

EVALUATION OF THE ANIMAL IMMUNE SYSTEM STATES UNDER PERORAL EXPOSURE OF DIFFERENT CHLOROFORM DOSES

Vinarska O., Grigorenko L, Nikonova N., Lukyanchuk S., Franchuk J.

ОЦІНКА СТАНУ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ТВАРИН ЗА ПЕРОРАЛЬНОЇ ДІЇ РІЗНИХ ДОЗ ХЛОРОФОРМУ

Всесвітня організація охорони здоров'я при визначенні якості життя поставила "фактор води" на перше місце, підкресливши, що потреба забезпечення населення якісною питною водою нині є однією з найважливіших у світі [1]. Для України питання якості питної води також є вкрай актуальним і надзвичайно гострим [2].

Обговорюючи проблеми питного водопостачання у державі та шляхи їх вирішення, провідні науковці галузі відзначають, що у цілому найбільш серйозними причинами несприятливої ситуації, яка склалась у забезпеченні населення питною водою нормативної якості, є не лише екологічні фактори, а й недосконалість процесу водопідготовки [2, 3]. Незважаючи на багаторічні пошуки альтернативних методів хлорування й досі залишається найпоширенішим способом дезінфекції питної води й однією з причин забруднення її побічними продуктами хлорування, зокрема тригалометанами — токсичними сполуками [4].

Донині добре вивчено механізми канцерогенезу та мутагенезу за дії деяких галоген-

вмісних сполук (ГВС) [5-8]. Зазвичай ми є свідками кінцевого результату їхнього впливу, тоді як донозологічним змінам уваги практично не приділяється [9]. Імунологічні ж дослідження дають можливість виявити зрушення гомеостазу на доклінічній стадії, що має важливе значення для попередження розвитку цілої низки патологічних станів та захворювань, у тому числі з імунологічним компонентом (онкологічні, аутоімунні, алергічні, інфекційно-запальні) [8, 10].

Враховуючи, що імунотоксичність ГВС, зокрема хлороформу, який є одним з найпоширеніших представників цих поліютантів, залишається недостатньо дослідженою, **метою** представленої роботи було вивчення впливу різних доз хлороформу протягом 2-х місяців на імунну систему дослідних тварин.

Матеріали та методи дослідження. В експерименті використано 28 аутбредних статевозрілих щурів-самців з масою тіла 180-200 г, які були поділені на 4 групи по 7 голів у кожній. Перша група — інтактний контроль. Тварини другої групи отримували воду, яка містила хлороформ на рівні ГДК, що відповідає дозі 0,0075 мг/кг маси тіла (ГДК хлороформу у питній воді 0,06 мг/л), третьої — на рівні 3 ГДК (0,0225 мг/кг), четвертої — на рівні 9 ГДК (0,0675 мг/кг).

Для виявлення зрушень в імунній системі тварин за 2 місяці від початку експерименту здійснювали постановку комплексу методів [11]: визначення вмісту лейкоцитів та формених елементів крові; Т- і В-лімфоцитів; реакцій фагоцитозу, гальмування розпластування макрофагів — для визначення гіперчутливості сповільненого типу, дегрануляції базофілів (за Шеллі) — для визначення гіперчутливості негайного типу.

**ВИНАРСЬКА О.І.,
ГРИГОРЕНКО Л.Є.,
НИКОНОВА Н.О.,
ЛУК'ЯНЧУК С.В.,
ФРАНЧУК Ю.О.**

Державна установа
"Інститут гігієни та медичної
екології ім. О.М. Марзєєва
АМН України",
м. Київ

УДК 613.1:616-056.3:577.083.3

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ХЛОРОФОРМА

Винарская Е.И., Григоренко Л.Е., Никонова Н.А., Лукьянчук С.В., Франчук Ю.А.

В статье представлены результаты изучения перорального воздействия хлороформа на уровнях 1 ПДК, 3 ПДК и 9 ПДК в течение 2-х месяцев на иммунную систему лабораторных животных в условиях подострого эксперимента.

Показано, что характер и выраженность иммунотоксических эффектов зависели от дозы химического вещества. Влияние хлороформа на уровне действующего в Украине гигиенического норматива на протяжении 2-х месяцев не вызывало изменений гематологических и иммунологических показателей у опытных крыс. При увеличении дозы хлороформа в 3 раза наблюдалась активация неспецифических факторов защиты организма. Повышение дозы до 9 ПДК вызывало угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов, сдвиги в гуморальном звене иммунитета, развитие слабо выраженной аутосенсibilизации.

Обрахунок і аналіз отриманих даних здійснювали з використанням загальноприйнятих методів статистичної обробки результатів медико-біологічних досліджень, параметричних методів перевірки статистичних гіпотез (t-критерій Ст'юдента).

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз досліджених показників крові щурів, які отримували хлороформ на рівні гігієнічного нормативу (2 група) протягом 2-х місяців, свідчив про відсутність достовірних відмінностей гематологічних та імунологічних показників тварин дослідних груп порівняно з контролем (табл. 1 і 2).

При гігієнічній регламентації хімічних сполук важливим є питання визначення їхніх специфічних ефектів, насамперед сенсibilізуючої дії. З урахуванням означеного факту нами було вивчено можливість розвитку реакції гіперчутливості негайного типу за дії різних доз хлороформу у питній воді.

Результати реакції Шеллі свідчать, що ступінь дегрануляції базофільних гранулоцитів під дією сироваток крові тварин 2-ї групи у присутності гаптenu і тканинного антигену (печінки) знаходився у межах (9,14±1,68)%, що свідчить про

відсутність розвитку аутосенсibilізації та сенсibilізації наприкінці 2-го місяця впливу ксенобіотику (табл. 3).

Підвищення дози дослідної хімічної сполуки до рівня 3 ГДК сприяло зрушенням у системі неспецифічних факторів захисту організму, на що вказують вірогідне збільшення рівня сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів /3 група — (25,57±0,90)%, контроль — (18,57±1,17)%, відсотка нейтрофілів / (29,14±0,86)%, у контролі — (22,86±1,32)%/ та підвищення активності фагоцитуючих клітин, абсолютна кількість яких становила (5,20±0,57)×10⁹/л порівняно з (3,66±0,31)×10⁹/л в інтактних тварин (табл. 1 і 2).

У тварин цієї групи також спостерігалось достовірне зменшення відсотка лімфоцитів / (65,29±0,64)% проти (73,29±1,38)% у контролі/. Проте у кількісних показниках окремих популяцій лімфоцитів (Т- і В-клітини) відмінностей не реєструвалося, що може свідчити про відсутність змін у клітинній та гуморальній ланках імунної системи експериментальних щурів за впливу хлороформу протягом двох місяців (табл. 2).

Дані, отримані при вивченні впливу сироваток крові експе-

риментальних тварин на базофільні гранулоцити у присутності гаптenu і тканинного антигену, вказують, що ізольована дія хлороформу на рівні 3 ГДК не призводила до посилення дегрануляції клітин-мішеней (табл. 3).

Отже, представлені вище дані свідчать, що за ізольованої дії хлороформу на рівні 3 ГДК виявлені зрушення здебільшого стосувалися системи неспецифічних факторів захисту організму.

Аналіз лейкоцитограм щурів, які отримували навантаження хлороформом у дозі, що відповідає перевищенню його гранично допустимої концентрації у 9 разів (4 група), не показав достовірних відхилень відносного вмісту паличко- та сегментоядерних нейтрофілів, еозинофі-

Таблиця 1

Гематологічні показники у щурів за 2 місяці ізольованої дії хлороформу

Група дослідних тварин	Лейкоцити	Паличко-ядерні нейтрофіли	Сегментоядерні нейтрофіли	Еозинофіли	Лімфоцити		Нейтрофіли	
	×10 ⁹ /л	%	%	%	%	×10 ⁹ /л	%	×10 ⁹ /л
1 група (контроль)	17,27±1,16	4,29±0,36	18,57±1,17	2,86±0,46	73,29±1,38	12,67±0,92	22,86±1,32	3,95±0,33
2 група	19,81±1,24	3,57±0,57	21,86±1,24	3,43±0,48	70,14±1,44	13,93±1,00	25,43±1,34	5,02±0,35
3 група	18,67±1,66	3,57±0,48	*25,57±0,90	3,00±0,38	*65,29±0,64	12,18±1,08	*29,14±0,86	5,50±0,61
4 група	16,67±0,54	4,29±0,18	21,71±1,23	3,29±0,52	69,71±1,15	11,62±0,43	26,00±1,21	4,34±0,28

Таблиця 2

Імунологічні показники у щурів за 2 місяці ізольованої дії хлороформу

Група дослідних тварин	Т-лімфоцити		В-лімфоцити		Кількість фагоцитуючих клітин	
	%	×10 ⁹ /л	%	×10 ⁹ /л	%	×10 ⁹ /л
1 група (контрольна)	20,14±1,49	2,55±0,24	32,14±1,40	4,05±0,31	92,71±0,87	3,66±0,31
2 група	17,86±1,62	2,53±0,34	31,43±2,54	4,35±0,44	94,14±1,18	4,73±0,35
3 група	18,71±1,78	2,24±0,25	34,00±3,75	4,30±0,81	94,71±0,68	*5,20±0,57
4 група	17,29±1,92	2,00±0,22	*20,71±2,90	*2,40±0,31	*96,43±0,30	4,18±0,26

Примітка до таблиць 1 і 2: * — вказана достовірною різниця показників порівняно з 1 групою (контрольною) (p<0,05).

EVALUATION OF THE ANIMAL IMMUNE SYSTEM STATES UNDER PERORAL EXPOSURE OF DIFFERENT CHLOROFORM DOSES

Vinarska O., Grigorenko L, Nikonova N., Lukyanchuk S., Franchuk J.

The results of study of per oral exposure of chloroform at the levels of 1, 3 and 9 limited permissible concentrations (LPC) for the laboratory animals immune system in conditions of subacute experiment are presented in the article.

It was showed that immunotoxic effects' character

and expressiveness depended on the dose of chemical substance. The influence of chloroform in the level of acted Ukrainian hygienic standard during 2 months didn't cause the haematological and immunologic indices' changes in experimental rats. The activation of organism non specific defense factors observed when the chloroform dose was enhanced for 3 times. The enhancing of the dose to 9 LPC caused the neutrophil's phagocytic activity inhibition, changes in immunity humoral link, development of slightly expressed autosensitization.

Таблиця 3

Ступінь дегрануляції базофільних гранулоцитів за 2 місяці ізольованої дії хлороформу

Група	% дегранульованих базофілів (тканинний антиген)*	% дегранульованих базофілів (гаптен - хлороформ)*
1 група (контроль)	5,71 ± 1,48	4,00 ± 1,23
2 група	9,14 ± 1,68	8,00 ± 0,87
3 група	8,57 ± 1,62	9,71 ± 1,71
4 група	10,29 ± 1,48	9,71 ± 1,71

Примітка: * — 10-20% — реакція слабо позитивна; 20-30% — реакція позитивна; 30% — реакція різко позитивна.

лів та моноцитів. Відносний і абсолютний показники всієї популяції нейтрофілів гранулоцитів у тварин цієї дослідної групи також не відрізнялися від контролю (табл. 1). Разом з тим, реєструвалося збільшення відносної кількості активно фагоцитуючих клітин / (96,43 ± 0,30)% проти (92,71 ± 0,87)% у контролі/, що вказує на підвищення їхньої функціональної активності та може свідчити про напруження у системі неспецифічних факторів захисту організму за перорального надходження хлороформу на рівні 9 ГДК протягом 2-х місяців.

Вивчення кількісного вмісту окремих популяцій лімфоцитів встановило значне зменшення відносного та абсолютного чисел В-клітин, що може вказувати на зрушення у гуморальній ланці імунної системи. Так, відсоток В-лімфоцитів у 4 групі, порівняно з інтактними тваринами, становив відповідно (20,71 ± 2,90)% та (32,14 ± 1,40)%, а абсолютна кількість їх — (2,40 ± 0,31) × 10⁹/л та (4,05 ± 0,31) × 10⁹/л. Визначена кількість Т-клітин у щурів цієї групи свідчить про відсутність вірогідних змін у клітинній ланці імунітету (табл. 2).

Визначення наявності ГНТ у реакції Шеллі показало, що за 2 місяці сироватки крові дослідних щурів, які зазнавали впливу діючого фактора на рівні 9 ГДК, посилювали дегрануляцію базофілів у присутності

тканинного антигену (табл. 3). У цій групі відсоток дегранульованих базофільних гранулоцитів становив (10,29 ± 1,48)%. Тобто реакцію можна оцінити як слабо позитивну.

Таким чином, зрушення, що відбувалися в організмі тварин, які протягом 2-х місяців споживали питну воду з вмістом хлороформу на рівні 9 ГДК, характеризувалися комплексом змін імунологічних показників: зниженням кількості В-лімфоцитів, підвищенням фагоцитарної активності нейтрофілів, розвитком слабкої аутосенсibiliзації.

Визначення гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ) наприкінці 2-го місяця впливу дослідного ксенобіотику показало, що сироватки крові тварин усіх дослідних груп у присутності антигену in vitro не викликали зменшення функціональної активності макрофагів здатності їх до розпластування порівняно з контролем (табл. 4). Індекс гальмування розпластування клітин-мішеней був

вищим за 0,8, що свідчить про відсутність розвитку ГСТ.

Висновки

1. Встановлено, що характер і виразність імунотоксичних ефектів за підгострої пероральної дії хлороформу на рівнях вище гігієнічного нормативу залежали від дози діючого чинника.

2. Виявлено, що вплив хлороформу на рівні ГДК протягом 2-х місяців не викликав змін гематологічних та імунологічних показників у піддослідних щурів. Збільшення дози діючого фактора втричі призводило до активації неспецифічних факторів захисту організму, а підвищення дози до рівня 9 ГДК — до підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів, зрушень у гуморальній ланці імунітету, розвитку слабо вираженої аутосенсibiliзації за негайним типом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Проблеми питного водопостачання населення України та шляхи їх вирішення / В.Г. Бардов, С.Т. Омельчук, І.М. Пельо, В.В. Карпенко // Матеріали наук.-практ. конф. "Профілактична медицина: проблеми і перспективи". — Київ, травень 2005 р. — К., 2005. — С. 106-109.

2. Прокопов В.О. Наукові та практичні питання забезпечення населення України якісною питною водою // Гігієнічна наука та практика на рубежі століть: матеріали XIV з'їзду гігієністів України. — Дніпропетровськ: АРТ-ПРЕС, 2004. — Т. I. — С. 109-111.

Таблиця 4

Реакція гальмування розпластування макрофагів за 2 місяці ізольованої дії хлороформу

Група	Індекс гальмування розпластування макрофагів*
1 група (контроль)	—
2 група	1,01
3 група	1,08
4 група	1,15

Примітка: * — індекс гальмування (ІГ) < 0,8 — реакція позитивна.

3. Бережнов С. Питна вода як фактор національної безпеки // СЕС, профілактична медицина. — 2006. — № 4. — С. 8-11.

4. Гигиеническая оценка комплексного действия хлороформа питьевой воды / Т.И. Иксанова, А.Г. Малышева, Е.Г. Растьянников и др. // Гигиена и санитария. — 2006. — № 2. — С. 8-11.

5. Галогенсодержащие соединения в питьевой воде как фактор риска формирования онкологической заболеваемости населения / А.Б. Ермаченко, В.С. Котов, И.Б. Пономарева и др. // Гігієнічна наука та практика на рубежі століть: мат. XIV з'їзду гігієністів України. — Дніпропетровськ: АРТ-ПРЕС, 2004, т. I. — С. 204-207.

6. Прокопов В.О., Чичковська Г.В., Поліщук О.М., Зоріна О.В. Хлороформ у питній воді як фактор канцерогенезу // Гігієна населених місць. — 2002. Вип. 39. С. 131-132.

7. Chlorination disinfection by-products and pancreatic cancer risk / M.T. Do, N.J. Birkett et al. // Environmental Health Perspectives. — 2005. — Vol. 113, № 4. — P. 418-424.

8. Черниченко І.О., Баленко Н.В., Литвиченко О.М. та ін. Канцерогенна активність хлороформу, чотирехлористого вуглецю, 1,2-дихлоретану, трихлоретилену за перорального комбінованого введення мишам // Гігієна населених місць. — 2002. Вип. 39. С. 124-130.

9. Зайцева Н.В., Долгих О.В., Нурисламова Т.В. Диагностические аспекты идентификации опасности алифатических хлорированных углеводородов для здоровья детей // Гигиена и санитария. — 2004. — № 1. — С. 66-67.

10. Димитриев Д.А., Румянцев Е.Г. Современные методы изучения загрязнения окружающей среды на иммунную систему // Гигиена и санитария. — 2002. — № 3. — С. 68-71.

11. Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації: Методичні рекомендації / Ін-т екології і токсикології ім. Л.І. Медведя МОЗ України. Розроблено: М.Г. Проданчук, П.Г. Жмілько, Д.В. Зінченко та ін. // Зб. нормативних документів з охорони здоров'я. — 2003. — № 8. — С. 149-168.

PECULIARITIES OF TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF HAZARD OF SUBSTANCES BELONGING TO TRIKETONE CLASS AND EXTRAPOLATION OF THE RESULTS OF THEIR EXPERIMENTAL RESEARCH ON ANIMALS FOR HUMAN

Kovalchuk N.N., Bardov V.G., Sasinovych L.M.,
Omelchuk S.T., Pelo I.M.

ОСОБЕННОСТИ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ОПАСНОСТИ И ЭКСТРАПОЛЯЦИИ НА ЧЕЛОВЕКА РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЖИВОТНЫХ ВЕЩЕСТВ КЛАССА ТРИКЕТОНОВ



**КОВАЛЬЧУК Н.Н.,
БАРДОВ В.Г.,
САСИНОВИЧ Л.М.,
ОМЕЛЬЧУК С.Т., ПЕЛЬО І.М.**

Институт гигиены и экологии
Национального медицинского
университета
им. А.А. Богомольца,
г. Киев

УДК
613.63:331.43:615.9:547.572.3

рикетоны (бензоилциклогександионы) — новый класс химических соединений, являющихся аналогами природных фитотоксинов, полученных из декоративного растения *Callistemon citrinus* [1].

Трикетоны являются ингибиторами активности 4-гидроксибензилпируват диоксигеназы (HPPD). Этот фермент превращает парагидроксибензилпируват в гомогентизиновую кислоту, что является ключевым этапом в биосинтезе пластохинона и опосредованным в нарушении биосинтеза каротиноидов [2-5]. Такой механизм действия позволяет угнетать биотаны сорняков, стойких к воздействию гербицидов на основе ингибиторов ацетоацетатсинтетазы, триазинов и 2,4-Д [1, 5, 7]. Высокая гербицидная активность этих соединений способствовала тому, что

ОСОБЛИВОСТІ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ОЦІНКИ НЕБЕЗПЕКИ ТА ЕКСТРАПОЛЯЦІЇ НА ЛЮДИНУ РЕЗУЛЬТАТІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ НА ТВАРИНАХ РЕЧОВИН КЛАСУ ТРИКЕТОНІВ

**Ковальчук Н.М., Бардов В.Г., Сасінович Л.М.,
Омельчук С.Т., Пельо І.М.**

Аналіз доступної інформації дозволив встановити наступне. Речовини нової хімічної групи — трикетони

(бензоїлциклогександіони) мають гербіцидні властивості завдяки їхній здатності інгібувати активність ферменту 4-гідроксибензилпіруват діоксигенази (HPPD), який бере участь у процесах фотосинтезу. З групи трикетонів найширше застосовується в якості гербіциду мезотріон, що належить до III класу небезпечності (помірно небезпечні). У механізмі дії мезотріону основним є пригнічення активності ферменту, який бере участь у катаболізмі тирозину — HPPD, внаслідок чого рівень тирозину у плазмі крові підвищується. Однак за достатньої активності другого фермента, що виконує аналогічну роль — тирозинамінотрансферази (TAT), тирозинемія не виникає, і токсичний ефект тирозину не проявляється. Початкова активність TAT у щурів у 3-5 разів нижча, ніж у мишей, що є причиною більш вираженої токсичності мезотріону для щурів у субхронічному та хронічному експериментах, порівняно з мишами. За цим показником людина ближче до мишей, і при оцінці небезпеки мезотріону та інших трикетонів для людини обґрунтованим є екстраполяція на людину результатів, отриманих у досліді на мишах. Це підтверджується результатами клінічних спостережень на людях.