

ІМУНОТОКСИЧНІСТЬ НІКЕЛЮ ТА ЙОГО СПОЛУК

Прикарпатський національний університет ім. В. Стефаника
Івано-Франківськ, Україна

В результаті нераціонального використання природних ресурсів, недосконалої техніки промислового виробництва в навколишнє середовище людини поступають різні хімічні забруднювачі, серед них велику частку займають сполуки важких металів, вміст яких в сотні і тисячі разів перевищує їх фонові концентрації [1].

Екзогенні впливи важких металів малої інтенсивності, що мають здатність до кумуляції в організмі, приводять до виникнення та розвитку так званих загальних неспецифічних проявів патології, включаючи віддалені ефекти, зниження імунної реактивності і сенсibiлізацію.

З моменту перших досліджень біологічної ролі нікелю минуло понад 100 років, проте фізіологічне значення цього мікроелементу, форма перебування його в організмі людини, участь в патогенезі різних захворювань у багатьох відношеннях залишаються невивченими. Недостатньо досліджені і зміни, що виникають в імунній системі при надлишковому надходженні нікелю в організм.

Серед перехідних металів нікель як екозабруднювач займає пріоритетне місце, оскільки його рівень в об'єктах навколишнього середовища щорічно інтенсивно збільшується. За даними [2], на поверхню ґрунту щорічно поступає близько 15 тис. т цього металу, в атмосферу — в 3 рази більше, з тенденцією до підвищення.

Найважливішими джерелами забруднення нікелем довкілля є підприємства гірничорудної промисловості, кольорової металургії, машинобудівельні, металообробні, хімічні заводи, транспорт, теплові електростанції, які працюють на мазуті і кам'яному вугіллі, та інші підприємства, що використовують в якості джерела енергії викопні вуглеводневі паливні матеріали;

підприємства по виплавці сталі, виробництву акумуляторів і гальвано-технічні цехи [3].

Потужним джерелом надходження важких металів у водойми є неочищені стоки промислових підприємств, в яких виявлено значну кількість (десятки, сотні міліграмів на літр) нікелю, хрому, цинку, міді та інших металів. У водоймах важкі метали переважно сорбуються завислими речовинами і з ними осідають на дно, де можуть накопичуватися протягом десятків років [1].

Нікель відноситься до розсіяних елементів біосфери. Середній вміст нікелю в ґрунтах — $4,0 \times 10^{-3}\%$, в природних поверхневих водах — $3,4 \times 10^{-7}\%$, в рослинах — $5,0 \times 10^{-5}\%$ на живу масу (при коливаннях вмісту від $1,1 \times 10^{-4}\%$ до $1,3 \times 10^{-8}\%$ в залежності від виду рослини, місцевості, ґрунту, клімату тощо) [4]. У природі нікель зустрічається у вигляді сполук з сіркою, миш'яком, сурмою.

Згідно нормативних документів, гранично допустима концентрація (ГДК) нікелю у воді вододжерел становить 0,1 мг/л [5], оксиду нікелю (II), оксиду нікелю (III), сульфідів нікелю (в перерахунку на нікель) — 0,5 мг/л, солей нікелю у вигляді гідроаерозолі (в перерахунку на нікель) — 0,0005 мг/л [3].

Вміст нікелю в промислово- побутових водах Києва становить 3,5 мг/кг. Збільшення вмісту нікелю в річковій воді може спостерігатися в місцях, що розміщені за течією значно нижче, ніж випуск стічних вод, наприклад, на відстані 50 км [5].

Нікель як біоелемент. Нікель відноситься до життєво необхідних (есенціальних) елементів для живих організмів. В хімічному відношенні нікель має середню активність. В сполуках проявляє ступінь окислення — 1, 0, +1, +2 (найбільш характерна), +3, +4. Для нікелю харак-

терна висока електро- і тепло-провідність. Нікель феромагніт, але не такий сильний як залізо, здатний взаємодіяти з киснем повітря, характеризується середньою електро-позитивністю ($E^0 = -0,25$ В), розчиняється в розведених кислотах [5].

В організмах тварин, рослин і бактерій нікель взаємодіє з кальцієм, залізом, магнієм й іншими металами, найбільше значення має взаємодія з міддю, цинком і йодом [5].

Ще в 20-х роках минулого століття було висловлено припущення, що нікель відіграє певну фізіологічну роль в організмі тварин і людини. В подальшому виявилось, що уже в період ембріогенезу, він концентрується в тих органах і тканинах, де відбуваються інтенсивні обмінні процеси, зокрема, біосинтез гормонів, вітамінів і біологічно активних сполук [4].

З часу відкриття В.І. Вернадським у 1922 році нікелю в організмі тварин з'явилось багато робіт стосовно знаходження і кількісного визначення цього елемента у тканинах тварин і людини. Вміст нікелю в організмах наземних тварин нижчий, ніж в морських ($1,0 \times 10^{-4}\%$ та $1,6 \times 10^{-4}\%$ на живу вагу, відповідно). В організмі людини і тварин нікель концентрується в печінці. Встановлено, що нікель виявляється в печінці і селезінці плода людини на 20-25 тижні. Поява нікелю в печінці й селезінці плода пов'язана з їх кровотворною функцією [6].

Для живих організмів особливе значення мають розчинні форми нікелю, які, потрапляючи у воду, рослинні і тваринні організми, в кінцевому результаті попадають в організм людини. В тканинах людини вміст нікелю невисокий і переважно локалізований в кістках і легенях.

В організмі людини нікель входить до складу низки ферментів. Нестача нікелю призводить до інгібування печінкових ензимів: глюкозо-6-фосфат-, лактат-, ізоцитрат-, малат-, глутаматдегідрогенази, дезорганізації функціонування ендоплазматичного ретикулулу гепатоцитів, дихальних процесів в мітохондріях, змінює вміст ліпідів в печінці. Нікель також бере участь в регуляції метаболізму гем у печінці і нирках, індукуючи активність гем-оксигенази [5].

За своїми фізичними властивостями нікель в організмі людини може відігравати роль активатора окисно-відновних процесів у вигляді металоорганічної сполуки. Одним із найважливіших факторів, який визначає цю його функцію, є розмір іонів. У більшості випадків метали, що виконують роль специфічних активаторів ферментів, мають атомні маси в межах між 19 і 30. В зв'язку з цим нікель відносять до числа біологічних активаторів, які активують ряд пептидаз і деякі ферменти, що діють на азотовмісні угруповання [4].

Є дані про активуючий вплив нікелю на аргіназу, карбоксилазу, трипсин та інші ферменти; на уреазу нікель впливає пригнічуючи, однак в живому організмі ця дія не досліджена.

Нікель причетний до структурної організації і функціонування основних клітинних компонентів — ДНК, РНК і білка. Висловлюють припущення про участь нікелю в гормональній регуляції організму, зокрема, в обміні пролактину [4].

Рівень нікелю в крові людини залежить від віку та пори року. Транспорт нікелю в крові здійснюється в основному альбуміном, який утворює з ним пентакоординований комплекс, що включає в якості лігандів азот -аміногрупи, два депротонованих азоти пептидних зв'язків, імідазольний азот і карбоксильну групу бокового ланцюга залишку аспарагінової кислоти. В транспорті нікелю бере участь і потрійний комплекс цього мікроелементу з альбуміном і гістидином. Оскільки зв'язок нікелю з останнім міцніший, ніж з альбуміном, то ця амінокислота здатна через утворення потрійного комплексу вивільняти нікель із його сполуки з транспортним білком і здійснювати перенесення його через клітинну мембрану у вигляді низькомолекулярного комплексу з гістидином [4].

У крові нікель зв'язується із специфічним білком — нікелеплазміном. Із крові нікель проникає в тканини за участю металогіонеїнів [1].

В ультрафільтраті сироватки крові кролів виявлено 5 різних комплексів нікелю з цистеїном, гістидином і аспаргіновою кислотою, які також беруть участь у позаклітинному транспорті цього мікроелементу [4].

Нікель (II) здатний утворювати різні комплекси з хімічними компонентами біологічних середовищ. У вигляді сполук металу разом із забрудненим повітрям нікель може надходити через легені. Частина нікелю затримується в мукоцитах і потім виділяється зі слизом, певна кількість видихається, а решта (25%) проникає у паренхіму легень і далі поступово потрапляє у кров та інші тканини. Припускають, що здатність нікелю до акумуляції в легенях пов'язана з високою стійкістю комплексів, утворених іоном нікелю з білками тканини легень [1].

Нікель здатний накопичуватись в нирках, головному мозку, ендокринних залозах і всіх внутрішніх органах. Розчинні сполуки нікелю легко проникають через шкіру людини і здатні викликати дерматити [1].

Токсичні властивості нікелю. Сполуки нікелю в субмілімолярних концентраціях індукують перехід ДНК із В-форми в Z-форму. Стабілізація Z-форми ДНК може бути одним з факторів в механізмі нікелевого канцерогенезу. Іншим важливим ініціальним етапом цього механізму є інгібування нікелем і його сполуками в легенях і печінці активності бенз(а)пірен-гідроксилази — мікросомального ферменту, який перетворює канцерогенний бенз(а)пірен в гідроксильовані неканцерогенні метаболіти [7].

Токсичний ефект нікелю супроводжується зниженням активності низки металоферментів, порушенням синтезу білка, РНК і ДНК. Розчинні і нерозчинні сполуки нікелю індукують одониткові розриви ДНК, порушують зшивки ДНК-білок. Внутрішньоклітинна концентрація нікелю тісно пов'язана з рівнем пошкодження ДНК та інтенсивністю її репарації. Пошкоджуюча дія іону нікелю в нуклеїнових кислотах проявляється в місці розміщення аденіну і гуаніну, з якими, як показано *in vitro*, взаємодіє цей мікроелемент [4].

Дія нікелю реалізується на клітинному і субклітинному рівнях. Клітини печінки і дванадцятипалої кишки білих щурів відрізняються по чутливості до дії перорально введеного нікелю. Інтотоксикація нікелем викликає виражену гіпертрофію ядерця гепатоцитів, збільшення частки агранулярної ендоплазматичної сітки, появу юних мітохондрій.

При дії 2,5 мМ нікелю хлориду на клітини яєчника китайського хом'ячка протягом 1 год утворюються одониткові розриви ДНК, а потім зшивки ДНК-білок, кількість яких зростає з часом. Нікель хлорид знижує точність синтезу ДНК [8].

В тестах на бактеріях сполуки нікелю не викликають мутагенного ефекту, але індукують мутації у культивованих клітинах ссавців. При дії нікелю сульфату чи сульфіді на культури клітин ссавців збільшується кількість хромосомних аберацій і у меншій мірі — обмін сестринських хроматид. Розчинний нікель сульфат викликає трансформацію ембріональних клітин хом'ячка, але у меншій мірі, ніж нікель сульфід, який проникає у клітини шляхом фагоцитозу. При дії нерозчинного нікелю сульфіді вміст іонів нікелю у ядрі в 10 разів більший, ніж при дії розчинного хлориду нікелю [8].

В культурі клітин HeLa під дією нікелю знайдені специфічні для інтоксикації цим мікроелементом зміни: поява атипових полісом (у вигляді спіралей і ланцюжків) і кристалоподібних включень, оточених мембраною, а також деструкція мітохондрій в поєднанні з гіпертрофією ядерця, комплексу Гольджі і розширенням цистерн ендоплазматичної сітки з накопиченням в них електронно-щільного вмісту [4].

При отруєнні щурів хлоридом і сульфатом нікелю спостерігається зниження активності лужної фосфатази та ентерокинази в кишечнику. При пероральному введенні морським свинкам хлориду нікелю в дозах 0,005 і 0,02 мг/кг відбувається активація, а при дозі 0,5 мг/кг — інгібування цитохромоксидази і сукцинатдегідрогенази у різних тканинах. В тонкому кишечнику щурів при отруєнні нікелем хлориду або сульфату (7 міс в дозі 5 мг/кг) виявлена значно виражена проліферація лімфогістоцитарних елементів в стромі ворсинок [5].

Сполуки нікелю не мають високої токсичності, однак в металургії слід мати на увазі, що нікель-карбоніл Ni(CO)₄ може викликати професійне отруєння при вмісті його у повітрі в кількості 7-35 мг/л. Проникаючи через дихальні шляхи і розкладаючись в крові, він специфічно впливає на ендотелій судин, особливо мозку і наднирників, де виникають багаточисленні кро-

вовиливи [6]. Карбоніл нікелю інтенсивно поглинається тканинами: близько 50% відкладається у внутрішніх органах і крові; 30% — у м'язах і жировій тканині; 15% — в кістках і сполучній тканині [1]. Накопичення цього мікроелементу в легенях і нирках пов'язують з його канцерогенним потенціалом, оскільки відомі випадки нікелевого раку нирок і легень, але не раку печінки.

Канцерогенну дію нікелю (при депонуванні його в тканинах) можна узагальнити наступним чином: інгібування активності бенз(а)пірен-гідроксилази і ферментів детоксикації канцерогенів; пригнічення активності природних кіллерів; формування комплексу білок-нікель-ДНК; розрив молекул ДНК з порушенням транскрипції, зокрема індукції синтезу РНК; індукція хромосомних пошкоджень; поява хромосомних мутацій, активація онкогенів; розвиток метапластичних, диспластичних і неопластичних процесів (рак різної локалізації).

Токсична дія нікелю на організм (при депонуванні його в тканинах) полягає в індукції гострих і хронічних запальних процесів, змінах функціональної активності макрофагів; вазоконстрикторному ефекті; модифікації метаболізму ліпідів, білків (ферментів), глікогену, глюкози, ДНК, РНК; посиленні перекисного окислення ліпідів; збільшенні проникливості біологічних мембран; деструкції мітохондрій, змінах енергетичного обміну [4].

Вплив нікелю на гідробіонти. Токсичний вплив нікелю та його сполук на гідробіонти вивчається ще з 80-х років минулого сторіччя.

Нікель хлорид в концентрації 4,5-10,0 мг/л викликає загибель коропа через 200 год [2], нікель токсично діє на райдужну форель в концентрації 25,0 мг/л і на лина в концентрації 55,0 мг/л. Найбільш чутливими серед гідробіонтів до токсичної дії нікелю є дафнії (1,9 мг/л) і голяни (0,38 мг/л). Моллюски виявились більш стійкими до токсичної дії нікелю — 14,3 мг/л [2]. До нікелю хлориду з гідробіонтів найбільш чутливими виявились водорість мікрореґма та кишечна паличка: в концентрації 0,1 мг/л хлорид нікелю викликає їх загибель, у дафній — в концентрації 0,7 мг/л. Сульфат нікелю токсично діє на водорість

мікрореґма в концентрації всього 0,007 мг/л. Дафнії виявились більш стійкими до дії нікелю сульфату, ніж до дії нікелю хлориду — загибель викликає концентрація нікелю сульфату 6,0 мг/л. Особливу стійкість до нікелю сульфату проявила риба колюшка — загибель особин спостерігали через 60 год в концентрації нікелю сульфату 50,0 мг/л [9].

Вплив на організм коропа *Surginus carpio* вивчені для нікелю і хлориду нікелю. Стосовно впливу нітрату нікелю, сульфату нікелю, амоній-нікель сульфату на гідробіонти дані літератури нечисленні і потребують подальших досліджень. Середньо смертельні концентрації нікелю становлять для прісноводних безхребетних *Crustacea* — 0,13-15,2 мг/л (24-504 год), для ракоподібних — 6,74 мг/г (96 год) [10].

Накопиченню нікелю гідробіонтами сприяє розчинний стан нікелю в воді. Нікель активно накопичується із середовища водоростями через 4 год і артеміями через 48 год до зрівноваженого стану в системі середовище — гідробіонти. При цьому зв'язок нікелю з одноклітинними водоростями дуже міцний, що пояснюється механізмом взаємодії металу з внутрішніми структурами клітин водоростей. З клітин виводиться лише 6% нікелю, а 94% металу міцно зв'язується в клітині. Вже при концентрації нікелю 0,03 мг/л у ракоподібних знижується здатність до репродукції. Верхнім біогеохімічним порогом екологічної толерантності вважають для пелаґеалій океану 5,0 мг/л і для внутрішніх морів 10,0 мг/л. При порівнянні чутливості гідробіонтів та ссавців (гризунів) до нікелю і його сполук гідробіонти виявились більш чутливими [5].

Найбільшу здатність накопичувати важкі метали мають завислі речовини і донні осади, потім планктон, бентос і риби. Загалом інтенсивність акумуляції металів залежить від питомої поверхні гідробіонтів, їх фізичного стану, потреби в мікроелементах та інших факторів. Гідробіонти переводять розчинені форми елемента у завислі, накопичують для утворення різних тканин, перетворюють в металоорганічні сполуки. При відмиранні організми розпадаються, при цьому нерозчинні форми переходять у розчинні [1].

Риби як модель досліджень в лабораторних умовах можуть успішно використовуватися для передбачення ризиків токсичності, які пов'язані з імуномодуючими агентами забруднень водних систем [11]. На даний час все більшого значення в регуляції роботи імунної системи риб набувають техногенні впливи на середовище існування, які викликають пригнічення вроджених і набутих механізмів імунітету [12]. Важкі метали та їх сполуки забруднюють природні водойми і спричиняють відчутний вплив на популяції водних тварин, в тому числі риб. Імунну систему риб розглядають як важливий біоіндикатор забруднення довкілля. Встановлено, що риби набагато чутливіші, ніж вищі хребетні, до важких металів, які здійснюють вплив на імунологічні реакції організму [13].

Таким чином, можна передбачити ризики токсичності забруднених водойм для популяцій риб, а також ризик вживання риб, органи яких містять важкі метали, для людини.

Імунотоксичність нікелю. Імунологічний моніторинг за ксенобіотиками, в тому числі важкими металами, здійснюється на кількох рівнях: природна резистентність, імунна відповідь, імунопатологія. Об'єктами вивчення імунотоксичності важких металів можуть бути як ссавці (люди, миші, шурі), так і риби. Особлива роль сьогодні відводиться експериментальним дослідженням на рибах. В багатьох країнах функціонують потужні імунологічні лабораторії, які на основі численних імунологічних тестів можуть передбачити імунотоксичність ксенобіотиків для гідробіонтів.

Вплив нікелю на лімфоїдні органи. Імунотоксичність сполук нікелю в першу чергу доведена по зміні маси лімфоїдних органів та кількості імунокомпетентних клітин у експериментальних тварин та людей [5]. Haley P.J. 14 проводив інгаляційне отруєння мишей сполуками — NiSO_4 , Ni_2S_3 , NiO впродовж 6 год на день, 5 днів на тиждень. Визначали імунотоксичність цих сполук за 65 днів. Концентрація Ni_2S_3 1,8 мг Ni/m^3 призводила до зменшення маси тимусу, збільшення кількості легеневиких лімфатичних вузлів, зменшення антитілоутворюючих клітин.

Досліджено [15] вплив суміші металів (миш'як, кадмій, ртуть,

хром, нікель, марганець, залізо, свинець) на імунну систему щурів через питну воду. Вони викликають з боку імунної системи інші ефекти, ніж лише сполуки нікелю. Концентрації металів становили 0,1; 10; 100 ГДК. Отруєння проводили 90 днів. 10 і 100 ГДК суміші металів збільшували відносну масу селезінки і тимусу. На гістологічних препаратах селезінки виявлено виснаження лімфоїдних елементів, атрофічні фолікули із зниженням фолікулярної діяльності при вищих дозах. Через 90 днів при 10 і 100 ГДК знижувалась кількість еритроцитів, рівень гемоглобіну, загальна кількість лейкоцитів. При цьому 100 ГДК знижувала кількість лімфоцитів через 60 і 90 днів, однак кількість нейтрофілів через 90 днів зростала.

У щурів і кролів, які отримували хлорид нікелю із питною водою в дозах 0,5-5,0 мг/кг і 0,2-0,5 мг/кг, спостерігалось розростання лімфоїдної тканини навколо судин і вивідних протоків [5].

У дослідах на морських свинках [8] було показано, що внутрішньо-очеревинне введення через 1 день (впродовж 10 днів) 1 мг хлориду нікелю викликає поліцитемію і макроцитоз. Кількість юних форм як білої, так і червоної крові при цьому збільшується. Кількість еритроцитів зростає на 38% вже після 2-3 ін'єкцій, рівень ретикулоцитів зростає пропорційно до еритроцитів, кількість гемоглобіну та лейкоцитів збільшується на 15%. Максимальні зміни в крові відмічаються після 4 ін'єкцій (всього 4 мг хлориду нікелю). У тварин реєструється гіперемія кісткового мозку, печінки, селезінки, нирок, наднирників і легень. Подальше введення нікелю викликає втрату маси, огрубіння шерсті, зростаюче ускладнення рухів і загибель тварин.

Вплив нікелю та його сполук на неспецифічну резистентність. Під впливом NiCl_2 у щурів і мавп знайдені істотні зміни у функції природних кіллерів [16], що дозволило авторам рекомендувати тест на функцію природних кіллерів як надійний біомаркер для вивчення імунних ефектів екотоксикантів.

За останні роки багато робіт присвячено вивченню фагоцитозу. В першу чергу це пов'язано з доступністю фагоцитів досліджуваних об'єктів (гемолімфа, секрети, кров,

кровотворні органи, різні біологічні рідини), а також з тим, що фагоцитоз є одним з найдревніших факторів захисту і зберігся на всіх шаблях еволюції. Саме тому можна з високою вірогідністю екстраполювати результати, отримані на одному виді тварин, на інші. В середині макрофагу фагоцитовані частинки сполук металів розчиняються швидше, ніж у позаклітинному середовищі, що зумовлено, як вважають, кислим середовищем всередині вакуолей. Встановлено, що іони нікелю (II), які вивільнюються в цитоплазмі при розчиненні фагоцитованих частинок, можуть поступати в ядро макрофагів, впливаючи на їх функцію [8].

При хронічному отруєнні (3 міс) щурів аерозолем металічного нікелю в концентрації $0,5 \text{ мг/м}^3$ збільшувалась кількість змінених люмінесцируючих лейкоцитів у периферійній крові на перший і другий місяці зі зниженням до контрольного рівня в кінці експерименту. При 4-місячному інгаляційному отруєнні щурів аерозолем оксиду нікелю (II) в концентрації 0,2; 0,4 і $0,8 \text{ мг/м}^3$ виявлено потовщення міжальвеолярних перетинок в легенях, багаточисленне скупчення макрофагів, явище хронічної емфіземи, скупчення білокрислих гранул [5].

Є повідомлення про те, що нікель зменшує життєздатність альвеолярних макрофагів [4].

Вивчено дозозалежні ефекти NiCl_2 на продукцію цитокінів макрофагами у щурів [17]. Одночасно досліджували концентрацію нікелю в плазмі, яка викликала дисфункцію макрофагів. Встановлено, що NiCl_2 пригнічує продукцію прозапальних цитокінів (γ -ІФН) і збільшує продукцію протизапальних цитокінів (IL-10). Автори показали, що навіть мінімальні концентрації нікелю в плазмі ($209\text{-}585 \text{ нг/мл}$) мали імунодепресивний ефект. Концентрація NiCl_2 у плазмі $3,3 \text{ мг/кг}$ впродовж 1 год викликала зміни деяких імунологічних показників, які зберігались майже 24 год. Результати дослідів переконливо показали, що NiCl_2 пригнічує функцію макрофагів.

Різні сполуки нікелю по-різному впливають на імунну систему [14]. Досліджувалися наступні концентрації нікелю: 0,47; 2,0; $7,9 \text{ мг Ni/м}^3$ для NiO. Всі вивчені концентрації NiO призводили до зниження фагоцитарної активності альвеолярних

макрофагів. Жодна із сполук нікелю не впливала на діяльність черевних макрофагів.

Вивчено вплив нікелю і кобальту на систему комплементу [18]. Інкубація гепаринізованої плазми з нікелем в концентрації, нижчій 100 мкМ, стимулювала конверсію C3 до C3b в 4 рази швидше ніж магній, який є природним кофактором в активації альтернативного шляху. Однак, підвищення концентрації нікелю більше $0,5 \text{ мМ}$ пригнічувало цей процес. Кальцій, барій, мідь, цинк не стимулювали активацію комплементу через C3. Автори вважають, що ефекти нікелю на C3 є центральними для вивчення імунотоксичності цього металу.

Нікель має відношення до утворення двох C3-конвертаз системи комплементу: C3b, Bb альтернативного шляху, C4b, 2a — класичного шляху, в яких він активніший від Mg^{2+} . Ці дані дозволяють вважати, що нікель відіграє певну роль в активації системи комплементу [4].

Встановлено, що нікель викликає зниження вмісту лізоциму, який виробляється альвеолярними макрофагами і трахеобронхіальними слизовими залозами, а також призводить до сповільнення коливальних рухів ворсинок миготливих клітин респіраторного епітелію [4].

Досліджено вплив хлориду нікелю (0; 3; 6; 12; 24 мкг/мл) на макрофаги легень кролів 19. Макрофаги інкубували у середовищі із металом. Через 2 дні оцінювали активність лізоциму, використовуючи агарові пластини із вбитою культурою *Micrococcus lysodeikticus*. Вивчали морфологію макрофагів за допомогою електронного мікроскопа. Багато макрофагів під дією високих концентрацій нікелю мали увігнуту форму. Встановлений зворотний взаємозв'язок між активністю лізоциму і концентрацією нікелю. Прямий вплив нікелю на макрофаги зумовлював зниження активності лізоциму.

Інгаляція з хлоридом нікелю у низьких концентраціях від 0,4 до $3,9 \text{ мг/кг}$ протягом 1-4 міс (5 днів на тиждень, 6 год на день) кролям викликала істотне зниження активності лізоциму в альвеолярних макрофагах і збільшення вмісту фібронектину [20].

Білки гострої фази, металотіонейні і білки теплового шоку є

продуктом генів трьох родин, які відповідають за синтез глюкокортикоїдів і цитокінів. Відомі ефекти важких металів на металотіонеїни та білки теплового шоку, однак дуже мало відомостей про вплив важких металів на гени білків гострої фази. В роботі [21] вивчено вплив металів (ртуть, кадмій, свинець, мідь, нікель, цинк, марганець) на білки гострої фази: α -глікопротеїн, С-реактивний білок, α -антитрипсин, α -антихімотрипсин. Рівні мРНК, α -глікопротеїну і С-реактивного білка були збільшені в печінці мишей під дією важких металів. Найбільша індукція була опосередкована ртуттю, за якою в порядку зменшення: кадмій>свинець>мідь>нікель>цинк>марганець. Жоден метал не впливав на мРНК, рівень альбумінів, α -антитрипсину, α -антихімотрипсину. Результати досліджень показали, що індукція металами α -глікопротеїну і С-реактивного білка здійснюється, можливо, чутливими до металів елементами на рівні транскрипції.

Досліджено вплив нікелю в летальних та сублетальних концентраціях на коропа [22]. Вміст загального білку і глобулінів в сироватці крові різко підвищувався з 2 до 20-ї год. Рівень сироваткового альбуміну знижувався з 2 до 72 год. Автори вважають, що визначення загального білка сироватки крові, альбумінів і глобулінів у риб можна використовувати як індикатор дії забруднюючих агентів. Однак це питання є дискусійним.

В роботі [15] досліджували вплив суміші металів (миш'як, кадмій, ртуть, хром, нікель, марганець, залізо, свинець) через питну воду на щурів. В дозах 10 і 100 ГДК ці суміші металів через 90 днів зменшували кількість загального сироваткового білка, глобулінів, збільшували співвідношення альбуміни:глобуліни. Титр антитіл був знижений через 75 днів при 100 ГДК, а через 90 днів даний показник зменшувався як при 10 ГДК, так і 100 ГДК.

Встановлені імуноотоксичні ефекти хлориду нікелю, що вивчалися на мишах при використанні доз 9,15-27,5 мг/кг, — зниження маси лімфоїдних органів, дозозалежне зниження показників гуморального імунітету (9,5 мг/кг — на 15%; 12,34 мг/кг — 20%; 18,3 — 60,0%; 27,5 мг/кг — на 80%), клітинного імунітету, неспе-

цифічних захисних реакцій (фагоцитоз, хемотаксис тощо). Імуноотоксичні ефекти виявлені також при дії оксиду і сульфату нікелю (II) [5].

Вплив нікелю на адаптивний імунітет. Вивчення антитілоутворення на Т-залежні антигени, Т- і В-клітинну проліферацію, функцію макрофагів, природну резистентність до інфекцій у риб, а також антиоксидантний захист під впливом ксенобіотиків показало [11, 23], що інформативними можуть бути не лише завершальні стадії імунної відповіді, але і проміжні етапи, наприклад, функціональна активність лейкоцитів крові та нирки. Разом з тим, автори констатують, що при екстраполяції результатів цих досліджень необхідно враховувати метаболізм і фармакокінетику конкретного ксенобіотика.

Результати досліджень [17] довели, що NiCl_2 пригнічує функцію Т-лімфоцитів. Автори вважають, що необхідну інформацію можна отримати лише при одночасному визначенні імунних показників і концентрації нікелю в плазмі.

Нікель (II) відноситься до хімічно активних ксенобіотиків, які можуть прямо зв'язуватись з протеїнами на поверхні клітинної мембрани і модифікувати комплекси МНС-пептид та індукувати Т-клітинну відповідь з боку CD4- та CD8-лейкоцитів. Існують експериментальні докази, що нікель (II) може діяти як гаптен таким чином, що Т-клітини розпізнають метал-пептидні комплекси. Іони металу можуть індукувати специфічні Т-клітинні реакції, при чому швидше прямим зв'язуванням з молекулою МНС, ніж з пептидом [24].

Вивчено [25] ефект нікелю на гуморальну імунну відповідь за допомогою двох показників: продукція специфічних Ig M проти еритроцитів барана та продукція поліклональних Ig G в селезінці мишей під впливом інтраперитоніальної ін'єкції хлориду нікелю. Автори стверджують, що нікель має імуномодуляторний вплив на імунну систему, оскільки змінює продукцію Ig M проти еритроцитів барана і поліклональних Ig G в селезінці мишей.

Нікель і алергія. Нікель та його сполуки — сильні сенсibilізатори. У морських свинок сенсibilізація викликається внутрішньошкірним введенням NiSO_4 . Сполучаючись з

білками епідермісу, нікель утворює справжній антиген. Зв'язування нікелю в комплексні сполуки знижує його сенсibilізуючу, але не подразнюючу дію. В дослідях на морських свинках лаурилсульфат натрію запобігав розвитку сенсibilізації до нікелю. Диметилдитіокарбамат натрію і диметилглюксим послаблюють шкірні реакції у чутливих до нікелю осіб, очевидно, при цьому утворюються і відповідні комплексні сполуки [3].

Як контактний алерген нікель викликає I і IV тип алергічних реакцій, що опосередковані реагінами і специфічними Т-лімфоцитами. Нікель найчастіше спричиняє як професійну алергію (підприємства металургії), так і алергію серед інших верств населення. В зв'язку з проникненням його через шкіру та слизові оболонки в літературі активно обговорюється профілактика алергічних реакцій, індукованих нікелем, аж до вакцинації сполуками нікелю [26].

Досліджена [27] морфологія лейкоцитів з верхньої дерми та ексудату під дією нікелю у хворих контактною алергією до нікелю. Морфологію лейкоцитів шкіри вивчали шляхом біопсії через 8; 24 і 48 годин. Інфільтрат шкіри цих хворих в поживному середовищі показав часову залежність у збільшенні вмісту мононуклеарних клітин, еозинофілів та базофілів та зменшенні рівня поліморфноядерних гранулоцитів. Морфологія ексудату у хворих контактною алергією під впливом нікелю показала домінування поліморфноядерних гранулоцитів.

Вивчено алергічний контактний дерматит, індукований нікелем на клітинах людини [28]. Встановлено, що імунологічна відповідь на дію нікелю (надмірна чутливість уповільненого типу) здійснюється за участю Т-клітин. Під впливом нікелю індукується продукція цитокінів Th1 і Th2. В імунній відповіді на нікель беруть участь CD4^+ та CD8^+ Т-клітини. В результаті стимуляції нікелем відбувається істотне збільшення продукції регуляторного цитокіна IL-10, який здійснює важливу роль в регуляції імунної реактивності до нікелю. Низькі рівні ендогенно продукованого IL-10 під дією нікелю пригнічують нікель-специфічні Th1 CD4^+ .

Розвиток небажаних реакцій на нікель позитивно корелює з екс-

пансією специфічних CD8⁺ Т-лімфоцитів, що викликає індукцію апоптозу навантажених нікелем кератиноцитів через перфорин-залежний механізм [29]. У осіб, в яких відсутні алергічні реакції на нікель, доведена роль в толерантності до нікелю CD4⁺, CD25⁺ Т-регуляторних лімфоцитів через клітинно-контактно-залежний механізм [30]. Разом з тим, 60% CD25⁺ Т-лімфоцитів периферичної крові мали виражену експресію рецептора до хемокіна CCR7 і сильно перешкождали активації наївних Т-лімфоцитів на нікель, на відміну від пацієнтів з алергією на нікель. Автори [29, 30] вважають, що у здорових особин CD25⁺ Т-регуляторні лімфоцити можуть керувати активацією як

наївних, так і специфічних до нікелю Т-лімфоцитів.

У пацієнтів із алергічним контактним дерматитом, викликаним дією сполук нікелю, відмічався низький вміст CD30⁺-лімфоцитів в шкірі, взятої із вогнища ураження, і розчинних рецепторів CD30 в сироватці крові. В той же час при atopічному дерматиті спостерігається істотна інфільтрація шкіри CD4⁺-клітинами, що експресують CD30-рецептор і здатні секретувати IL4 та ІФН (Th⁰-клітини) або IL5 (Th-клітини) 31.

Отже, незважаючи на те, що важкі метали — елементарні хімічні структури, вони призводять до глибоких і складних процесів в імунній системі. Такі процеси включають

пригнічення, неспецифічне стимулювання, індукцію алергічних реакцій.

Аналіз даних літератури свідчить, що вивчення імуноксичних властивостей нікелю та його сполук є важливим напрямком для розуміння особливостей механізму дії важких металів на клітинному рівні. Встановлено, що нікель та його сполуки можуть прямо зв'язуватись з протеїнами на поверхні клітинної мембрани, модифікувати комплекси МНС-пептид, індукувати алергічні реакції. Проблема впливу сполук нікелю на імунну систему організму потребує подальших досліджень.

ЛИТЕРАТУРА

1. Трахтенберг И.М. Тяжелые металлы во внешней среде: Современ. гигиен. и токсикол. аспекты/И.М. Трахтенберг, В.С. Колесников, В.П. Луковенко. — Минск.: Наука і тэхніка, 1994. — 285 с.
2. Грушко Я.М. Вредные неорганические соединения в промышленных сточных водах/Я.М. Грушко. — Л.: Химия, 1979. — 160 с.
3. Вредные вещества в промышленности. Неорганические и элементоорганические соединения. / [под ред. Н.В. Лазарева]. — Л.: Химия, 1977. — 608 с.
4. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А. [и др.] — М.: Медицина, 1991. — 496 с.
5. Вредные химические вещества. Неорганические соединения V — VIII групп: Справ. изд. / А.Л. Бандман, Н.В. Волкова, Т.Д. Грехова [и др.] — Л.: Химия, 1989. — 592 с.
6. Войнар А.И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека/А.В. Войнар — М.: Высшая школа, 1960. — 544 с.
7. Сидоренко Г.И., Ицкова А.И. Никель. — М.: Медицина, 1980. — 172 с.
8. Бабенко Г. О. Біосфера, антропогенез і здоров'я/Г.О. Бабенко — Івано-Франківськ, 1999. — 204 с.
9. Лукьяненко В.И. Иммунобиология рыб. Врожденный иммунитет. — М.: Агропромиздат, 1989. — 271 с.
10. Brucka-Jastrzbska E., Protasowicki M. Effects of cadmium and nickel exposure on haematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio* L. // *Acta Ichthyol. Piscat.* — 2005. — V. 35(1). — P. 29 — 38.
11. Zelikoff J.T., Carlson E., Li Y., Raymond A., et al. Immunotoxicity biomarkers in fish: development, validation and application for field studies and risk assessment // *Human and Ecological Risk Assessment.* — 2002. — V. 8(2). — P. 253-263.
12. Agbede S.A., Adeyemo O.K., Adedeji O.B., Junaid A.U. Ultrastructural study of the phagocytic activities of splenic macrophages in tilapia (*Oreochromis niloticus*) // *African J. of Biotechnology.* — 2006. — V. 5(22). — P. 2350-2353.
13. Zelikoff J. T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? // *Toxicology.* — 1998. — V. 129(1). — P. 63-71.
14. Haley P.J., Shopp G.M., Benson J.M., et al. The immunotoxicity of three nickel compounds following 13-week inhalation exposure in the mouse // *Fundam. Appl. Toxicol.* — 1990. — V. 15(3). — P. 476-487.
15. Jadhav S.H., Sarkar S.N., Ram G.C., Tripathi H.C. Immunosuppressive effect of subchronic exposure to a mixture of eight heavy metals, found as groundwater contaminants in different areas of India, through drinking water in male rats // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* — 2007. — V. 53(3). — P. 450-458.
16. Condevaux F, Guichard J, Forichon A, et al. Compared effects of morphine and nickel chloride on NK cell activity in vitro in rats and monkeys // *J. Appl. Toxicol.* — 2001. — V. 21(5). — P. 431-434.
17. Harkin A., Hynes M.J., Masterson E., et al. A toxicokinetic study of nickel-induced immunosuppression in rats // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* — 2003. — V. 25(4). — P. 655-670.
18. Acevedo F., Vesterberg O. Nickel and cobalt activate complement factor C3 faster than magnesium // *Toxicology.* — 2003. — V. 185(1-2). — P. 9-16.
19. Lungborg M., Johansson A., Camner P. Morphology and release of lysozyme following exposure of rabbit lung macrophages to nickel or cadmium in vitro // *Toxicology.* — 1987. — V. 46(2). — P. 191-203.
20. Berghem L., Hansson M., Lundborg M., Camner P. Fibronectin concentrations in lung lavage fluid after inhalation exposure to low levels of metals // *Environ. Res.* — 1987. — 43(1). — P. 179-185.
21. Minas Y., Xin G., Carter K.C., Papaconstantinou J. Induction of several acute-phase protein genes by heavy metals: A new class of metal-responsive genes // *Biochemistry.* — 1991. — V. 30(15). — P. 3798-3806.
22. Gopal V., Parvathy S., Balasubramanian P. R. Effect of Heavy Metals on the Blood Protein Biochemistry of the Fish *Cyprinus carpio* and its use as a bio-indicator of pollution stress // *Environ. Monitoring and Assessment.* — 1997. — V. 48(2). — P. 117-124.
23. Zelikoff J.T., Enane N.A., Bowser D.H., et al. Development of fish peritoneal macrophages as a model for higher vertebrates in immunotoxicological studies. I. Characterization of trout macrophage morphological, functional, and biochemical properties // *Fundam. Appl. Toxicol.* — 1991. — V. 16(3). — P. 576-89.
24. Bols N.C., Brubacher J.L., Ganassin R.C., Lee L.E.J. Ecotoxicology and innate immunity in fish // *Developmental and Comparative*

- Immunology. — 2001. — V. 25. — P. 853-873.
25. Nagai K., Shima S., Morita K., et al. Immunotoxicity of cobalt and nickel-experimental study on cytotoxicity of immuno-sensitive metals // *Nippon Eiseigaku Zasshi*. — 1989. — V. 44(5). — P. 1014-1420.
26. Hostynek J.J. Sensitization to nickel: etiology, epidemiology, immune reactions, prevention, and therapy // *Rev. Environ. Health*. — 2006. — V. 21(4). — P. 253-80.
27. Lerche A., Bisgaard H., Christensen J. D., et al. Lactoferrin, myeloperoxidase, lysozyme and eosinophil cationic protein in exudate in delayed type hypersensitivity // *Allergy*. — 1988. — V. 43(2). — P. 139-145.
28. Minang J.T., Areström I., Zuber B., et al. Nickel-induced IL-10 down-regulates Th1- but not Th2-type cytokine responses to the contact allergen nickel // *Clin. Exp. Immunol.* — 2006. — V. 143(3). — P. 494-502.
29. Cavani A. Breaking tolerance to nickel // *Toxicology*. — 2005. — V. 209(2). — P. 119-121.
30. Cavani A., Nasorri F., Ottaviani C., et al. Human CD25+ regulatory T cells maintain immune tolerance to nickel in healthy, nonallergic individuals // *J. of Immunology*. — 2003. — V. 171. — P. 5760-5768.
31. Смирнов В.С., Фрейдлин И.С. Иммунодефицитные состояния. — СПб: "Фолиант", 2000. — 568 с.

И.З. Дрогомирецкая, И.В. Мазена, М.А. Мазена

ИММУНОТОКСИЧНОСТЬ НИКЕЛЯ И ЕГО СОЕДИНЕНИЙ

Обобщены данные литературы относительно особенностей иммунотоксического эффекта никеля и его соединений. Подчеркивается, что никель относится к химически активным ксенобiotics, которые могут модифицировать комплексы МНС-пептид, индуцировать Т-клеточный ответ со стороны CD4- и CD8-лейкоцитов, а также влиять на развитие общих неспецифических реакций.

Ключевые слова: токсичность, иммунитет, никель, соединения никеля

I.Z. Drogomyretska, I.V. Mazena, M.A. Mazena

IMMUNOTOXICOLOGY OF NICKEL AND ITS COMPOUNDS

The literature review includes data concerning immunotoxic effects of nickel and nickel-consisted compounds. It was found that nickel may act as a xenobiotic to modify the MHC-peptide complexes, induct the T-cells response of CD4- and CD8-leucocytes and affect the development of non-specific reactions.

Key words: toxicity, immunity, nickel, compound nickel