

IMMUNOLOGICAL EFFECTS AS A CRITERION OF CARCINOGENIC HAZARD OF JOINT EFFECT OF ENDOGENIC NITROSAMINES AND MAGNETIC FIELD OF INDUSTRIAL FREQUENCY

Balenko N.V., Hryhorenko L.H., Dumanskyi Yu.D., Sovertkova L.S., Serdiuk Ye.A.

ІМУНОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ЯК КРИТЕРІЙ КАНЦЕРОГЕННОЇ НЕБЕЗПЕКИ ПОЄДНАНОГО ВПЛИВУ ЕНДОГЕННИХ НІТРОЗАМІНІВ ТА МАГНІТНОГО ПОЛЯ ПРОМИСЛОВОЇ ЧАСТОТИ

**БАЛЕНКО Н.В.,
ГРИГОРЕНКО Л.Є.,
ДУМАНСЬКИЙ Ю.Д.,
СОВЕРТКОВА Л.С.,
СЕРДЮК Є.А.**

ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзеєва НАМН України»
м. Київ

УДК 57.083.3 [547.304.1+
613.642.2]

Ключові слова: імунологічні дослідження, нітрозаміни, електромагнітні поля промислової частоти (50 Гц), поєднана дія, щури.

Хімічні сполуки класу нітрозамінів (НА) та низькочастотні електромагнітні поля (НЧЕМП), у тому числі промислової частоти (ЕМПЧ), належать до поширених антропогенних забруднювачів навколишнього середовища, які постійно чинять негативний вплив на здоров'я населення.

Міжнародним агентством з вивчення раку (МАВР) НА визнані як «імовірно» канцерогенні для людини, група 2А, НЧЕМП – як «можливо» канце-

рогенні, група 2В [1, 2]. Особливість небезпеки канцерогенних НА пов'язана з легкістю їх синтезу не тільки екзогенно, а й в організмі живих істот з широко розповсюджених у довкіллі азотовмісних сполук, що містять нітрогрупи (оксиди азоту, нітрити, нітрати тощо) та аміногрупи. Численними дослідженнями, у тому числі проведеними в останні роки, доведено генотоксичність обох факторів [3, 4].

Відомо, що генотоксичний ефект розглядається як базовий показник при оцінці канце-

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КАК КРИТЕРИЙ КАНЦЕРОГЕННОЙ ОПАСНОСТИ СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ЭНДОГЕННЫХ НИТРОЗАМИНОВ И МАГНИТНОГО ПОЛЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ЧАСТОТЫ
**Баленко Н.В., Григоренко Л.Г., Думанский Ю.Д.,
Соверткова Л.С., Сердюк Е.А.**

ГУ «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева НАМН Украины», г. Киев

Цель работы – изучить иммунологические эффекты воздействия эндогенных нитрозаминных и их предшественников совместно с электромагнитным полем промышленной частоты (50 Гц).

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 160 белых беспородных крысах-самках в возрасте 6-8 недель, разделенных на 4 группы: 1 – интактный контроль; 2 – введение предшественников нитрозаминных (нитрита натрия – 100 мг/кг, тетрациклина – 20 мг/кг веса тела); 3 – облучение магнитным полем 50 Гц, 90 мкТл; 4 – введение предшественников нитрозаминных и облучение магнитным полем 50 Гц. Предшественники давали 1 раз в сутки 5 дней в неделю в течение 3-х месяцев. Облучение магнитным полем осуществляли по 7 часов в сутки в те же сроки в специально оборудованных камерах. Эндогенный синтез нитрозаминных контролировали путем определения их в печени и почках. Состояние иммунной системы оценивали через 1 и 3 месяца после воздействия изучаемых факторов, используя комплекс тестов: определение количества лейкоцитов и их качественного состава, количества Т- и В-лимфоцитов; реакций фагоцитоза, дегрануляции базофилов (по Шелли), торможения распластывания макрофагов. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием коэффициента Стьюдента.

Результаты. Установлены более глубокие изменения иммунной системы при сочетанном воздействии эндогенно образующихся нитрозаминных, их предшественников и магнитного поля промышленной частоты по сравнению с изолированным действием этих факторов. Эти изменения проявились в стойкой

супрессии Т- и В-клеточного звеньев, расширении их спектра за счет активации неспецифических факторов и развития слабо выраженных реакций ауто-сенсibilизации и сенсibilизации, гиперчувствительности замедленного типа. Наиболее ранним чувствительным к действию изучаемых факторов было клеточное звено иммунитета, супрессия которого выявлена уже через месяц и стойко наблюдалась в течение всего опыта (3 месяца).

Подтверждена ранее установленная нами взаимосвязь между уровнями ранней супрессии Т-лимфоцитов и генотоксическим эффектом при изолированном и совместном воздействии факторов. Максимальное снижение уровня супрессии отмечено при совместном воздействии факторов и соответствовало максимальной частоте микроядер в костном мозге. Менее выраженная супрессия наблюдалась при изолированном воздействии факторов и сопровождалась более низким уровнем частоты микроядер.

Эти результаты свидетельствуют о возможности использования комплекса ранних показателей иммуносупрессии и генотоксичности как ранних критериев для прогнозирования опасности действия магнитного поля промышленной частоты и химических канцерогенов класса нитрозаминных.

Выводы. Установлено усиление супрессии Т-клеточного звена иммунитета и генотоксического эффекта при сочетанном воздействии уровней эндогенных нитрозаминных, образующихся при введении предшественников их синтеза (нитрита натрия 100 мг/кг, тетрациклина 20 мг/кг веса тела) и магнитного поля промышленной частоты (50 Гц, 90 мкТл) по сравнению с изолированным воздействием, что свидетельствует о большей потенциальной онкогенной опасности совместного влияния канцерогенных нитрозаминных и магнитного поля.

Ключевые слова: иммунологические исследования, нитрозаминные, электромагнитные поля промышленной частоты (50 Гц), совместное воздействие, крысы.

© Баленко Н.В., Григоренко Л.Є., Думанський Ю.Д., Соверткова Л.С., Сердюк Є.А.
СТАТТЯ, 2018.

IMMUNOLOGICAL EFFECTS AS A CRITERION OF CARCINOGENIC HAZARD OF JOINT EFFECT OF ENDOGENIC NITROSAMINES AND MAGNETIC FIELD OF INDUSTRIAL FREQUENCY

Balenko N.V., Hryhorenko L.H., Dumanskyi Yu.D., Sovertkova L.S., Serdiuk Ye.A.

State Institution «O.M. Marzeiev Institute for Public Health, National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Objective: We studied the immunological effects of the exposure of endogenous nitrosamines and their precursors jointly with the electromagnetic field of industrial frequency (50 Hz).

Materials and methods: The experiment was performed in 160 white outbred female rats aged 6-8 weeks divided into 4 groups: 1 – intact control; 2 – introduction of the precursors of nitrosamines (sodium nitrite – 100 mg/kg, tetracycline – 20 mg/kg); 3 – irradiation with magnetic field of 50 Hz, 90 μ T; 4 – introduction of the precursors of nitrosamines and irradiation with magnetic field of 50 Hz. The precursors were introduced once a day, 5 days a week during 3 months. Magnetic field irradiation was carried out for 7 hours daily at the same terms in specially equipped chambers. Endogenic synthesis of nitrosamines was controlled by means of their determination in liver and kidneys. Immune system state was assessed in 1 and 3 months after exposure to studied factors with the help of the complex of the tests: determination of the number of leucocytes and their qualitative composition, a number of T- and B-lymphocytes; reactions of phagocytosis, degranulation of basophiles (after Shelly), inhibition of macrophage spreading. Obtained findings were analyzed statistically with the help of Student's ratio.

Results: The more profound changes in the immune system under joint effect of endogenically formed nitrosamines, their precursors and magnetic field of industrial frequency were established in comparison with the isolated action of these fac-

tors. These changes were manifested in a stable suppression of T- and B-cell chains, expansion of their spectrum due to the activation of unspecific factors and development of mildly expressed reactions of autosensibilization and sensitization, hypersensitivity of delayed type. The cell chain of the immunity was the earliest sensitive one to the effect of studied factors, suppression of the immunity was revealed in a month and was stable for 3 months during the whole experiment.

The correlation, previously established by us, between the levels of early suppression of T-lymphocytes and genotoxic effect, both at isolated and joint factors' effect, was confirmed. The maximum decrease of the level of suppression was noted under joint effect of the factors and complied with the maximum frequency of micronuclei in a bone marrow. The less expressed suppression was observed under isolated effect of the factors and accompanied by the lower level of the frequency of micronuclei.

These results demonstrate the possibility of the use of the complex of early parameters of immunosuppression and genotoxicity as the early criteria for the prognostication of the hazard of the effect of the industrial frequency magnetic field and chemical carcinogens of nitrosamine class.

Conclusion: The increase of the suppression of T-cell chain of the immunity and genotoxic effect was established under joint exposure of the levels of endogenous nitrosamines, forming at the introduction of the precursors of their synthesis (sodium nitrite, 100 mg/kg; tetracycline, 20 mg/kg) and magnetic fields of the industrial frequency (50 Hz, 90 μ T;), in comparison with isolated effect, which indicates a larger potential oncogenic hazard of joint effect of chemical carcinogenic nitrosamines and magnetic field.

Keywords: immunological investigations, nitrosamines, industrial frequency electromagnetic field (50 Hz), joint exposure, rats.

рогенного для людини ризику факторів різної природи (хімічних, фізичних, біологічних), а також використовується як ранній біомаркер ефекту і активних доз канцерогенів [2, 5]. Доведено зв'язок між високою частотою таких показників генотоксичного ефекту, як мікроядра (МЯ), структурні хромосомні аберації у лімфоцитах периферичної крові населення (незалежно від фактора впливу) і збільшенням ризику раку, що стало підставою для використання їх для прогнозу канцерогенного ризику на рівні популяції [3].

Разом з тим експерти МАВР наголошують на необхідності врахування при оцінці канцерогенної небезпеки будь-яких факторів показників інших змін в організмі, пов'язаних з механізмами дії та канцерогенезом, які можуть модифікувати реалізацію генотоксичного і канцерогенного ефектів [2]. Вра-

хування комплексу таких показників, на їхню думку, забезпечує надійність і більш точну оцінку канцерогенної небезпеки факторів, а також сприяє вирішенню питань щодо каузального зв'язку цих факторів з онкозахворюваністю людей, важливих для розроблення ефективних заходів профілактики.

У цьому відношенні особливе значення мають показники стану імунної системи. Значущість комплексу показників генотоксичного ефекту та імунологічних змін за дії хімічних канцерогенів як ранніх критеріїв для прискореної ідентифікації генотоксичних канцерогенів і передбачення їхньої потенційної небезпеки було обґрунтовано також у наших попередніх дослідженнях [6].

Наведені обставини і відсутність даних щодо сумісного впливу канцерогенних НА і

НЧЕМП, необхідних для оцінки реальної небезпеки, були підставою для виконання цих досліджень.

Мета роботи – експериментальне вивчення імунологічних змін за поєднаної дії канцерогенних НА, що утворюються в організмі із хімічних попередників синтезу, і ЕМП промислової частоти (50 ГЦ) та оцінка значущості їх для прогнозування канцерогенної небезпеки.

Матеріали і методи дослідження. Експеримент проведено на білих безпородних щурах, враховуючи їхню чутливість до дії НА та ЕМП і часте використання при вивченні ізолюваного впливу цих факторів на організм.

Для забезпечення ендogenous утворення канцерогенних НА щурам давали попередники синтезу їх (ПНА): нітрит натрію (НН) як нітрозуючий компонент, що містить нітрогрупу, та антибіотик тетрациклін (ТЦ) як

сполуку, що нітрузується і містить аміногрупи.

Загалом у досліді було задіяно 160 щурів-самиць віком 6-8 тижнів, вагою тіла 140.0-154.0 г. Тварини були розподілені порівну на 4 групи:

- 1 – інтактний контроль,
- 2 – введення ПНА,
- 3 – опромінення ЕМППЧ,
- 4 – сумісна дія ПНА і ЕМППЧ.

Попередники НА давали 1 раз на добу, 5 днів на тиждень протягом 90 днів: НН – з питною водою з розрахунку 100 мг/кг ваги тіла, ТЦ – попередньо розчинений у воді з розрахунку 20 мг/кг ваги тіла як домішку до вівсяної каші.

Опромінення щурів здійснювали магнітним полем (МП) з густиною магнітного потоку 90 мкТл у ті ж самі терміни по 7 годин на добу у спеціально обладнаних камерах. Як джерело МП використовували модель опромінюючої системи (МОС-50), яка складається з прямокутних соленоїдів з каркасом з немагнітного матеріалу. Обмотки соленоїдів виконані ізольованим мідним дротом з площиною перерізу 1 мм² (граничний струм 5 А). Соленоїди послідовно були увімкнені у загальну електричну систему. Джерелом струму і

зв'язуючим елементом з електричною мережею живлення був знижуючий трансформатор потужністю 1,5 кВт. Ця система дозволила забезпечити рівень магнітного поля 90 мкТл. Система була вмонтована в екрановану радіочастотну безехову камеру, що забезпечувало низький рівень вторинного випромінювання МП на прилеглих територіях і дотримання вимог безпеки праці обслуговуючого персоналу. Рівні МП у робочих зонах соленоїдних систем вимірювали тесламетром типу EXTECH 480823. Оперативний контроль рівнів МП проводили щоденно. Тварин утримували у стандартних пластикових клітках на стандартному гранульованому кормі з вільним доступом до питної води за температури у приміщенні 18-22°C, вологості повітря 50-60% та природного світлового режиму «день – ніч».

Варто зазначити, що обрані рівні досліджуваних факторів, за результатами попередніх досліджень, були патогенно активними: рівні ендогенних НА, що утворювалися за введення аналогічних доз НН та ТЦ, у хронічному досліді індукували розвиток пухлин, ЕМП – різні біохімічні та інші токсичні порушення [7, 8].

Ендогенний синтез НА контролювали періодичним вимірюванням вмісту N-нітрозодиметиламіну (НДМА) та N-нітрозодіетиламіну (НДЕА) у печінці та нирках щурів хроматографічним методом [7].

Стан імунної системи щурів вивчали у динаміці після впливу досліджуваних факторів протягом одного та трьох місяців. Під час вибору методів

дотримувалися рекомендацій ВООЗ [9] та МОЗ України щодо вивчення імунотоксичної дії ксенобіотиків [10, 11]. У роботі використано мінімальний комплекс тестів, який дозволяє визначити вплив на усі основні ланки імунної системи: визначення вмісту лейкоцитів у периферичній крові та їхнього якісного складу; кількості Т- і В-лімфоцитів (у реакціях спонтанного Е- та ЕАС-розеткоутворення), дослідження реакції фагоцитозу, дегрануляції базофілів (за Шеллі) та гальмування розпластування макрофагів. При визначенні гіперчутливості негайного типу (ГНТ) за Шеллі застосовували як гаптени (ТЦ, НН), так і тканинні антигени (печінку, головний мозок).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили загальноприйнятими у медико-біологічних дослідженнях методами з використанням коефіцієнта Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати дослідження стану імунної системи щурів після введення ПНА та дії ЕМППЧ протягом 1 місяця наведено у таблицях 1 і 2.

Так, у щурів, які отримували ПНА (2 група), у цей період суттєвих гематологічних змін не виявлено (табл. 1).

Достовірні зміни стосувалися лише імунологічних показників (табл. 2) і проявилися у зменшенні порівняно з контролем відносної кількості Т- і В-лімфоцитів, що збігається з даними літератури про супресивний вплив НДМА на клітинну та гуморальну ланки імунної системи.

Вплив МП проявився достовірним зниженням відносної

Таблиця 1
Гематологічні показники у щурів за місяць впливу попередників ендогенних нітрозамінів та електромагнітного поля

Група дослідних тварин, фактори	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Паличко-ядерні нейтрофіли, %	Сегментоядерні нейтрофіли, %	Моноцити, %	Лімфоцити		Нейтрофіли	
					%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л
1 група, контроль	16,47±1,31	3,57±0,20	18,14±1,22	1,00±0,01	74,29±1,23	12,26±1,05	21,71±1,25	3,57±0,35
2 група, НН, ТЦ	17,37±1,11	3,71±0,52	19,29±0,40	1,00±0,01	73,57±0,90	12,90±0,72	23,00±0,98	4,09±0,41
3 група, ЕМП	16,23±1,62	3,43±0,53	21,43±1,49	1,00±0,01	*70,86±0,91 t=2,24	11,50±1,16	24,86±1,10	4,00±0,40
4 група, НН, ТЦ+ЕМП	14,21±1,17	3,29±0,29	*21,86±0,34 t=2,9	0,86±0,14	*71,29±0,61 t=2,1	10,13±0,83	*25,14±0,55 t=2,51	3,57±0,29

Примітка до таблиць 1-4:

* – вказані вірогідні відмінності порівняно з першою, контрольною групою ($p < 0,05$), $t \geq 2$, 18.

кількості лімфоцитів (табл. 1) та відносної і абсолютної кількості Т-лімфоцитів (табл. 2).

Більш широкий спектр змін виявлено у тварин, які зазнавали поєднаної дії ПНА та МП (4 група). Крім достовірного зниження відносної кількості лімфоцитів (табл. 1), відзначено також зменшення відносної й абсолютної кількості Т- і В-лімфоцитів (табл. 2).

Разом з тим, у цих щурів спостерігалася активація системи неспецифічних факторів захисту організму, що проявилася у збільшенні відсотка нейтрофільних гранулоцитів, у тому числі сегментоядерних (табл. 1).

Вивчення гіперчутливості негайного типу (ГНТ) показало підвищення рівня специфічних антитіл і розвиток слабкопозитивної сенсibilізації у щурів, які отримували ПНА (2 група) ізольовано або у комбінації з МП (4 група). Про це свідчило збільшення дегранульованих базофілів у щурів 2 групи до тканинного антигену – печінки до $(13,14 \pm 1,14)\%$, що вказувало на слабкопозитивну ауто-сенсibilізацію порівняно з нормальним рівнем (до 10%), та до $(13,14 \pm 0,74)\%$, $(14,86 \pm$

$0,74)\%$, до гаптенів НН і ТЦ відповідно як прояв слабкопозитивної сенсibilізації. Ізольоване введення ПНА та сумісне з опроміненням магнітним полем (4 група) призвело до розвитку також гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ). При цьому індекс гальмування розпластування макрофагів був $<0,8$ і складав $0,78$ та $0,79$ відповідно, тобто вказував, що реакція позитивна. За роздільного опромінення щурів МП (3 група) дегрануляція базофілів та реакція розпластування макрофагів не спостерігалися.

Результати вивчення імунного стану тварин після трьохмісячного впливу досліджуваних факторів засвідчили стійкий характер та достовірні відхилення деяких гематологічних та імунологічних показників порівняно з такими у тварин контрольної групи (табл. 3 і 4).

Так, за введення ПНА (2 група), як і раніше, спостерігалася зменшення відсотка Т- і В-клітин за одночасного збільшення різниці з аналогічними показниками у тварин контрольної групи, що свідчить про поглиблення супресії клітинної та гуморальної ланок.

Подовження експозиції МП (3 група) проявилася розширенням спектра імунологічних ефектів, а саме: до зареєстрованого наприкінці першого місяця достовірного зменшення загальної кількості лімфоцитів та супресії Т-ланки імунітету за 3 місяці приєднались зміни і у гуморальній ланці імунітету, про що свідчить зниження відсотка В-лімфоцитів. Пригнічення клітинної та гуморальної ланок супроводжувалося активацією неспецифічних факторів захисту організму, на що вказує достовірне збільшення кількості нейтрофільних гранулоцитів та їхньої фагоцитарної активності.

За поєднаного впливу обох факторів (4 група) відзначено

Таблиця 2

Імунологічні показники у щурів за місяць впливу попередників ендогенних нітрозамінів та електромагнітного поля

Група дослідних тварин, фактори	Т-лімфоцити		В-лімфоцити		Кількість	
	%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$
1 група, контроль	$42,86 \pm 1,86$	$5,20 \pm 0,41$	$24,00 \pm 0,69$	$2,97 \pm 0,32$	$80,43 \pm 1,15$	$2,89 \pm 0,31$
2 група, НН, ТЦ	$*32,86 \pm 0,24$ $t=4,47$	$4,23 \pm 0,27$	$*21,00 \pm 0,85$ $t=2,74$	$2,72 \pm 0,21$	$79,43 \pm 1,13$	$3,26 \pm 0,36$
3 група, ЕМП	$*33,71 \pm 1,23$ $t=4,10$	$*3,88 \pm 0,41$ $t=2,28$	$22,14 \pm 0,67$	$2,52 \pm 0,23$	$78,86 \pm 1,55$	$3,16 \pm 0,31$
4 група, НН, ТЦ + ЕМП	$*33,00 \pm 1,27$ $t=4,38$	$*3,35 \pm 0,28$ $t=3,73$	$*21,29 \pm 0,75$ $t=3,73$	$*2,16 \pm 0,19$ $t=2,18$	$82,71 \pm 1,23$	$2,94 \pm 0,22$

Таблиця 3

Гематологічні показники у щурів за 3 місяці впливу попередників ендогенних нітрозамінів та електромагнітного поля

Група дослідних тварин, фактори	Лейкоцити, $10^9/\text{л}$	Паличко-ядерні нейтрофіли, %	Сегментоядерні нейтрофіли, %	Моноцити, %	Лімфоцити		Нейтрофіли	
					%	$10^9/\text{л}$	%	$10^9/\text{л}$
1 група, контроль	$14,83 \pm 1,43$	$3,71 \pm 0,29$	$20,29 \pm 1,22$	$1,00 \pm 0,01$	$71,14 \pm 1,40$	$10,49 \pm 0,90$	$24,01 \pm 1,21$	$3,60 \pm 0,45$
2 група, НН, ТЦ	$17,17 \pm 1,51$	$4,29 \pm 0,47$	$22,43 \pm 1,29$	$0,86 \pm 0,14$	$68,29 \pm 0,97$	$11,72 \pm 1,03$	$26,71 \pm 1,08$	$4,63 \pm 0,52$
3 група, ЕМП	$17,46 \pm 1,40$	$4,71 \pm 0,42$	$23,71 \pm 1,17$	$1,00 \pm 0,01$	$*65,57 \pm 1,63$ $t=2,39$	$11,50 \pm 1,05$	$*28,43 \pm 1,23$ $t=2,57$	$*4,91 \pm 0,33$ $t=2,35$
4 група, НН, ТЦ+ЕМП	$17,79 \pm 1,27$	$3,71 \pm 0,42$	$24,00 \pm 1,89$	$0,86 \pm 0,14$	$*66,14 \pm 1,44$ $t=2,49$	$11,83 \pm 1,02$	$27,71 \pm 1,73$	$*4,87 \pm 0,26$ $t=2,44$

більш значне зниження абсолютного та відносного числа Т-і В-клітин порівняно з виявленими змінами у попередній термін. Паралельно зареєстровано, як і за ізолюваного впливу МП, збільшення кількості нейтрофілів (у тому числі сегментоядерних) та фагоцитуючих клітин, що може свідчити про активацію факторів системи неспецифічної резистентності організму, ймовірно, спричинено дією ЕМП.

Вивчення ГНТ та ГСТ після впливу факторів протягом 3-х місяців показало посилення алергічних реакцій порівняно з попереднім терміном. Разом з тим, показники алергії не виходили за верхню межу слабко-позитивної реакції, тобто не перевищували 20% дегранульованих базофілів. Так, у щурів, які отримували ПНА (2 група), зберігалася аутосенсibiliзація до тканинного антигену – печінки (дегрануляція базофілів становила $(13,14 \pm 1,14)\%$), сенсibiliзація до гаптенів НН, ТЦ (відсоток дегранульованих базофілів становив $(13,14 \pm 0,74)\%$, $(14,86 \pm 0,74)\%$ відповідно). Під час опромінення МП відзначено розвиток аутосенсibiliзації до тканинного антигена – головного мозку, на що вказує відсоток гранульованих базофілів – $(13,14 \pm 0,74)\%$. За поєднаного впливу досліджуваних факто-

рів додатково до сенсibiliзації до гаптенів НН та ТЦ, яка спостерігалася у попередній термін, розвинулася аутосенсibiliзація до антигенів печінки та мозку. Відсоток дегранульованих базофілів становив відповідно $(15,43 \pm 1,04)\%$ та $(17,14 \pm 0,74)\%$. Як і у попередній термін, означені ефекти у щурів цієї групи супроводжувалися розвитком ГСТ. При цьому індекс гальмування розпластування макрофагів становив 0,79, тобто $<0,8$, коли реакція розглядається як позитивна.

Отже, проведений порівняльний аналіз гематологічних та імунологічних показників у тварин усіх груп за різної тривалості ізолюваної та поєднаної дії досліджуваних факторів свідчить про переважно супресивний характер впливу на різні складові імунітету. При цьому стійка імуносупресія з максимальним проявом спостерігалася за поєднаної дії магнітного поля і ПНА.

Спільним і найбільш раннім показником впливу на імунну систему став розвиток супресії Т-клітинної ланки імунітету, що спостерігався і за роздільного, і за сумісного впливу хімічного та фізичного факторів протягом усього досліду (трьох місяців).

Супресія Т-клітинної ланки у комплексі з показниками генотоксичного ефекту забезпечує більш надійну оцінку онкогенного потенціалу сумісного впливу магнітного поля та ендогенних нітрозамінів, як показали результати наших попередніх досліджень.

На прикладі відомого канцерогена бенз(а)пірену за умов нашкірних аплікацій та перорального введення мишам було встановлено однакові закономірності незалежно від шляху впливу: дозозалежне зростання показників геноток-

сичного ефекту (частоти МЯ у клітинах мішеневих органів – шкіри, передшлунка) та супресії Т-клітинної ланки імунітету (зменшення кількості Т-лімфоцитів) протягом першого місяця впливу, які характеризувалися паралелізмом розвитку, односпрямованістю відносно канцерогенезу (тобто його посиленням) і наявністю достовірного зворотного кореляційного зв'язку між ними. У період між першим та третім місяцями спостерігалася стабілізація кількості МЯ на різних рівнях залежно від дози БП і поглиблення імуносупресії за рахунок пригнічення також гуморальної ланки.

Вказані закономірності спостерігалися тільки онкогенно активних доз БП, які у пізні терміни досліду індукували у мишей пухлини шкіри та передшлунка, що підтверджувало зв'язок виявлених ранніх показників змін з кінцевим ефектом і їхнє прогностичне значення.

На відміну від БП токсичні сполуки (ацетон, фенол) не викликали генотоксичний ефект, а прояви імуносупресії мали транзиторний характер і на кінець третього місяця відновлювалися до рівня показників в інтактних тварин.

Отримані результати дозволили дійти висновку про значущість комплексу показників поєднаних генотоксичних та імунологічних змін і можливість їх використання як ранніх критеріїв для прискореного тестування хімічних канцерогенів і оцінки їхньої небезпеки у субхронічному досліді тривалістю до 3-х місяців. Такий термін може забезпечити визначення характерних для хімічних канцерогенів ознак – генотоксичного ефекту та імуносупресії, а також диференціювання їх з токсичними сполуками.

Таблиця 4

Імунологічні показники у щурів за 3 місяці впливу попередників ендогенних нітрозамінів та електромагнітного поля

Група дослідних тварин, фактори	Т-лімфоцити		В-лімфоцити		Кількість фагоцитуючих клітин	
	%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$
1 група, контроль	$37,14 \pm 1,06$	$3,89 \pm 0,37$	$25,00 \pm 0,98$	$2,62 \pm 0,25$	$76,57 \pm 1,02$	$2,77 \pm 0,35$
2 група, НН, ТЦ	$*30,14 \pm 0,77$ $t=3,81$	$3,53 \pm 0,32$	$*21,00 \pm 1,05$ $t=2,78$	$2,46 \pm 0,25$	$79,71 \pm 1,08$	$3,68 \pm 0,40$
3 група, ЕМП	$*31,57 \pm 1,15$ $t=2,75$	$3,68 \pm 0,43$	$*21,43 \pm 1,0$ $t=2,55$	$2,50 \pm 0,31$	$*84,00 \pm 1,41$ $t=4,27$	$*4,14 \pm 0,32$ $t=2,89$
4 група, НН, ТЦ + ЕМП	$*28,86 \pm 1,06$ $t=4,96$	$3,39 \pm 0,27$	$*22,00 \pm 0,19$ $t=2,50$	$2,62 \pm 0,28$	$*83,29 \pm 0,94$	$*4,03 \pm 0,19$ $t=3,16$

З урахуванням цих даних подібний підхід було використано нами при вивченні поєднаної дії ЕНА і ЕМП промислової частоти. Результати вивчення генотоксичності детально висвітлені раніше [12]. Необхідно підкреслити, що введення ПНА викликало достовірне, порівняно з інтактними тваринами, зростання частоти клітин з МЯ у кістковому мозку, що збігається з даними попередніх досліджень про онкогенну активність рівнів ендогенних НА, які утворюються при введенні НН та ТЦ у тих самих дозах.

У таблиці 5 наведено порівняльні дані генотоксичного ефекту за частотою поліхроматофільних еритроцитів з МЯ (МЯПХЕ) у кістковому мозку та розвитку імуносупресії (кількість Т-лімфоцитів) за 3 місяці за роздільного та сумісного впливу ПНА і ЕМП промислової частоти.

Як можна бачити, кількісні параметри генотоксичного ефекту та імуносупресії, які відображають рівень відхилень від показників тварин контрольної групи за роздільного та сумісного впливу факторів, ілюструють наявність встановленого раніше взаємозв'язку між такими показниками.

На цей час максимальне зниження кількості Т-лімфоцитів з найбільшою різницею з показниками у контролі, тобто максимальний ступінь супресії клітинної ланки імунітету, відзначено за поєднаної дії факторів (4 група) і збігається з максимальним генотоксичним ефектом – найбільшою частотою клітин з МЯ у кістковому мозку щурів.

Менша кількість Т-лімфоцитів порівняно з показниками у

тварин контрольної групи і водночас вищий їхній рівень за величину аналогічного показника у тварин четвертої групи спостерігалися за роздільного впливу обох факторів (2 і 3 групи), що вказувало на менший ступінь супресії. Відповідно нижчими були показники генотоксичного ефекту у тварин цих груп. Тобто зростання супресії залежно від ізолюваної чи поєднаної дії ЕНА, опромінення магнітним полем супроводжувалося відповідним паралельним зростанням генотоксичного ефекту від мінімальних величин (7,00±0,14; 0,12%) за впливу ЕМП 50 Гц, 90 мкТл до максимальних (10,67±0,3; 0,18%) за поєднаної дії факторів.

Отже, результати наших досліджень чітко вказують на сприяння супресії імунної системи посиленню мутацій і взаємозв'язок між ними. З урахуванням доведеної раніше збіжності комплексу ранніх показників імуносупресії і генотоксичного ефекту зі специфічним для канцерогенів кінцевим ефектом (розвитком пухлин) ці результати передбачливо свідчать про потенційно більшу канцерогенну небезпеку поєднаної дії досліджуваних факторів порівняно з ізолюваною дією кожного з них, що можна зобразити як ЕНА + ЕМППЧ > ЕНА > ЕМП.

Крім того, отримані нами експериментальні результати у сукупності з даними літератури про існування взаємозв'язку між частотою МЯ в еритроцитах крові та супресією Т-клітинної ланки й інших компонентів імунітету серед населення [13] вказують на потенційну онкогенну небезпеку сумісного впливу хімічних кан-

церогенів і МП промислової частоти також для людей.

Нині роль імунної системи, зокрема її супресивного стану, у канцерогенезі загальновідома. Разом з тим, механізми впливу зовнішніх факторів різної природи на імунну систему донині залишаються остаточно не з'ясованими.

Зокрема, стосовно канцерогенів хімічної природи доведено, що усі імунотоксичні для гризунів сполуки є для них канцерогенними. Встановлено високу кореляцію між імунотоксичністю та канцерогенністю, проте клітинні основи донині невідомі і потребують подальших досліджень [14]. Припускається, що незалежно від механізмів дії наслідком впливу канцерогенів є порушення балансу між процесами проліферації, диференціювання та апоптозу клітин, що врешті-решт може призвести до пригнічення функції імункомпетентних клітин. Не виключена у цьому роль підвищення внутрішньоклітинного вмісту Ca⁺⁺ у розвиткові імуносупресії, індукованої канцерогенами [15].

Нині відсутня також теорія щодо механізмів впливу НЧЕМП на імунну систему. У цьому аспекті привертають увагу повідомлення стосовно

Таблиця 5

Кількість Т-лімфоцитів у периферичній крові і частота поліхроматофільних еритроцитів з мікроядрами (МЯПХЕ) у кістковому мозку щурів за 3 місяці ізолюваної та поєднаної дії ендогенних нітрозамінів та магнітного поля (50 Гц)

Група	Фактор	Кількість Т-лімфоцитів у середньому у групі			МЯПХЕ / 2000 ПХЕ у середньому у групі		
		абс. x 10 г/л	%	Статистичні параметри	абс.	%	Статистичні параметри
1	інтактний контроль	3,89±0,37	37,14±1,06	-	5,00±0,38	0,08	-
2	НН 100 мг/кг ТЦ 20 мг/кг	3,53±0,32	30,14±0,77	t = 3,81 p<0,05	8,00±5,8	0,13	t = 3,66 p<0,05
3	ЕМП 90 мкТл	3,68±0,43	31,57±3,81	t = 2,75 p<0,05	7,00±0,12	0,12	t = 1,73 p>0,05
4	НН 100 мг/кг ТЦ 20 мг/кг ЕМП 90 мкТл	3,39±0,27	28,86±1,06	t = 4,96 p<0,05	10,67±0,33	0,18	t = 8,50 p<0,001

Примітка: вірогідні відмінності при значенні $t \geq 2,18$.

дії високочастотних ЕМП та деяких хімічних сполук на імунну систему, які викликають біо-ефекти, подібні до індукованих НЧЕМП.

Так, висловлюється припущення, що радіочастотні ЕМП викликають порушення гомеостазу кальцію, що, у свою чергу, призводить до порушень тимус-опосередкованих механізмів імунного захисту [16]. Це, на нашу думку, може бути справедливим і щодо впливу НЧЕМП на імунну систему.

У зв'язку з наявністю подібних ефектів, таких як активація вільнорадикальних процесів, зростання перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та продуктів ПОЛ, супресія функції антиоксидантої системи за впливу НЧЕМП на організм [8] і детергентів заслугове на увагу концепція біологічної дії ксенобіотиків на організм тварин, висунута Н.Г. Щербань і співавторами [17]. Концепція ґрунтується на результатах особистих експериментальних досліджень біохімічних механізмів структурно-функціональних порушень в організмі за тривалого впливу детергентів.

Авторами сформульована концептуальна модель імунопатогенетичних механізмів супресії клітинного та гуморального імунітету, яка полягає у тому, що детергенти та інші ксенобіотики у разі надходження до організму викликають комплекс порушень (стимулюють вільнорадикальні процеси, ПОЛ, модулюють розвиток оксидативного стресу, виснажують антиоксидантну систему, знижують окисне фосфорилювання і біоенергетику), наслідком чого є порушення ядерно-цитоплазматичної структурно-метаболическої взаємодії, яка лежить в основі пригнічення синтезу білків, ДНК, РНК та клітинного і гуморального імунітету. Автори наголо-

шують, що порушення процесів окиснення і фосфорилювання у системі дихальних ланцюгів переносу протонів та електронів є одним з провідних факторів порушення метаболізму і пригнічення клітинного та гуморального імунітету під впливом досліджуваних ксенобіотиків.

Враховуючи наведені дані, логічно припустити, що пригнічення клітинної та гуморальної ланок імунної системи під впливом МП у нашому досліді можуть розвиватися внаслідок подібних порушень в організмі тварин.

При вивченні біохімічних змін за дії МП промислової частоти (50 Гц) з різними рівнями навантаження (10 мкТл, 30 мкТл, 90 мкТл) активація вільнорадикальних процесів, ПОЛ та зростання продуктів ПОЛ, найбільш стабільні і суттєві за одночасного пригнічення функції антиоксидантної системи були зареєстровані на рівні 90 мкТл [8].

Разом з тим, очевидна відмінність МП від факторів хімічної природи є підставою думати, що незважаючи на подібність індукованих ними ефектів конкретні механізми їх формування за впливу фізичних і хімічних факторів можуть бути різними. З'ясування та уточнення механізмів дії ЕМППЧ потребує цілеспрямованих досліджень на різних рівнях.

Висновки

1. Встановлено більш значущі зрушення у різних ланках імунної системи щурів за дії попередників синтезу НА – нітриту натрію, тетрацикліну та онкогенно активних рівнів ендогенно утворених нітрозамінів у поєднанні з опроміненням магнітним полем промислової частоти 90 мкТл порівняно з ізольованим впливом цих факторів, які проявилися пригніченням клітинної й гуморальної ланок імунітету, розширенням спектра імунних розладів за рахунок активації факторів неспецифічного захисту і розвитку алергічних реакцій (гіперчутливості негайного та сповільненого типів).

2. Показано, що найбільш раннім показником, чутливим до дії досліджуваних факторів, є розвиток супресії Т-клітинної ланки імунітету, який реєструється вже за один місяць впливу і поглиблюється з подовжен-

ням терміну дії до трьох місяців.

3. Шляхом порівняння властивої для дії канцерогенів реакції організму – розвитку супресії (клітинної ланки) та специфічного для них генотоксичного ефекту (за показником частоти мікроядер у поліхроматофільних еритроцитах кісткового мозку) у щурів після трьохмісячного ізольованого та сумісного впливу ендогенних нітрозамінів, попередників їх синтезу, і магнітного поля встановлено взаємозв'язок між вивченими показниками, що підтверджує можливість їх використання у комплексі як ранніх критеріїв для прогнозування потенційної онкогенної небезпеки факторів хімічної та фізичної природи.

4. Виявлено посилення супресії Т-клітинної ланки імунітету і зростання генотоксичного ефекту за поєднаної дії рівнів ендогенних нітрозамінів, що утворюються з їхніх попередників, і магнітного поля порівняно з ізольованою дією кожного з цих факторів, що свідчить про потенційно більшу онкогенну небезпеку їхнього сумісного впливу на організм.

ЛІТЕРАТУРА

1. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Non-ionizing Radiation. Part 2: Radiofrequency Electromagnetic Fields. Lyon : IARC, 2013. Vol. 102. P. 143-88.

2. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Chemical Agents and Related Occupations. Lyon : IARC, 2012. Vol. 100. 576 p.

3. Maes A., Verschaev L. Genetic damage in humans exposed to extremely low-frequency electromagnetic fields. *Arch. Toxicol.* 2016. Vol. 90. № 10. P. 2337-2348.

4. Томилин Н.В., Филько О.А., Храброва А.В. и др.

Сравнительное экспериментальное исследование мутагенного и цитотоксического действия нитрозодиметилamina в условиях острого и субхронического введения с помощью микроядерного теста на ретикулоцитах и лимфоцитах периферической крови белых крыс.

Экспериментальная токсикология. 2017. Т. 18. С. 382-394.

5. Demetriou C.A., Raaschou-Nielsen O., Loft S. et al. Biomarkers of ambient air pollu-

tion and lung cancer: a systematic review. *Occup. Environ. Med.* 2012. Vol. 69. P. 619-627.

6. Черниченко І.О., Баленко Н.В., Остах О.М. Обґрунтування критеріальної значущості комплексу генотоксичних та імунологічних показників для експрес-оцінки канцерогенів навколишнього середовища. *Довкілля та здоров'я*. 2013. № 2. С. 4-8.

7. Черниченко І.О., Баленко Н.В., Соверткова Л.С., Литвиченко О.М. Порівняльна характеристика ендogenous синтезу канцерогенних нітрозамінів залежно від дизайну експерименту. *Довкілля та здоров'я*. 2017. № 2. С. 8-13.

8. Дідик Н.В. Вплив магнітного поля промислової частоти на стан прооксидантних та антиоксидантних показників в організмі піддослідних тварин. *Довкілля та здоров'я*. 2017. № 2. С. 13-16.

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

10. Проданчук М.Г., Жмінко П.Г., Зінченко Д.В. та ін. Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації: методичні рекомендації. *Збірник нормативних документів з охорони здоров'я*. 2002. № 8 (31). С. 149-168.

11. Оценка влияния факторов окружающей среды на иммунологическую реактивность организма: методические рекомендации / НИИ общей и коммунальной гигиены им. А.Н. Марзеева. К., 1988. 23 с.

12. Черниченко І.О., Думанський Ю.Д., Баленко Н.В., Соверткова Л.С., Бабій В.Ф. та ін. Дослідження мікроядер у кістковому мозку щурів за поєднаної дії ендogenous нітрозамінів та електромагнітного поля промислової частоти (50 Гц). *Довкілля та здоров'я*. 2017. № 4. С. 4-7.

13. Ильинских Н.Н., Новицкий В.В., Ванчугова Н.Н., Ильинских И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск, 1992. 340 с.

14. Luster M.I., Portier C., Pait D.G. et al. Risk assessment in immunotoxicology. *Fundam.*

Appl. Toxicol. 1992. Vol. 18. P. 200-210.

15. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Risks of Human Health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food / Scientific Committee on Food. Brussels, Belgium, 2002. 84 p.

16. Anghileri L.J., Mayayo E., Domingo J.L., Thouvenot P. Evaluation of health risks caused by radio frequency accelerated carcinogenesis: the importance of processes driven by the calcium ion signal. *Eur. J. Cancer Prev.* 2006. Vol. 15 (3). P. 191-195.

17. Щербань Н.Г., Мясоедов В.В., Шевченко Е.А., Кривонос К.А., Васенко А.Г. Биохимические механизмы структурно-функциональных нарушений в организме экспериментальных животных под влиянием токсических химических веществ. *Экология и промышленность*. 2010. № 4. С. 12-15.

REFERENCES

1. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Non-ionizing Radiation. Part 2: Radiofrequency Electromagnetic Fields. Lyon : IARC; 2013 ; 102 : 143-88.

2. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Chemical Agents and Related Occupations. Lyon : IARC ; 2012 ; 100 : 576 p.

3. Maes A. and Verschaeve L. *Arch. Toxicol.* 2016 ; 90 (10) : 2337-2348.

4. Tomilin N.V., Filko O.A., Khrabrova A.V. et al. *Ekspierimentalnaia toksikologija.* 2017 ; 18 : 382-394 (in Russian).

5. Demetriou C.A., Raaschou-Nielsen O., Loft S. et al. *Occup. Environ. Med.* 2012 ; 69 : 619-627.

6. Chernychenko I.O., Balenko N.V. and Ostash O.M. *Dovkillia ta zdorovia.* 2013 ; 2 : 4-8 (in Ukrainian).

7. Chernychenko I.O., Balenko N.V., Sovertkova L.S. and Lytychenko O.M. *Dovkillia ta zdorovia.* 2017 ; 2 : 8-13 (in Ukrainian).

8. Didyk N.V. *Dovkillia ta zdorovia.* 2017 ; 2 : 13-16 (in Ukrainian).

9. Principles and Methods for Assessing Direct Immunotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. Geneva : WHO; 1996 : 390 p.

10. Prodanchuk M.G., Zhminko P.G., Zinchenko D.V. et al. *Zbirnyk normatyvnykh dokumentiv z okhorony zdorovia.* 2003 ; 8 (31) : 149-168 (in Ukrainian).

11. Marzeiev Research Institute of Common and Municipal Hygiene. Otsenka vliianiya faktorov okruzhayushchey sredy na immunologicheskuyu reaktivnost organisma: metodicheskie rekomendatsii [Assessment of the Effect of the Environmental Factors on the Immunological Reactivity of the Organism : Methodical Recommendations]. Kyiv ; 1988 : 23 p. (in Russian).

12. Chernychenko I.O., Dumanskyi Yu.D., Balenko N.V., Sovertkova L.S., Babii V.F., Kondratenko O.Ye., Lytychenko O.M., Serdiuk Ye.A. and Nikitina N.G. *Dovkillia ta zdorovia.* 2017 ; 4 : 4-7 (in Ukrainian).

13. Ilinskikh N.N., Novitskiy V.V., Vanchugova N.N. and Ilinskikh I.N. Mikroyadernyi analiz i tsitogeneticheskaya nestabilnost [Micronuclear Analysis and Cytogenetic Instability]. Tomsk, Russia ; 1992 : 340 p. (in Russian).

14. Luster M.I., Portier C., Pait D.G., White K.L. Jr, Gennings C., Munson A.E. and Rosenthal G.J. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1992 ; 18 : 200-210.

15. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Risks of Human Health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food / Scientific Committee on Food. Brussels, Belgium ; 2002 : 84 p.

16. Anghileri L.J., Mayayo E., Domingo J.L. and Thouvenot P. *Eur. J. Cancer Prev.* 2006 ; 15 (3) : 191-195.

17. Shcherban N.G., Miasoedov V.V., Shevchenko E.A., Krivonos K.A. and Vasenko A.G. *Ekologija i promyshlennost.* 2010 ; 4 : 12-15 (in Russian).

Надійшло до редакції 17.04.2018