість голів у кожній. Мишам внутрішньошлунково вводили різні дози досліджуваних хімічних сполук.

Групи розподілили у такій послідовності:

- 1 група — інтактний контроль;
- 2 група — введення бенз(а)пірену у дозі 0,1 мг у 0,2 мл триетиленгліколю;
- 3 група — введення фенолу у дозі 0,1 мг у 0,2 мл води;
- 4 група — введення бенз(а)пірену та фенолу у дозі по 0,1 мг у 0,2 мл триетиленгліколю;
- 5 група — введення 0,1 мг бенз(а)пірену та 0,002 мг фенолу в 0,2 мл триетиленгліколю;
- 6 група — введення 0,2 мл триетиленгліколю.

Результати та їх обговорення

Результати експериментальних досліджень, одержаних через місяць пероральної ізольованої та комбінованої дії на організм мишей бенз(а)пірену та фенолу, свідчать про наявність достовірних відмінностей гематологічних та імунологічних показників тварин деяких груп.

Так, у крові мишей другої групи (експозиція бенз(а)пірену у дозі 0,1 мг у 0,2 мл триетиленгліколю (ТЕГ)) загальний вміст лейкоцитів, нейтрофілів, а також відносна кількість моноцитів, еозинофілів, природних кілерів та сегментоядерних нейтрофілів не виходили за межі коливання відповідних показників у інтактних тварин. Разом з тим відмічалось достовірне збільшення кількості паличко-ядерних нейтрофілів (ПЯН) (у другій групі $(4,17 \pm 0,31) \%$ та $(2,83 \pm 0,31) \%$ у контролі).

Кількість фагоцитуючих нейтрофільних гранулоцитів у мишей дослідної групи не відрізнялася від таких у першій групі.

Через місяць у тварин цієї групи було визначено зменшення відносного кількості *T*-лімфоцитів $((17,83 \pm 0,70) \%)$ порівняно з контролем $((30,00 \pm 0,55) \%, p < 0,05)$, що може вказувати на можливий початок пригнічення клітинної ланки імунної системи, оскільки загальна кількість лімфоцитів, а також популяція *B*-клітин не зазнали вірогідних змін відносно значень у інтактних тварин.

За перорального надходження до організму мишей разом з питною водою фенолу в дозі 0,1 мг у 0,2 мл води (третья група) відмічалось достовірне зменшення відносної кількості нейт-

рофілів, у тому числі сегментоядерних (СЯН) $((20,83 \pm 0,87) \%$ та $(17,50 \pm 0,72) \%$, у контролі $(23,83 \pm 0,83) \%$ і $(21,00 \pm 0,82) \%$).

Фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів у третій групі також була достовірно нижчою порівняно з контролем $(90,33 \pm 2,39) \%$ і $(81,83 \pm 2,01) \%$, відповідно, що може свідчити про пригнічення неспецифічних факторів захисту організму.

Вірогідних відмінностей кількості лейкоцитів, лімфоцитів та інших гематологічних показників порівняно з інтактними тваринами виявлено не було.

Разом з тим, у крові мишей третьої групи було виявлено пригнічення клітинної та активацію гуморальної ланки імунної системи, про що свідчить зменшення відносного числа *T* — $(19,67 \pm 1,05) \%$, у контролі — $(30,00 \pm 0,55) \%$ та збільшення відсотку *B*-клітин $((32,00 \pm 1,29) \%$ і $(25,50 \pm 0,92) \%$ у контролі).

У мишей, які підлягали комбінованому впливу бенз(а)пірену (БП) та фенолу (Ф) у різних концентраціях (четверта група — БП та Ф у дозі 0,1 мг у 0,2 мл ТЕГ і п'ята група — БП і Ф у дозі 0,002 мг у 0,2 мл ТЕГ) виявлено, що загальна популяція лімфоцитів та лейкоцитів не зазнавала суттєвих змін. Кількість еозинофілів, моноцитів, паличкоядерних нейтрофілів (ПЯН) та природних кілерів також не мали вірогідних відмінностей порівняно з показниками контрольної групи.

Однак спостерігалось достовірне зменшення відносного числа сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів (СЯН) (у четвертій групі — $(17,17 \pm 0,75) \%$, у п'ятій — $(16,67 \pm 1,45) \%$, у контролі — $(21,00 \pm 0,82) \%$), а в четвертій групі ще й зниження загальної кількості нейтрофілів $(23,83 \pm 0,83) \%$, у контролі — $(20,17 \pm 1,01) \%$, $p < 0,05$). Кількість фагоцитуючих клітин у тварин цих дослідних груп не зазнавало суттєвих змін порівняно з інтактним контролем (таблиця).

Вивчення стану окремих ланок імунної системи тварин четвертої і п'ятої груп дало змогу виявити зрушення в клітинній та гуморальній ланках імунітету. А саме у тварин четвертої та п'ятої груп вірогідно менший, ніж у контролі відсоток *T*-лімфоцитів (відповідно, $(19,33 \pm 0,67) \%$ та $(24,00 \pm 0,89) \%$, у контролі $(30,00 \pm 0,55) \%$).

Також було відмічено достовірне збільшення відносної кількості *B*-лімфоцитів у чотирьох $(33,67 \pm 0,99) \%$ і п'яти групах $(32,33 \pm 0,88) \%$, у той час як у контролі цей показник відповідав значенню $(25,50 \pm 0,92) \%$.

Про зміни у системі неспецифічних факторів захисту організму експериментальних тварин шостої групи (експозиція триетиленгліколю (ТЕГ) 0,2 мл), може свідчити зниження фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів $(19,17 \pm 0,70) \%$, у контролі $(23,83 \pm 0,83) \%$, а також зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів (СЯН) (у шостій групі $(16,17 \pm 0,79) \%$ та $(21,00 \pm 0,82) \%$ у контролі).

**Імунологічні показники у мишей через місяць пероральної
ізолюваної та комбінованої дії бенз(а)пірену та фенолу**

Група дослідних тварин	Т-лімфоцити		В-лімфоцити		Кількість фагоцитуючих клітин	
	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л
1 група (контроль)	30,00 + 0,55	3,85 ± 0,68	25,50 + 0,92	3,46 + 0,57	90,33 ± 2,39	3,97 + 0,48
2 група	17,83 + 0,70*	2,23 + 0,23	24,33 + 0,42	3,04 ± 0,30	81,83 + 3,26	3Д8 + 0,17
3 група	19,67 + 1,05*	2,49 + 0,29	2,00 + 1,29*	4,02 + 0,38	1,83 + 2,0 Г	2,86 + 0,15
4 група	19,33 + 0,67*	2,52 + 0,30	33,67 + 0,99*	4,36 ± 0,46	88,83 + 2,15	3,20 + 0,40
5 група	24,00 + 0,89*	2,87 + 0,22	32,33 + 0,88*	4,69 + 0,26	85,50 + 2,55	337 + 0,20
6 група	27,50 + 0,89	3,10 + 0,15	30,17 + 0,79*	3,44 + 0,28	88,83 ± 3,15	2,65 + 0,34

Примітка. * — Вказані вірогідні відмінності порівняно з першою, контрольною групою ($p < 0,05$).

Крім того, у тварин цієї дослідної групи на тлі вірогідного збільшення загальної кількості лімфоцитів ((74,67 + 1,17) % порівняно з (70,83 + 0,87) % у контролі, спостерігалось підвищення відносної кількості В-клітин (30,17 + 0,79) % та (25,50 + 0,92) % у інтактних тварин, що може свідчити про активацію гуморальної ланки імунітету.

Таким чином, оцінка імунного статусу експериментальних тварин, які протягом місяця отримували з питною водою ізолювано та комбіновано бенз(а)пірен та фенол, дала можливість виявити зрушення у клітинній (2, 3, 4 та 5 дослідні групи) та гуморальній ланках імунітету (3, 4, 5 і 6 групи). Зміни у системі неспецифічних факторів захисту організму мишей спричиняла як ізолювана дія досліджуваних речовин (2 і 3 групи) та їх комбінація (4 і 5 групи), так і вплив триетиленгліколю (6 група).

Висновки

1. Установлено, що ізолювана пероральна дія бенз(а)пірену 0,1 мг у 0,2 мл триетиленгліколю призводить до імуносупресії за Т-клітинним типом на тлі підвищення відносної кількості паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів.

2. Установлено, що за ізолюваного впливу фенолу (доза 0,1 мг у 0,2 мл води) спостерігається імуносупресія за Т-клітинним типом, активація гуморальної ланки імунітету, а також зниження відносної кількості нейтрофілів, яке супроводжується пригніченням їх функціональної активності.

3. Імуногематологічна картина, яка розвивається за ізолюваної дії триетиленгліколю (0,2 мл) характеризується підвищенням загальної популяції лімфоцитів за рахунок відносної кількості В-клітин. Зниження кількості нейтрофільних гранулоцитів не призводить до змін їх функціональної активності.

4. Установлено, що за комбінованої дії бенз(а)пірену та фенолу у вивчених дозах спостерігається імуносупресія за Т-клітинним типом та активація гуморальної ланки імунітету на тлі зниження кількості нейтрофільних гранулоцитів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Environmental pollutants and disease in American children: estimates of morbidity, mortality and costs of lead poisoning, asthma, cancer and developmental disabilities* / [P. J. Landrigan, C. B. Schechter, J. M. Lipton at al.] // *Environmental Health Perspectives*. — 2002. — Vol. 110, — № 7. — P. 721—728.

2. *Risk assessment in immunotoxicology* / [M. I. Luster, C. Portier, G. Pait at al.] // *Fundam. and Appl. Toxicol.* — 1992. — Vol. 18. — P. 192—200.

3. *Roy E. Albert Allergic contact sensitizing chemicals as environmental carcinogens* // *Environmental Health Perspectives*. — 1997. — Vol. 105. — № 9. — P. 940—948.

4. *Черниченко І. О.* Значення прискорених методів для гігієнічної оцінки канцерогенної небезпеки факторів довкілля // *Довкілля та здоров'я* / І. О. Черниченко, Н. В. Баленко, О. М. Осташ. — 2009. — № 1 (48). — С. 35—41.

5. *Moncevicuic-Eringiene E.* Disturbances of immunohomeostasis as endogenous risk factors of cancer and other diseases and indicators of environmental contamination / *E. Moncevicuic-Eringiene* // *Vczio profilaktikos problemas*. — *Lictuvos mokslas*. — 2001. — P. 88—122.

6. *Литвинов Н. Н.* Новые подходы к профилактике онкологической заболеваемости, связанной с химическими факторами окружающей среды // *Медицина труда и промышленная экология* / Н. Н. Литвинов. — 2004. — № 8. — С. 1—5.

7. *Оценка влияния факторов окружающей среды на иммунологическую реактивность организма: Методические рекомендации* / НИИ общей и коммунальной гигиены им. А. Н. Марзеева. — К., — 1988. — 23 с.

Стаття надійшла до редакції 24.09.09.

