

# PHENOL MODIFYING INFLUENCE ON GENOTOXIC EFFECT AND IMMUNOLOGICAL CHANGES APPEARING IN ORGANISM DURING PERORAL COMBINED ADMINISTRATION WITH BENZ[A]PYRENE

Chernichenko I.A., Balenko N.V., Ostash O.M., Vinarska E.I., Grigorenko L.Ye., Lukyanchuk S.V.

## МОДИФІКУЮЧИЙ ВПЛИВ ФЕНОЛУ НА ПРОЯВ ГЕНОТОКСИЧНОГО ЕФЕКТУ ТА ІМУНОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ОРГАНІЗМІ ЗА ПЕРОРАЛЬНОГО КОМБІНОВАНОГО ВВЕДЕННЯ З БЕНЗ/А/ПІРЕНОМ

# В

а сучасних умов людина у різних сферах своєї життєдіяльності зазнає навантаження комплексу численних хімічних сполук різних класів, яким притаманний широкий спектр біо-ефектів — від токсичних до мутагенних та канцерогенних. За даними Національної токсикологічної програми США, загальна кількість хімічних речовин, з якими людина стикається у побуті, виробничому середовищі та довікллі, перевищує 100 тис., серед яких 5-10% припадає на канцерогенні і стільки ж на мутагенні [1].

Одним з тяжких наслідків впливу забруднення навколишнього середовища хімічними сполуками на здоров'я населення є зростання онкологічних захворювань. Нині доведено, що розвиток злоякісних пухлин визначається не лише ініціюючою дією канцероген-

них агентів, а й модифікуючим впливом супутніх токсичних сполук [2-4].

За наведених обставин вирішення проблеми своєчасного виявлення та оцінки небезпечних для здоров'я людей хімічних сполук та їхніх комплексів з метою розробки і впровадження адекватних профілактичних заходів потребує прискорених методів їх тестування.

**Мета** даної роботи полягала в експериментальному вивченні ролі токсичних речовин (фенолу) у модифікації прояву генотоксичних та імунологічних змін в організмі на ранніх стадіях дії канцерогену (бенз/а/пірену).

Вибір комплексу показників ґрунтувався на сучасних поглядах на канцерогенез, згідно з якими для реалізації канцерогенного ефекту, крім мутації, обов'язковим є розвиток додаткових порушень в організмі, зокрема імуносупресії [5, 6]. Крім того, як відомо, мутагенний ефект не завжди означає наявність канцерогенних властивостей.

**Матеріали і методи досліджень.** Для вирішення поставленого завдання проведено хронічний експеримент на 290 білих безпородних мишах із розплідника АОЗТ "Фенікс", м. Київ. Для дослідження використано бенз/а/пірен (БП) (фірма SIGMA-ALDRICH, США) та відомий модифікатор канцерогенезу — фенол (фірма Lach:ner, Чехія).

Дослідження проводили за умов ізольованого та комбінованого перорального надходження зазначених речовин.

Тварин було розподілено на 6 груп. Трьом групам мишей вводили однакові разові дози БП (0,1 мг) у триетиленгліколі (ТЕГ) роздільно (1 група) чи у комбінації з фенолом у разових дозах 0,1 мг (3 група) та 0,002 мг (4 група). Одна група (2 група) отримувала лише

**ЧЕРНИЧЕНКО І.О.,  
БАЛЕНКО Н.В.,  
ОСТАШ О.М.,  
ВИНАРСЬКА О.І.,  
ГРИГОРЕНКО Л.Є.,  
ЛУК'ЯНЧУК С.В.**

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

УДК 576.385.5:57.083.3

**МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛА НА ПРОЯВЛЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ КОМБИНИРОВАННОМ ВВЕДЕНИИ С БЕНЗ/А/ПИРЕНОМ**

**Черниченко И.А., Баленко Н.В., Осташ О.М., Винарская Е.И., Григоренко Л.Е., Лукьянчук С.В.**

Цель работы заключалась в экспериментальном изучении модифицирующей роли токсических веществ (фенола) в проявлении генотоксических, иммунологических изменений в организме при действии канцерогена (бенз/а/пирена). Методы — патоморфологические, генотоксические (микроядерный тест), иммунологические.

В эксперименте на белых беспородных мышах при раздельном пероральном введении БП (разовая доза 0,1 мг) и комбинированном с фенолом (разовые дозы 0,1 мг; 0,002 мг) установлены канцерогенный эффект (папилломы преджелудка), а также общие закономерности проявления генотоксических и иммунологических изменений относительно канцерогенеза и их зависимость от дозы и длительности введения веществ в ранний период. Отмеченные закономерности заключались в сочетанности и однонаправленности генотоксического эффекта (увеличение частоты клеток с МЯ) и супрессии Т-клеточного звена иммунитета к концу месяца и в наличии достоверной обратной корреляционной связи между ними. Выявлено модифицирующее влияние фенола на канцерогенез, что проявилось увеличением частоты клеток с МЯ, углублением иммуносупрессии в ранний период и увеличением показателя множественности развития опухолей преджелудка.

© Черниченко И.О., Баленко Н.В., Осташ О.М., Винарська О.І., Григоренко Л.Є., Лук'янчук С.В. Стаття.

**PHENOL MODIFYING INFLUENCE ON GENOTOXIC EFFECT AND IMMUNOLOGICAL CHANGES APPEARING IN ORGANISM DURING PERORAL COMBINED ADMINISTRATION WITH BENZ/A/PYRENE**

**Chernichenko I.A., Balenko N.V., Ostash O.M., Vinarska E.I., Grigorenko L.Ye., Lukyanchuk S.V.**

The aim of study was experimental investigation of the toxic substances (phenol) modifying role in organism genotoxic and immunological changes under carcinogen (benz/a/pyrene) administration. Genotoxic (micronucleus test), immunologic and pathomorphologic methods were used. The carcinogenic effect (forestomach papillomas) and common regularities of genotoxic and immunological changes in relation to carcinogenesis and their dose and

treatment duration dependence under benz/a/pyrene (BP) (day-dose 0, 1mg), BP and phenol (day-dose 0, 1; 0,002 mg) complexes oral administration in white outbred mice were established. The noted regularities conducted in interrelation and identical directivity of mutagenic (increasing of micronucleus incidence) and immunological (suppression of T-Link of immunity) indexes changes in relation to carcinogenesis, presence of reliable cross-correlation connections between them in the end of the first months. Besides, the modifying effect of phenol on the carcinogenesis that appeared by increasing of micronucleus incidence, immunosuppression and index of forestomach papillomas multiplicity was determined.

водний розчин фенолу у дозі 0,1 мг. Дві групи мишей були контрольними: контроль розчинника (5 група, вводили ТЕГ по 0,2 мл) та інтактний (6 група). Речовини вводили внутрішньошлунково через зонд 1 раз на тиждень обсягом 0,2 мл.

По 6-7 мишей кожної групи умертвляли у різні терміни — на 9, 31, 95 день від початку введення речовин та у період появи пухлин передшлунка (на 182, 332, 423 день) і відбирали біоматеріал для досліджень.

Генотоксичність вивчали за допомогою мікроядерного (МЯ) тесту, зважаючи на ряд його переваг, порівняно з іншими генотоксичними методами [1, 7].

Враховуючи переважно місцевий характер канцерогенної дії БП та збіжність органоспецифічності мутагенного ефекту за МЯ тестом та канцерогенного, для дослідження брали лише орган-мішень — передшлунок [1], який у розправленому на цупкому папері стані фіксу-

вали у 10% забуференому нейтральному розчині формаліну. Половину передшлунка використовували для дослідження МЯ, решту — для паралельного вивчення патоморфологічних змін. При цьому шматочки передшлунка обробляли за звичайною у патогістологічній техніці схемою з виготовленням парафінових блоків. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилином-еозинном.

Водночас відбирали кров для дослідження та оцінки імунотоксичних змін, орієнтуючись на рекомендації ВООЗ [8] та МОЗ України [9]. При цьому вивчали вміст та якісний склад лейкоцитів у периферичній крові, кількість клітин-кілерів, Т- і В-лімфоцитів, реакцію розпластування макрофагів та реакцію преципітації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) розчином поліетиленгліколю 6000 [10]. В якості тканинного антигену у реакціях використовували передшлунок та печінку [11].

Цитогенетичні ефекти вивчали на суспензійних препаратах, які виготовляли згідно з рекомендаціями [12]. Підрахунок МЯ проводили на 1000 клітин епітелію передшлунка кожної миші, користуючись мікроскопами Primo Star (ZEISS) та БІОЛАМ за відповідних їм збільшень  $\times 1000$  та  $\times 900$  з застосуванням імерсійних об'єктивів. Ідентифікацію МЯ проводили на зашифрованих препаратах за наведеними у літературі критеріями [1].

Отримані результати оцінювали з використанням загальноприйнятих у медико-біологічних дослідженнях статистичних методів та t-критерію Ст'юдента. Наявність зв'язків між показниками частоти клітин з МЯ та імуносупресії визначали за допомогою коефіцієнта асоціації Пірсона [13].

**Результати дослідження.** Результати вивчення генотоксичного ефекту в епітелії передшлунка мишей у різні терміни від початку перорального введення БП і його комбінацій з фенолом ілюструє табл. 1.

Як можна бачити з наведених даних, БП за ізолюваного введення (1 група) спричиняв генотоксичний ефект (рис. 1) в усі терміни дослідження (9, 31, 95 дні після 2, 5, 11 введень відповідно), що характеризувався передусім достовірно вищою частотою клітин з МЯ порівняно з виявленою у мишей контрольних груп (2, 5, 6 груп).

По-друге, генотоксичний ефект зростав зі збільшенням кратності введень канцерогену. Так, кількість клітин з МЯ збільшилась у 2,05 та 1,7 рази на 31 та 95 дні після 5 та 11 вве-

**Таблиця 1**  
**Частота клітин (%) з мікроядрами у передшлунку білих безпородних мишей після пероральних внутрішньошлункових введень бенз/а/пірену роздільно та разом з фенолом у різні терміни дослідження**

Група	Речовина	Разова доза, мг, мл	Частота клітин з МЯ		
			9 день	31 день	95 день
1	БП	0,1	1,33±0,21*	2,83±0,31*	2,33±0,33*
2	Фенол	0,1	0,33±0,21	0,50±0,22	0,33±0,21
3	БП+Ф	0,1+0,1	1,67±0,21*	3,17±0,40*	2,83±0,31*
4	БП+Ф	0,1+0,002	1,33±0,21*	3,50±0,22*	3,00±0,26*
5	ТЕГ	0,2	0,50±0,022	0,50±0,022	0,67±0,21
6	контроль		0,33±0,21	0,33±0,21	0,50±0,22

Примітка:

\* — різниця достовірна з інтактним контролем:  
9 день ( $P < 0,01$ ); 31, 95 день ( $P < 0,001$ ).

день відповідно, порівняно з аналогічними показниками на 9 день дослідження після 2 введень.

Водночас при розгляді динаміки генотоксичного ефекту (табл. 2) привертає увагу наявність деякого зниження ( $p > 0,05$ ) частоти клітин з МЯ на 95 день, порівняно з 31 днем, незважаючи на продовження введень.

Це явище, ймовірно, свідчить про те, що зростання цитогенетичного ефекту за тривалого впливу канцерогену відбувається лише у межах величин певного діапазону, після досягнення яких подальше зростання ефекту призупиняється. Це, очевидно, пов'язане з тим, що окремі дози канцерогену спроможні індукувати певну частоту клітин з МЯ, що цілком узгоджується з експериментальними даними і спостереженнями на людях про залежність генотоксичних ефектів від дози канцерогенів-мутагенів.

Аналогічні дозо-ефектні та часові закономірності прояву генотоксичної дії було встановлено також за умов комбінованого впливу БП одночасно з

фенолом (рис. 2, табл. 1 і 2).

Проте у даному випадку спостерігається тенденція до підсилення генотоксичного ефекту фенолом ( $p > 0,05$ ) залежно від його дози у комплексі. При цьому за дії фенолу у дозі 0,1 мг (3 група) збільшення частоти клітин з МЯ було відзначено вже на 9 день, тоді як за дії меншої дози фенолу (0,002 мг) у комбінації (4 група) — пізніше, на 31, 95 дні дослідження, а кількісні зміни були більш виразними.

На відміну від БП фенол (2 група) та ТЕГ (5 група) за роздільного введення не викликали генотоксичних змін.



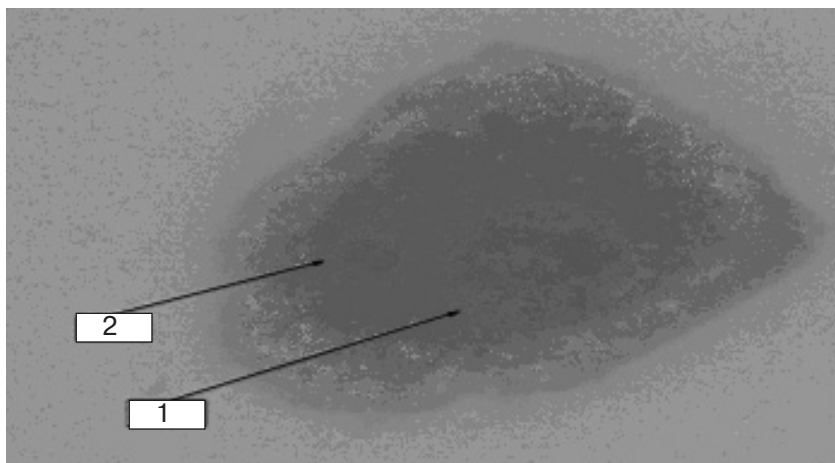
## ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Рисунок 1

### Мікроядро у клітині із епітелію передшлунка.

#### Введення БП

(1 — ядро; 2 — мікроядро)



Дослідження, які проведено у більш пізні терміни експерименту (за 6, 11, 14 місяців від початку перорального введення речовин), дозволили виявити нове суттєве зростання частоти клітин з МЯ у тварин, що отримували канцероген роздільно чи разом з фенолом. Проте у даному випадку збільшення кількості клітин з МЯ було явно пов'язане не стільки з сумарною дозою БП та модифікуючим впливом фенолу, скільки з характером морфологічних змін у передшлунку. Так, за наявності передпухлинних змін (дифузної нерівномірної та крупновогнищевої гіперплазії епітелію передшлунка) частота клітин з МЯ в окремих мишей становила 6-7 на 1000 проаналізованих клітин. У мишей з візуально виявленими та гістологічно підтвердженими діагнозами папілом передшлунка, що супроводжувалися дифузною та вогнищевою гіперплазією епітелію, цей показник сягав 12-16 клітин на 1000 проаналізованих. Одночасно спостерігалось збільшення числа багатоядерних клітин до 34-37 на 1000 клітин, переважно 2-ядерних, іноді з 2-4-ма ядрами, а також ядерних протрузій типу "хвостатих ядер".

Паралельне вивчення імунологічних реакцій показало та-

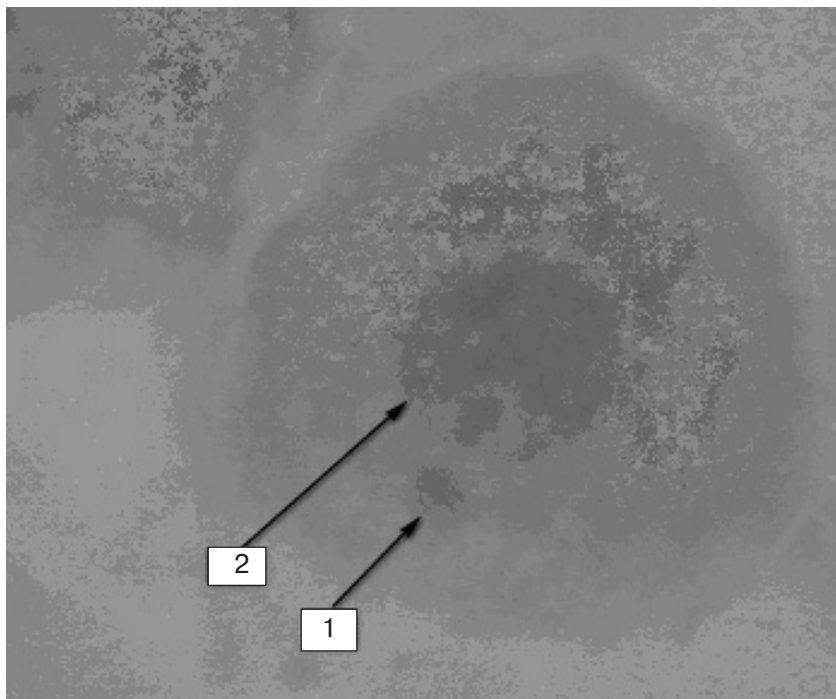
Таблиця 2

### Динаміка зміни частоти клітин з мікроядрами (%) в епітелії передшлунка білих безпородних мишей у різні терміни дослідження після перорального введення бенз/а/пірену роздільно та у комбінації з фенолом

Порівнювані терміни дослідження, дні (кількість аплікацій)	Речовини, разові дози, мг								
	БП 0,1			БП 0,1+Ф 0,1			БП 0,1 + Ф 0,002		
	Статистичні параметри			Статистичні параметри			Статистичні параметри		
	M±m	t	p	M±m	t	p	M±m	t	p
9 (2)	1,33±0,21	4,07	<0,01	1,67±0,21	3,32	<0,01	1,33±0,21	7,13	<0,001
31 (5)	2,83±0,31			3,17±0,40			3,50±0,22		
9 (2)	1,33±0,21	2,57	<0,01	1,67±0,21	3,09	<0,01	1,33±0,21	4,99	<0,001
95 (12)	2,33±0,33			2,83±0,31			3,00±0,26		
31 (5)	2,83±0,30	1,86	>0,05	3,17±0,40	0,67	>0,05	3,50±0,22	1,47	>0,05
95 (12)	2,33±0,33			2,83±0,31			3,00±0,26		



**Мікроядро у клітині із епітелію передшлунка.  
Введення БП і фенолу  
(1 — ядро; 2 — мікроядро)**



кож різне реагування організму тварин на роздільне та комбіноване введення канцерогену і токсиканта за спрямованістю і кількісним та якісним складом показників. Останні залежно

від дози та тривалості введення речовин містили компоненти неспецифічної резистентності організму, клітинну та гуморальну ланки імунітету, прояви алергії.

*Рисунок 2*

Так, ізольоване введення БП (1 група) на 9 та 31 день досліду суттєвих відхилень гематологічних та імунологічних показників від їхніх значень у мишей інтактного контролю (6 група) не викликало (табл. 3).

Водночас спостерігався притаманний хімічним канцерогенам супресивний вплив на імунну систему, що проявилось достовірним ( $p < 0,05$ ) зменшенням відносного числа Т-лімфоцитів, порівняно з контролем, і вказувало на пригнічення клітинної ланки імунітету, хоча загальна кількість Т-лімфоцитів, а також популяція В-клітин суттєво не змінилися.

При продовженні впливу БП до 3 місяців (табл. 4) суттєвої різниці гематологічних показників порівняно з контрольною групою також не виявлено.

Водночас відбулося наростання імуносупресії, що проявилось пригніченням клітинної та гуморальної ланок імунітету, за якого реєструвалося достовірне ( $p < 0,05$ ) зменшення відносного та абсолютного числа Т- і В-лімфоцитів.

Додаткове введення з канцерогеном фенолу на 9 день не викликало суттєвих імунологічних змін, порівняно з ізольованою дією БП. Тимчасом зі

*Таблиця 3*

**Імунологічні показники у мишей на 31 день пероральної ізольованої та комбінованої дії бенз/а/пірену та фенолу**

Показник	Групи експериментальних тварин						
		1 група	2 група	3 група	4 група	5 група	6 група
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$		17,38 $\pm$ 1,52	17,08 $\pm$ 1,39	17,97 $\pm$ 2,24	19,63 $\pm$ 0,77	15,28 $\pm$ 1,13	18,67 $\pm$ 2,41
Природні кілери, %		0,83 $\pm$ 0,17	0,67 $\pm$ 0,21	0,67 $\pm$ 0,21	0,67 $\pm$ 0,21	0,67 $\pm$ 0,21	1,17 $\pm$ 0,17
Паличкоядерні нейтрофіли, %		4,17 $\pm$ 0,31*	3,33 $\pm$ 0,42	3,00 $\pm$ 0,45	3,67 $\pm$ 0,67	3,00 $\pm$ 0,37	2,83 $\pm$ 0,31
Сегментоядерні нейтрофіли, %		19,50 $\pm$ 0,81	17,50 $\pm$ 0,72*	17,17 $\pm$ 0,75*	16,67 $\pm$ 1,45*	16,17 $\pm$ 0,79*	21,00 $\pm$ 0,82
Еозинофіли, %		3,00 $\pm$ 0,63	4,00 $\pm$ 0,77	4,83 $\pm$ 0,48	4,17 $\pm$ 0,48	4,50 $\pm$ 0,85	3,17 $\pm$ 0,48
Моноцити, %		1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
Лімфоцити, %		71,50 $\pm$ 1,12	73,50 $\pm$ 1,06	73,33 $\pm$ 0,80	73,83 $\pm$ 1,47	74,67 $\pm$ 1,17*	70,83 $\pm$ 0,87
Лімфоцити, $\times 10^9/\text{л}$		12,48 $\pm$ 1,20	12,54 $\pm$ 0,99	13,19 $\pm$ 1,69	14,51 $\pm$ 0,70	11,36 $\pm$ 0,72	13,30 $\pm$ 1,84
Нейтрофіли, %		23,67 $\pm$ 0,88	20,83 $\pm$ 0,87*	20,17 $\pm$ 1,01*	20,33 $\pm$ 1,52	19,17 $\pm$ 0,70*	23,83 $\pm$ 0,83
Нейтрофіли, $\times 10^9/\text{л}$		4,06 $\pm$ 0,29	3,52 $\pm$ 0,23	3,62 $\pm$ 0,48	3,96 $\pm$ 0,26	2,95 $\pm$ 0,28	4,39 $\pm$ 0,49
Т-лімфоцити, %		17,83 $\pm$ 0,70*	19,67 $\pm$ 1,05*	19,33 $\pm$ 0,67*	24,00 $\pm$ 0,89*	27,50 $\pm$ 0,89	30,00 $\pm$ 0,55
Т-лімфоцити, $\times 10^9/\text{л}$		2,23 $\pm$ 0,23	2,49 $\pm$ 0,29	2,52 $\pm$ 0,30	2,87 $\pm$ 0,22	3,10 $\pm$ 0,15	3,85 $\pm$ 0,68
В-лімфоцити, %		24,33 $\pm$ 0,42	32,00 $\pm$ 1,29*	33,67 $\pm$ 0,99*	32,33 $\pm$ 0,88*	30,17 $\pm$ 0,79*	25,50 $\pm$ 0,92
В-лімфоцити, $\times 10^9/\text{л}$		3,04 $\pm$ 0,30	4,02 $\pm$ 0,38	4,36 $\pm$ 0,46	4,69 $\pm$ 0,26	3,44 $\pm$ 0,28	3,46 $\pm$ 0,57
Кількість фагоцитуючих клітин	%	81,83 $\pm$ 3,26	81,83 $\pm$ 2,01*	88,83 $\pm$ 2,15	85,50 $\pm$ 2,55	88,83 $\pm$ 3,15	90,33 $\pm$ 2,39
	$\times 10^9/\text{л}$	3,28 $\pm$ 0,17	2,86 $\pm$ 0,15	3,20 $\pm$ 0,40	3,37 $\pm$ 0,20	2,65 $\pm$ 0,34	3,97 $\pm$ 0,48

Примітка до таблиць 3 і 4:

\* — Вказано вірогідні відмінності порівняно з групою 6, контрольною ( $p < 0,05$ ).

збільшенням тривалості надходження фенолу (на 31 день досліджу) суттєво поглиблювалася супресія імунної системи. Це проявилось тим, що, крім супресії Т-ланки імунітету (вірогідно менший ( $p < 0,05$ ), ніж у контролі відсоток Т-лімфоцитів), спостерігалось також пригнічення неспецифічної резистентності організму: у тварин обох груп (3, 4 групи) реєструвалося вірогідне ( $p < 0,05$ ) зменшення відносної кількості сегментоядерних нейтрофілів (СЯН), порівняно з контролем, а за дії комплексу БП з більшою дозою токсиканта (3 група) — також зниження загальної кількості нейтрофілів.

Як засвідчили подальші спостереження, останнє зумовлене токсичною дією фенолу. Так, ізольоване введення фенолу (2 група) на 9 день (табл. 3) суттєвих імунологічних змін не викликало. Натомість на 31 день спостерігалось пригнічення неспецифічних факторів захисту організму, що проявилось у достовірному ( $p < 0,05$ ) зниженні, порівняно з контролем, відносної кількості нейтрофілів (у тому числі СЯН) та фагоцитарної активності нейтрофілів гранулоцитів. Інші гематологічні показники суттєво не відрізнялися від контрольних величин. Водночас відзначалося також пригнічення клітинної ланки імунітету, про що свідчив достовірно ( $p < 0,05$ ) нижчий, ніж у

мишей інтактного контролю відсоток Т-лімфоцитів. А відсоток В-лімфоцитів, навпаки, зростав, що вказувало на активацію гуморальної ланки. Наприкінці 3 місяця спостерігалось відновлення вмісту Т- і В-лімфоцитів та інших показників і їх наближення до контрольних величин.

Таким чином, отримані дані свідчать, що найбільш раннім чутливим імунологічним показником реакції організму на вплив БП і його комбінацій з фенолом є Т-клітинна ланка імунітету, зміни якої за типом супресії відповідали канцерогенезу і реєструвалися вже на 31 день досліджу. У більш пізні терміни (на 95-й день досліджу) до супресії Т-ланки приєднувалося пригнічення гуморальної ланки імунітету на тлі лімфопенії, лейкопенії за дії комплексу з фенолом.

Під час патоморфологічного дослідження встановлено розвиток передпухлинних змін та пухлин передшлунка лише у мишей, що отримували БП чи БП з фенолом, що підтверджує канцерогенність експериментальної дози канцерогену за усіх варіантів введення. Передпухлинні зміни являли собою дифузну та вогнищеву гіперплазію слизової оболонки передшлунка (I, II стадії канцерогенезу за Л.М. Шабадом), пухлини — папіломи і були вперше встановлені у поодиноких

випадках за 6 місяців від початку введення речовин [14]. Пізніше (за 14 місяців) відзначено однакову 100% ураженість пухлинами як за роздільного, так і за комбінованого введення БП з токсикантом.

Разом з тим за умов додавання до канцерогену фенолу (комбінована дія) спостерігалось дозозалежне збільшення коефіцієнта множинності (М) папілом передшлунка, який розглядається як один з показників канцерогенної активності на ранніх стадіях розвитку пухлин. За введення БП з фенолом у дозах 0,1 мг; 0,002 мг він становив 5,0 та 3,2 відповідно, порівняно з 1,8 — за дії одного БП. Це свідчить про деяку стимуляцію фенолом канцерогенезу на стадії появи пухлин передшлунка. Привертає увагу той факт, що модифікуючий вплив токсиканта збігається за спрямованістю з його дією у ранній період, яка проявлялася

Таблиця 4

#### Імунологічні показники у мишей на 95 день пероральної ізольованої та комбінованої дії бенз/а/пірену та фенолу

Показник	Групи експериментальних тварин						
	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група	6 група	
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	13,22 $\pm$ 1,08	12,98 $\pm$ 1,61	15,02 $\pm$ 0,51	*12,83 $\pm$ 0,90	15,90 $\pm$ 1,15	17,55 $\pm$ 1,61	
Природні кілери, %	0,67 $\pm$ 0,21	0,50 $\pm$ 0,22	0,67 $\pm$ 0,21	0,67 $\pm$ 0,21	1,00 $\pm$ 0,26	0,50 $\pm$ 0,22	
Паличкоядерні нейтрофіли, %	3,50 $\pm$ 0,34	3,33 $\pm$ 0,33	4,00 $\pm$ 0,45	4,00 $\pm$ 0,37	3,67 $\pm$ 0,21	4,33 $\pm$ 0,49	
Сегментоядерні нейтрофіли, %	18,00 $\pm$ 0,63	21,00 $\pm$ 1,51	18,50 $\pm$ 0,89	* 21,67 $\pm$ 0,89	*18,00 $\pm$ 1,06	16,00 $\pm$ 1,51	
Еозинофіли, %	3,50 $\pm$ 0,56	5,00 $\pm$ 0,63	4,50 $\pm$ 0,56	4,17 $\pm$ 0,60	4,17 $\pm$ 0,48	5,00 $\pm$ 0,68	
Лімфоцити, %	73,33 $\pm$ 1,15	69,17 $\pm$ 1,70	71,36 $\pm$ 1,15	* 68,50 $\pm$ 0,89	72,17 $\pm$ 1,51	73,17 $\pm$ 1,17	
Лімфоцити, $\times 10^9/\text{л}$	9,72 $\pm$ 0,89	9,07 $\pm$ 1,27	10,71 $\pm$ 0,39	* 8,75 $\pm$ 0,53	11,47 $\pm$ 0,86	12,87 $\pm$ 1,24	
Нейтрофіли, %	21,50 $\pm$ 0,85	24,33 $\pm$ 1,33	22,50 $\pm$ 0,99	* 25,67 $\pm$ 0,84	*21,67 $\pm$ 1,20	20,33 $\pm$ 1,31	
Нейтрофіли, $\times 10^9/\text{л}$	2,81 $\pm$ 0,18	3,09 $\pm$ 0,30	3,37 $\pm$ 0,18	3,32 $\pm$ 0,31	3,43 $\pm$ 0,29	3,50 $\pm$ 0,24	
Т-лімфоцити, %	*18,67 $\pm$ 0,76	19,33 $\pm$ 0,84	20,83 $\pm$ 0,31	*17,17 $\pm$ 0,60	*14,67 $\pm$ 0,56	21,83 $\pm$ 0,91	
Т-лімфоцити, $\times 10^9/\text{л}$	*1,81 $\pm$ 0,17	1,98 $\pm$ 0,38	2,23 $\pm$ 0,08	*1,50 $\pm$ 0,10	*1,68 $\pm$ 0,15	2,83 $\pm$ 0,33	
В-лімфоцити, %	*26,50 $\pm$ 1,34	30,33 $\pm$ 0,76	28,83 $\pm$ 1,19	*23,50 $\pm$ 1,09	*25,83 $\pm$ 1,25	31,67 $\pm$ 0,76	
В-лімфоцити, $\times 10^9/\text{л}$	*2,58 $\pm$ 0,27	2,74 $\pm$ 0,37	3,08 $\pm$ 0,16	* 2,05 $\pm$ 0,14	2,99 $\pm$ 0,34	3,09 $\pm$ 0,45	
Кількість фагоцитуючих клітин	%	94,67 $\pm$ 1,43	94,17 $\pm$ 1,49	90,00 $\pm$ 2,48	92,50 $\pm$ 1,59	92,33 $\pm$ 1,89	93,17 $\pm$ 1,01
	$\times 10^9/\text{л}$	2,66 $\pm$ 0,19	2,73 $\pm$ 0,27	3,06 $\pm$ 0,22	3,06 $\pm$ 0,28	3,18 $\pm$ 0,31	3,26 $\pm$ 0,24

необхідно враховувати у процесі гігієнічної оцінки стану довкілля, реальна дія якого на людину пов'язана саме з одночасним надходженням до організму суми канцерогенних та токсичних сполук.

#### Висновки

1. За результатами проведених паралельних досліджень встановлено канцерогенний ефект (розвиток пухлин передшлунка) та спільні закономірності проявів генотоксичних та імунологічних змін в організмі тварин щодо канцерогенезу за ізольованого та комбінованого введення БП з фенолом і їхню залежність від дози і тривалості впливу речовин.

2. Показано модифікацію канцерогенезу фенолом у напрямку стимуляції, що проявляється зростанням частоти клітин з МЯ і поглибленням імуносупресії у ранній період та збільшенням коефіцієнта множинності розвитку пухлин (папілом) передшлунка у пізні терміни порівняно з ізольованою дією БП.

3. Отримані результати свідчать про онкологічну небезпеку комбінованого надходження до організму канцерогенних та токсичних сполук, формування якої починається на ранніх стадіях і проявляється генотоксичним ефектом у поєднанні з імуносупресією, що необхідно враховувати під час гігієнічної оцінки стану довкілля.

#### ЛІТЕРАТУРА

тенденцією до підсилення генотоксичного ефекту та поглибленням імуносупресії шляхом додаткового пригнічення компонентів неспецифічної резистентності організму, лімфоцитопенії, лейкопенії.

При порівнянні динаміки цитогенетичних та імунотоксичних змін виявилось, що зростання частоти клітин з МЯ протягом першого місяця досліджування відбувається паралельно зі зменшенням кількості Т-лімфоцитів, тобто розвитком імуносупресії. Вказані закономірності мали місце і за ізольованого введення БП, і у комбінації з фенолом.

Оцінка зв'язку між цими процесами шляхом визначення коефіцієнта асоціації Пірсона показала наявність достовірного зворотного кореляційного зв'язку між частотою клітин з МЯ і відносною кількістю Т-лімфоцитів у групах мишей, які отримували БП роздільно або у комбінації з фенолом. При цьому коефіцієнт асоціації Пірсона ( $r$ ) для мишей, що отримували БП (1 група), БП з фенолом у дозах 0,1 мг (3 група) та 0,002 мг (4 група), становив  $r = (-0,80)$ ,  $p < 0,05$ ;  $r = (-0,83)$ ,  $p < 0,05$ ;  $r = (-0,90)$ ,  $p < 0,01$  відповідно.

Отже, проведені дослідження показали сполученість і односпрямованість змін показників мутагенності та імунотоксичності щодо канцерогенезу, наявність достовірного кореляційного зв'язку між ними та збіжність з кінцевим ефектом — розвитком пухлин. Проте ступінь виразності канцерогенезу як на ранніх стадіях (генотоксичні, імунологічні зміни), так і у більш пізній період (формування передпухлинних морфологічних змін і пухлин) збільшується за умов комбінованої дії канцерогену разом з супутніми модифікаторами — токсичними сполуками.

Важливість такого висновку

ostasis as endogenous risk factors of cancer and other diseases and indicators of environmental contamination / Moncevicicute-Eringiene E. // *Vežio profilaktikos problemas*. — Lietuvos mokslas, 2001. — P. 88-122.

6. Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food / Scientific Committee on Food. — Brussels, Belgium, 2002. — 84 p.

7. Микроядерный тест и цитогенетическая нестабильность / Н.Н. Ильинских, В.В. Новицкий, Н.Н. Ванчугова, И.Н. Ильинских. — Томск, 1992. — 340 с.

8. Principles and methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals. — Geneva: WHO, 1996. — 390 p.

9. Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації: Метод. рек. / Ін-т екології та токсикології ім. Л.І. Медведя МОЗ України; Розроб. М.Г. Проданчук, П.Г. Жмілько, Д.В. Зінченко та ін. // Зб. нормативних док. з охорони здоров'я. — К., 2003. — № 8 (31). — С. 149-168.

10. Оценка влияния факторов окружающей среды на иммунологическую реактивность организма: Метод. рек. / НИИ общей и коммунальной гигиены им. А.Н. Марзеева. — К., 1988. — 23 с.

11. Винарская Е.И. Научные основы гигиенической оценки воздействия химических и биологических факторов среды при их совместном поступлении в организм на основе иммунологического критерия вредности: Дис. д.м.н.: 14.02.01 / Винарская Е.И. — К., 2000. — 390 с.

12. Оценка мутагенной активности факторов окружающей среды в клетках разных органов млекопитающих микроядерным методом: метод. рек. / Межвед. науч. совет по экологии человека и гигиене окружающей среды РФ. — М., 2001. — 21 с.

13. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М.Ю. Антомонов — К., 2006. — 558 с.

14. Шабад Л.М. Предрак в экспериментально-морфологическом аспекте / Л.М. Шабад. — М., 1967. — 384 с.

Надійшла до редакції 12.01.2012.