

Балабекова М.К.

## ОРГАНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

М.К. Balabekova

### TOXIC EFFECTS OF HEAVY METALS ON BODIES

УДК: 615.099.092:615.777.9

При оценке иммунологической реактивности по изученным показателям неспецифической резистентности установлено развитие вторичного иммунодефицитного состояния у крыс, подвергавшихся двухнедельному воздействию ванадата аммония и бихромата калия, с преимущественной депрессией фагоцитарного и Т-клеточного звеньев иммунитета. Цеолит у опытных животных существенно ослаблял гемотоксическое действие соединений металлов, оказал преимущественное корректирующее влияние на Т-клеточное звено иммунитета, а также заметно повышал устойчивость мембран нейтрофилов к повреждающему действию соединений металлов.

**Ключевые слова:** ванадий, хром, иммунитет, иммунодефицитное состояние, крысы, неспецифическая резистентность, цеолит.

*In assessing the immunologic parameters studied in non-specific resistance of the secondary set immunodeficiency state in rats subjected to two-week exposure ammonium vanadate and kalium dichromate, with a predominant depressed phagocytic and T-cell immunity. Zeolite in the experimental animals significantly impaired hematotoxic effect of metal compounds, has a preferential effect on correcting the T-cell immunity, as well as significantly increased resistance to neutrophil membrane damaging effect of metal compounds*

**Key words:** vanadium, chromium, immunity, immunodeficiency, rats, non-specific resistance, zeolite.

Одно из приоритетных мест в нарушении иммунологической реактивности занимают тяжелые металлы. Исследованиям иммунотоксического влияния химических факторов окружающей и/или производственной среды уделяется пристальное внимание во всем мире [1-6]. Воздействие на человека соединений тяжелых металлов приводит к нарушению приспособительных реакций организма в целом, что проявляется снижением общебиологической его резистентности. При этом происходит формирование иммуно-патологического процесса [7]. В основе иммунологических сдвигов, вызываемых токсическими веществами, лежат различные механизмы от грубого повреждения стволовых клеток костного мозга (нарушения их пролиферации и дифференцировки) до изменения продукции цитокинов, модуляции рецепторов на мембранах иммунокомпетентных клеток, количественных и качественных нарушений клеток иммунной системы [8]. Механизм токсического действия многих химических соединений в большей или меньшей степени изучен, на основании чего разрабатываются профилактические мероприятия по предупреждению негативного влияния на организм человека, проводится поиск антидотной терапии [9,10].

В доступной литературе мы не обнаружили сведений о состоянии иммунологической реактив-

ности в условиях комбинированного воздействия ванадия и хрома. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось выявление и коррекция нарушений иммунного статуса крыс, подвергающихся двухнедельной загрузке ванадата аммония и бихромата калия.

#### Материал и методы исследования

Опыты проведены на 52 белых крысах-самцах массой тела 180-230 гр., содержащихся в стандартных условиях вивария. Животные подвергались загрузке ванадатом аммония (ВА) и бихроматом калия (БК) в течение двух недель из расчета по 5 мг/кг массы тела перорально при помощи металлического зонда. Проведены 2 серии опытов: 1 - контрольные животные, получавшие равный объем физиологического раствора NaCl; 2 - животные, получавшие ванадат аммония и бихромат калия. В каждой серии было по 26 крыс. Контрольные животные, также как и опытные, наблюдались в течение двух недель и получали равный объем физиологического раствора NaCl. Контроль за состоянием животных проводили визуально (по состоянию кожных покровов, активности, массе тела, сохранению инстинктов и т.д.), оценку иммунного статуса проводили с помощью методик по определению в крови:

1. общего количества эритроцитов, гемоглобина, цветового показателя (ЦП);
2. общего количества лейкоцитов, лейкоформулы (по общепринятой методике);
3. спонтанного и индуцированного НСТ теста (тест восстановления нитросинего тетразолия), спонтанного и индуцированного фагоцитоза [11];
4. теста ППН (по методике В.А. Фрадкина, 1985 г.) [12];
5. с помощью неконъюгированных моноклональных антител фирмы CALTAG Laboratories рецепторов к CD3+, CD4+, CD8+ лимфоцитам крыс;
6. концентрации ЦИК с помощью набора реагентов "Микроанализ ЦИК" производства А/О "НПО СИН-ТЭКО".

В результате полученных данных был произведен расчет индексов, где:

ИЙР - индекс иммунореактивности;

Ж - лимфоцитарный индекс;

ИРН - иммунорегуляторный индекс

Оценка первого уровня иммунного статуса проводилась в медицинском центре "Иммунодиагностика". Полученные цифровые данные математически обработаны по t – критерию Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Совместное введение солей ванадия и хрома оказало выраженное гемотоксическое действие. Так, в результате двухнедельной затравки В А и БК в дозе по 5 мг/кг м.т. в крови опытных животных развивалась лейкопения за счет преимущественного снижения абсолютного количества лимфоцитов на 60,5%. Количество эритроцитов и содержание гемоглобина снижалось на 25% и 12% соответственно, хотя цветовой показатель оставался в пределах контрольных величин.

Таким образом, под влиянием ванадия и хрома у животных, возможно, нарушалось костномозговое кроветворение с выраженным угнетением миелоидного, лимфоидного и эритроидного рядов и развитием лейкопении и эритропении.

Исследования, проведенные в нашей лаборатории, показали, что при проверке готовности нейтрофилов глытных крыс к фагоцитозу в реакциях стимуляции их пирогеналом и латексом в НСТ-тесте заметной активизации изученных иммунологических показателей не наблюдалось. Так, в спонтанном и индуцированном НСТ-тесте метаболическая и фагоцитарная активность нейтрофилов по сравнению с контролем увеличивалась лишь на 8-11%.

В литературе описаны аналогичные результаты. Так, по результатам проведенных исследований [13-15] установлено, что свинец вызывает угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов. Другие авторы считают, что тяжелые металлы снижают окислительно-восстановительный потенциал нейтрофилов и их функционально-метаболические резервы [16]. Стежка ЗА. с соавт. (2002) снижение фагоцитарной функции 2 функционально-метаболических резервов нейтрофилов при интоксикациях тяжелыми металлами связывают с угнетением активности внутриклеточных ферментов, ответственных за энергообеспечение, и ослаблением в целом регулирующей роли гуморальных факторов [17].

Полученные данные, по-нашему мнению, свидетельствуют о том, что вследствие нарушения фагоцитарного звена иммунитета, вызванного соединениями ванадия и хрома, адекватной защитной реакции со стороны нейтрофилов в случае столкновения организма с агентами инфекционного и неинфекционного происхождения не последует.

Дальнейшие наши исследования показали, что под влиянием ванадия и хрома происходило резкое снижение абсолютного содержания CD3+, CD4+, CD8+ лимфоцитов по сравнению с контролем на 66,1%, 78,4% и 70,6% соответственно. Причем, абсолютное содержание СВ4+лимфоцитов по сравнению с контролем снижалось в 1,1 раза больше, чем CD8+ лимфоцитов. Это свидетельствовало о преимущественном нарушении хелперной активности лимфоцитов, по сравнению с супрессорной.

По данным авторов [18], увеличение содержания в крови животных катионов Cd<sup>2+</sup> угнетало метаболические процессы в лимфоцитах и приводило к нарушению функции Т-хелперов и Т-супрессоров.

Известно, что CD3+ и CD4+ лимфоциты участвуют в процессах дифференцировки и пролиферации В - лимфоцитов в центральных и периферических органах иммуногенеза [19]. Мы предполагаем, что в условиях иммунодефицита, вызванного тяжелыми металлами, развивалось угнетение гуморального звена иммунитета и последующее снижение антителообразовательной функции В-лимфоцитов, что могло привести к снижению образования ЦИК в периферической крови. Так, по данным наших исследований установлено трехкратное снижение содержания ЦИК в крови опытных животных, что лишь подтверждает наши предположения.

По полученным нами результатам исследований, установлено, что устойчивость мембран нейтрофилов под влиянием соединений ванадия и хрома заметно ослабевала. Так, в опытной серии эксперимента (животные, получавшие ВА и БК) добавление ванадия и хрома вызывало повреждения лейкоцитов, превышавшие контрольные значения более чем в 2 раза.

Исходя из результатов проведенных экспериментальных исследований на крысах, подвергавшихся двухнедельному воздействию ВА и БК, в качестве патогенетически обоснованных критериев их иммунотоксического действия могут быть отнесены следующие сдвиги показателей неспецифической резистентности, характеризующие состояние иммунологической реактивности организма:

- летальность животных во время проведения экспериментов составляла 20%;
- в периферической крови животных резко снижалось общее количество лейкоцитов, преимущественно за счет лимфоцитов, развивалась анемия;
- угнеталась фагоцитарная и функционально-метаболическая активность нейтрофилов;
- развивался дефицит Т-клеточного звена иммунитета, сопровождавшийся снижением относительного и абсолютного содержания CD3+, CD4+ и CD8+ лимфоцитов;
- резко снижалась концентрация ЦИК в крови;
- росло число поврежденных нейтрофилов.

Оценка иммунологической реактивности по представленным показателям неспецифической резистентности позволила сделать вывод о развитии вторичного иммунодефицитного состояния у крыс, подвергавшихся двухнедельному воздействию ВА и БК, с преимущественной депрессией фагоцитарного и Т-клеточного звеньев иммунитета.

Одним из путей решения проблем интоксикаций, связанных с загрязнением окружающей среды и поступлением в организм человека избыточных количеств тяжелых металлов является создание препаратов, обладающих способностью связывать эти

токсины и выводить их из организма. Токсическое действие тяжелых металлов значительно ослабевает в результате их элиминации из организма, в связи с чем, является обоснованным применение энтеросорбентов в качестве патогенетической терапии металлиндуцированных повреждений.

Снижение под влиянием цеолита токсического действия хрома на организм, по мнению Абеуова Б.А., вызвано меньшим всасыванием хрома в желудочно-кишечном тракте и снижением его концентрации в организме [20].

Исследование содержания иммунокомпетентных клеток в периферической крови опытных крыс показало, что лечение цеолитом в 1,5 раза достоверно повышало общее количество лейкоцитов по сравнению с данными нелеченных животных. При этом абсолютное содержание лимфоцитов по сравнению с предыдущей серией повышалось на 66,7%. Цеолит, не оказывая влияния на содержание моноцитов, существенно повышал относительное и абсолютное содержание палочкоядерных нейтрофилов, которые оказались на 73,7% и 170% достоверно выше данных нелеченных животных. Корректирующее влияние цеолита на состояние иммунологической реактивности, оцененное по изученным выше показателям, по данным ИИР оказалось в 1,8 раз более выраженным по сравнению с нелечеными животными. Также ЛИ под влиянием цеолита повышался на 33,3%.

По результатам исследований красной крови цеолит заметно повышал количество эритроцитов периферической крови опытных животных, но при этом не оказывал влияния на содержание гемоглобина и цветовой показатель, которые оставались ниже данных нелеченных животных.

Таким образом, цеолит в крови у животных, подвергавшихся загрузке ванадием и хромом, оказывал заметное корректирующее воздействие.

Исследование иммунного статуса опытных крыс, леченных цеолитом, по показателям спонтанной и индуцированной активности нейтрофилов в реакциях НСТ-теста, которые продолжали оставаться на уровне нелеченных животных, выяснилось, что цеолит не оказывал корректирующего влияния на поглощательную и метаболическую активность нейтрофилов.

Вместе с тем, цеолит оказал существенное влияние на содержание Т-лимфоцитов с кластерами дифференцировки CD3+, CD4+, CD8+, достоверно повышая их количество на 63,2%, 85% и 100% по сравнению с данными нелеченных животных. Однако ИРИ практически не отличался от них.

При лечении цеолитом трехкратное уменьшение содержания ЦИК в крови под влиянием ВА и БК полностью корректировалось до контрольных величин, по-видимому, за счет элиминации тяжелых металлов из организма.

Лечение животных, получавших ВА и БК, цеолитом достоверно от опытных животных уменьшало

процесс разрушения нейтрофилов. Так, при добавлении *invitro* хрома, как и при добавлении ванадия, индекс ППН уменьшался в 1,3 и 1,1 раза соответственно, чем у нелеченных животных.

В литературе имеются сведения о высокой клинической эффективности природных минералов-сорбентов при разных патологических состояниях. Так, Сатыбалдиева Ж.А. и Курманова А.М. (2007) исследовали влияние тагангеля и шунгита на популяционный состав лимфоцитов периферической крови женщин с хроническими воспалительными заболеваниями половых органов. В результате проведенных исследований выяснилось, что на фоне применения природных сорбентов (тагангель, шунгит, удаляющие микроорганизмы и токсины путем сорбции из очага воспаления) создаются условия для повышения количества зрелых лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических лимфоцитов с одновременным увеличением числа функционально активных лимфоцитов и уменьшением клеток, готовых к программированной гибели (апоптозу). Тагангель и шунгит не только сорбируют на своей поверхности патогены и токсины, но и выделяют в очаг воспаления полезные для организма микроэлементы, активизирующие межклеточные взаимодействия, оказывая опосредованное улучшающее влияние на качественный состав иммунокомпетентных клеток [21].

Коррекция цеолитом иммунодефицитного состояния, развившегося под влиянием соединений ванадия и хрома, показала эффективность применения цеолитов в качестве иммуномодуляторов.

Приведенные экспериментальные данные позволяют заключить, что использование, в качестве энтеросорбента, цеолита у опытных животных существенно ослабляло гемотоксическое действие соединений металлов, оказало преимущественное корректирующее влияние на Т-клеточное звено иммунитета, а также заметно повышало устойчивость мембран нейтрофилов к повреждающему действию соединений металлов.

#### Литература:

1. Стежка В.А., Дмитрух Н.Н., Покровская Т.Н. и др. К вопросу об иммунотоксическом действии соединений тяжелых металлов // Совр. пробл.-токсикол., - 2003. - №1. - С. 22-25.
2. *Immunotoxicology* Berlin, J. Dean., M.N. Draper, E.W.B. Smith and F. Spreafico. -Geneva, 1987. -495 p.
3. Principles and methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals// *Environ. Health Criteria*. -1996.-N180.-CI.-VI.-390 p.
4. International programme on chemical safety (UNEP-ILO- WTO)/-Working group on the effects of chemicals on the human, immune system, Prague, 21 August-1 September, 1989.
5. *Biological monitoring of metals* // C.-G. Elinder, L. Friberg, T. Kjeisstrom, G. Nordberg, G. Oberdoerster. - Geneva, WHO, 1994. -P. 78.

6. Трахтенберг И.М., Колесников В.С., Луковенко В.П. // Тяжелые металлы во внешней среде. - Минск, 1994. - 388 с.

7. Дмитриев М.Т. Идентификация и гигиеническая оценка тяжелых металлов в объектах окружающей среды // Гигиенические вопросы производства цветного металла в Казахстане. Алма-Ата. - 1987. с. 37-41

8. Immunotoxicology / A. Berlin, J. Dean, M.N. Dra-per, E.M.B. Smith, F. Spreafico, Geneva. -1987. -495 p.

9. Boscolo P., Gioacchino M., Giau N. Work, environment, immune system and humane health // Int .J. Immunopathol.Pharmacol. -2004.-V. 17, N3. -P. 1-2.

10. Паранько Н.М., Белицкая Э.Н., Карнаух Н.И. и др. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на иммунный статус населения. -Днепропетровск: Полиграфист, 2002. -143 с.

11. Информативность тестов оценки иммунного статуса при инфекционных и аллергических заболеваниях // Методические рекомендации. НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней Минздрава Казахской ССР. - Алма-Ата, 1989. - 25 с.

12. Фрадкин В. А. Диагностика аллергии реак-циями нейтрофилов крови. - М.: Медицина. - 1985. - 170 с.

13. Стежка В. А., Дмитруха Н.Н., Покровская Т.Н., Александрова Л.Г., Андрусина И.Н., Дудко И.А. Влияние соединений тяжелых металлов из окружающей среды на состояние иммунной системы у механизаторов сельского хозяйства // Доклады та здоров'я. -2002. - №1(20). -С. 6-11.

14. Литовская А.В., Садовский В.В., Вифлеемский А.Б. Состояние иммунитета при воздействии антропогенных факторов // Медицина труда. -1995. -№9. - С. 30-33.

15. Boscolo P., Gioacchino Ì., Giau N. Work, environment, immune system and humane health // Int .J. Immunopathol.Pharmacol. -2004.-V.17,N3. -P. 1-2.

16. Паранько Н.М., Белицкая Э.Н., Карнаух Н.И. и др. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на иммунный статус населения. -Днепропетровск: Полиграфист, 2002. -143 с.

17. Стежка В.А.Дмитруха Н.Н., Покровская Т.Н., Билько Т.А., Лампека Е.Г. Сравнительная оценка иммунотоксического действия свинца на нейтро-фильные лейкоциты и лимфоциты периферической крови крыс в опытах *invivo* и *invitro*/Проблемы-дицинипрацО.-К., 1998.-С. 149-159.

18. Стежка В. А., Дмитруха Н.Н., Покровская Т.Н., Билько Т. А., Лампека Е.Г. Сравнительное исследование токсического влияния кадмия на нейтрофилы и лимфоциты периферической крови крыс в опытах *invivo* и *invitro*/Гигиена труда. - Киев, 2001. -Вып. 32.-С. 245-255.

19. Общая иммунология: Учебник /А.А. Шортанбаев, С.В. Кожанова. - Алматы, 2008. - с. 365.

20. Абеуов Б.А. Энтеросорбция. - Алматы, 1996.- 70 с.

21. Сатыбалдиева Ж.А., Курманова А.М. Природные сорбенты при воспалительных заболеваниях репродуктивных органов.//Фармация Казахстана.- 2007. - №12(79).- С. 50-51.

Рецензент: д.м.н., профессор Молдоканов Э.А.