

## ЗМІНИ В ІМУННИХ ОРГАНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВИ СУБХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ СВИНЦЕМ І КАДМІЄМ

*Н. М. Дмитруха*

ДУ «Інститут медицини праці АМН України»

*У статті представлені результати досліджень впливу ацетату свинцю та сульфату кадмію (в умовах їх тривалого введення в дозі 1/100 ЛД<sub>50</sub>) на органи імунної системи білих щурів. Встановлено, що катіони свинцю пригнічували еритропоез у кістковому мозку викликали збільшення розмірів лімфатичних фолікулів і В-залежної зони в селезінці, підвищення кількості фолікулів зі світлими центрами розмноження в лімфатичних вузлах брижі, стимулювали проліферацію спленоцитів на мітогени Кона і ЛПС. Катіони кадмію сприяли збільшенню коркової речовини в тимусі, підвищували кількість фолікулів зі світлими центрами розмноження в лімфатичних вузлах, стимулювали спонтанну проліферацію лімфоцитів селезінки та знижували їх відповідь на мітогени ФГА, Кона і ЛПС.*

**Ключові слова:** СВИНЕЦЬ, КАДМІЙ, ОРГАНИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ, ТИМУС, СЕЛЕЗІНКА, ЛІМФАТИЧНИЙ ВУЗОЛ

Свинець і кадмій відносяться до важких металів — небезпечних забруднювачів довкілля, які негативно впливають на організм та функціонування його органів і систем: кров, серце, печінку, нирки, нервову систему [1–3]. Вони також чинять несприятливу дію на імунну систему, викликаючи зниження резистентності організму до інфекцій, підвищуючи ризик розвитку алергічних, аутоімунних та онкологічних захворювань [4–6].

Як відомо, імунна система організму є багатокомпонентною, до складу її входять імунні органи — центральні (тимус, кістковий мозок) та периферичні (селезінка, лімфатичні вузли, дифузна лімфоїдна тканина), клітинні та гуморальні компоненти. Органи імунної системи відіграють провідну роль у формуванні імунітету. У ссавців проліферація та диференціювання імунокомпетентних клітин відбувається в центральних органах імунної системи. Т-лімфоцити дозрівають у тимусі, а В-лімфоцити — у кістковому мозку. Далі ці клітини мігрують до периферичних імунних органів (селезінка, лімфатичні вузли), де відбувається розвиток клітинної та гуморальної імунної відповіді [7, 8].

За даними літератури в основі імунологічних зрушень за дії важких металів можуть лежати порушення проліферації і диференціювання імунокомпетентних клітин, продукції захисних антитіл і регуляторних цитокінів [9–11].

Встановлено, що свинець і кадмій можуть викликати інволюцію тимуса, пригнічувати проліферацію Т- і В-лімфоцитів у відповідь на мітогени [12, 13].

Не дивлячись на достатню кількість виконаних досліджень, механізми імуноотоксичності свинцю і кадмію залишаються до кінця не визначеними.

Метою роботи було дослідження змін структури центральних і периферичних органів імунної системи і проліферативної активності клітин селезінки щурів за умови моделювання свинцевої та кадмієвої інтоксикацій.

### **Матеріали і методи**

Дослідження проведені на білих нелінійних щурах-самцях масою 180–230 г (по 10 у кожній групі) в двох серіях. У першій серії моделювали субхронічну свинцеву інтоксикацію — щурам дослідної групи щоденно 5 разів на тиждень (25 днів) внутрішньоочередово вводили розчин ацетату свинцю (2,5 мг/кг маси тіла). Дослідним

тваринам другої серії вводили розчин сульфату кадмію (0,4 мг/кг маси тіла). Обрані дози солей металів відповідали 1/100 LD<sub>50</sub>. Кожна серія досліду забезпечувалась відповідною контрольною групою тварин, яким вводили 0,9 % фізіологічний розчин. Тварини утримувались в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до питної води. Всі процедури з тваринами здійснювались відповідно до Положення про використання лабораторних тварин у біомедичних дослідженнях.

Імунні органи (тимус, селезінка, лімфатичні вузли брижі) брали після декапітації щурів під легким ефірним наркозом, кістковий мозок вилучали з гомілкової кістки. У всіх тварин визначали відносну масу тимуса і селезінки на 100 г маси тіла. Для гістологічних досліджень тканину імунного органу фіксували у 10 % формаліні і заключали у парафін, після чого готували мікротомні зрізи товщиною 5–7 мкм, які фарбували гематоксилином і еозином, азур II-еозином [14]. Гістологічну картину селезінки і лімфовузла доповнювали даними морфометрії з підрахунком лімфатичних фолікулів зі світлими центрами розмноження [15]. Проліферативну активність лімфоцитів селезінки оцінювали в реакції бластної трансформації (РБТЛ) з мітогенами ФГА, КонА, ЛПС [16]. Результати морфометричних та імунологічних досліджень обраховували статистично, достовірність змін оцінювали за t-критерієм Стьюдента [17].

### Результати й обговорення

Важливим показником токсичного ураження будь-якого органу є його відносна маса та структурні зміни, які в подальшому відображаються на його функції.

Під час моделювання свинцевої інтоксикації відносна маса тимуса у піддослідних щурів не відрізнялась від значень в контрольній групі, тоді як маса селезінки достовірно збільшилась ( $p < 0,01$ ). У щурів з кадмієвою інтоксикацією дещо збільшилась відносна маса тимуса, проте не достовірно (рис. 1).

Як відомо, 90 % свинцю, що потрапив до організму, зв'язується з еритроцитами крові [2]. Отже, збільшення відносної маси селезінки за умови свинцевої інтоксикації може бути завдяки еритроцитам, які надходять в цей орган для утилізації.

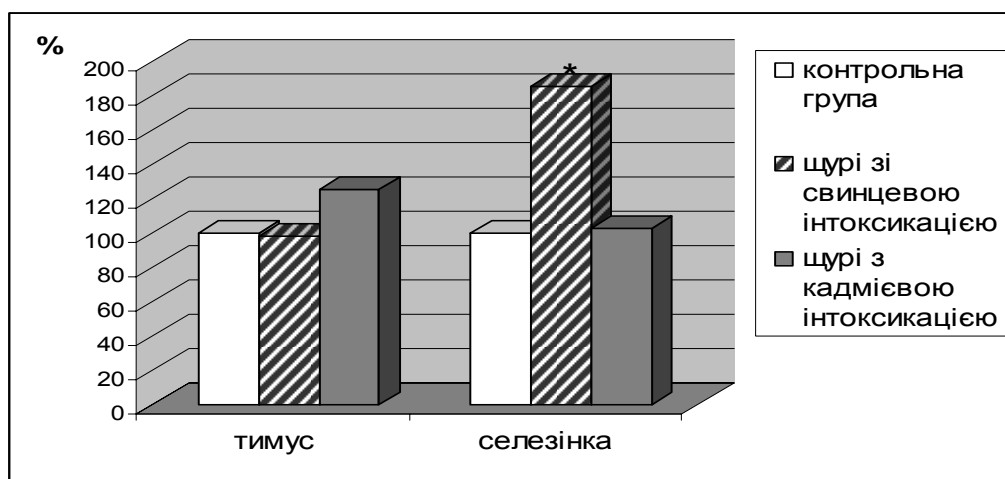


Рис. 1. Зміни відносної маси імунних органів щурів після 25 введень ацетату свинцю та сульфату кадмію у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> (у % до контролю)

Проведені гістологічні дослідження імунних органів дозволили встановити наявність в них певних структурних змін. Так, після введення ацетату свинцю структура тимусу піддослідних щурів залишалась незмінною, коркова і мозкова речовини були добре диференційовані. Визначалось збільшення числа великих лімфоцитів у зовнішній частині коркової речовини та дуже велика кількість малих лімфоцитів у мозковій речовині. Кровонаповнення органу було помірним. У щурів, яким вводили сульфат

кадмію, коркова і мозкова речовини тимусу також були чітко диференційовані, при цьому спостерігалось розширення трабекул, збільшення обсягу коркової речовини та числа великих лімфоцитів у ній. Кровонаповнення органу характеризувалось як помірне. Виявлені структурні зміни в тимусі дослідних щурів за дії солі кадмію можуть свідчити про стимуляцію проліферації в клітин у цьому органі. Останнє можна пояснити тим, що кадмій є антагоністом цинку, який входить до складу гормонів тимуса, які регулюють процеси росту та диференціювання Т-лімфоцитів.

При дослідженні іншого центрального органу імунної системи — кісткового мозку — було відзначено, що свинцева інтоксикація у щурів викликала зменшення числа еритроїдних клітин (еритробластів і еритроцитів). Кількість промієлоцитів, нейтрофільних мієлоцитів, зернистих лейкоцитів була дещо зниженою, тоді як лімфоцитів — навпаки збільшеною. При кадмієвій інтоксикації у піддослідних щурів виявлялось незначне зменшення кількості клітин еритроїдного ряду, збільшенням числа промієлоцитів і мієлоцитів та зменшення попередників гранулоцитів і лімфоцитів. Отримані дані свідчать про те, що свинець у більшій мірі проявляв токсичну дію відносно клітин кісткового мозку еритроїдного ряду та стимулював проліферацію лімфоцитів, а кадмій пригнічував утворення поліморфно ядерних лейкоцитів, проте активував попередників мієлоцитів.

Введення ацетату свинцю піддослідним щурам сприяло збільшенню в білій пульпі селезінки кількості лімфатичних фолікулів та їх розмірів у порівнянні з контрольними тваринами. При цьому число фолікулів зі світлими центрами розмноження не відрізнялась від контрольних значень (табл.). Спостерігалось утворення острівців з дрібних лімфоцитів, розсіяних по всій масі паренхіми селезінки, та збільшення В-залежної зони. Червона пульпа селезінки у щурів зі свинцевою інтоксикацією була дуже повнокровою з розширеними синусами, зустрічались поодинокі крововиливи та множинні дрібні скупчення плазматичних клітин. Зміни у структурі селезінки, які відбулися за дії свинцю, свідчать про посилений кровообіг в органі та стимуляцію імунної відповіді переважно гуморального типу.

Таблиця

**Показники функціонального стану селезінки та лімфатичного вузла брижі після введення щурам ацетату свинцю та сульфату кадмію у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> (M±m)**

Групи щурів	Селезінка				Лімфатичний вузол	
	кількість лімфатичних фолікулів, абс. вел.		кількість фолікулів зі світлими центрами розмноження, абс.вел.		кількість фолікулів зі світлими центрами розмноження, абс.вел.	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Свинцева інтоксикація	14,7±2,8	13,3±2,1	1,7±0,7	2,0±0,7	1,6±0,2	3,2±0,4*
Кадмієва інтоксикація	10,4±1,0	12,0±0,8	2,4±0,6	3,0±0,4	1,6±0,2	2,8±0,4*

*Примітка:* \* — позначена статистично достовірна відмінність показників у дослідній групі відносно контрольної (p < 0,05)

Після введення сульфату кадмію у піддослідних тварин порівняно з контрольною групою не відзначалось достовірних змін у структурі селезінки. Кількість лімфатичних фолікулів з центрами розмноження в цьому органі за дії кадмію суттєво не змінилась. Лімфатичні фолікули білої пульпи були різними за розмірами з добре помітними Т- і В-залежними зонами. Центральна артеріола була повнокровою. У червоній пульпі відзначалось різко виражене повнокрів'я синусів, між ними у великій кількості знаходились макрофаги, лімфоцити. Виявлені зміни в структурі селезінки можуть бути ознаками розвитку імунної відповіді проте значно меншої сили ніж за дії свинцю (табл.).

За результатами реакції РБТЛ у підослідних тварин зі свинцевою інтоксикацією у порівнянні з контрольною групою було відмічено стимуляцію бластоутворення клітин селезінки у відповідь на мітоген Кон А і ЛПС, а при моделюванні кадмієвої інтоксикації визначено підвищення їх спонтанної проліферації та зниження відповіді на міогени ФГА, КонА і ЛПС (рис. 2).

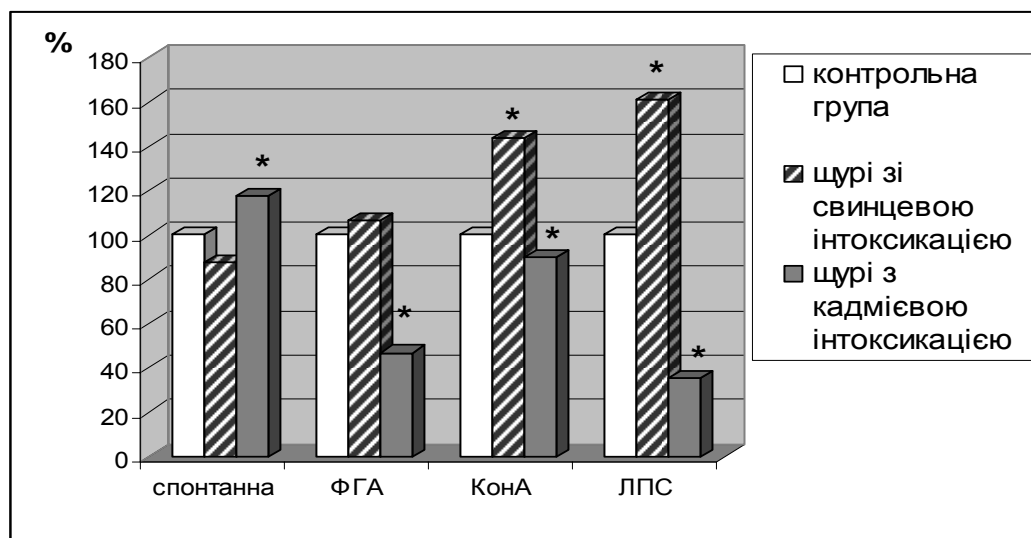


Рис. 2. Зміни проліферативної активності лімфоцитів селезінки щурів після після 25 введень ацетату свинцю та сульфату кадмію у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> (у % до контролю)

Інтоксикація свинцем і кадмієм у підослідних тварин викликала зміни у структурі лімфатичних вузлів. Введення солі свинцю щурам призводило до незначного збільшення розмірів лімфатичних фолікулів і достовірного збільшення в них світлих центрів розмноження (табл.). У петлях мозкових тяжів визначались В-лімфоцити, плазматичні клітини, макрофаги, відмічалось виражене повнокров'я синусів. Після введення сульфату кадмію також було виявлене достовірне збільшення числа лімфатичних фолікулів зі світлими центрами розмноження. Повнокров'я лімфатичного вузла характеризувалось як помірне, у стромі спостерігалось збільшення кількості плазматичних клітин і макрофагів.

За даними літератури [11, 12] збільшення числа лімфатичних фолікулів і світлих центрів розмноження в них, яке виявлялось в селезінці і лімфатичних вузлах брижі щурів за умови свинцевої і кадмієвої інтоксикації може бути розцінено, як включення цих органів у захисну реакцію організму на екзогенний подразник. Стимуляція проліферації лімфоцитів селезінки у відповідь на міогени КонА і ЛПС після введення ацетату свинцю вказує на активацію В-лімфоцитів і Т-супресорів і гуморальної імунної відповіді, а зниження бластоутворення спленоцитів на ФГА і ЛПС після введення сульфату кадмію свідчить про пригнічення активності Т- і В-лімфоцитів [18, 19].

## Висновки

Тривале надходження до організму щурів ацетату свинцю і сульфату кадмію у відносно низькій дозі (1/100 LD<sub>50</sub>) стимулювало розвиток імунних реакцій у центральних (тимус і кістковий мозок) і периферичних (селезінка, лімфатичні вузли брижі) органах імунної системи. Ацетат свинцю проявляв більшу активність відносно вторинних імунних органів (селезінка, лімфатичний вузол), ніж сульфат кадмію. Катіони свинцю стимулювали В-лімфоцити, а катіони кадмію пригнічували функціональну активність Т- і В клітин.

**Перспективи подальших досліджень.** Враховуючи важливу роль імунокомпетентних клітин у функціонуванні імунної системи та формуванні імунної відповіді, подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу свинцю і кадмію в умовах *in vivo* та *in vitro* на функціональну активність Т- і В-лімфоцитів периферичної крові.

*N. N. Dmytrukha*

## **IMMUNE ORGANS CHANGES IN RATS DURING SUBCHRONIC LEAD AND CADMIUM INTOXICATION**

### **S u m m a r y**

The results of researches of lead acetate and cadmium sulphate effects (under prolonged introduction in a dose 1/100 LD<sub>50</sub>) on immune organs of white rats are presented in the article. It was established that lead cations caused inhibition of erythropoiesis in bone marrow, increase of follicles number in spleen and its B-zone area, increase of follicles with the light centers of reproduction in the mesenteric lymph nodes, stimulated spleen lymphocytes proliferation to ConA and LPS. Cadmium cations caused the increase of thymus cortex, enhancement of follicles with the light centers of reproduction in the mesenteric lymph nodes, stimulated spontaneous spleen lymphocytes proliferation and reduced their answer to PHA, ConA and LPS.

*Н. Н. Дмитруха*

## **ИЗМЕНЕНИЯ В ИММУННЫХ ОРГАНАХ КРЫС ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СВИНЦОМ И КАДМИЕМ**

### **А н н о т а ц и я**

В статье представлены результаты исследований влияния ацетата свинца и сульфата кадмия (в условиях их длительного введения в дозе 1/100 ЛД<sub>50</sub>) на органы иммунной системы белых крыс. Установлено, что катионы свинца угнетали эритропоэз в косном мозге, вызывали увеличение размеров лимфатических фолликулов и В-зависимой зоны в селезенке, увеличение количества фолликулов со светлыми центрами размножения в лимфатических узлах брыжейки, стимулировали пролиферацию спленоцитов на митогены КонА и ЛПС. Катионы кадмия способствовали увеличению корковой зоны в тимусе, повышали количество фолликулов со светлыми центрами размножения в лимфатических узлах, стимулировали спонтанную пролиферацию лимфоцитов селезенки и снижали их ответ на митогены ФГА, КонА и ЛПС.

1. *Трахтенберг И. М.* Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды / И. М. Трахтенберг // Довкілля та здоров'я. — 1997. — № 2. — С. 48–51.

2. *Toxicological Profile for Lead. Draft for Public Comment // Comment Period Ends: February 17, 1998.* — 483 p.

3. *Гильденскиольд Р. С.* Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм (обзор) / Р. С. Гильденскиольд, Ю. В. Новиков и др. // Гигиена и санитария. — 1992. — № 5–6. — С. 6–9.

4. *Паранько Н. М.* Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на иммунный статус населения / Н. М. Паранько, Э. Н. Белицкая, Н. И. Рублевская, С. Г. Ситало. — Днепропетровск : Полиграфист, 2002. — 143 с.

5. *Касохов А. Б.* Нарушение иммунобиологической реактивности в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами / А. Б. Касохов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 1999. — № 5. — С. 37–41.

6. Добровольский Л. А. Современные представления о влиянии низких уровней тяжелых металлов на иммунную и другие системы / Л. А. Добровольский, И. Г. Белашова, Е. Л. Радванская // Довкілля та здоров'я. — 2005. — № 2 (33). — С. 73–78.
7. Deyan A. D. Immunotoxicity of metals and immunotoxicology. Proceedings of an International Workshop / Edited by A. D. Deyan, R. F. Yertel, E. Heseltine et al. // Plenum press, New York and London. — 1990. — 316 p.
8. Вершигора А. Ю. Иммунология : підручник / А. Ю. Вершигора, Є. У. Пастер, Д. В. Колибо та ін. : за заг. ред. Є. У. Пастер. — К. : Вища школа. — 2005. — 599 с.
9. Lawrence D. A. Immunomodulation by metals / D. A. Lawrence, M. J. McCabe // Immunopharmacology. — 2002. — № 2. — P. 293–302.
10. Забродский П. Ф. Механизмы токсического действия металлов и их влияние на иммунную систему / П. Ф. Забродский // Токсикологический вестник. — 1998. — № 6. — С. 9–15.
11. Ohsawa M. Heavy metal-induced immunotoxicity and its mechanisms / M. Ohsawa // Yakudaku Zassha. — 2009. — Vol. 129, № 3. — P. 305–319.
12. Daum J. R. Immunotoxicology of cadmium and mercury on B lymphocytes. I: Effects on lymphocyte function / J. R. Daum, D. M. Shepherd, R. J. Noelle // International Journal of Immunopharmacology. — 1993. — № 15. — P. 383–394.
13. Borella P. Lead and cadmium at very low doses affect *in vitro* immune response of human lymphocytes / P. Borella, A. Giardino // Environment Research. — 1991. — Vol. 55, № 2. — P. 165–177.
14. Саркисова Д. С. Микроскопическая техника : Руководство / Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. — М. : Медицина. — 1996. — 544 с.
15. Угрюмов М. В. Современные методы иммуноцитохимии и гистохимии / М. В. Угрюмов // Итоги науки и техн. ВИНТИ. — 1991. — Т. 15. — 115 с. — (Сер. «Морфология»).
16. Пастер Е. У. Иммунология. Практикум / Е. У. Пастер, В. В. Овод, В. К. Позур и др. — К. : Вища школа, 1989. — 284 с.
17. Минцер О. П. Методы обработки медицинской информации / О. П. Минцер, Б. Н. Угаров, В. В. Власов. — К. : Вища шк., 1991. — 271 с.
18. Razani-Boroujerdi S. Pb stimulates lymphocyte proliferation through enhanced T cell- B cell interaction / S. Razani-Boroujerdi, B. Edwards, M. L. Saporì // Pharmacology Experimental and Therapeutics. — 1999. — Vol. 288, № 2. — P. 714–719.
19. Otsuka F. Differential susceptibility of T- and B-lymphocyte proliferation to cadmium: Relevance to zinc requirement in T-lymphocyte proliferation / F. Otsuka, M. Oshawa // Chemistry and Biology Interaction. — 1991. — № 78. — P. 193–205.

**Рецензент:** завідувач лабораторії імунології, доктор ветеринарних наук Віщур О. І.