

## ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ В ЩУРІВ ЗА УМОВИ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ СОЛЯМИ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ

*В експерименті на щурах з модельованим токсичним ураженням солями кадмію та свинцю досліджено зміни показників клітинного імунітету в крові. Результати проведеного дослідження вказують на виражені порушення з боку клітинної ланки імунітету крові у вигляді Т-лімфоцитопенії, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів з переважним зменшенням Т-супресорів, збільшення імунорегуляторного індексу та змін вмісту загальних В-лімфоцитів. Найсуттєвішого пригнічення клітинної ланки імунітету зазнали щури з комбінованим ураженням солями важких металів.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кадмій, свинець, клітинний імунітет.

ВСТУП. Серед техногенних забруднювачів одне з провідних місць посідають іони важких металів, що навіть у мікродозах можуть спричинити небезпечні ураження чутливих анатомо-фізіологічних систем і розвиток патологічних станів. Важкі метали характеризуються високою токсичністю і біохімічною активністю, що дозволяє відносити їх до екоцидних та біоцидних ксенобіотиків [3]. Їх широко застосовують у промисловому виробництві, та, попри очисні заходи, сполуки важких металів проникають у промислові стічні води. Значна кількість цих сполук потрапляє у воду через атмосферу. Екологічна небезпека важких металів полягає в тому, що вони активно поглинаються фітопланктоном, а після цього передаються людині по харчовому ланцюгу [2].

Кадмій у природі зустрічається в цинкових та свинцевих рудах і ніколи не буває у вільному стані. У повітря значна кількість кадмію потрапляє в результаті вулканічного виверження та шляхом вивільнення його з рослин. Проте антропогенний внесок надходження  $Cd^{2+}$  в атмосферу перевищує потрапляння його природним шляхом більше ніж у 3 рази. Джерелами викидів кадмію є теплові електростанції, природний газ і нафта, а також продукти її переробки, зокрема мазут і гудрон. Так, у результаті спалювання промислових та побутових відходів тільки в атмосферу Європи

© І. Я. Криницька, Г. Г. Габор, М. В. Кирилів, І. Р. Бекус, Т. Я. Ярошенко, 2016.

щорічно надходить близько 10 т кадмію. Кадмій широко використовують у сучасній промисловості: виробництві металокераміки, полімерів, люмінофорів для кольорових телевізорів і рентгенівських екранів, штучної шкіри, пігментів для скла, фарфору, гальванічних покриттів тощо [11]. Значна кількість кадмію надходить в організм під час куріння. Міжнародна асоціація вивчення раку відносить кадмій до канцерогенів саме в разі інгаляційного надходження [2].

Щорічні техногенні викиди свинцю в навколишнє середовище складають 400 000 т на рік. В Україні одним із важливих джерел інтоксикації залишаються тетраетилсвинець і окиси свинцю, що утворюються в процесі згоряння палива [10]. Небезпека шкідливого впливу свинцю на здоров'я населення набула особливої актуальності після аварії на Чорнобильській АЕС, під час ліквідації якої використано сотні тисяч тонн металу, що при високій температурі на місці його застосування випаровуються і надходять у навколишнє середовище у вигляді аерозолів конденсації [9]. Курці здатні додатково споживати по 1 мкг свинцю на одну викурену цигарку.

Свинець і кадмій належать до токсичних мікроелементів, які мають високу біологічну активність і здатність до накопичення в організмі. На сьогодні встановлено основні токсичні властивості даних металів. Зокрема, визначено прояви гострої та хронічної свинцевої інтоксикації (анемія, порушення порфіринового обміну),

досліджено шкідливий вплив свинцю і кадмію на нервову, серцево-судинну системи, шлунково-кишковий тракт, нирки. Для кадмію встановлено мутагенну і канцерогенну активність [13, 17].

Особливого значення набула проблема впливу солей кадмію та свинцю на імунну систему, оскільки вона відіграє провідну роль у збереженні здоров'я і визнана однією з надчутливих до дії несприятливих чинників, навіть у відносно низькій концентрації [3].

Тому метою даної роботи було дослідити токсичний вплив солей кадмію та свинцю на клітинну ланку імунної системи щурів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проведено на 48 статевозрілих білих нелінійних щурах-самцях масою 180–220 г. Тварин утримували в умовах віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних норм. Усі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили, дотримуючись правил, передбачених Європейською комісією по нагляду за проведенням лабораторних та інших дослідів з участю експериментальних тварин різних видів [16], згідно з Науково-практичними рекомендаціями з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [7].

Токсичне ураження викликали шляхом внутрішньошлункового введення тваринам водного розчину кадмію хлориду в дозі 3,3 мг/кг маси тіла ( $0,05 LD_{50}$ ) та свинцю ацетату в дозі 11 мг/кг ( $0,05 LD_{50}$ ) протягом 30-ти діб [8].

Щурів було поділено таким чином: контрольна група – внутрішньошлунково отримували дистильовану воду в еквівалентній кількості; експериментальна група № 1 – внутрішньошлунково отримували водний розчин кадмію хлориду в дозі 3,3 мг/кг маси тіла; експериментальна група № 2 – внутрішньошлунково отримували водний розчин свинцю ацетату в дозі 11 мг/кг; експериментальна група № 3 – внутрішньошлунково отримували водний розчин кадмію хлориду в дозі 3,3 мг/кг маси тіла та водний розчин свинцю ацетату в дозі 11 мг/кг.

Дослідження проводили на базі міжкафедральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Стан клітинного імунітету оцінювали за вмістом CD3+ – Т-лімфоцитів загальних, CD4+ – Т-лімфоцитів-хелперів, CD8+ – Т-лімфоцитів-супресорів, CD19+ – В-лімфоцитів загальних та імунорегуляторним індексом CD4+/CD8+. Метод дослідження клітинного імунітету ґрунтується на взаємодії моноклональ-

них антитіл, мічених флюоресцентною міткою, з поверхневими антигенами лімфоцитів [14]. Зразки аналізували на проточному цитофлюориметрі Epics-XL виробництва "Beckman Coulter" (США).

Обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського в програмному пакеті Statsoft STATISTICA. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою критерію Манна–Уїтні.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати визначення основних показників клітинного імунітету в крові щурів з модельованим токсичним ураженням солями кадмію та свинцю наведено в таблиці.

Основну роль в імунних реакціях відіграють Т-лімфоцити, які за рахунок клітинних рецепторів розпізнають антигени [12]. У тварин експериментальної групи № 1 (внутрішньошлунково отримували водний розчин кадмію хлориду) було зафіксовано зниження вмісту загальних Т-лімфоцитів у крові на 8,7 % ( $p < 0,01$ ) відносно контрольної групи. У щурів експериментальної групи № 2 (внутрішньошлунково отримували водний розчин свинцю ацетату) встановлено зменшення вмісту загальних Т-лімфоцитів у крові на 22,4 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи. У тварин, які отримували водний розчин кадмію хлориду та свинцю ацетату (експериментальна група № 3) спостерігали найбільш виражене зниження вмісту загальних Т-лімфоцитів у крові – на 34,6 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи (рис.).

Т-хелпери – індуктори імунної відповіді, що регулюють силу імунної відповіді організму на чужорідний антиген. Т-хелпери 1-го типу беруть участь переважно у регуляції клітинної ефекторної відповіді, продукують ІЛ-2,  $\gamma$ -ІФН, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулювальний фактор та ін.; Т-хелпери 2-го типу беруть участь переважно у регуляції гуморальної ефекторної відповіді, продукують ІЛ-3, -4, -5, -9, -10, -13 тощо [6]. При вивченні хелперної фракції клітинної ланки імунітету встановлено достовірні відмінності у вмісті Т-хелперів у крові тварин експериментальних груп. Так, у щурів експериментальної групи № 1 даний показник зріс на 10,3 % ( $p < 0,05$ ), у тварин експериментальної групи № 2 – на 25 % ( $p < 0,001$ ), а в щурів експериментальної групи № 3 зменшився на 25,8 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи.

Таблиця – Показники клітинного імунітету в крові щурів з модельованим токсичним ураженням солями кадмію та свинцю (M±m)

Дослідна група	Контрольна група (n=12)	Експериментальна група № 1 (n=12)	Експериментальна група № 2 (n=12)	Експериментальна група № 3 (n=12)
Кров				
CD3+	42,10±0,41	38,42±0,88 $p_1 < 0,01$	32,67±1,41 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$	27,52±1,03 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,02$
CD4+	24,63±0,74	27,17±0,67 $p_1 < 0,05$	30,79±1,02 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,02$	18,27±0,42 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
CD8+	13,02±0,40	10,66±0,29 $p_1 < 0,001$	8,83±0,65 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	8,10±0,25 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 > 0,05$
CD4/CD8	1,90±0,06	2,96±0,08 $p_1 < 0,001$	3,69±0,28 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	2,28±0,08 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,001$
CD19+	8,72±0,73	9,33±0,31 $p_1 > 0,05$	10,42±0,21 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,02$	6,93±0,32 $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$

Примітки:

1.  $p_1$  – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами.
2.  $p_2$  – різниця достовірна при порівнюванні тварин експериментальної групи № 2 з експериментальною групою № 1.
3.  $p_3$  – різниця достовірна при порівнюванні тварин експериментальної групи № 3 з експериментальною групою № 1.
4.  $p_4$  – різниця достовірна при порівнюванні тварин експериментальної групи № 3 з експериментальною групою № 2.

T-супресори клітини, що пригнічують активацію клітинного і гуморального імунітету, впливаючи на механізми міжклітинної взаємодії, а також регулюють якісний склад популяцій лімфоцитів, сприяють розвитку толерантності [1]. При вивченні супресорної фракції клітинної ланки імунітету встановлено однонаправлені

зміни у вмісті T-супресорів у крові тварин трьох експериментальних груп. Так, у щурів експериментальної групи № 1 даний показник зменшився на 18,3 % ( $p < 0,001$ ), у тварин експериментальної групи № 2 – на 32,2 % ( $p < 0,001$ ), а в щурів експериментальної групи № 3 – на 37,8 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи.

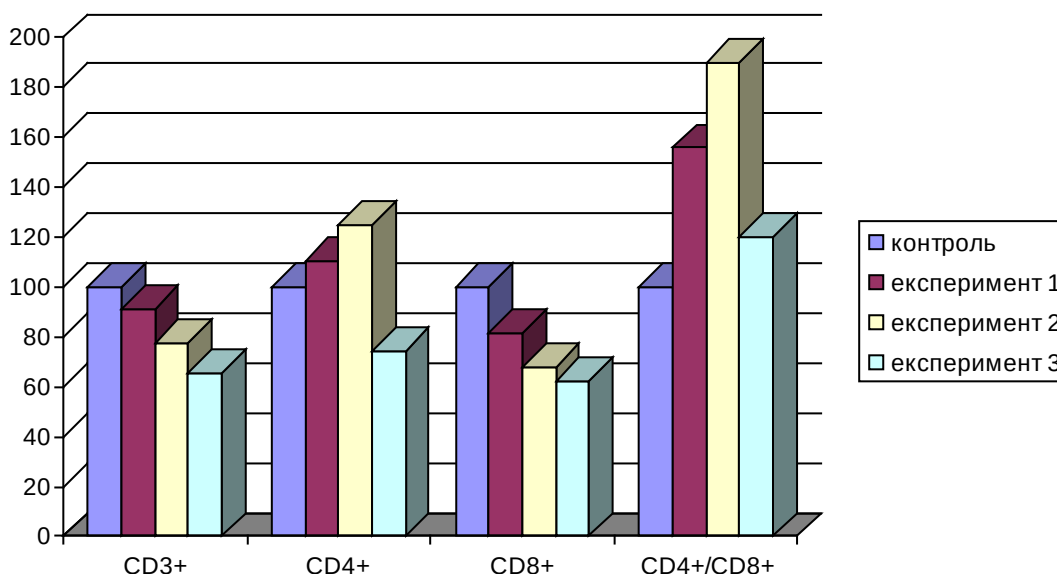


Рис. Зміни показників клітинного імунітету в крові експериментальних тварин у відсотках.

Зважаючи на зміни кількості Т-хелперів та Т-супресорів, достовірних змін зазнав і імунорегуляторний індекс. Так, у щурів експериментальної групи № 1 даний показник збільшився на 55,8 % ( $p < 0,001$ ), у тварин експериментальної групи № 2 – в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ), а в щурів експериментальної групи № 3 – на 20,0 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи.

Вміст загальних В-лімфоцитів у крові тварин експериментальної групи № 1 збільшився на 7,0 %, проте ці дані виявилися недостовірними ( $p > 0,05$ ) відносно контрольної групи. У щурів експериментальної групи № 2 даний показник підвищився на 19,5 % ( $p < 0,05$ ) відносно контрольної групи. Протилежно направлені зміни виявлено у тварин експериментальної групи № 3 – зменшення вмісту загальних В-лімфоцитів у крові на 20,5 % ( $p < 0,05$ ) відносно контрольної групи.

Щодо механізмів імунотоксичної дії свинцю і кадмію, то, за даними [4], вони зумовлені властивістю даних металів стимулювати пероксидне окиснення ліпідів та вільнорадикальне пошкодження ДНК, а також, завдяки їх спорідненості до SH-груп білків, спричиняти зміни функціональної активності та антигенного складу мембран імунокомпетентних клітин. В експериментах на тваринах встановлено, що іони свинцю здатні підсилювати “кисневий вибух” у фагоцитах. Цей феномен може слугувати фактором, який за дії

свинцю підвищує рівень радикалів кисню з наступною активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, пошкодження мембран клітин, у тому числі імунокомпетентних [5].

Імуномодельюча дія кадмію залежить від його здатності конкурувати за центри зв'язування з есенціальним металом – цинком, який міститься в гормоні тимуса [15]. За іншими припущеннями [18], імунотоксична дія кадмію може бути зумовлена його антагонізмом з мікроелементом селеном, який є імуномодулятором, що стимулює клітинний та гуморальний імунітет. Отже, можна вважати, що імунотоксична дія важких металів реалізувалася за рахунок прямого токсичного впливу на імунокомпетентні клітини, який супроводжувався порушенням спеціалізованих функцій цитоплазматичних мембран, та опосередковано через порушення гуморальних регулюючих впливів на них.

**ВИСНОВКИ.** У щурів з модельованим токсичним ураженням солями кадмію та свинцю спостерігають виражені порушення з боку клітинної ланки імунітету крові у вигляді Т-лімфоцитопенії, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів з переважним зменшенням Т-супресорів, збільшення імунорегуляторного індексу та змін вмісту загальних В-лімфоцитів. Найсуттєвішого пригнічення клітинної ланки імунітету зазнали щури з комбінованим ураженням солями важких металів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрейчин М. А. Клінічна імунологія та алергологія / М. А. Андрейчин, В. В. Чоп'як, І. Я. Господарський. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2005. – 372 с.
2. Архіпова Г. І. Вплив надлишкового вмісту важких металів на організм людини / Г. І. Архіпова, Т. О. Мудрак, Д. В. Завертана // Вісн. Нац. авіац. ун-ту. – 2010. – № 1. – С. 232–235.
3. Дмитруха Н. М. До проблеми імунотоксичності свинцю і кадмію (огляд літератури) / Н. М. Дмитруха // Совр. пробл. токсикологии. – 2009. – № 1. – С. 4–9.
4. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – 3-е изд., допол. – К. : Полиграф плюс, 2006. – 482 с.
5. Забродский П. Ф. Механизмы токсического действия металлов и их влияние на иммунную систему / П. Ф. Забродский // Токсикол. вестн. – 1998. – № 6. – С. 9–15.
6. Криницька І. Я. Показники клітинного імунітету у щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом / І. Я. Криницька // Вісн. проблем біології і медицини. – 2013. – Вип. 1, 1 (98). – С. 117–121.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
8. Оценка комбинированного действия бинарных смесей свинец-медь и свинец-цинк / Т. И. Герасименко, С. Г. Домнин, О. Ф. Рослый, А. А. Федорук // Медицина труда и промышленная экология. – 2000. – № 8. – С. 36–39.
9. Павловская Н. А. Клинико-лабораторные аспекты раннего выявления свинцовой интоксикации / Н. А. Павловская, Н. И. Данилова // Мед. труда и промышленная экология. – 2001. – № 5. – С. 18–21.
10. Розанов В. А. Нейротоксичность свинца в детском возрасте: эпидемиологические, клинические и нейрохимические аспекты / В. А. Розанов // Укр. мед. часоп. – 2000. – № 5 (19). – С. 9–17.

11. Станько О. М. Важкі метали у воді: забруднення річки Дністер за останні 10 років (територія Львівської області) / О. М. Станько // Суч. пробл. токсикології. – 2012. – № 3/4. – С. 58–63.

12. Черний В. И. Нарушения иммунитета при критических состояниях: особенности диагностики / В. И. Черний, А. Н. Нестеренко // Внутренняя медицина. – 2007. – № 2. – С. 12–22.

13. Bernard A. Cadmium and its adverse effects on human health / A. Bernard // Indian J. Med. Res. – 2008. – **128**. – P. 557–564.

14. Bunders M. Age-related standards for total lymphocyte, CD4+ and CD8+ T cell counts in children born in Europe / M. Bunders, M. Cortina-Borja, M. L. Newell // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2005. – **24**, № 7. – P. 595–600.

15. Chowdhury B. A. Effect of zinc administration on cadmium-induced suppression of natural killer cell activity in mice / B. A. Chowdhury, R. K. Chandra // Immunol. Lett. – 1989. – № 22. – P. 287–291.

16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.

17. Lyn P. Lead Toxicity, A Review of the Literature. Part I: Exposure, Evaluation, and Treatment / P. Lyn // Altern. Med. Rev. – 2006. – **11** (1). – P. 2–22.

18. Sarkar S. Cadmium-induced peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues: role of vitamin E and selenium / S. Sarkar, J. Pooman // Trace Element and Electrolyse. – 1997. – **14**, № 1. – P. 41–45.

И. Я. Криницкая, Г. Г. Габор, М. В. Кирилив, И. Р. Бэкус, Т. Я. Ярошенко  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У КРЫС ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ СОЛЯМИ КАДМИЯ И СВИНЦА

### Резюме

В эксперименте на крысах с моделированным токсическим поражением солями кадмия и свинца исследовано изменения показателей клеточного иммунитета в крови. Результаты проведенного исследования указывают на выраженные нарушения со стороны клеточного звена иммунитета крови в виде Т-лимфоцитопении, дисбаланса субпопуляционного состава Т-лимфоцитов с преимущественным уменьшением Т-супрессоров, увеличения иммунорегуляторного индекса и изменений содержания общих В-лимфоцитов. Наиболее существенно подавлению клеточного звена иммунитета подверглись крысы с комбинированным поражением солями тяжелых металлов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кадмий, свинец, клеточный иммунитет.

I. Ya. Krynytska, H. H. Habor, M. V. Kyryliv, I. R. Bekus, T. Ya. Yaroshenko  
I. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## THE INDICES OF CELLULAR IMMUNITY IN RATS WITH MODULATED TOXIC INJURY BY CADMIUM AND LEAD SALTS

### Summary

In experiments on rats with modulated toxic injury by cadmium and lead salts the changes in the indices of cellular immunity in blood were studied. Results of the investigation indicate a pronounced imbalance of blood cellular immunity in the form of T-lymphocytopenia, imbalance subpopulation of T-lymphocytes with a predominant decreasing in T-suppressor cells, increasing the immunoregulatory index and change in the amount of total B-lymphocytes. The most significant inhibition of cellular immunity experienced rats with combined injury by heavy metal salts.

KEY WORDS: cadmium, lead, cellular immunity.

Отримано 29.04.16

Адреса для листування: І. Я. Криницька, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.