

Михайлова И.В., Смолягин А.И., Ермолина Е.В., Боев М.В., Боев В.М.
Оренбургская государственная медицинская академия

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БИХРОМАТА КАЛИЯ И БЕНЗОЛА НА КРЫС ВИСТАР

Изучены особенности иммунного и микроэлементного статуса у крыс Вистар при парентеральном введении с питьевой водой бихромата калия ($K_2Cr_2O_7$), бензола (C_6H_6) и смеси (бихромат калия+бензол). Выявлено, что исследуемые вещества обладают иммунодепрессивным действием как на показатели крови, количество клеток в тимусе, селезенке, так и на реакцию гиперчувствительности замедленного типа, а также вызывают сдвиги в содержании микроэлементов в крови и органах.

Одними из приоритетных веществ в формировании антропогенной опасности для здоровья человека, и в том числе через питьевую воду, являются бензол и соединения хрома [8, 13]. Огромную роль в формировании загрязнения окружающей среды хромом играет выброс поллютантов, образующихся в процессе горения топлива. Высокие концентрации производных бензола обнаруживаются в зоне влияния нефтеперерабатывающих комплексов и при работе автотранспорта [9]. Комплексная оценка токсичности металлов и органических веществ, содержащихся в питьевой воде, является одним из актуальных направлений экологических исследований. Это определяется особенностями их распространения в водной среде и характером проявления биологического действия при поступлении в организм человека с питьевой водой. В связи с этим цель данной работы состояла в исследовании влияния бихромата калия ($K_2Cr_2O_7$) и бензола (C_6H_6), растворенных в питьевой воде, на иммунологические показатели и содержание микроэлементов в крови и органах крыс Вистар.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проведены на 134 здоровых, половозрелых крысах-самцах Вистар массой 250-300 г. Все животные были разделены на 4 группы и содержались на стандартном пищевом рационе. Первая группа – контроль ($n = 33$) получала дистиллированную воду. На протяжении 45 суток животные 2, 3, 4 групп вместе с питьевой водой получали: вторая группа ($n = 35$) – бензол из расчета 0,6 мл/кг, третья группа ($n = 33$) – бихромат калия из расчета 20 мг/кг, четвертая группа ($n = 33$) – смесь бихромата калия (из расчета 20 мг/кг) и бензола (из расчета 0,6 мл/кг).

Выбор доз, способа введения и длительности эксперимента обоснован выполненными ранее исследованиями [12]. Животных вы-

водили из эксперимента декапитированием, которое осуществлялось под эфирным наркозом. В крови, тимусе, селезенке и КМ определяли число и состав клеток в соответствии с лабораторными методами исследования экспериментальных животных [4], а также массу тимуса, селезенки, надпочечников. Для оценки клеточного иммунного ответа воспроизвели реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к эритроцитам барана (ЭБ). Для этого крысам каждой группы проводили иммунизацию путем внутрибрюшинного введения 10% взвеси ЭБ в объеме 1 мл на 100г массы тела. Через 4 суток после иммунизации вводилась разрешающая доза ЭБ (10^7 клеток на 1 г массы тела в объеме 0,1 мл) в подошвенную поверхность стопы, в другую стопу вводили 0,1 мл физраствора. Тестирование реакции проводили через 24 часа путем взвешивания стоп опытной и контрольной лапок [3].

Содержание микроэлементов в крови, селезенке и печени крыс определялось в спектральной лаборатории Областного ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Оренбургской области» атомно-адсорбционным методом.

Результаты обрабатывались статистически методами вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов показал, что в опыте и контроле на протяжении 45 дней наблюдения за животными отсутствовала их гибель. У крыс 2, 3 и 4 групп наблюдались однотипные изменения, наиболее выраженные у животных 4-ой группы. Результаты исследования числа клеток периферической крови, органов (тимус, селезенка) и массы органов представлены в таблице 1. Как видно из данных указанной таблицы в периферической крови выявлено снижение числа лейкоцитов у крыс 4 группы, увеличение числа пролимфоцитов и моноцитов – у крыс 2 и 4 групп. Исследование

селезенки показало уменьшение количества клеток на орган наряду с тенденцией к увеличению массы органа (3 и 4 группы). В спленоцитогамме выявлено повышение числа пролимфоцитов и, напротив, уменьшение количества зрелых лимфоцитов (2, 3 и 4 группы). На фоне снижения массы тимуса наблюдалось уменьшение количества клеток на орган (2, 3 и 4 группы). Не выявлено существенного влияния изученных веществ на количество клеток в костном мозге.

Реакция ГЗТ у опытных групп крыс была достоверно снижена у крыс 2 и 3 групп, причем интенсивность развития реакции ГЗТ у 2 группы крыс составляла $60 \pm 1,41\%$, в 3 группе – $78,4 \pm 2,52\%$ от уровня контроля.

Масса надпочечников была увеличена по сравнению с интактной группой крыс (2 и 4 группы).

В крови опытных крыс из семи изученных микроэлементов уровни марганца, свинца существенно не изменялись по сравнению с содержанием микроэлементов в контрольной группе животных. Однако обращает на себя внимание снижение концентрации меди в 3 группе, цинка в 4 группе, железа и никеля (во всех группах) и, напротив, увеличение содержания хрома – во всех группах (табл.2).

В печени из семи изученных микроэлементов уровни меди, цинка, железа были снижены в 2, 3, 4 группах крыс, содержание хрома увеличено в 3 и 4 группах, никеля в 3 группе (табл.3).

В целом, сравнивая содержание микроэлементов в крови и печени крыс, выявлено, что в исследуемых биосредах уровни меди, цинка и железа были снижены, уровень хрома повышен по сравнению с контрольной группой.

Таблица 1. Влияние бихромата калия, бензола и их смеси на крыс Вистар

Исследуемые параметры		1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
Масса крысы (г)		250±17,19	263±9,45	263±9,95	229±7,41
Лейкоциты • 10 ⁹		10,55±0,55	10,29±0,63	11,79±0,81	8,21±0,76*
Тимус	Масса органа (мг)	291±17,63	272±8,25	260±21,53	249±14,95
	Кол-во клеток на орган (млн)	489±52,11	369±22,99*	471±42,61	351±33,06*
Селезенка	Масса органа (мг)	1006±32,73	948±43,58	1049±36,50	1016±56,31
	Кол-во клеток на орган (млн)	1049±67,40	762±54,43*	1153±58,60	794±82,79*
Масса надпочечников (мг)		23,00±1,32	27,84±1,16*	22,95±1,24	27,53±1,20*

Примечание: здесь и далее * – достоверность отличий показателей в опыте и контроле (p<0,05).

Таблица 2. Содержание микроэлементов в крови крыс Вистар (мкг/г, M±m)

Группы	Cu	Pb	Zn	Mn	Fe	Ni	Cr
1 группа	1,07 ±0,05	н/о	5,03 ±1,17	0,07 ±0,004	359,11 ±9,14	0,15 ±0,03	0±0
2 группа	1,02 ±0,02	н/о	4,76 ±0,10	0,07 ±0,002	357,55 ±15,31	0,10 ±0,01*	0,04 ±0,01*
3 группа	0,89 ±0,04*	н/о	6,30 ±0,66	0,06 ±0,004	325,72 ±16,07	0,04 ±0,004*	0,33 ±0,03*
4 группа	1,14 ±0,05	н/о	4,34 ±0,15*	0,08 ±0,004	361,02 ±10,36	0,08 ±0,01*	0,48 ±0,034*

Таблица 3. Содержание микроэлементов в печени крыс Вистар (мкг/г, $M \pm m$)

Группы	Cu	Pb	Zn	Mn	Fe	Ni	Cr
1 группа	2 $\pm 0,08$	н/о	16,22 $\pm 0,84$	0,08 $\pm 0,01$	38,46 $\pm 1,89$	0,1 $\pm 0,01$	0,09 $\pm 0,02$
2 группа	1,83 $\pm 0,11$	н/о	13,72 $\pm 0,65^*$	0,11 $\pm 0,01$	32,04 $\pm 2,21^*$	0,14 $\pm 0,03$	0,07 $\pm 0,01$
3 группа	1,96 $\pm 0,04$	н/о	13,98 $\pm 0,46^*$	0,06 $\pm 0,004^*$	30,71 $\pm 1,40^*$	0,22 $\pm 0,01^*$	3,18 $\pm 0,09^*$
4 группа	1,92 $\pm 0,10$	н/о	13,99 $\pm 1,00$	0,07 $\pm 0,01$	29,04 $\pm 1,57^*$	0,17 $\pm 0,04$	2,89 $\pm 0,19^*$

Таким образом, установлено, что хром и бензол, поступая в организм, вызывают сдвиги в содержании микроэлементов, как в крови, так и в органах. Дисбаланс микроэлементов можно объяснить тем, что с одной стороны крысы получали хром вместе с питьевой водой, а с другой стороны, с тем, что на всасывание хрома оказывают влияние цинк и железо [2] – содержание которых было снижено у экспериментальных животных. При недостаточности этих микроэлементов содержание хрома возрастает в крови и печени. Кроме того, с учетом взаимодействия хрома с другими микроэлементами предполагается существование его конкуренции с железом за связывание с общим носителем (трансферрином) у крыс и человека [1]. Снижение концентрации железа в крови приводит к увеличению содержания хрома в крови и органах. Растворы Cr^{+6} более, чем Cr^{+3} , раздражают кожу, обладают большей вероятностью сенсibilизирующего действия, более токсичны, могут поражать почки (особенно почечные канальца), так как после всасывания в кишечнике Cr^{+6} связывается с белками крови, восстанавливаясь в Cr^{+3} и переходит в ткани. Селезенка и почки содержат самое большое количество хрома.

Выявленные иммунологические изменения показывают, что исследуемые вещества, обладают иммунодепрессивным действием как на показатели крови, количество клеток в тимусе, селезенке, так и на реакцию ГЗТ. Полученные данные свидетельствуют о выраженном депрессивном влиянии хрома и бензола на Т-систему иммунитета крыс. Одной из причин выявленных сдвигов снижения числа зрелых лимфоцитов и уменьшения массы тимуса может быть снижение уровня цинка в крови крыс, поскольку недостаток этого микроэлемента у экспериментальных животных по данным [15], сопровождался уменьшени-

ем числа лимфоцитов, циркулирующих в крови, и существенным понижением массы тимуса и числа тимоцитов [7]. Бензол в зависимости от длительности экспозиции и концентрации как и дефицит цинка усиливает атрофию тимуса (истощение тимоцитов в корковом слое и мозговой зоне), а также вызывает лейкопению [5], что может объяснить выявленное нами снижение числа лейкоцитов. Вместе с тем, в основе полученных эффектов могут лежать нарушения костномозгового кроветворения (резкое угнетение продукции лейкоцитов, тромбоцитов и эритроцитов, т. е. всех трех основных типов форменных элементов крови) [10, 14].

В литературе имеются данные об особой чувствительности тимуса и лимфоцитов периферической крови к повышенному содержанию гормонов надпочечников. Хроническая интоксикация бензолом протекает с нарушением функции надпочечников [6], при этом, возможно, нарушается и кортикостероидная функция, так как повышение активности коры надпочечников, сопровождается увеличением содержания в крови кортикостероидов [4]. Это в свою очередь, может являться следствием гиперфункции надпочечников и приводить к увеличению массы надпочечников, выявленной нами.

Было показано [11], что при интоксикации бензолом и хромом происходит активация процессов СРО, которая так же может являться одной из причин выявленных изменений иммунологических параметров, так как избыточная активация свободнорадикального окисления оказывает негативное влияние на иммунокомпетентные клетки, нарушая их способность к пролиферации, к колониеобразованию предшественников, изменяя соотношение регуляторных субпопуляций лимфоцитов, нарушая синтез ДНК и белка в лимфоцитах, и как следствие этого, приводя к подавлению иммунных реакций.

Полученные результаты показали сложный и неоднозначный характер изменений иммунологических показателей и содержания микроэлементов в крови и органах крыс Вистар под влиянием бихромата калия ($K_2Cr_2O_7$) и бензола

(C_6H_6), растворенных в питьевой воде, и могут быть использованы для расшифровки влияния комплексного воздействия неорганических и органических соединений на иммунную систему и микроэлементный статус организма.

Список использованной литературы:

1. Авцын А.П. и др. Микроэлементозы человека. – Москва, 1991. – 496 с.
2. Бингам Ф.Т. и др. Некоторые вопросы токсичности ионов металлов. Пер. с англ. /Под ред. Х.Зигеля, А.Зигель. – М.: Мир, 1993. – 368 с.
3. Волчегорский И.А. и др. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск, 2000. – 167 с.
4. Горизонтов П.Д. и др. Стресс и система крови /АМН СССР. – М.: Медицина, 1983. – 240 с.
5. Данилова Т.И. Разработка системы гигиенической оценки иммунотоксического действия химических веществ в эксперименте на примере бензола. Автореф. дисс.... канд. мед. наук. – Москва, 1987. – 16 с.
6. Захаров В.Н. и др. Изменения системы крови при воздействии радиации и бензола. – Новосибирск: Наука, 1990. – 239 с.
7. Кудрин А.В. и др. Иммунофармакология микроэлементов. – Москва, 2000. – 537 с.
8. Пинигин М.А. и др. Комбинированное и комплексное воздействие загрязнения окружающей среды //Среда обитания и здоровье населения: Материалы Всеросс. науч.-практ. конф. – Оренбург. – 2001. – Т.2.– С. 83-84.
9. Самсонов В.М. Токсико-гигиеническая характеристика 1,2,4,5 – тетраметилбензола и влияние его на организм // Среда обитания и здоровье населения: Материалы Всеросс. науч.-практ. конф. – Оренбург. – 2001. – Т.2.– С. 121-124.
10. Сорокина Н.С., Евлашко Ю.П. Профессиональные заболевания химической этиологии с преимущественным поражением системы крови //Профессиональные заболевания /Под ред. Н.Ф. Измерова. – М.: Медицина, 1996. – Т.1. – С. 94-135.
11. Тимошинова С.В. и др. Влияние хронической интоксикации хромом и бензолом на антиоксидантный статус крыс//Вестник ОГУ. – 2004. – №10. – С. 132-133.
12. Утенин В.В. Гигиеническая характеристика хрома и бензола и морфофункциональные аспекты их взаимодействия на организм в условиях эксперимента. Автореф. дисс.... канд. мед. наук. – Оренбург, 2002. – 24 с.
13. Barceloux D.G. Chromium //J. Toxicol. Clin. Toxicol. – 1999. – Vol. 37. – №2. – P. 173-194.
14. Hristeva-Mircheva V. Changes in the peripheral blood of workers with occupation exposure to aromatic hydrocarbons //Int. Arch. Occup. Environ. Health. – 1998. – Vol. 71. – Suppl.. – P. 81-83.
15. Nishi Y. et al. Zinc concentration in leukocytes: mononuclear cells, granulocytes, T-lymphocytes, non-T lymphocytes and monocytes //Hiroshima J. Med. Sci. – 1981. – Vol. 30. – №2. – P. 65-69.