

3. Бенз/а/пирен в атмосферном воздухе Ташкента и его роль в формировании онкозаболеваемости населения /Г.В. Киреев, О.Ю. Баленков, Ю.Ю. Ассессорова, Р.А. Атаниязова //Гиг. и сан. – 2008. – №5. – С. 12-13.
4. Заболеваемость злокачественными новообразованиями в Кемеровской области /С.А. Мун, С.А. Ларин, А.Н. Глушков и др. //Здравоохранение Российской Федерации. – 2008. – №4. – С. 30-33.
5. Черниченко И.А. К вопросу оценки загрязнения окружающей среды для здоровья населения на региональном уровне /И.А. Черниченко, В.М. Доценко, Н.А. Климчук //Материалы пленума научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздрава и соцразвития РФ (22-23 декабря 2005г., Москва). «Экологически обусловленные ущербы здоровью: методология, значение и перспективы оценки» /Отв. ред. Ю.А. Рахманин. – М., 2005. – С. 93-94.
6. Оцінка ризику для здоров'я населення від забруднення атмосферного повітря: методичні рекомендації МР 2.2.12-142-2007. /МОЗ: наказ №184 . – Офіц. вид. – Київ: Міністерство охорони здоров'я України, 2007. – С. 15-16.

### **ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА НА ОНКОЛОГИЧЕСКУЮ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ**

*Швагер О.В., Литвиченко О.Н, Черниченко И.О.*

*В течение последних 20-ти лет наблюдается стабильное загрязнение городского атмосферного воздуха химическими канцерогенами. Установлена зависимость между онкологической заболеваемостью городского населения и аэрогенной нагрузкой канцерогенными веществами. Указанная зависимость позволит прогнозировать изменения показателей онкологической заболеваемости в случае изменения состояния загрязнения атмосферного воздуха химическими канцерогенами.*

### **THE EFFECT OF CHEMICAL AIR POLLUTION ON CANCER MORBIDITY**

*O.V. Shvager, O.N. Lytvychenko, I.A. Chernychenko*

*During the last 20 years stable air pollution of city by chemical carcinogens is observed. The dependence between oncologic morbidity of the urban population and aerogenic load of the carcinogenic compounds is established. Revealed dependence will allow to forecast the changes of the oncologic morbidity indices in case of change of the state of ambient air pollution with the chemical carcinogens.*

УДК 576.385.5:57.083.3

### **ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ДИНАМІКИ ІМУНОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ ПРИ НАШКІРНИХ АПЛІКАЦІЯХ БЕНЗ(А)ПРЕНУ**

*Баленко Н.В., Винарська О.І., Остап О.М., Зінченко Н.О., Швагер О.В.,  
Григоренко Л.Є., Лук'янчук С.В.*

*ДУ «Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва НАМН України», м. Київ*

Ефективність первинної профілактики поширення екологічнозалежних форм злоякісних захворювань серед населення значною мірою визначається своєчасним виявленням канцерогенних факторів навколишнього середовища та розробкою відповідних

заходів із попередження їх шкідливого впливу на людей.

Разом з тим, за сучасних умов інтенсивної хімізації усіх сфер життєдіяльності людини, коли налічуються сотні хімічних речовин (більше 100 тис., за даними Національної токсикологічної програми США), з якими населення щоденно стикається на виробництві, у побуті та доквітлі, надзвичайно складно провести тестування усіх хімічних сполук.

У зв'язку з цим актуальним питанням є пошук короткотермінових методів тестування канцерогенів, які б задовольнили основні вимоги, такі як простота, доступність та економічність за одночасно високої ефективності їх застосування.

Не дивлячись на багаторічні дослідження науковців усього світу у цьому напрямку, проблема залишається невирішеною до кінця і продовжує дискутуватися [1,2].

Одним із шляхів вирішення цього питання, на наш погляд, може бути комплексний підхід із пошуком декількох показників змін в організмі експериментальних тварин (генотоксичних, імунологічних, патоморфологічних, вільних радикалів, тощо), які одночасно реєструються у ранні терміни впливу канцерогенів та, відповідно до сучасних уявлень про канцерогенез, відіграють важливу роль у його реалізації.

Раніше було опубліковано отримані нами результати досліджень динаміки змін генотоксичного ефекту за мікроядерним тестом за умов хронічного введення канцерогену [3].

Завданням цієї роботи було вивчення змін стану імунної системи під дією канцерогену з метою визначення ранніх параметрів імунологічних змін як можливих критеріїв для оцінки канцерогенної небезпеки хімічних сполук.

#### Матеріал та методи дослідження.

Для вирішення поставленої мети нами вибрано експериментальну модель раку шкіри, яка, з одного боку, забезпечує візуальне спостереження за розвитком передпухлинних змін та пухлин, а з іншого, – характеризується відносно швидкими темпами розвитку раку, що скорочує тривалість досліджень.

У зв'язку з цим в експерименті були використані миші – найбільш чутливий вид тварин до індукції цієї форми раку. Дослід проведено на 160 білих безпородних мишах з масою тіла 15-20 г, які були придбані у розпліднику «Фенікс», м. Київ.

Як модельний канцероген-генотоксикант взято бенз/а/пірен (БП) – відомий представник широко розповсюджених у забрудненнях навколишнього середовища хімічних канцерогенів групи поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ). Схему дослідів наведено у таблиці 1.

Таблиця 1. Схема проведення дослідів із нашкірних аплікацій бенз(а)пірену білим безпородними мишам.

Група	Речовини, разові дози – мкг, мкл	Кількість мишей				
		Взято у дослід	Досліджено у різні терміни (дні)			
			8	22	90	182
1	інтактний контроль	32	6	6	6	6
2	ацетон 0,02	32	6	6	6	6
3	0,21	32	6	6	6	6
4	2,1	32	6	6	6	6
5	10,5	32	6	6	6	6
Всього		160	30	30	30	30

БП застосовували у вигляді ацетонового розчину, що наносили 3-м групам тварин за допомогою піпетки-дозатора (об'єм 20 мкл) на попередньо вистрижену ділянку шкіри міжлопаткової області спини. Дві групи мишей були контрольними, одна з яких

отримувала в аналогічному об'ємі тільки розчинник (ацетон). Другій групі (інтактний контроль) речовини не вводили. Аплікації речовин здійснювали 5 разів на тиждень протягом 11 місяців.

Кров для гематологічних та імунологічних досліджень відбирали у різні терміни від початку досліду (табл. 1).

Вивчення та оцінка імунологічних порушень проводилися за допомогою аналізу наступних показників: вмісту лейкоцитів у периферичній крові та їх клітинного складу, числа Т- та В-лімфоцитів, природних клітин-кілерів, а також реакцій: дегрануляції базофілів (за Шеллі), гальмування розпластування макрофагів, фагоцитозу, преципітації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) розчином поліетиленгліколю.

Статистичну обробку отриманих результатів та їх аналіз проводили з використанням t-критерію Ст'юдента (4).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Аналіз даних імунологічних досліджень мишей, проведених у різні терміни від початку досліду, показав наступне.

При вивченні гематологічних показників на 8 день після 5-ти нашкірних аплікацій ацетону та різних доз БП достовірної різ-

ниці їх величин порівняно з інтактним контролем не виявлено.

Зміни показників стану імунної системи мишей в цілому можна характеризувати як незначну активацію. Значення імунологічних показників (кількість Т- і В-лімфоцитів, кількість та фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів), були дещо вищими, ніж у мишей інтактної групи, проте не виходили за межі максимальних величин.

На 22 день від початку досліду, після 11 аплікацій БП, достовірних відмінностей гематологічних показників у мишей після дії ацетону та найменшої дози БП (0,21 мкг) порівняно з контролем також не відмічено. Загальний вміст лейкоцитів, лімфоцитів та нейтрофільних гранулоцитів не виходив за межі коливань, які спостерігалися у мишей контрольної групи. Не знайдено при цьому суттєвих змін у кількості еозинофілів, паличкоядерних (ПЯН) та сегментоядерних нейтрофілів (СЯН), як і функціональної активності останніх (табл. 2).

Таблиця 2. Гематологічні показники у мишей через 22 дні епікутанної дії бенз(а)пірену.

Група дослідних тварин	Лейкоцити, $10^9/л$	Природні кілери, %	Паличкоядерні нейтрофіли, %	Сегментоядерні нейтрофіли, %	Еозинофіли, %	Моноцити, %	Лімфоцити		Нейтрофіли	
							%	$10^9/л$	%	$10^9/л$
1 (контроль)	13,92± 1,87	1,33± 0,21	3,00± 0,37	18,67± 1,26	2,67± 0,56	1,00± 0,00	73,17± 1,01	10,22± 1,45	21,67± 1,50	2,96± 0,35
2 ацетон (0,02)	13,23± 1,57	1,50± 0,22	3,83± 0,31	19,67± 1,05	3,83± 0,60	1,00± 0,00	0,17± 1,01	9,33± 1,17	23,50± 1,23	3,06± 0,33
3 БП (0,21)	15,33± 1,70	1,17± 0,17	3,33± 0,21	20,17± 0,95	3,83± 0,65	1,00± 0,00	70,50± 0,89	10,81± 1,20	23,50± 0,89	3,59± 0,41
4 БП (2,1)	19,12± 1,11	1,33± 0,21	3,50± 0,43	19,50± 1,15	3,67± 0,67	1,00± 0,00	70,83± 1,35	13,58± 0,96	23,00± 1,15	*4,37± 0,26
5 БП (10,5)	*22,35± 0,84	1,00± 0,00	3,50± 0,56	18,50± 1,06	3,50± 0,56	1,00± 0,00	72,50± 1,15	*16,22± 0,77	22,00± 0,86	*4,90± 0,18

Примітка. \* – вказані вірогідні відмінності порівняно з 1-ю, контрольною групою ( $p < 0,05$ ).

Разом з тим, у цей період мали місце зрушення у клітинній і гуморальній ланках імунітету, які можна оцінювати як супресію (табл. 3).

Примітно, що ацетон викликав супресію обох ланок імунітету, про що свідчило

достовірне ( $P < 0,05$ ) зменшення відносної кількості Т-лімфоцитів до  $(22,17 \pm 0,91)\%$  та В-лімфоцитів до  $(19,67 \pm 0,99)\%$ . У контролі величини цих показників були вищими і складала, відповідно,  $(30,50 \pm 0,99)\%$  та  $(25,17 \pm 1,40)\%$ .

Таблиця 3. Імунологічні показники у мишей через 22 дні епікутанної дії бенз(а)пірену.

Група дослідних тварин	Т-лімфоцити		В-лімфоцити		Кількість фагоцитуючих клітин	
	%	10 <sup>9</sup> /л	%	10 <sup>9</sup> /л	%	10 <sup>9</sup> /л
тварин	30,50±0,99	3,12±0,46	25,17±1,40	2,60±0,46	94,33±1,26	2,80±0,35
2 ацетон (0,02)	22,17±0,91*	2,07±0,30	19,67±0,99*	1,85±0,30	94,00±1,32	2,86±0,29
3 БП (0,21)	25,83±0,60*	2,77±0,28	21,83±0,31	2,35±0,25	96,33±0,33	3,45±0,39
4 БП (2,1)	26,83±0,87*	3,63±0,28	24,00±0,86	3,24±0,22	96,67±0,42	4,22±0,25*
5 БП (10,5)	26,33±0,61*	4,25±0,14	23,50±0,43	3,80±0,18	96,50±1,12	4,37±0,22*

Примітка. \* – вказані вірогідні відмінності порівняно з 1-ю, контрольною групою (p<0,05).

Натомість нашкірна дія БП призвела до супресії тільки клітинної ланки імунітету. Число Т-лімфоцитів у мишей 3, 4, 5 груп за дії БП у дозах 0,21 мкг; 2,1 мкг; 10,5 мкг було достовірно (P<0,05) нижчим, ніж у контролі, і складало, відповідно: (25,83±0,60)%; (26,83±0,87)%; (26,33±0,61)%.

Крім того, за дії більших доз спостерігалася активація неспецифічних факторів резистентності організму.

За аплікації БП у дозі 2,1 мкг це проявилось зростанням числа нейтрофільних гранулоцитів – (4,37±0,26)×10<sup>9</sup>/л, порівняно з інтактним контролем – (2,96±0,35)×10<sup>9</sup>/л; за впливу максимальної дози – більш широким спектром показників змін, включаючи зростання числа лейкоцитів, лімфоцитів, нейтрофілів та фагоцитуючих нейтрофільних гранулоцитів.

При продовженні терміну нашкірної дії БП до 3-х місяців (58 аплікацій) достовір-

них змін гематологічних показників у тварин не виявлено.

Так, загальний вміст лімфоцитів, лейкоцитів, нейтрофілів, а також відносна кількість моноцитів, еозинофілів, природних кілерів, СЯН та ПЯН не виходили за межі варіювання відповідних показників у інтактних тварин.

Не було різниці також у кількості фагоцитарно-активних нейтрофільних гранулоцитів.

Стосовно імунологічних показників слід підкреслити, що кількість Т- і В-лімфоцитів у цих групах, на відміну від попереднього терміну, стала приближатися до контрольних значень, що дозволяє говорити про фазу поступового відновлення на цей час порушень імунітету попереднього періоду (табл. 4).

Таблиця 4. Імунологічні показники у мишей через 3 місяці епікутанної дії бенз(а)пірену.

Група дослідних тварин	Т-лімфоцити		В-лімфоцити		Кількість фагоцитуючих клітин	
	%	10 <sup>9</sup> /л	%	10 <sup>9</sup> /л	%	10 <sup>9</sup> /л
тварин	25,33±0,49	3,01±0,42	29,17±0,49	3,47±0,49	95,83±0,48	3,60±0,44
2 ацетон (0,02)	27,17±0,60	2,82±0,27	29,83±0,54	3,08±0,26	95,00±1,06	2,94±0,24
3 БП (0,21)	24,67±0,33**	2,73±0,27	30,00±0,37	3,35±0,38	95,17±0,31	3,46±0,35
4 БП (2,1)	24,50±0,48*	2,62±0,39	27,50±0,67**	2,95±0,48	96,33±0,33	3,64±0,42
5 БП (10,5)	22,6±1,50**	2,19±1,45	26,00±1,46	2,42±0,37	96,50±0,22	3,15±0,27

Примітка. 1. \* – достовірна різниця порівняно з контрольною групою (p<0,05);

2. \*\* – достовірна різниця порівняно з 2-ю групою (p<0,05).

Разом з тим зміни, які були індуковані дією БП, відновлювалися певною мірою залежно від дози і найбільш уповільнено відбувалися за дії максимальної дози БП 10,5 мкг: супресія клітинної ланки в цей пе-

ріод ще залишалася, хоча набула характеру тенденції (табл. 4).

Вивчення динаміки утворення антитіл реакціного типу за дії ацетону методом Шеллі впродовж 3-х місяців показало наявність слабкої аутосенсibiliзації організму

(реакція гіперчутливості негайного типу (ГНТ)) на кінець 1-го місяця, що підтверджувалося де грануляцією базофілів на рівні  $(10,67 \pm 1,33)\%$ . В той же час, на 3-му місяці ознаки аутоенсибілізації зникли. Рівень де гранульованих базофілів  $(4,67 \pm 1,23)\%$  відповідав нормі.

У протилежність цьому за дії БП у дозі 2,1 мкг ознаки аутоенсибілізації (величина дегрануляції базофілів  $(10,00 \pm 0,89)\%$ , які було виявлено на кінець 1-го місяця, продо-

вжували зберігатися і на кінець 3-го місяця. Поряд з тим, прояви аутоенсибілізації ((дегрануляція базофілів  $(12,00 \pm 1,03)\%$ ) з'явилися також і за дії максимальної дози БП 10,5 мкг. В той же час, за впливу найменшої дози БП ГНТ не спостерігалася.

Результати імунологічного обстеження тварин після нанесення на шкіру 121-ої аплікації протягом 6 місяців показано у табл. 5, 6.

Таблиця 5. Гематологічні показники у мишей через 6 місяців епікутанної дії бенз(а)пірену.

Група, речовини (разова доза мкг, мкл)	Лейкоцити	Природні кілери	Паличко-ядерні нейтрофіли	Сегментно-ядерні нейтрофіли	Еозинофіли	Моноцити	Лімфоцити		Нейтрофіли	
	$10^9/\text{л}$	%	%	%	%	%	%	$10^9/\text{л}$	%	$10^9/\text{л}$
1 (контроль)	$12,22 \pm 1,98$	$1,00 \pm 0,01$	$3,80 \pm 0,20$	$20,20 \pm 1,39$	$3,20 \pm 0,58$	$1,00 \pm 0,00$	$70,80 \pm 1,77$	$8,77 \pm 1,58$	$24,00 \pm 1,52$	$2,82 \pm 0,33$
2 ацетон (0,02)	$11,62 \pm 1,53$	$*0,17 \pm 0,17$	$4,33 \pm 0,33$	$19,83 \pm 1,22$	$4,50 \pm 0,85$	$1,00 \pm 0,00$	$70,17 \pm 1,45$	$8,23 \pm 1,23$	$24,17 \pm 1,45$	$2,74 \pm 0,29$
3 БП (0,21)	$10,90 \pm 0,70$	$*0,17 \pm 0,17$	$3,83 \pm 0,31$	$19,50 \pm 1,73$	$3,67 \pm 0,71$	$1,00 \pm 0,00$	$70,17 \pm 1,33$	$7,64 \pm 0,49$	$23,33 \pm 1,74$	$2,53 \pm 0,26$
4 БП (2,1)	$10,87 \pm 0,63$	$*0,33 \pm 0,21$	$3,00 \pm 0,45$	$22,50 \pm 1,65$	$3,17 \pm 0,91$	$1,00 \pm 0,00$	$70,00 \pm 1,59$	$7,60 \pm 0,47$	$25,50 \pm 1,63$	$2,76 \pm 0,25$
5 БП (10,5)	$15,42 \pm 5,10$	$*0,17 \pm 0,17$	$4,17 \pm 0,40$	$23,83 \pm 7,67$	$4,50 \pm 0,56$	$1,00 \pm 0,00$	$64,67 \pm 7,32$	$8,28 \pm 1,27$	$28,00 \pm 8,03$	$6,27 \pm 4,19$

Примітка. \* – достовірна різниця порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ );

\*\* – достовірна різниця порівняно з 2-ю групою.

Таблиця 6. Імунологічні показники у мишей після 6 місяців епікутанної дії бенз(а)пірену.

Група, речовини (разова доза мкг, мкл)	Т-лімфоцити		В-лімфоцити		Кількість фагоцитуючих клітин	
	%	$10^9/\text{л}$	%	$10^9/\text{л}$	%	$10^9/\text{л}$
1 (контроль)	$14,60 \pm 0,93$	$1,33 \pm 0,30$	$26,60 \pm 1,89$	$2,31 \pm 0,46$	$88,20 \pm 3,69$	$2,49 \pm 0,31$
2 ацетон (0,02)	$14,67 \pm 0,88$	$1,19 \pm 0,17$	$*36,50 \pm 1,18$	$2,96 \pm 0,41$	$88,17 \pm 2,52$	$2,44 \pm 0,30$
3 БП (0,21)	$15,67 \pm 0,88$	$1,19 \pm 0,09$	$34,17 \pm 2,79$	$2,62 \pm 0,32$	$87,50 \pm 2,03$	$2,23 \pm 0,26$
4 БП (2,1)	$17,50 \pm 1,57$	$1,34 \pm 0,17$	$32,00 \pm 1,79$	$2,42 \pm 0,19$	$90,50 \pm 2,05$	$2,51 \pm 0,27$
5 БП (10,5)	$**19,00 \pm 1,51$	$1,59 \pm 0,31$	$35,50 \pm 2,94$	$2,84 \pm 0,42$	$88,83 \pm 2,40$	$5,86 \pm 4,05$

Примітка. \* – достовірна різниця порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ );

\*\* – достовірна різниця порівняно з 2-ю групою ( $p < 0,05$ ).

Як видно із наведених даних, за дії ацетону зареєстровано достовірне зниження числа клітин природних кілерів –  $(0,17 \pm 0,17)\%$  порівняно з  $(1,00 \pm 0,01)\%$  – у мишей контрольної групи. Одночасно спостерігалася активація гуморальної ланки

імунітету (збільшення В-лімфоцитів –  $(36,50 \pm 1,18)\%$  порівняно з  $(26,60 \pm 1,89)\%$  – у контролі).

Суттєві зміни лейкоцитограм у цій групі тварин у порівнянні з контролем, як і реакції гіперчутливості негайного (ГНТ) та

сповільненого типів (ГСТ), не спостерігалися. Рівень та фракційний склад ЦК (100% крупномолекулярні комплекси) не відрізнялися від виявлених у інтактних мишей.

Цікаві результати отримані у тварин, які отримували аплікації канцерогену. Так, за дії усіх доз канцерогену відмічено достовірне ( $p < 0,05$ ) зменшення кількості клітин натуральних кілерів (табл. 5). Суттєві зміни гематологічних та імунологічних показників за середніми груповими значеннями не зареєстровано. Однак, при аналізі індивідуальних показників виявлено різноманітні та різноспрямовані зрушення в імунній системі мишей залежно від дози БП.

Так, за впливу мінімальної дози БП зміни визначено у 3 тварин із 6: в одному випадку – це зниження загальної кількості нейтрофілів (16% проти  $(24,00 \pm 1,52)\%$  у контролі, зокрема СЯН (13% проти  $20,20 \pm 1,39\%$  у контролі); у другій миші – еозинофілія (7%, у контролі –  $(3,20 \pm 0,58)\%$ ). Ще у одній миші – зростання кількості В-лімфоцитів до 47%, у контролі –  $(26,60 \pm 1,89)\%$ . У решти мишей показник вмісту В-лімфоцитів теж перевищував контрольні значення.

Вплив БП у дозі 2,1 мкг не викликав суттєвих змін показників лейкоцитограми, а також показників клітинної та гуморальної ланок імунітету (табл. 5,6), що було підтверджено відсутністю реакції Е- та ЕАС-розеткоутворення.

У той же час, величини індивідуальних показників свідчили про активацію різних компонентів імунітету у порівнянні з контролем у 5 із 6 тварин. У двох мишей була еозинофілія (6%), що в одному випадку поєднувалася із активацією гуморальної ланки (збільшення відсотка В-лімфоцитів до 39%); у двох – стимуляція клітинної ланки (зростання відсотка Т-лімфоцитів до 19% та 20% порівняно із  $(14,60 \pm 0,93)\%$  – у контролі). У одній миші спостерігалася стимуляція системи неспецифічного захисту: зростання відсотка нейтрофілів (до 32%), в тому числі СЯН до 29%. В контролі відповідні показники були на рівні  $(24,00 \pm 1,52)\%$  та  $(20,00 \pm 1,39)\%$ .

Тобто, у мишей цієї групи встановлено реагування різних компонентів імунної

системи організму односпрямованого характеру за типом стимуляції.

Аплікації БП у максимальній дозі також не відобразилися суттєво на середніх значеннях гематологічних показників.

Проте, мала місце активація клітинної ланки імунітету (достовірне збільшення відносної кількості Т-лімфоцитів –  $(19,00 \pm 1,51)\%$ ) як порівняно з контролем  $(14,60 \pm 0,93)\%$ , так і з дією ацетону  $(14,67 \pm 0,88)\%$ .

За індивідуальними показниками зміни в імунній системі були виявлені у всіх тварин і мали не тільки різноманітний, а й різноспрямований характер.

Так, у одній миші ознаки активації системи неспецифічної резистентності (лейкоцитоз, підвищення загального рівня нейтрофілів їх окремих фракцій (СЯН, ПЯН) та фагоцитарної активності макрофагів) спостерігалися на тлі стимуляції клітинної (кількість Т-лімфоцитів 25%, у контролі –  $(14,60 \pm 0,93)\%$ ) та гуморальної ланок імунітету (кількість В-лімфоцитів – 34%, у контролі –  $(26,60 \pm 1,89)\%$ ).

У двох мишей спостерігалася стимуляція гуморального компоненту імунітету (кількість В-лімфоцитів складала 35% та 48% порівняно із  $(20,60 \pm 1,89)\%$  у контролі

У трьох тварин встановлено зниження СЯН (14%, у контролі –  $(20,20 \pm 1,39)\%$ ) одночасно із стимуляцією гуморальної ланки імунітету: відносна кількість В-лімфоцитів становила 36%, у контролі –  $(26,60 \pm 1,89)\%$ .

І нарешті, в одному випадку мало місце пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів у поєднанні із зниженням абсолютного числа В-лімфоцитів до  $1,47 \times 10^9/\text{л}$  проти  $(2,31 \pm 0,46) \times 10^9/\text{л}$ , еозинофілією. Кількість еозинофілів становила 6% порівняно з величиною у контролі  $(3,20 \pm 0,58)\%$ .

Слід підкреслити, що у цей період у жодній з груп мишей, що отримували канцероген, не встановлено розвиток реакції гіперчутливості негайного та сповільненого типів.

Дослідження вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦК) показали відсутність накопичування їх загального вмісту у сироватці крові, але при цьому виявлено збільшення фракцій середньомолекулярних комплексів до 17-33%, яким властива найбі-

льша патогенність [7]. За класифікацією P. Gell, R. Coombs ЦІК відноситься до алергічних реакцій III типу (імунокомплексного).

Таким чином, результати виконаних досліджень свідчать про фазний характер змін в імунній системі за тривалої дії БП шляхом змазування шкіри. Сутність цього явища полягає у черговості проявів активації та пригнічення різних компонентів імунітету залежно від дози і тривалості впливу БП і є відображенням стану захисних, адаптивних та компенсуючих можливостей імунної системи організму, її намагання до збереження та відновлення гомеостазу внаслідок порушень, спричинених дією канцерогену у різні терміни спостереження.

Наведені дані показують, що із усіх імунологічних тестів найбільш чутливим показником, що реагує на дію канцерогену у ранній період і за своєю направленістю відповідає канцерогенезу, є Т-лімфоцити – компонент клітинної ланки набутого імунітету, який оцінюється, з точки зору протипухлинного захисту у фазі імунологічного нагляду, як більш важливий, ніж гуморальна ланка [5]. Це проявилось у зниженні відносної кількості Т-клітин на 22-й день досліду і свідчило про супресію клітинної ланки.

Зі збільшенням дози спектр змін в імунній системі розширюється. Приміром, відмічена супресія Т-клітинної ланки імунітету на 22 день у мишей, що отримували БП у дозі 2,1 мкг, супроводжувалася також зростанням числа нейтрофільних гранулоцитів та реакцією аутосенсibiliзації, а при аплікації максимальної дози (10,5 мкг) зростанням декількох показників активації системи неспецифічної резистентності.

При продовженні термінів дії БП до 3-х місяців супресія Т-лімфоцитів за типом тенденції відбувалася на тлі розвитку аутосенсibiliзації за впливу більших доз БП (2,1 мкг; 10,5 мкг). Із збільшенням тривалості затруєння до 6 міс. спостерігалися значні коливання імунологічних показників, їх різ-

номанітність і різнонаправленість у окремих мишей в межах однієї групи, порівняно із середніми значеннями, які суттєво не відрізнялися від середніх значень у інтактному контролі. При цьому збільшення дози спричиняло зростання кількості мишей із відхиленнями показників від середніх значень за дії певної дози. Ймовірно, вказана закономірність є відображенням індивідуальних генотипних особливостей реагування імунної системи на специфічну дію канцерогену.

Зазначені зміни імунологічних показників супроводжувалися розвитком алергічної реакції III типу, до якої відносяться циркулюючі імунні комплекси сироватки крові. При цьому в складі ЦІК встановлено збільшення фракції середньомолекулярних імунних комплексів, яким притаманна найбільша патогенність.

Варто підкреслити, що отримані дані свідчать про можливість виявлення характерного для канцерогенів імунотоксичного ефекту за типом супресії вже протягом 1 місяця затруєння, якщо приймати до уваги пригнічення Т-клітинної ланки імунітету. Але достовірність доказу імунотоксичності дії хімічних сполук значно підвищується за наявності 2-3 показників [6]. У нашому досліді таким додатковим показником, на наш погляд, можна вважати розвиток реакції ГНТ, яка проявлялася залежно від дози протягом 1-3 місяців, але була відсутня за дії найменшої дози БП 0,21 мкг.

Разом з тим, наявність аналогічних показників імунотоксичності у ранній період (22 день) за впливу токсиканта – ацетону свідчить про недостатню специфічність цих тестів і неможливість їх самостійного використання як критеріїв канцерогенної небезпеки хімічних сполук. Остаточна оцінка імунологічних показників потребує зіставлення їх із поєднаними генотоксичними ефектами та патоморфологічними змінами в організмі тварин.

### Висновки

1. Встановлено фазовий характер змін імунного статусу (за показниками стану клітинної, гуморальної ланок, системи неспецифічної резистентності імунітету) при довготривалих наскірних аплікаціях бенз(а)пірену та дозо-часова залежність їх прояву.
2. Підтверджено супресивну дію БП на імунну систему. Найбільш раннім чутливим показником є Т-клітинна ланка імунітету, реакція якої за типом супресії (достовірне

зменшення відносної кількості Т-клітин) реєструється вже на 22 день від початку впливу канцерогена в усіх досліджуваних дозах: 0,21 мкг; 2,1 мкг; 10,5 мкг.

3. Показано, що імунотоксичність більш інтенсивно проявляється за дії більших доз БП (2,1 мкг; 10,5 мкг), про що свідчить додатковий розвиток алергічної реакції – гіперчутливості сповільненого типу протягом 22-90 днів. За впливу мінімальної дози БП (0,21 мкг) реакція гіперчутливості негайного типу не визначалася.
4. Імунотоксична дія бенз/а/пірену, зокрема супресія Т-клітинної ланки імунітету, відбувається на тлі сенсibilізації організму, яка в ранній період (1-3 міс.) проявлялася розвитком алергічної реакції I типу (гіперчутливість негайного типу), а пізніше (6 міс.) – III типу (імунотоксичного).
5. Дія ацетону протягом усього періоду спостереження викликала часові коливання імунних реакцій організму, які можна оцінити як адаптаційно-компенсаторні. Зниження відсотка Т- та В-лімфоцитів, реакція гіперчутливості негайного типу виявлена у ранній період експозиції (22 день) мали транзиторний характер і зникали, пізніше (90 день) були у межах норми, а потім змінилися підвищенням відсотка В-лімфоцитів (6 міс.) та наступним зростанням загальної кількості лімфоцитів та Т-лімфоцитів (після 6 міс.).
6. Подібність прояву супресії (зменшення відсотка Т-клітин, реакція гіперчутливості негайного типу) за впливу БП та ацетону не дозволяє використати ці показники самостійно як ранні критерії наявності канцерогенних властивостей при тестуванні хімічних сполук.
7. Остаточна оцінка критеріальної значущості виявлених ранніх показників супресивної дії БП при тестуванні хімічних сполук на канцерогенність буде зроблена після їх зіставлення із поєднаними показниками генотоксичності та патоморфологічними змінами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on Genetic Effects in Carcinogenic Hazard Evaluation /IARC-lyon: IARC, 1999. - 596 p.
2. Paules R.S. Moving Forward in Human Cancer Risk Assessment /R.S. Paules, Q. Aubrecht, R. Corvi [et al.] //Environ. Health perspect. - 2011. - V.119. №6. - P. 739-743.
3. Черниченко І.О. Експериментальне вивчення генотоксичного ефекту в органах-мішенях тварин після нашкірних аплікацій бенз(а)пірену /І.О. Черниченко, Н.В. Баленко, О.М. Остах //Иновационные пути решения актуальных проблем базовых отраслей экологии, энерго- и ресурсосбережения: сборник трудов XIX международной научно-практической конференции (Харьков, 2011 г.). - Харьков, 2011. - С. 27-31.
4. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных /М.Ю. Антомонов. - К. , 2006. - 558 с.
5. Гранов А.М. Канцерогенез и иммунология опухоли. Фундаментальные и клинические аспекты /А.М. Гранов, О.Е. Молчанов /Вопросы онкологии. - 2008. - №4. - С. 401-409.
6. Risk Assessment in Immunotoxicology /M.I. Luster, C. Portier, G. Pait [et al.] //Fundam. and Appl. Toxicol.- 1992. - V.18. - P. 2-200.
7. Константинова Н.А. Иммунные комплексы и повреждение тканей /Н.А. Константинова - М., Медицина, 1996. – 158 с.

#### **ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ДИНАМІКИ ІМУНОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ ПРИ НАШКІРНИХ АПЛІКАЦІЯХ БЕНЗ(А)ПІРЕНУ**

*Баленко Н.В., Винарська О.І., Остах О.М., Зінченко Н.О., Швагер О.В., Григоренко Л.Є., Лук'яничук С.В.*

*Наведено результати вивчення динаміки змін в імунній системі організму мишей при тривалих нашкірних аплікаціях різних доз БП (0,21 мкг; 2,1 мкг; 10,5 мкг). Установлено фазний характер імунологічних змін і їх дозо-часова залежність. Найбільш раннім і чутливим*



показником є клітинна ланка імунітету, що проявилось зниженням Т-клітин на 22 день досліду.

Зроблено висновок, що визначення придатності імунологічних показників для оцінки канцерогенної небезпеки хімічних сполук буде можливим після порівняння їх із генотоксичними та патоморфологічними змінами.

### **EXPERIMENTAL STUDYING OF DYNAMIC IMMUNOLOGICAL CHANGES IN MICE ORGANISM UNDER SKIN APPLICATIONS OF BENZ(A)PYREN**

*N.V. Balenko, O.I. Vinarska, O.M. Ostash, N.O. Zinchenko, O.V. Shvager,  
L.Ye. Grigorenko, S.V. Lukyanchuk*

*The results of dynamic change of immune system studying in mice organism under chronic skin applications of benz(a)pyren various doses (0,21 µg; 2,1 µg; 10,5 µg) are presented. The phase character of immunological parameters changes and their dose-time relation was established. The most early and sensitive index is the cell link of immunity, that was manifested by the T-cells decreasing in 22 days of the experiment. It was concluded that the determine of immunological indexes fitness for chemicals carcinogenic hazard assessment will be possible after their comparing with associated genotoxic and pathomorphological changes.*

УДК 614.7:612.014.46:615.277:612.017

### **ОЦІНКА ІМУННОГО СТАТУСУ ДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРОТЯГОМ ТРЬОХ МІСЯЦІВ ЕПІКУТАННОГО ВПЛИВУ РІЗНИХ ДОЗ БЕНЗ(А)ПІРЕНУ**

*Винарська О.І., Осташ О.М., Лук'янчук С.В., Григоренко Л.Є., Чубук Т.А., Спаська Ю.С.  
Державна установа "Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва  
НАМН України", м. Київ*

**Вступ.** Одним з найбільш важливих аспектів первинної профілактики онкологічної захворюваності населення є попередження шкідливого впливу факторів навколишнього середовища, і перш за все чинників хімічної природи [1]. Адже все більша кількість наукових досліджень вказує на роль екзогенних канцерогенних речовин як одну з вагомих причин розвитку злоякісних новоутворень. При цьому особливої уваги набуває пошук таких прогностичних критеріїв, які дозволили б визначити зміни на ранніх стадіях впливу канцерогенів, ще до формування злоякісних новоутворень.

У цьому сенсі останнім часом особливого значення набуває вивчення питання можливості застосування імунологічних показників як скринінгових тестів при оцінці канцерогенонебезпечних речовин, оскільки, за даними багатьох дослідників, порушення механізмів контролю проліферації та дифе-

ренціювання клітин, характерних для пухлинного росту, нерозривно пов'язано з розвитком імуноної дисфункції [2-4].

Тому проведення експериментальних досліджень з оцінки імунологічних критеріїв при тестуванні хімічних речовин на наявність канцерогенних властивостей є актуальною проблемою сьогодення, вирішення якої дасть можливість отримати результати у більш короткий термін і з меншими затратами, і дозволить інтенсифікувати роботи з гігієнічної оцінки канцерогенної небезпеки оточуючих людину хімічних речовин.

**Метою роботи** було встановити залежності змін в окремих ланках імуноної системи через 1 та 3 місяці епікутанного впливу різних доз канцерогену. В якості канцерогенної сполуки був обраний бенз/а/пірен (БП), котрий, згідно даних Міжнародного агентства з вивчення раку, є одним з найбільш пріоритетних забруднювачів навко-