

ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ МЫШЬЯКА И СУРЬМЫ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В ОТХОДАХ ПЕРЕРАБОТКИ СУЛЬФИДНЫХ РУД

Александр Степанович Огудов

ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора, 630108, Россия, г. Новосибирск, ул. Пархоменко, 7, кандидат медицинских наук, зав. отделом токсикологии, тел. (383)343-44-43, e-mail: ogudov.tox@yandex.ru

Наталья Федоровна Чуенко

ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора, 630108, Россия, г. Новосибирск, ул. Пархоменко, 7, младший научный сотрудник, тел. (383)343-44-43, e-mail: natali26.01.1983@yandex.ru

Мария Александровна Князева

ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора, 630108, Россия, г. Новосибирск, ул. Пархоменко, 7, младший научный сотрудник, тел. (383)343-44-43, e-mail: lira357knyazheva@yandex.ru

Людмила Юрьевна Анопченко

Сибирский государственный университет геосистем и технологий, 630108, Россия, г. Новосибирск, ул. Плеханова, 10, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры экологии и природопользования, тел. (383)361-08-86, e-mail: milaa2006@ngs.ru

Накопление соединений мышьяка и сурьмы в объектах окружающей среды в результате разработки месторождений полезных ископаемых, является источником риска здоровью населения. Мышьяк и сурьма при избыточном поступлении в организм человека активируют патофизиологические процессы на субклеточном, клеточном и органном уровнях, что приводит к развитию полиорганной патологии. В исследовании подтверждено влияние мышьяка и сурьмы на эмоционально-поведенческие реакции и клеточный иммунный ответ лабораторных животных.

Сформированы четыре опытных группы самцов крыс Вистар и одна контрольная. Опытные со свободным доступом к питьевой воде с разными концентрациями мышьяка и сурьмы (вода гидроотвала сульфидного хвостохранилища в п. Комсомольск Кемеровской области), контроль имел свободный доступ к чистой питьевой воде. На 7-й и 70-й дни эксперимента исследовали эмоционально-поведенческие реакции подопытных животных в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт». Оценку клеточного иммунного ответа производили по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Мышьяк и сурьма в исследованных концентрациях оказывают вредное действие на центральную нервную систему (ЦНС) и клеточный иммунный ответ подопытных животных, что проявляется в дезорганизации эмоционально-поведенческих реакций индукции реакций гиперчувствительности замедленного типа.

Ключевые слова: мышьяк, сурьма, эмоционально-поведенческие реакции, клеточный иммунный ответ

BEHAVIORAL AND IMMUNOLOGICAL EFFECTS OF EXPOSURE TO ARSENIC AND ANTIMONY CONTAINED IN SULFIDE ORE PROCESSING WASTE

Alexander S. Ogudov

FBUN "Novosibirsk Research Institute of Hygiene" Rospotrebnadzor, 7, Parkhomenko St., Novosibirsk, 630108, Russia, Ph. D., Head of the Department of Toxicology, phone: (383)343-44-43, e-mail: ogudov.tox@yandex.ru

Natalia F. Chuenko

FBUN "Novosibirsk Research Institute of Hygiene" Rospotrebnadzor, 7, Parkhomenko St., Novosibirsk, 630108, Russia, Junior Researcher, phone: (383)343-44-43, e-mail: natali 01/26/1983@yandex.ru

Maria A. Knyazheva

FBUN "Novosibirsk Research Institute of Hygiene" Rospotrebnadzor, 7, Parkhomenko St., Novosibirsk, 630108, Russia, Junior Researcher, phone: (383)343-44-43, e-mail: lira357knyazheva@yandex.ru

Lyudmila Yu. Anopchenko

Siberian State University of Geosystems and Technology, 10, Plakhotnogo St., Novosibirsk, 630108, Russia, Associate Professor, Department of Ecology and Environmental Management, phone: (383)361-08-86, e-mail: milaa2006@ngs.ru

The accumulation of arsenic and antimony compounds in environmental objects as a result of the development of mineral deposits is a source of public health risk. Arsenic and antimony, when they enter the human body in excess, activate pathophysiological processes at the subcellular, cellular and organ levels, which leads to the development of multiple organ pathology. The study confirmed the effect of arsenic and antimony on emotional-behavioral responses and cellular immune responses in laboratory animals.

Four experimental groups of male Wistar rats and one control group were formed. Experienced with free access to drinking water with different concentrations of arsenic and antimony (water from the hydro dump of the sulphide tailing dump in the village of Komsomolsk, Kemerovo region), the control had free access to clean drinking water. On the 7th and 70th days of the experiment, the emotional-behavioral reactions of the experimental animals were investigated in the "open field" and "raised cruciform maze" tests. The assessment of the cellular immune response was performed by the delayed-type hypersensitivity reaction (HRT).

Arsenic and antimony in the studied concentrations have a harmful effect on the central nervous system (CNS) and the cellular immune response of experimental animals, which manifests itself in disorganization of emotional-behavioral reactions, induction of delayed-type hypersensitivity reactions.

Keywords: Arsenic, antimony, emotional and behavioral reactions, cellular immune response

Введение

В составе отходов хвостохранилища золотоизвлекательного завода присутствуют сурьма и мышьяк, которые способны накапливаться в органах и тканях. По данным литературы, эти элементы обнаруживаются в мозге, легких, печени, почках, селезенке и клетках крови людей, проживающих на территориях геохимических аномалий, что создает высокие риски распространения болезней сердечно-сосудистой системы, печени, почек и органов дыхания, развития нейродегенеративных процессов [7, с. 547]. Описано угнетающее влияние мышьяка

и сурьмы на ферменты, участвующие в углеводном, жировом и белковом обмене. На уровне клетки, мишенью их токсического действия служат митохондрии. На системном уровне, мышьяк и сурьма вызывают окислительный стресс с нарушением баланса окислительно-антиокислительных реакций, следствием которых является нарушение ультраструктур митохондрий и аппарата Гольджи [5, с. 901; 2, с. 140]. При продолжительном малоинтенсивном воздействии сурьмы регистрируются хромосомные aberrации и разрывы молекул ДНК (Schoen et al., 2004). Мышьяк и сурьма взаимодействует с тиоловыми группами белков, цистеином, глутатионом и липоевой кислотой, на клеточном уровне усиливают процессы клеточной гибели. Воздействие на нервную систему приводит к нарушению процессов синаптической передачи, нейропластичности, повышает риск развития дегенеративных болезней нервной системы [13, с. 211].

Мишенью токсического действия мышьяка и сурьмы является не только нервная, но и иммунная система, реагирующая на поступление в организм гаптен (вредных химических веществ) развитием иммунного ответа. Показано, что мышьяк вызывает иммунологические нарушения на молекулярном и клеточном уровнях организации биосистемы [9, с. 20; 16, с. 331; 19, с. 134], что выражается в изменении продукции иммуноглобулинов и снижении активности фагоцитов. Изменения иммунологической реактивности организма, которые возникают раньше патоморфологических изменений, относятся к наиболее ранним индикаторам вредного действия химических веществ. Действие токсичных металлоидов на функции макрофагов, лимфоцитов и продукцию ряда цитокинов, вовлекаемых в клеточный иммунный ответ, позволяет оценить реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Целью исследования являлась оценка влияния потребления питьевой воды, содержащей гигиенически значимые количества мышьяка и сурьмы, на эмоционально-поведенческие реакции и интенсивность клеточного иммунного ответа крыс-самцов линии Вистар на 7-й и 70-й дни эксперимента.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на самцах крыс вистар, начиная с 4-х недельного возраста. Были сформированы пять групп животных, однородных по массе тела, уровням эмоционально-поведенческих реакций и лабораторных показателей. Для затравок животных использовали 4 математически связанные серии доз, приготовленные путем последовательного разведения воды из гидроотвала в три раза. Опытные группы со свободным доступом к питьевой воде, содержащей мышьяк и сурьму в соотношениях: 1 группа - 0,15/0,68 (мг/л), 2 группа - 0,05/0,227; 3 группа - 0,016/0,075; 4 группа - 0,0055/0,025, что соответствует 15, 5, 1,5 и 0,5 пдк для мышьяка и 136, 45,3, 15,1 и 5 пдк для сурьмы. Контрольная группа получала питьевую воду без мышьяка и сурьмы. Эмоционально-поведенческие реакции подопытных животных исследовали с помощью метода «открытое поле», включающего оценку горизонтальной (гда) и вертикальной (вда) двигательной активности, реакции груминга и эмоциональной реактивности [18, с. 31]. Время тестиро-

вания составляло две минуты. Для оценки уровня тревожности подопытных животных использовали методику «приподнятый крестообразный лабиринт» [15, с. 16], время тестирования 3 минуты. Клеточный иммунитет у подопытных животных оценивали по реакции гзт, тестирование проводили на 7 и 70 дни эксперимента. За критерий оценки гзт принимали размер отека лап задних конечностей. Сенсибилизирующую дозу т-зависимого антигена - эритроцитов барана (эб), вводили однократно внутривенно. Разрешающую дозу эб вводили на 5-е сутки под апоневроз задней конечности, в контрольную лапу вводили 0,9% раствор натрия хлорида в аналогичном объеме. Замеры отека лап производили через сутки после введения разрешающей дозы. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ statistica for windows v.10.0. Проверку статистических гипотез осуществляли с использованием t-критерия студента. Отличия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Поведение грызунов в условиях «открытого поля» определяется их эмоциональным состоянием при попадании в незнакомую ситуацию. Одновременно на величины ГДА, ВДА и исследовательского поведения влияет общая возбудимость ЦНС. Реакция груминга относится к смешанным реакциям, отражающим преимущественно тревожное поведение и стресс [15, с. 8]. Оценка результатов теста «открытое поле» показала достоверное снижение величин ГДА второй $28,04 \pm 12,0$, третьей ($23,75 \pm 10,89$) и четвертой ($27,6 \pm 11,3$) групп по сравнению с контролем ($39,12 \pm 9,31$) и одновременно усиление ВДА на 7-й день у животных опытных групп по отношению к контролю. Величины груминга реакции по отношению к контролю ($14,94 \pm 10,5$) достоверно снизились только в первой ($8,29 \pm 5,7$) и третьей ($6,1 \pm 2,7$) группах. На 70-й день исследования по отношению к контрольному значению ($8,2 \pm 6,0$) достоверно снизились величины груминга реакции в первой ($2,1 \pm 1,4$), второй ($3,9 \pm 2,4$) и четвертой ($2,6 \pm 1,2$) опытных группах. Это позволяет констатировать, что испытанные концентрации мышьяка и сурьмы негативно воздействуют на ЦНС подопытных животных, что подтверждают существенные изменения эмоционально-поведенческих реакций [14, с. 201]. Нейротоксический эффект объясняется нарушением содержания и распределения нейромедиаторов в ЦНС животных и поражением структур головного мозга, в том числе связанных с когнитивными функциями. По результатам проведения теста «приподнятый крестообразный лабиринт», достоверных изменений поведенческих реакций животных не происходило. Значимых изменений массы тела животных основных групп на 7-й и 70-й дни эксперимента также не обнаружено. Вместе с тем, на 7-й день эксперимента наблюдалось достоверное повышение индекса реакции ГЗТ во всех опытных группах по сравнению с контролем, что характеризует гиперреактивность Т-клеточного ответа (рис. 1).

На 70-й день исследования в 1, 2 и 4 основных группах зарегистрировано угнетение клеточного иммунного ответа до уровня отсутствия реакции на введение антигена (рис. 2).

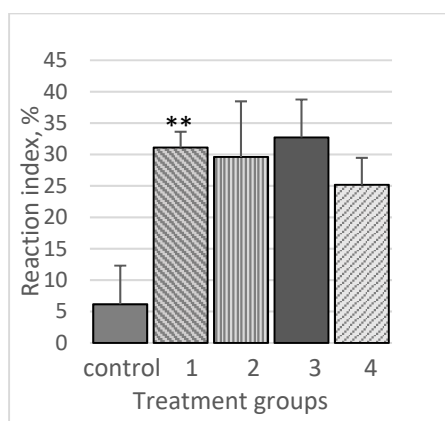


Рис. 1. Высота индекса реакции на введение Т-зависимого антигена на 7 день эксперимента

Контроль – контрольная группа, получавшая чистую питьевую воду; 1- 2- 3- 4- опытные группы животных * < 0,05 по сравнению с контрольной группой ** < 0,001 по сравнению с контрольной группой

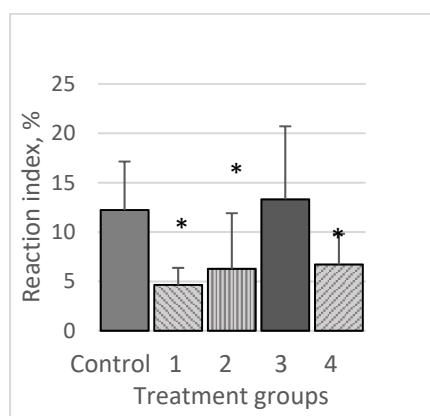


Рис. 2. Высота индекса реакции на введение Т-зависимого антигена на 70 день эксперимента

Контроль – контрольная группа, получавшая чистую питьевую воду; 1- 2- 3- 4- опытные группы животных * < 0,05 по сравнению с контрольной группой

Обсуждение

Эффекты воздействия мышьяка и сурьмы, содержащихся в разных концентрациях в питьевой воде на самцов крыс Вистар, выразились в дезорганизации поведенческих паттернов с общей тенденцией к снижению ГДА, количества и продолжительности актов груминга и одновременно усилению ВДА. Известна способность мышьяка к преодолению гематоэнцефалического барьера и накоплению в головном мозге, что приводит к потере и нарушению целостности миелиновой оболочки нервов, определяющих изменения двигательной активности. При аналогичных процессах в ЦНС, вероятны изменения когнитивных функций - снижение уровня интеллектуального развития, объема пространственной

памяти, способности к обучению. К вероятным следствиям токсического действия мышьяка и сурьмы относится модуляция содержания и распределения моноаминов в структурах мозга, ответственных за социальное поведение и эмоциональные состояния, что подтверждают выявленные в основных группах изменения уровней ГДА и ВДА [6, с. 133; 8, с. 355].

Токсическое действие мышьяка и сурьмы в отношении иммунной системы проявляется в нарушениях распределения субпопуляций иммуноцитов, активности клеточных ферментов, уровней регуляторных цитокинов [3, с. 493]. Реакции ГЗТ лежат в основе способности организма к нейтрализации различных внутриклеточных патогенов, включая микобактерии и патогенные грибы. Дисфункция клеточной системы иммунитета вследствие интоксикации является фактором высокого риска развития у населения аллергической, воспалительной и инфекционной патологии [17, с. 27; 12, с. 248]. Комбинированное действие мышьяка и сурьмы снижает способность иммунных клеток, обеспечивающих формирование адекватной реакции клеточного иммунного ответа, к синтезу ключевых регуляторных молекул.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что субхроническое воздействие четырех различных концентраций мышьяка и сурьмы, моделирующее загрязнение среды обитания человека в горнорудных районах, создает риски развития патологии ЦНС. Нейротоксический эффект проявляется в нарушении целостности и изменении функций структур нервной системы, что является патогенетической основой дегенеративных болезней ЦНС, включая полиневропатии и другие поражения периферической нервной системы, нарушений процессов пространственной памяти, обучения у взрослых контингентов и снижению темпов психоневрологического развития у детских контингентов населения [1, с. 13; 11, с. 672]. Исследование клеточного иммунитета подтвердило гиперреактивный ответ на 7-й день экспозиции и формирование иммунологической толерантности (отсутствие иммунного ответа на антиген) на 70-й день. При развитии воспалительного процесса толерантность действует в качестве ограничивающего воспалительную активность механизма, что предотвращает повреждение тканей [4, с. 65]. Вместе с тем, толерантность определяет снижение метаболической активности иммунных клеток и общей активности иммунных функций, что создает риск развития патологических состояний, при которых организм не предотвращает контактную аллергию и прогрессирование инфекционных процессов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кальдерон Дж, Наварро МЕ, Хименес-Капдевиль МЕ, Сантос-Диас МА, Голден А, Родригес-Лейва I, Борха-Абурто В, Диас-Баррига Ф. Воздействие мышьяка и свинца и нейропсихологическое развитие у мексиканских детей. *Environ Res.* 2001 Feb;85(2):69-76. doi: 10.1006/enrs.2000.4106. PMID: 11161656.

2. Anya M.Y. Lin, P.L. Chao, S.F. Fang, C.W. Chi, C.H. Yang, Endoplasmic reticulum stress is involved in arsenite-induced oxidative injury in rat brain, *Toxicology and Applied Pharmacology*, Volume 224, Issue 2, 2007, Pages 138-146, ISSN 0041-008X, <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.06.016>.

3. Beyersmann, D., Hartwig, A. Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Arch Toxicol* 82, 493 (2008) <https://doi.org/10.1007/s00204-008-0313-y>
4. Burchiel, S. W., Lauer, F. T., Beswick, E. J., Gandolfi, A. J., Parvez, F., Liu, K. J., & Hudson, L. G. (2014). Differential susceptibility of human peripheral blood T cells to suppression by environmental levels of sodium arsenite and monomethylarsonous acid. *PloS one*, 9(10), e109192. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109192>
5. Das et al. 2005; Paul et al. 2008 Wang, Y., Xu, Y., Wang, H. et al. Arsenic induces mitochondria-dependent apoptosis by reactive oxygen species generation rather than glutathione depletion in Chang human hepatocytes. *Arch Toxicol* 83, 899-908 (2009). <https://doi.org/10.1007/s00204-009-0451>
6. Htway, S. M., Sein, M. T., Nohara, K., & Win-Shwe, T. T. (2019) Effects of Developmental Arsenic Exposure on the Social Behavior and Related Gene Expression in C3H Adult Male Mice. *International journal of environmental research and public health*, 16(2), 174. <https://doi.org/10.3390/ijerph16020174>.
7. Indika Herath, Meththika Vithanage, Jochen Bundschuh, Antimony as a global dilemma: Geochemistry, mobility, fate and transport, *Environmental Pollution*, Volume 223, 2017, Pages 545-559, ISSN 0269-7491, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.057>.
8. Nagaraja TN, Desiraju T (1994) Effects on operant learning and brain acetylcholine esterase activity in rats following chronic inorganic arsenic intake. *Hum Exp Toxicol* 13:353–356. doi:10.1177/096032719401300511
9. Parvez, F., Lauer, F. T., Factor-Litvak, P., Liu, X., Santella, R. M., Islam, T., Eunus, M., Alam, N., Sarwar, G., Rahman, M., Ahsan, H., Graziano, J., & Burchiel, S. W. (2019). Assessment of arsenic and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposures on immune function among males in Bangladesh. *PloS one*, 14(5), e0216662. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216662>;
10. Rodríguez VM, Jiménez-Capdeville ME, Giordano M. Влияние воздействия мышьяка на нервную систему. *Токсикол Lett.* 2003 Nov 1;145(1):1-18. doi: 10.1016/s0378-4274(03)00262-5. PMID: 12962969.
11. Roy A., Kordas K., Lopez P., Rosado J.L., Cebrian M.E., Vargas G.G., Ronquillo D., Stoltzfus R.J. Association between arsenic exposure and behavior among first-graders from Torreon, Mexico. *Environ. Res.* 2011; 111:670–676. doi: 10.1016/j.envres.2011.03.003. [PubMed] [Cross-Ref] [Google Scholar].
12. Scinicariello, F., Buser, M. C., Feroe, A. G., & Attanasio, R. (2017). Antimony and sleep-related disorders: NHANES 2005-2008. *Environmental research*, 156, 247–252.
13. Shenya Xu, Zeyun Yang, Ye Zhi, Shali Yu, Tao Zhang, Junkang Jiang, Jun Tang, Hongsen He, Ming Lu, Xiaoke Wang, Qiyun Wu, Xinyuan Zhao, The effects of antimony on Alzheimer's disease-like pathological changes in mice brain, *Science of The Total Environment*, Volume 760, 2021, 143235, ISSN 0048-697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143235>.
14. Tanu T., Anjum A., Jahan M. et al. Antimony-Induced Neurobehavioral and Biochemical Perturbations in Mice. *Biol Trace Elem Res* 186, 199–207 (2018) <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1290-5>.
15. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения, Высшая школа: М. 1991.
16. Домингес-Андрес, Джей, Нетеа, МГ. Длительное перепрограммирование врожденной иммунной системы. *J Leukoc Biol.* 2019; 105: 329–338. <https://doi.org/10.1002/JLB.MR0318-104R>.
17. Марва К., Кондамуди Н.П. Реакция гиперчувствительности IV типа. В: *Stat Pearls*. Флорида: Stat Pearls Publishing; 2021 января.
18. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования, утв. заместителем Главного государственного санитарного врача СССР 14 апреля 1980 г. № 2166-80].
19. Хуан О., Синь-Вэй и др. “Мышьяк-индуцированный канцерогенез и иммунная дисрегуляция.” *International journal of environmental research and public health* vol. 16, 15 2746. 1 Авг. 2019, doi:10.3390/ijerph16152746.