

Wpływ rtęci na układ odpornościowy

Mercury's effect on the immune system

PIOTR SURA^{1/}, PAULINA KOWALCZYK^{2/}, DOMINIKA BIAŁA^{2/}, KATARZYNA MARCIŃSKA^{2/}, DOROTA WOŹNIAK^{2/}, BARBARA MACURA^{1/}, SYLWIA MOTYL^{3/}, MARIAN SZCZEPANIK^{2/}

^{1/} Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

^{2/} Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

^{3/} Katedra Ortodoncji, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Rtęć wykazuje wysoką toksyczność dla ludzkiego zdrowia, szczególnie groźna jest dla rozwoju embrionalnego. Występuje w różnych formach: nieorganicznej (np. chlorek rtęci) i organicznej (np. metylo- i etylortęć). Wszystkie formy wykazują różną toksyczność i różny wpływ na zdrowie. Niniejsza praca zawiera przegląd obecnego stanu wiedzy na temat wpływu rtęci na układ immunologiczny u zwierząt i ludzi. Wiele danych sugeruje, że rtęć może mieć zarówno działanie immunosupresyjne, jak i immunostymulujące na układ odpornościowy. Badania na zwierzętach wykazały, że rtęć może wpływać na funkcję limfocytów T i produkcję cytokin, zaburzać proces fagocytozy oraz wpływać na produkcję przeciwciał. Istnieją doniesienia mówiące, że ekspozycja na rtęć może sprzyjać rozwojowi chorób autoimmunizacyjnych u genetycznie predysponowanych szczepów zwierząt.

Słowa kluczowe: układ odpornościowy, rtęć, immunosupresja, immunostymulacja, autoimmunizacja

Mercury is highly toxic to human health and particularly dangerous for embryonic development. It occurs in various forms: inorganic (e.g. mercuric chloride) and organic (e.g. methyl- and ethyl mercury). All these forms have different degrees of toxicity and implications for health. This study reviews current knowledge concerning the effects of mercury exposure on the immune system in animals and humans. Much of the data suggests that mercury can have both immunosuppressant and immunostimulatory effects on the immune system. Animal studies have shown that mercury can impair the function of T lymphocytes and cytokine production, disrupt the function of phagocytic cells, and interfere with the production of antibodies. Reports suggest that mercury exposure can also induce the development of several autoimmune disorders in genetically susceptible animal strains.

Key words: immune system, mercury, immunosuppression, immunostimulation, autoimmunity

© Probl Hig Epidemiol 2018, 99(4): 310-317

www.phie.pl

Nadesłano: 17.06.2018

Zakwalifikowano do druku: 10.10.2018

Adres do korespondencji / Address for correspondence

dr n. med. Barbara Macura

Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Collegium Medicum UJ

ul. Kopernika 7, 31-034 Kraków

tel. 12 422 99 49, e-mail: barbara.macura@uj.edu.pl

Wprowadzenie

Ludzka cywilizacja odpowiedzialna jest za zanieczyszczenie biosfery, atmosfery i pedosfery. Metale ciężkie wnikają do pedosfery w różnej formie podczas ich wydobywania, wytopienia, obróbki, a także podczas usuwania odpadów [1, 2]. Wiele z nich ma szerokie zastosowanie w codziennym życiu człowieka. Jednak płacimy za to wysoką cenę – metale te wpływają bowiem negatywnie na nasze zdrowie oraz jakość lądowych i wodnych ekosystemów. Uwagę badaczy zwrócił szczególnie ich bezpośredni, negatywny wpływ na organizmy. Metale ciężkie często wywołują poważne skutki toksykologiczne, w tym również śmierć. Układ odpornościowy uważany jest za bardzo wrażliwy na ekspozycję na metale ciężkie, gdyż odczuwa się ich ujemny wpływ zanim pojawią się inne, widoczne symptomy. Liczne metale wykazują immunotoksyczność (Al, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Ni, Pb, Se, Va oraz Zn), zarówno poprzez bezpośrednie

działanie wolnych metali na błony komórek układu odpornościowego lub przez pobudzenie, bądź hamowanie licznych reakcji enzymatycznych, istotnych dla metabolizmu komórkowego, ingerując w ten sposób w przebieg odpowiedzi immunologicznej [3].

Ksenobiotyki, w tym również metale ciężkie, mogą wpływać immunomodulacyjnie na układ odpornościowy. Działanie to może objawiać się w dwojaki sposób. Może dochodzić do hamowania funkcji układu odpornościowego lub do jego immunostymulacji – pobudzenia [4]. Oba te zjawiska mogą mieć negatywny wpływ na zdrowie organizmów. W zależności od dawki metali ciężkich, efekt ich działania na system odpornościowy może się różnić. Na przykład niewielkie dawki Cd, Hg lub Pb mogą pobudzać funkcje układu odpornościowego, podczas gdy wyższe dawki tych metali działają supresyjnie [5].

Celem niniejszego artykułu jest przedstawienie wpływu rtęci i jej związków na układ odpornościowy.

Wpływ rtęci na organizm

Rtęć jest naturalnym składnikiem środowiska, występującym w skorupie ziemskiej w ilości 0,5 ppm. Występuje w trzech formach, jako rtęć elementarna (Hg^0), rtęć nieorganiczna (Hg^+ i Hg^{2+}) oraz organiczna, jako metylo-, etylo- i fenylortęć [6]. Mimo, że rtęć w węglu występuje w stosunkowo niewielkich ilościach, elektrownie węglowe emitują rocznie do atmosfery w skali świata ok. 1500 ton tego pierwiastka [7]. Największy problem, z punktu widzenia ograniczenia emisji, stanowi rtęć elementarna, która jest słabo rozpuszczalna w wodzie i może utrzymywać się w postaci gazowej w atmosferze przez okres kilku lat [8]. Najbardziej toksyczną formą jest dwuwartościowa rtęć oraz jej związki – metylortęć i rtęć metaliczna. W organizmach żywych, zarówno organiczna forma rtęci, jak i rtęć metaliczna przekształcane są do dwuwartościowego jonu, np. nieorganiczna rtęć powstaje w wyniku utleniania rtęci elementarnej, podczas gdy organiczna produkowana jest w wyniku biometylacji rtęci nieorganicznej przez mikroorganizmy w osadach wodnych oraz glebie [9].

Efektom toksycznego działania tego metalu w organizmach żywych jest obniżenie poziomu glutationu (GSH) i stres oksydacyjny, zmiana poziomu oraz aktywności enzymów zawierających grupy sulfhydrylowe (-SH), nefrotoksyczność i neurotoksyczność związana z obniżeniem poziomu glutationu oraz osłabieniem aktywności peroksydazy glutationowej, jak również tworzeniem reaktywnych form tlenu, a także zaburzenie homeostazy organizmu, wady rozwojowe, a nawet śmierć. Chociaż ludzie narażeni są głównie na rtęć organiczną i elementarną, obie formy są przetwarzane w związki nieorganiczne *in vivo* [9]. Rtęć elementarna jest słabo wchłaniana przez skórę, podczas gdy wdychane pary rtęci łatwo przenikają z płuc do krwiobiegu. W wyniku spożycia pokarmu zanieczyszczonego rtęcią nieorganiczną ok. 10% jest wchłaniane z przewodu pokarmowego. Rtęć nieorganiczna jest kumulowana głównie w nerkach, słabiej natomiast przechodzi przez barierę łożyskową oraz barierę krew-mózg. W ciągu paru tygodni czy miesięcy jest wydalana z moczem i kałem. W przeciwieństwie do rtęci nieorganicznej, jej organiczne związki niezwykle łatwo są wchłaniane z przewodu pokarmowego [10]. Przenikają one również przez skórę, ale efektywność tego procesu zależy od rodzaju związku, np. metylortęć jest słabo absorbowana, podczas gdy dimetylortęć z łatwością przechodzi przez skórę [7]. W krwiobiegu organiczne związki rtęci łączą się z białkami zawierającymi tiole i szybko ulegają dystrybucji w ustroju [9, 11]. Łatwo przenikają przez barierę krew-mózg i barierę łożyskową [12]. W organizmie rtęć organiczna ulega utlenieniu do jonów Hg^{2+} , przy czym konwersja etylortęci jest znacznie szybsza [13]. Podobnie, jak w przypadku

rtęci elementarnej metylortęć w formie nieorganicznej wydalana jest wraz z kałem i żółcią [12]. Ludzie szczególnie narażeni są na metylortęć pochodzącą z ryb i etylortęć z timerosalu [12]. Przeważająca ilość rtęci organicznej, bo aż 80-90% występuje głównie w postaci metylortęci w organizmie człowieka i pochodzi właśnie z ryb i morskich skorupiaków [13]. Ekspozycja ciężarnych kobiet na ten związek zwiększa ryzyko powstawania wad rozwojowych płodów, a w szczególności ich systemu nerwowego, nawet gdy matka nie przejawia żadnych objawów zatrucia. Związki rtęci wywierają również wpływ na funkcjonowanie układu odpornościowego]. Większość informacji dotyczących immunotoksyczności związków rtęci pochodzi z badań na zwierzętach oraz testów *in vitro*.

Wpływ rtęci na układ odpornościowy

Nieorganiczne i organiczne związki rtęci wykazują działanie cytotoksyczne względem komórek układu odpornościowego. Do śmierci komórek może dochodzić zarówno na drodze nekrozy, jak i apoptozy [14]. Badania wykazały, że HgCl_2 (0,5-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) oraz metylortęć (0,05-1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) w ciągu 1-4 godz. hamują proliferację limfocytów B oraz wytwarzanie immunoglobulin przez komórki plazmatyczne w warunkach *in vitro* [15]. Szczególnie podatne na apoptozę indukowaną przez ekspozycję na związki rtęci są limfocyty T. Mechanizmem odpowiedzialnym za to zjawisko jest spadek zasobów wewnątrzkomórkowego GSH po wpływie jonów Hg^{2+} oraz nasilenie stresu oksydacyjnego [16, 17]. Dalsze badania nad mechanizmami cytotoksyczności rtęci wykazały, że metal ten wywołuje także śmierć mysich makrofagów poprzez wzrost reaktywnych form tlenu i aktywację kinazy p38 odpowiedzialnej za regulację apoptozy i nekrozy [18]. Działanie cytotoksyczne rtęci potwierdzono również *in vivo*. Zaobserwowano, że krótkotrwała ekspozycja myszy na bardzo wysokie stężenie metylortęci (~8 mg Hg/kg masy ciała/dzień) powoduje atrofię wysepek miazgi białej oraz spadek ilości limfocytów śledzionowych, jak również osłabienie pierwotnej odpowiedzi układu odpornościowego oraz proliferacji limfocytów B i T pod wpływem mitogenów. W przypadku niektórych szczepów myszy (posiadających haplotyp H-2^s) podskórne podawanie 1,0 mg HgCl_2/kg masy ciała przyspiesza podziały komórek B, poprzez zwiększanie ekspresji markera proliferacyjnego CD71, silnie indukując ośrodku namnażania limfocytów w śledzionie [19].

Rtęć wiąże się w obrębie błony komórkowej z cząsteczkami powierzchniowymi zawierającymi grupy sulfhydrylowe, co prowadzi do agregacji receptorów zaburzając przekazywanie sygnałów komórkowych. Działanie wysokich dawek HgCl_2 (ponad 100 μM) na mysie tymocyty oraz komórki śledziony prowadzi do agregacji powierzchniowych cząsteczek CD3, CD4,

CD45 oraz Thy-1, co zwiększa rekrutację i aktywację kinazy tyrozynowej p56^{lck}, prowadząc do zaburzenia przewodzenia sygnałów w limfocytach [20]. Również niewielkie dawki rtęci (0,1-1 μM) zaburzają aktywację kinazy tyrozynowej p56^{lck} w splenocytach i mysich komórkach B chłoniaka (linii WEHI-231) [21]. Rtęć indukuje także aktywację kinazy C, co powoduje wewnątrzkomórkowy wzrost poziomu jonów Ca²⁺ [21], a to z kolei prowadzi do peroksydacji lipidów i podwyższenia poziomu reaktywnych form tlenu w błonach mitochondrialnych [22].

Badania *in vitro* ludzkich komórek wykazały, że rtęć indukuje produkcję cytokin, ale zjawisko to nie jest do końca poznane. Wiadomo, że działanie na limfocyty w pożywce 50 μg/ml HgCl₂ powoduje produkcję cytokin, w tym, IL-2, IL-4, i IFN-γ [23]. Limfocyty dziewicze Th0 mogą się różnicować w kierunku limfocytów pomocniczych typu 1 – Th1 lub limfocytów pomocniczych typu 2 – Th2 zarówno u gryzoni, jak i człowieka. Komórki Th1 produkują IL-2, IFN-γ oraz TNF-β, natomiast komórki Th2 uwalniają IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 oraz IL-13 [24]. Ekspozycja na rtęć indukuje produkcję cytokin przez limfocyty Th2 u podatnych szczepów myszy i szczurów, a cytokin typu Th1 u zwierząt opornych. Działanie 5 μM HgCl₂ wyraźnie wpływa na produkcję IL-4 mRNA w splenocytach i wyizolowanych komórkach T u wrażliwych na rtęć szczurów BN (Brown Norway), natomiast nie ma takiego efektu w opornym szczepie LEW [25]. Z kolei cytokina IFN-γ indukowana jest w splenocytach obu szczepów. Wykazano, że w produkcji IL-4 rolę odgrywają komórki tuczne, ale tylko u szczurów BN, natomiast mastocyty w szczepie LEW nie wykazywały ekspresji genu IL-4 w obecności HgCl₂ [26]. Komórki tuczne są również bezpośrednim celem metali, w tym złota, srebra i rtęci wywołujących autoimmunizację [27]. Uważa się, że rtęć zakłóca prawidłową funkcję komórek tucznych, powodując degranulację i wydzielanie metabolitów kwasu arachidonowego. Wykazano, że rtęć moduluje różne komponenty sygnałowe w komórce prowadząc do stymulacji kinazy białkowej aktywującej mitogeny oraz prowadząc do wytwarzania reaktywnych form tlenu i tlenu azotu, a także napływu Ca²⁺.

Główną cytokiną kontrolującą przeżycie i proliferację limfocytów T jest IL-2. Jony rtęci nie wpływają na jej wydzielanie, ale na drogi przekazywania sygnału zależne od niej, redukując fosforylację kinazy regulowanej zewnątrzkomórkowo i kinazy białkowej B [28]. Ponadto wykazano, że rtęć prowadzi do zahamowania cyklu komórkowego w fazie S. Mechanizm działania tego metalu może polegać na zakłócaniu działania mitochondriów, a uwolnione reaktywne formy tlenu hamują drogi przekazywania sygnału zależne od interleukin, obniżając tym samym zdolność do podziału i przeżywania limfocytów T.

Produkcję cytokin wywołaną *in vivo* podaniem rtęci można badać zarówno w miejscu iniekcji, jak i na poziomie ogólnoustrojowym. Badania lokalnie wydzielanych cytokin wykazały, że jednorazowa ekspozycja na rtęć wpływa na wzrost ekspresji genów dla prozapalnych cytokin TNF-α, IL-1, IL-6 i IL-10 w miejscu podania, natomiast IFN-γ był wykrywany dopiero po kolejnym wstrzyknięciu rtęci [29]. Zaobserwowano, że ekspozycja na HgCl₂ w dawkach poniżej 50 μg/ml prowadzi do wzrostu produkcji IL-4 i IL-10 przy jednoczesnym spadku syntezy IFN-γ, TNF-α i IL-6 w ludzkich jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej aktywowanych przeciwciałami monoklonalnymi (anty-CD3/-CD8/-CD40) [23].

Autoimmunizacja a związki rtęci

Autoimmunizacja polega na odpowiedzi układu odpornościowego na własne antygeny organizmu (autoantygeny). Przyczyny rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych nie są do końca poznane, jednak kluczową rolę w ich inicjacji odgrywa przełamanie stanu tolerancji immunologicznej na autoantygeny. W większości schorzeń autoimmunizacyjnych za uszkodzenie tkanek odpowiedzialnych jest wiele mechanizmów immunologicznych, w których są zaangażowane zarówno limfocyty T oraz B, pomimo że w określonym schorzeniu dominuje komponenta komórkowa bądź humoralna. Kluczową rolę w rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych odgrywają czynniki endogenne, do których należą czynniki genetyczne oraz hormonalne. Warto zaznaczyć, że również czynniki egzogenne, np. środowiskowe mogą odgrywać rolę w rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych. Należą do nich m.in. bakterie i wirusy, niektóre substancje chemiczne, jak np. chlorek winylu, związki krzemu oraz niektóre leki. Ponadto istnieją przypuszczenia, że w procesie inicjacji niektórych schorzeń autoimmunizacyjnych rolę mogą odgrywać metale ciężkie, w tym również związki rtęci. Zarówno rtęć elementarna, jak i organiczna i nieorganiczna mogą promować autoimmunizację u zwierząt, ale tylko u tych, które mają odpowiedni haplotyp genów zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex* – MHC) [30].

Zaobserwowano, że autoimmunizacja indukowana metalami ciężkimi w modelach eksperymentalnych u zwierząt jest zależna od genów. U szczurów rozwój zespołu autoimmunologicznego indukowanego przez HgCl₂ zależy od kompleksu MHC klasy II w locus RT-1 – szczepy wsobne mające haplotyp RT-1ⁿ są wysoce podatne, podczas gdy haplotyp RT-1^l wykazuje oporność [31]. Podobna sytuacja występuje również u myszy, gdzie indukowana przez rtęć produkcja autoprzeciwciał znajduje się pod kontrolą genów w regionie I-A w kompleksie MHC klasy II. Badania wpływu haplotypu H-2 na produkcję autoprzeciwciał indukowanego

waną rtęcią wykazały, że najbardziej wrażliwe są myszy H-2^s, natomiast myszy H-2^a, H-2^b i H-2^d są odporne, podczas gdy myszy z haplotypami H-2^a i H-2^f wykazują pośrednią podatność [32]. Okazało się jednak, że różne szczepy myszy z tym samym haplotypem H-2 wykazują odmienny stopień wrażliwości na działanie rtęci. Przykładowo myszy BALB/c (H-2^d) są wysoce podatne na limfoproliferację i zespół immunologicznego zapalenia kłębuszków nerkowych, natomiast myszy B10.D2 z tym samym haplotypem podatne są na limfoproliferację, ale zapadają na łagodniejszą formę kłębuszkowego zapalenia nerek, natomiast myszy DBA/2 są odporne na oba te schorzenia [33]. Badania wykazały, że geny odporności na autoimmunizację indukowaną rtęcią u myszy z tego szczepu zlokalizowane są w chromosomie 1 (gen odporności na metale ciężkie *Hmr1*) oraz 7 [34].

Jednym z aspektów zespołu autoimmunologicznego u myszy jest swoistość autoprzeciwciał skierowanych przeciwko antygenom jąderkowym. Wykazano, że te przeciwciała rozpoznają zasadowe białko fibrylarynę [35]. Rteć może wiązać się z tym białkiem prowadząc do jego modyfikacji, co z kolei umożliwia prezentację kryptoepitopów, które aktywują komórki T [36]. Działanie cytotoksycznymi dawkami rtęci modyfikuje właściwości molekularne i antygenowe fibrylaryny, a mutacje powodujące zamianę cystein na argininę w jej sekwencji znoszą ten efekt [37].

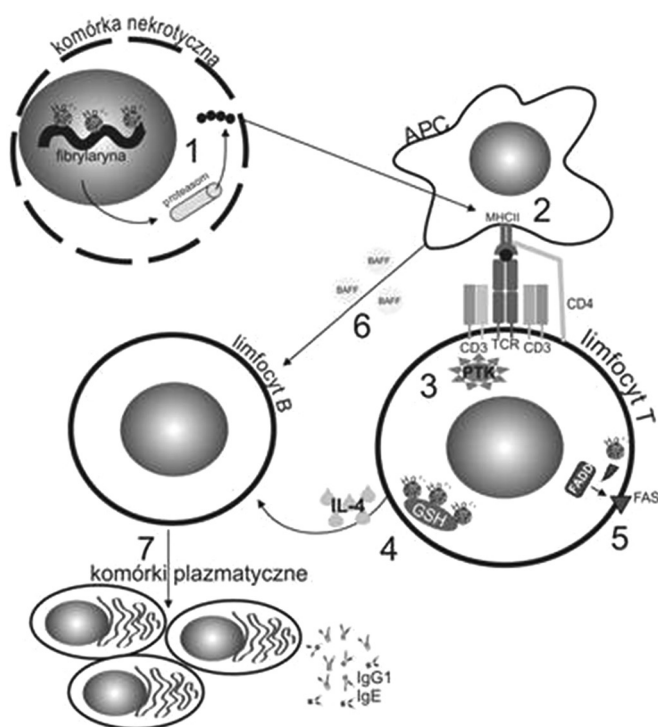
Ponadto rteć indukuje silną proliferację splenocytów u szczepów myszy podatnych na autoimmunizację. Badania *in vitro* wykazały, że to limfocyty T śledziony, a nie komórki B, proliferują w odpowiedzi na rteć [38]. Pod wpływem tego metalu dzieliły się tylko dojrzałe komórki T, podczas gdy tymocyty nie wykazywały wzmoczonych podziałów. Ta zdolność do proliferacji limfocytów T kontrolowana jest przez geny podobne budową do MHC klasy II, co wykazano u dwóch szczepów myszy BALB/c i DBA/2, mających ten sam haplotyp (H-2^d), ale przeciwne reakcje na ten metal. Ponadto zaobserwowano, że u szczurów szczepu BN z niedoborem limfocytów T nie dochodziło pod wpływem rtęci do autoimmunizacji co sugeruje, że limfocyty T stymulowane rtęcią odgrywają istotną rolę w obserwowanym zjawisku [39].

Mechanizm powstawania autoimmunizacji pod wpływem rtęci zaproponowali ostatnio na przykładzie modelu mysiego Schiraldi i Monestier [40]. Według tych autorów rteć początkowo wywołuje nekrozę w miejscu wstrzyknięcia, powodując obróbkę proteosomalną fibrylaryny i jej uwalnianie w postaci immunogennych peptydów. Następnie powstałe peptydy są przetwarzane przez komórki prezentujące antygeny (*Antigen Presenting Cells* – APCs) i prezentowane limfocytom T w kontekście MHC klasy II. Dodatkowo rteć powoduje grupowanie receptorów komórek T w wy-

niku reakcji redox z późniejszą aktywacją białkowej kinazy tyrozynowej. Dochodzi również do wzrostu ekspresji cząsteczek CD25 (łańcuch α receptora IL-2 o wysokim powinowactwie) i CD71 (receptor transferyny) na powierzchni limfocytów T. Następnie rteć wiąże się z białkami wewnątrzkomórkowymi limfocytów T wpływając na ich funkcję. Wiążąc się z glutationem pobudza komórki Th do różnicowania się w kierunku limfocytów Th2, które wydzielają IL-4. Przyłączenie się związanego z Fas białka adaptorowego z domeną śmierci (*Fas-associated protein with a death domain* – FADD) do kompleksu sygnałowego indukującego śmierć komórki (*Death-inducing signaling complex* – DISC) również zostaje zaburzony. Prowadzi to do przeżycia autoreaktywnych limfocytów T. W dalszym etapie uwalnianie czynnika aktywującego limfocyty B (*B cell activating factor* – BAFF) przez komórki prezentujące antygen (*antigen presenting cells* – APC) wzrasta pod wpływem rtęci i prowadzi do podziałów zarówno limfocytów T oraz B. Śledzionowe komórki B ulegają aktywacji w obecności rtęci, co poprzedzone jest wzrostem ekspresji molekuł CD71 (marker proliferacji) oraz CD23 (receptor dla IgE o niskim powinowactwie). Prowadzi to do różnicowania się limfocytów B w komórki plazmatyczne wydzielające przeciwciała, co w konsekwencji podnosi poziom osoczowych immunoglobulin IgG1 i IgE (ryc. 1).

Zaburzenia w funkcjonowaniu oraz przekazywaniu sygnałów przez niedojrzałe limfocyty B mogą predysponować do występowania chorób autoimmunizacyjnych [41]. Komórki WEHI-231 stanowią dobrze scharakteryzowaną linię mysich komórek B podobnych do niedojrzałych limfocytów B, które pod wpływem stymulacji receptorów BCR (*B-cell receptor*) ulegają apoptozie lub zatrzymaniu cyklu komórkowego. Badania prowadzone na tej linii komórkowej wykazały, że niskie dawki Hg²⁺ powodują zaburzenie przewodzenia sygnałów związanych z receptorem BCR [21]. Zaburzenie to związane jest z zahamowaniem kinazy aktywowanej przez czynniki pozakomórkowe (*extracellular signal-regulated kinases 1 and 2* – ERK1/2) oraz zaburzeniem działania śledzionowej kinazy tyrozynowej (*spleen tyrosine kinase* – SYK) [42]. Zablockowanie sygnału z BCR w niedojrzałych komórkach B może prowadzić do przetrwania autoreaktywnych klonów komórek B.

Liczne badania wskazują również na adiuwacyjne działanie związków rtęci. Szczepy myszy, które nie są naturalnie predysponowane do rozwoju chorób autoimmunologicznych oraz nie są wrażliwe na działanie Hg²⁺, wykazują zwiększoną podatność na rozwój choroby w niektórych modelach indukowanej autoimmunizacji w przypadku ekspozycji na niskie stężenia Hg²⁺. Rteć podawana przed fazą indukcji kolagenowego zapalenia stawów (*collagen*



Ryc. 1. Schemat mechanizmu powstawania autoimmunizacji pod wpływem rtęci wg Schiraldi i Monestier [40]

1. Indukcja nekrozy komórek i obróbka proteosomalna fibrylaryny z wytworzeniem immunogennych peptydów. 2. Przetworzenie immunogennych peptydów przez komórkę prezentującą antygen (APC) i prezentacja antygeny limfocytom T. 3. Aktywacja białkowej kinazy tyrozynowej (PTK) w wyniku grupowania receptorów limfocytów T. 4. Różnicowanie się komórek w kierunku limfocytów Th2 i produkcja IL-4 w wyniku przyłączenia się rtęci do glutationu (GSH). 5. Zahamowanie apoptozy autoreaktywnych komórek poprzez zaburzenie tworzenia kompleksu sygnałowego indukującego śmierć komórki (DISC). 6. Wzrost proliferacji limfocytów B na skutek działania czynnika aktywującego limfocyty B (BAFF) uwalnianego przez komórki APC pod wpływem rtęci. 7. Różnicowanie się limfocytów B w komórki plazmatyczne wydzielające przeciwciała

Fig. 1. Diagram showing mercury-induced development of autoimmunity by Schiraldi and Monestier [40]

1. Induction of cell necrosis and proteasome-dependent treatment of fibrillarlin along with the formation of immunogenic peptides. 2. Processing of immunogenic peptides by an antigen presenting cell (APC) and antigen presentation to T cells. 3. Activation of protein tyrosine kinase (PTK) as a result of the grouping of T cell receptors. 4. Cell differentiation towards Th2 lymphocytes and production of IL-4 as a result of mercury binding to glutathione (GSH). 5. Apoptosis inhibition of autoreactive cells by any disorder in the formation of a cell death inducing signaling complex (DISC). 6. Increased B lymphocytes proliferation due to the mercury-induced action of the B cell activation factor (BAFF) released by APC cells. 7. Differentiation of B cells into antibody-secreting plasma cells

induced arthritis – CIA) wywierała niewielki wpływ na przebieg choroby. Natomiast podana podczas fazy indukcji i na początku choroby prowadziła do nasilenia symptomów choroby oraz zwiększenia poziomu przeciwciał IgE i IgG2a skierowanych przeciwko kolagenowi typu II [43]. Kolejne badania wykazały, że ekspozycja na Hg^{2+} przed wywołaniem choroby

powoduje wzrost nasilenia objawów w mysim modelu autoimmunologicznego zapalenia mięśnia sercowego. Zaobserwowano, że wcześniejsza ekspozycja na rtęć doprowadziła do nacieku makrofagów oraz wzrostu poziomu m.in. IL-12, IL-17A, INF- γ i TNF- α w sercu w trakcie ostrej fazy zapalenia. Wykazano również nasilenie przewlekłego zapalenia mięśnia sercowego, włóknienia i kardiomiopatii rozstrzeniowej [44]. Rtęć pobierana z pokarmem może także wzmacniać etniczne ryzyko rozwoju choroby Kawasakiego [45].

Immunotoksyczne działanie rtęci na organizm człowieka

W większości badań przeprowadzonych na zwierzętach oraz testów *in vitro* dawki związków rtęci zastosowane w doświadczeniach są bardzo wysokie, dlatego nie można przenieść tych wyników bezpośrednio na organizm ludzki, nawet w odniesieniu do populacji ludzi szczególnie narażonych na związki rtęci. Najwyższe dopuszczalne stężenie (NDS) rtęci i jej związków nieorganicznych na stanowiskach pracy w Polsce wynosi $0,02 \text{ mg/m}^3$ (Dz.U. z dnia 23 czerwca 2014 r.). Natomiast Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (*European Food Safety Authority* – EFSA) i panel ds. środków trujących w łańcuchu żywnościowym (*Panel on Contaminants in the Food Chain* – CONTAM) ustalił tolerowane tygodniowe pobranie ze wszystkich źródeł (*Tolerable Weekly Intake* – TWI) dla Hg nieorganicznej na poziomie $4 \text{ } \mu\text{g/kg}$ m.c. natomiast dla MeHg na poziomie $1,3 \text{ } \mu\text{g/kg}$ m.c. [46]. Istnieją nieliczne dane epidemiologiczne które mogą świadczyć o immunotoksycznym działaniu rtęci na organizm człowieka.

W badaniach przeprowadzonych wśród pracowników narażonych na związki rtęci stwierdzono spadek liczby limfocytów B [47] oraz odwrócenie stosunku limfocytów $CD4^+/CD8^+$ związane z obniżeniem liczby komórek $CD4^+$ [48]. Badania opublikowane w 2009 r. wykazały natomiast odwrotną korelację pomiędzy stężeniem rtęci nieorganicznej we krwi a całkowitą liczbą leukocytów [49]. Odmienne wyniki uzyskano u dzieci. Stwierdzono mianowicie brak zależności pomiędzy stężeniem rtęci w surowicy a całkowitą liczbą leukocytów, natomiast wykazano pozytywną korelację z liczbą limfocytów [50]. Z kolei Moszczyński i wsp. zbadali osoby narażone na pary rtęci, wykazując u nich wzrost proliferacji limfocytów T [51]. Badania przeprowadzone wśród personelu, gabinetów stomatologicznych wykazały, że kontakt z amalgamem prowadzi do wdychania par rtęci, co powoduje spadek poziomu tymuliny odpowiedzialnej za pobudzanie produkcji limfocytów T. Dodatkowo badania te potwierdziły immunotoksyczne działanie rtęci poprzez hamowanie enzymów przeprowadzających reakcję syntezy tlenu azotu [52]. Inne badania wykazały, że narażenie zawodowe na działanie

rtęci powoduje również wzrost stężenia przeciwciał IgE w surowicy, natomiast nie wykryto obecności przeciwciał przeciwdrożdżowych (*anti-nuclear antibodies* – ANA) w grupie badanej [53]. Wyniki te są sprzeczne z danymi uzyskanymi wśród populacji brazylijskiej narażonej na metylortęć i rtęć nieorganiczną, w której wykazano obecność przeciwciał ANA i przeciwciał przeciwdrożdżkowych (*anti-nucleolar antibodies* – ANoA) [54]. Wśród pracowników narażonych na działanie rtęci występuje również podwyższone stężenie cytokin prozapalnych takich jak IL-1 β , TNF- α , IFN- γ [55]. Najnowsze badania wykazały, że ekspozycja na rtęć prowadzi nie tylko do zwiększenia miana przeciwciał ANA lub ANoA, ale również innych autoprzeciwciał w tym również przeciwciał anty-GSTA1 (anty-transferaza S-glutationowa

klasy A – *glutathione S-anti-transferase alpha 1*). Enzymy GST odgrywają istotną rolę w licznych procesach, w tym m.in. wykazują działanie przeciwutleniające. Uważa się, że zaburzenie działania tych białek może odgrywać rolę w rozwoju chorób autoimmunizacyjnych, takich jak zespół Sjögrena, reumatoidalne zapalenie stawów (RZS – *polyarthritis reumatoidea*) oraz stwardnienie rozsiane (*sclerosis multiplex* – SM) [56]. Ostatnio pojawiła się również próba powiązania wpływu niewielkich dawek rtęci obecnych we krwi u dzieci na rozwój astmy [57], jednak inne badania takiej zależności nie potwierdzają [58].

Zestawienie dotychczasowych badań nad immunotoksycznym działaniem par rtęci u narażonych pracowników przedstawia tabela I.

Tabela I. Badania nad immunotoksycznym działaniem par rtęci u narażonych pracowników

Miejsce, czas narażenia	Grupa badana	Dane o narażeniu	Wpływ na układ immunologiczny	Piśmiennictwo
Zakład produkujący rtęć; 19 (3-72) miesięcy	33 M średnia wieku 29 (19-46) lat	średnie stężenie kreatyniny w moczu 19,8 \pm 10,3 μ g/g	spadek liczby limfocytów B	Queiroz i wsp. 1997 [47]
Zakład produkujący rtęć; 19 (3-72) miesięcy	33 M; średnia wieku 29 (19-46) lat	średnie stężenie kreatyniny w moczu 19,8 \pm 10,3 μ g/g	Obniżeniem liczby komórek CD4 ⁺ ; odwrócenie stosunku limfocytów TCD4 ⁺ /CD8 ⁺	Queiroz i wsp. 1997 [48]
Zakład produkujący rtęć; 19 (3-72) miesięcy	36 M; średnia wieku 27 (19-46) lat	stężenie kreatyniny w moczu 19,43 \pm 10 μ g/g	Wzrost stężenia przeciwciał IgE w surowicy	Dantas i wsp. 1997 [53]
Produkcja lamp fluorescencyjnych; >20 lat	36 M; średnia wieku 45,6 \pm 4,5 lat	średnie stężenie w powietrzu 12 μ g/m ³ ; średnie stężenie w moczu 6,0 \pm 2,8 mg/l	Obniżenie TNF α w surowicy	Soleo i wsp. 1997 [59]
Produkcja chloru metodą elektrolityczną; 7 miesięcy – 37 lat	101 M; wiek 21-54 lat	średnie stężenie w powietrzu 28 μ g/m ³ ; średnie stężenie w moczu 18,3 \pm 15 μ g/l; średnie stężenie we krwi 81,4 \pm 60,9 μ g/l	Wzrost proliferacji limfocytów wyrażony jako ogólny wzrost liczby komórek T(CD3 ⁺),	Moszczyński i wsp. 1998 [51]
Produkcja lamp fluorescencyjnych; 31 (4-62) miesięcy	20 M; średnia wieku 24 (21-34) lat	średnie stężenie w powietrzu 4,1 μ g/m ³ ; średnie stężenie w moczu 44,8 \pm 33,6 μ g/l	Spadek liczby limfocytów T CD4 ⁺ oraz komórek NK	Park i wsp. 2000 [60]
Personel stomatologiczny pracujący z amalgamatem; >5 lat	39 osób (25 M, 24 K); średnia wieku 43,23 (28-67) lat	średnie stężenie w moczu 19,7 \pm 1,37 μ g/l; średnie stężenie we krwi 7,82 \pm 0,97 μ g/l	Obniżenie poziomu tymuliny; inhibicja enzymu NOS	Farahat i wsp. 2009 [52]
Kopalnie złota (badanie przekrojowe)	98 osób (64 M, 34 K)	mediana stężenia w moczu 3,67 μ g/l (zakres międzykwartylowy 0,87-8,93 μ g/l)	Wzrost częstość występowania wykrywalnych przeciwciał ANA i ANoA oraz wyższe miana ANA i ANoA, podwyższone stężenie cytokin prozapalnych, takich jak IL-1 β , TNF- α , IFN- γ u pracowników z wykrywalnymi przeciwciałami ANA lub ANoA	Gardner i wsp. 2010 [55]

Wnioski

Niestety liczba badań nad immunotoksycznością rtęci i jej związków jest niewielka. Dodatkowo dotychczas opublikowane prace mają pewne ograniczenia co jest związane m.in. z niską liczebnością grup badanych. Ponadto bardzo często badacze pomijają wpływ innych czynników, które mogą interferować z wynikami badań. Kolejną przeszkodą w interpretacji uzyskanych wyników jest brak możliwości ich porów-

nania między sobą ze względu na różnice w zastosowanej metodycie. Wymagane są więc dalsze obserwacje kliniczne pacjentów ekspozowanych na działanie rtęci w celu wyjaśnienia jej działania immunotoksycznego.

Źródło finansowania: Praca nie jest finansowana z żadnego źródła.

Konflikt interesów: Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

Piśmiennictwo / References

- Han FX, Banin A, Su Y, et al. Industrial age anthropogenic inputs of heavy metals into the pedosphere. *Naturwissenschaften* 2002, 89(11): 497-504.
- Han FX, Kingery WL, Selim HM. Accumulation, redistribution, transport, and bioavailability of heavy metals in waste-amended soils. [w:] Trace elements in soil: bioavailability, flux, and transfer. Iskandar IK, Kirkham MB (eds). CRC Press, Boca Raton 2001: 145-175.
- Cabassi E. The immune system and exposure to xenobiotics in animals. *Vet Res Commun* 2007, 31(suppl 1): 115-120.
- Lawrence DA, McCabe MJ Jr. Immunomodulation by metals. *Int Immunopharmacol* 2002, 2(2-3): 293-302.
- Krzystyniak K, Tryphonas H, Fournier M. Approaches to the evolution of chemical-induced immunotoxicity. *Environ Health Perspect* 1995, 103(suppl 9): 17-22.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile of mercury. ATSDR, Atlanta 1999. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.pdf> (10.05.2018).
- Swain EB, Jakus PM, Rice G, et al. Socioeconomic consequences of mercury use and pollution. *Ambio* 2007, 36(1): 45-61.
- Wichliński M, Kobyłecki R, Bis Z. Emisja rtęci podczas termicznej obróbki paliw. *Polit Energ* 2011, 14(2): 191-202.
- Clarkson TW, Vyas JB, Ballatori N. Mechanisms of mercury disposition in the body. *Am J Ind Med* 2007, 50(10): 757-764.
- Clarkson TW. The three modern faces of mercury. *Environ Health Perspect* 2002, 110(suppl 1): 11-23.
- Sura P, Bronowicka-Adamska P, Furtak E, Wróbel M. Effect of mercury ions on cysteine metabolism in *Xenopus laevis* tissues. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2011, 154(3): 180-186.
- Dórea JG, Farina M, Rocha JB. Toxicity of ethylmercury (and Thimerosal): a comparison with methylmercury. *J Appl Toxicol* 2013, 33(8): 700-711.
- Hong YS, Kim YM, Lee KE. Methylmercury exposure and health effects. *J Prev Med Public Health* 2012, 45(6): 353-363.
- Vas J, Monestier M. Immunology of mercury. *Ann NY Acad Sci* 2008, 1143: 240-267.
- Shenker BJ, Berthold P, Rooney C, et al. Immunotoxic effects of mercuric compounds on human lymphocytes and monocytes. III. Alterations in B-cell function and viability. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1993, 15(1): 87-112.
- Kim SH, Sharma RP. Cytotoxicity of inorganic mercury in murine T and B lymphoma cell lines: involvement of reactive oxygen species, Ca(2+) homeostasis, and cytokine gene expression. *Toxicol In Vitro* 2003, 17(4): 385-395.
- Shenker BJ, Pankoski L, Zekavat A, Shapiro IM. Mercury-induced apoptosis in human lymphocytes: caspase activation is linked to redox status. *Antioxid Redox Signal* 2002, 4(3): 379-389.
- Kim SH, Sharma RP. Mercury-induced apoptosis and necrosis in murine macrophages: role of calcium-induced reactive oxygen species and p38 mitogen-activated protein kinase signaling. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004, 196(1): 47-57.
- Johansson U, Hansson-Georgiadis H, Hultman P. The genotype determines the B cell response in mercury-treated mice. *Int Arch Allergy Immunol* 1998, 116(4): 295-305.
- Nakashima I, Pu M, Nishizaki A, et al. Redox mechanism as alternative to ligand binding for receptor activation delivering disregulated cellular signals. *J Immunol* 1994, 152(3): 1064-1071.
- McCabe MJ Jr, Santini RP, Rosenspire AJ. Low and nontoxic levels of ionic mercury interfere with the regulation of cell growth in the WEHI-231 B-cell lymphoma. *Scand J Immunol* 1999, 50(3): 233-241.
- Lund BO, Miller DM, Woods JS. Studies on Hg(II)-induced H₂O₂ formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1993, 45(10): 2017-2024.
- Hemdan NYA, Lehmann I, Wichmann G, et al. Immunomodulation by mercuric chloride in vitro: application of different cell activation pathways. *Clin Exp Immunol* 2007, 148(2): 325-337.
- Yamamoto M, Yoshizaki K, Kishimoto T, Ito H. IL-6 is required for the development of Th1 cell-mediated murine colitis. *J Immunol* 2000, 164(9): 4878-4882.
- Prigent P, Saoudi A, Pannetier C, et al. Mercuric chloride, a chemical responsible for T helper cell (Th)2-mediated autoimmunity in brown Norway rats, directly triggers T cells to produce interleukin-4. *J Clin Invest* 1995, 96(3): 1484-1489.
- Oliveira DB, Gillespie K, Wolfreys K, et al. Compounds that induce autoimmunity in the brown Norway rat sensitize mast cells for mediator release and interleukin-4 expression. *Eur J Immunol* 1995, 25(8): 2259-2264.
- Suzuki Y, Inoue T, Ra C. Autoimmunity-inducing metals (Hg, Au and Ag) modulate mast cell signaling, function and survival. *Curr Farm Des* 2011, 17(34): 3805-3814.
- Jorissen A, Plum LM, Rink L, Haase H. Impact of lead and mercuric ions on the interleukin-2-dependent proliferation and survival of T cells. *Arch Toxicol* 2013, 87(2): 249-258.
- Pollard KM, Hultman P, Arnush M, et al. Immunology and genetics of xenobiotic-induced autoimmunity. [w:] From animal models to human genetics: research on the induction and pathogenicity of autoantibodies. Conrad K, Bachmann MP, Chan EKL, et al. (eds). Pabst Science Publishers, Lengerich 2004: 130-144.
- Crowe W, Allsopp PJ, Watson GE, et al. Mercury as an environmental stimulus in the development of autoimmunity – A systematic review. *Autoimmun Rev* 2017, 16(1): 72-80.
- Druet E, Sapin C, Günther E, et al. Mercuric chloride-induced anti-glomerular basement membrane antibodies in the rat: genetic control. *Eur J Immunol* 1977, 7(6): 348-351.
- Hultman P, Bell LJ, Eneström S, Pollard KM. Murine susceptibility to mercury. I. Autoantibody profiles and systemic immune deposits in inbred, congenic, and intra-H-2 recombinant strains. *Clin Immunol Immunopathol* 1992, 65(2): 98-109.
- Hultman P, Bell LJ, Eneström S, Pollard KM. Murine susceptibility to mercury. II. Autoantibody profiles and renal immune deposits in hybrid, backcross, and H-2d congenic mice. *Clin Immunol Immunopathol* 1993, 68(1): 9-20.
- Kono DH, Park MS, Szydliek A, et al. Resistance to xenobiotic-induced autoimmunity maps to chromosome 1. *J Immunol* 2001, 167(4): 2396-2403.
- Hultman P, Eneström S, Pollard KM, Tan EM. Anti-fibrillar autoantibodies in mercury-treated mice. *Clin Exp Immunol* 1989, 78(3): 470-477.

36. Kubicka-Muranyi M, Griem P, Lübben B, et. al. Mercuric-chloride-induced autoimmunity in mice involves up-regulated presentation by spleen cells of altered and unaltered nucleolar self antigen. *Int Arch Allergy Immunol* 1995, 108(1): 1-10.
37. Pollard KM, Lee DK, Casiano CA, et. al. The autoimmunity-inducing xenobiotic mercury interacts with the autoantigen fibrillarin and modifies its molecular and antigenic properties. *J Immunol* 1997, 158(7): 3521-3528.
38. Pollard KM, Landberg GP. The in vitro proliferation of murine lymphocytes to mercuric chloride is restricted to mature T cells and is interleukin 1 dependent. *Int Immunopharmacol* 2001, 1(3): 581-593.
39. Pelletier L, Pasquier R, Vial MC, et. al. Mercury-induced autoimmune glomerulonephritis: requirement for T-cells. *Nephrol Dial Transplant* 1987, 1(4): 211-218.
40. Schiraldi M, Monestier M. How can a chemical element elicit complex immunopathology? Lessons from mercury-induced autoimmunity. *Trends Immunol* 2009, 30(10): 502-509.
41. Königsberger S, Prodöhl J, Stegner D, et. al. Altered BCR signalling quality predisposes to autoimmune disease and a pre-diabetic state. *EMBO J* 2012, 31(15): 3363-3374.
42. Gill RF, McCabe MJ, Rosenspire AJ. Elements of the B cell signalosome are differentially affected by mercury intoxication. *Autoimmune Dis* 2014, 2014: 239358.
43. Hansson M, Djerbi M, Rabbani H, et. al. Exposure to mercuric chloride during the induction phase and after the onset of collagen-induced arthritis enhances immune/autoimmune responses and exacerbates the disease in DBA/1 mice. *Immunology* 2005, 114(3): 428-437.
44. Penta KL, Fairweather D, Shirley DL, et. al. Low-dose mercury heightens early innate response to coxsackievirus infection in female mice. *Inflamm Res* 2015, 64(1): 31-40.
45. Yeter D, Portman MA, Aschner M, et. al. Ethnic Kawasaki Disease risk associated with blood mercury and cadmium in U.S. children. *Int J Environ Res Public Health* 2016, 13(1): e101.
46. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal* 2012, 10(12): 2985.
47. Queiroz MLS, Dantas DCM. B lymphocytes in mercury-exposed workers. *Pharmacol Toxicol* 1997, 81(3): 130-133.
48. Queiroz MLS, Dantas DCM. T lymphocytes in mercury-exposed workers. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1997, 19(4): 499-510.
49. Laks DR. Assessment of chronic mercury exposure within the U.S. Population, National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2006. *Biomaterials* 2009, 22(6): 1103-1114.
50. Kim JH, Lee KH, Hong SC, et. al. Association between serum mercury concentration and leukocyte differential count in children. *Pediatr Hematol Oncol* 2015, 32(2): 109-114.
51. Moszczyński P, Rutowski J, Słowiński S, Bem S. Immunological effects of occupational exposure to metallic mercury in the population of T-cells and NK-cells. *Analyst* 1998, 123(1): 99-103.
52. Farahat SA, Rashed LA, Zawilla NH, Farouk SM. Effect of occupational exposure to elemental mercury in the amalgam on thymulin hormone production among dental staff. *Toxicol Ind Health* 2009, 25(3): 159-167.
53. Dantas DCM, Queiroz MLS. Immunoglobulin E and autoantibodies in mercury-exposed workers. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1997, 19(3): 383-392.
54. Alves MF, Fraiji NA, Barbosa AC, et. al. Fish consumption, mercury exposure and serum antinuclear antibody in Amazonians. *Int J Environ Health Res* 2006, 16(4): 255-262.
55. Gardner RM, Nyland JF, Silva IA, et. al. Mercury exposure, serum antinuclear/antinucleolar antibodies, and serum cytokine levels in mining populations in Amazonian Brazil: A cross-sectional study. *Environ Res* 2010, 110(4): 345-354.
56. Motts JA, Shirley DL, Silbergeld EK, Nyland JF. Novel biomarkers of mercury-induced autoimmune dysfunction: a cross-sectional study in Amazonian Brazil. *Environ Res* 2014, 132: 12-18.
57. Kim KN, Bae S, Park HY, et. al. Low-level mercury exposure and risk of asthma in school-age children. *Epidemiology* 2015, 26(5): 733-739.
58. Heinrich J, Guo F, Trepka MJ. Brief report: Low-level mercury exposure and risk of asthma in school-age children. *Epidemiology* 2017, 28(1): 116-118.
59. Soleo L, Vacca A, Vimercati A, et. al. Minimal immunological effects on workers with prolonged low exposure to inorganic mercury. *Occup Environ Med* 1997, 54(6): 437-442.
60. Park SH, Araki S, Nakata A, et. al. Effects of occupational metallic mercury vapour exposure on suppressor-inducer (CD4+CD45RA+) T lymphocytes and CD57+CD16+ natural killer cells. *Int Arch Occup Environ Health* 2000, 73(8): 537-542.