

5. Oppenheim J. Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity / J. Oppenheim, A. Biragyn, L. Kwak [et al] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. — 2003. — Vol. 62. — № 2. — P. 17-21.
6. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии : монография / В.В. Соколовский. — Л. : Медицина, 1971. — 176 с.

УДК 612.13:564.41/47.22 і 599.323.5

ВМІСТ ЦИНКУ В ТИМОЦИТАХ, В-ІНСУЛОЦИТАХ, ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВІ ТА КІСТКОВОГО МОЗКУ ТВАРИН ПРИ ДІЇ СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ

Григорова Н.В., к.б.н., доцент

Запорізький національний університет

Досліджувався вплив одноразових і багаторазових фізичного навантаження та іммобілізації на вміст цинку в тимусі, гранулоцитах периферичної крові та кісткового мозку, а також панкреатичних острівцях мишей, щурів і золотистих хом'ячків. Встановлено накопичення металу в клітинах гостро стресованих тварин, його дефіцит – у випадку хронічного стресу. Ці зміни можна віднести до ознак неспецифічного адаптаційного синдрому клітинної системи та вказують на наявність функціональних зв'язків між клітинами імунної системи та інсулярним апаратом.

Ключові слова: В-інсулоцити, гранулоцити крові, іммобілізація, кістковий мозок, тимус, фізичне навантаження

Григорова Н.В. СОДЕРЖАНИЕ ЦИНКА В ТИМОЦИТАХ, В-ИНСУЛОЦИТАХ, ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА ЖИВОТНЫХ ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ/ Запорожский национальный университет, Украина.

Исследовалось влияние однократных и многократных физической нагрузки и иммобилизации на содержание цинка в тимусе, гранулоцитах периферической крови и костного мозга, а также панкреатических островках мышей, крыс и золотистых хомячков. Установлено накопление металла в клетках остро стрессированных животных, его дефицит – в случае хронического стресса. Эти изменения можно отнести к признакам неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы и указывают на наличие функциональных связей между клетками иммунной системы и инсулярным аппаратом.

Ключевые слова: В-инсулоциты, гранулоциты крови, иммобилизация, костный мозг, тимус, физическая нагрузка, цинк

Grigorova N.V. ZINC CONTENT IN THYMOCYTES, B-INSULOCYTES, BLOOD AND BONE MARROW GRANULOCYTES OF ANIMALS UNDER STRESS FACTORS ACTION / Zaporizhzhya National University, Ukraine

The influence of one-fold and many-fold physical load and immobilization on zinc content was investigated in thymus, blood and bone marrow granulocytes and also in pancreatic islets of mice, rats and golden hamsters. Metal accumulation was established in the cells of acute stressed animals and its deficiency – in the cases of chronic stress. These changes of may be referred to signs of nonspecific adaptation syndrome of cell system and indicates the presence functional connections between the cells of immune system and insular apparatus.

Key words: B-insulocytes, blood granulocytes, bone marrow, immobilization, physical load, thymus, zinc

ВСТУП

Цинк належить до найбільш значущих для людини та тварин мікроелементів. Він є кофактором великої групи ферментів, бере участь у білковому та інших видах обміну, тому він потрібний для нормального перебігу багатьох біохімічних процесів [1, 2]. Цей мікроелемент являє собою важливий структурний компонент клітинних мембран, відіграє важливу роль у функції антиоксидантного ферменту супероксиддисмутази [1-

3]. Цинк необхідний для проліферації та діяльності імунітетів у зв'язку з його участю в процесах реплікації ДНК, транскрипції РНК, ділення та активації клітин [4-7]. Він входить до складу тимуліну-пептидного гормона, що синтезується епітеліальними клітинами тимуса [8]. Цинк зв'язується з тимуліном у співвідношенні 1:1 [5, 8]. Крім клітин імунної системи цинк забезпечує нормальне функціонування ендокринної частини підшлункової залози. При дослідженні за допомогою рентгенструктурного аналізу встановлено, що одна гексамерна одиниця кристалічного цинк-інсуліну складається з трьох димерів, згорнутих навколо вісі, на якій розташовані два атоми цинку [9, 10]. Вважають, що такий комплекс є формою депонування інсуліну в клітинах. Проінсулін, так само як і інсулін, утворює димери та цинковмісні гексамери [1]. Враховуючи вище сказане, а також той факт, що цинк, який визначається цитохімічно, знаходиться у тимоцитах, гранулоцитах крові, кісткового мозку та інсулінпродукуючих клітинах В, дуже актуальним є встановлення ролі металу в механізмах стресу на клітинному рівні. З цією метою мишей, щурів і золотистих хом'яків у гострому та хронічних експериментах піддавали дії фізичного навантаження та іммобілізації – екстремальних факторів не тільки різних, але й протилежних за своєю природою. Крім того, такого роду дослідження сприяють з'ясуванню характеру імунноінсулярних взаємовідносин.

Мета роботи – вивчити вплив фізичного навантаження та іммобілізації на вміст цинку в клітинах вилочкової і підшлункової залоз, а також гранулоцитах крові та кісткового мозку.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідах було використано 195 тварин (миші, щури, золотисті хом'ячки) віком 0,5-1 рік. 14 тварин кожного виду були контрольними (інтактними), інші зазнавали дії стрес-факторів. Фізичне навантаження викликали плаванням мишей, золотистих хом'яків (1 год) і щурів (2 год) в акваріумі з температурою води 32 °С. Іммобілізацію тварин проводили прив'язуванням до станка за допомогою м'яких пов'язок. Тривалість іммобілізації – 6 год. У хронічних дослідах указані процедури повторювались щоденно протягом 10 діб. Через 2 год після стресових впливів у гострому досліді, через 3 доби – у хронічному експерименті кров у мишей і щурів брали з хвоста, а у хом'яків – з вуха чи хвоста. Тварин забивали декапітацією, вилучали тимус, кістковий мозок і підшлункову залозу.

Для цитохімічного визначення цинку шматочки тимуса та підшлункової залози фіксували впродовж 12 год у холодному (+4 °С) ацетоні, потім витримували в двох ксилолах протягом 15 хв у кожному, суміші 50 % ксилолу та 50 % парафіну (30 хв при 40 °С), двох рідких парафінах (по 1,5 год у кожному при 56 °С) та замикали в парафін. Зрізи 5 – 10 мкм завтовшки депарафінували по 3 хв у кожному з двох ксилолів та спиртів (у випадку з тимусом), двох ксилолів і ацетонів (у випадку з підшлунковою залозою), промивали в дистильованій воді (5 хв) та замикали в гліцерин. На зрізи вилочкової залози наносили на 5 хв 0,1 % спиртовий розчин 8 - (п-толуолсульфаніламіно) – хіноліну (8-ТСХ), а на зрізи підшлункової залози – на 1 хв 0,01 % ацетоновий розчин цього реагенту. Потім їх впродовж 5 хв промивали в дистильованій воді, замикали в гліцерин і розглядали під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1, ЖС-18). На препаратах тимоцити і В-інсулоцити люмінесціювали жовто-зеленим світлом.

Для цитохімічного визначення цинку в гранулоцитах мазки крові та кісткового мозку попередньо фіксували протягом 5 хв у висхідних парах формаліну. Забарвлення мазків проводили протягом 3 год 0,2 % (робочим) водно-аміачним розчином дитизону.

Розчин дитизону готували в такий спосіб. У колбочку з кришкою, що щільно закривається, наливали 30 мл дистильованої води. Сюди додавали 0,6 мл 25 % розчину

гідроксиду амонію, 400 мг дитизону. Суміш перемішували на водяній бані при 70 °С протягом 10 хв, потім фільтрували через беззольний фільтр. При цьому одержували 1 % водно-аміачний розчин дитизону, тому що чверть його наважки залишалось на фільтрі. Робочий розчин реагенту одержували шляхом п'ятикратного розведення його основного розчину.

Після закінчення терміну фарбування дитизоном зрізи промивали дистильованою водою протягом 5 хв, замикали в желатин і розглядали під світловим мікроскопом. На препаратах у цитоплазмі гранулоцитів виявлялась червона зернистість.

Інтенсивність цитохімічних реакцій оцінювали за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським [11], Ф.Хейхоу та Д. Квагліно [12].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У таблиці 1 наведені дані вмісту цинку в тимусі тварин різних видів при одноразових стресових впливах: фізичному навантаженні (ОФН), іммобілізації (ОІ) та багаторазових впливах стрес-факторів: фізичному навантаженні (БФН), іммобілізації (БІ).

Таблиця 1 – Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ у тимоцитах мишей, щурів і золотистих хом'яків після впливу фізичного навантаження та іммобілізації ($\bar{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність цитохімічної реакції, ум.од		
	Миші	Щури	Золотисті хом'ячки
Контроль (n=14)	1,0± 0,08	1,2± 0,09	0,8± 0,06
ОФН (n=12)	1,4± 0,12**	1,7± 0,15**	1,1± 0,08**
ОІ (n=14)	1,3± 0,11*	1,6± 0,14*	1,0± 0,07*
БФН (n=13)	0,7± 0,06**	0,8± 0,07**	0,5± 0,03***
БІ (n=12)	0,8± 0,05*	0,9± 0,07*	0,6± 0,04*

Примітка: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ відносно контролю.

З таблиці видно, що під дією ОФН вміст цинку в тимоцитах зростав на 40% ($P < 0,01$) у мишей, 42% ($P < 0,01$) – у щурів, 38% ($P < 0,01$) – у золотистих хом'яків. ОІ викликало підвищення рівня внутрішньоклітинного металу в мишей на 30% ($P < 0,05$), щурів - на 33% ($P < 0,05$), золотистих хом'яків - 20% ($P < 0,05$). БФН призводило до зниження вмісту цинку в клітинах виличкової залози на 30% ($P < 0,01$) у мишей, 33% ($P < 0,01$) – у щурів, 37% ($P < 0,001$) – у золотистих хом'яків. При БІ ці цифри становили відповідно 20% ($P < 0,05$) – у мишей, 25% ($P < 0,05$) – щурів і золотистих хом'яків.

Про вміст цинку в гранулоцитах крові тварин, стресованих фізичним навантаженням та іммобілізацією, можна робити висновки на підставі даних таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, кількість цинку в зернистих лейкоцитах збільшувалась при ОФН на 45% ($P < 0,01$) у мишей, 42% ($P < 0,01$) – у щурів, 40% ($P < 0,01$) – у золотистих хом'яків. При ОІ зростання цього показника в клітинах крові складало відповідно 36% ($P < 0,01$), 33% ($P < 0,01$) і 30% ($P < 0,05$).

Стресування БФН і БІ викликало зменшення рівня металу в гранулоцитах крові мишей на 36% ($P < 0,001$) і 27% ($P < 0,001$), щурів – на 33% ($P < 0,001$) і 25% ($P < 0,01$), золотистих хом'яків – на 30% ($P < 0,01$) і 20% ($P < 0,05$).

Таблиця 2 – Інтенсивність цитохімічної реакції дитизону в гранулоцитах крові мишей, щурів і золотистих хом'яків після впливу фізичного навантаження та іммобілізації ($\bar{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність цитохімічної реакції, ум.од		
	Миші	Щури	Золотисті хом'ячки
Контроль (n=14)	1,1± 0,07	1,2± 0,08	1,0± 0,07
ОФН (n=12)	1,6± 0,13**	1,7± 0,15**	1,4± 0,11**
ОІ (n=14)	1,5± 0,11**	1,6± 0,12**	1,3± 0,09*
БФН (n=13)	0,7± 0,05***	0,8± 0,05***	0,7± 0,06**
БІ (n=12)	0,8± 0,04***	0,9± 0,06**	0,8± 0,05*

Примітка: позначення, як у табл.1.

Аналогічна картина спостерігалась при дослідженні кісткового мозку (табл.3).

Таблиця 3 – Інтенсивність цитохімічної реакції дитизону в гранулоцитах кісткового мозку мишей, щурів і золотистих хом'яків після впливу фізичного навантаження та іммобілізації ($\bar{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність цитохімічної реакції, ум.од		
	Миші	Щури	Золотисті хом'ячки
Контроль (n=14)	0,8± 0,06	0,9± 0,07	0,7± 0,05
ОФН (n=12)	1,1± 0,09*	1,2± 0,10*	1,0± 0,07**
ОІ (n=14)	1,0± 0,07*	1,1± 0,06*	0,9± 0,06*
БФН (n=13)	0,5± 0,04***	0,6± 0,04**	0,4± 0,03***
БІ (n=12)	0,6± 0,05**	0,7± 0,04*	0,5± 0,02**

Примітка: позначення, як у табл.1.

Отримані дані свідчать про те, що вміст цинку в зернистих лейкоцитах кісткового мозку був більше норми після ОФН на 38% ($P < 0,05$) у мишей, 33% ($P < 0,05$) – у щурів, 30% ($P < 0,01$) – у хом'яків, а після ОІ відповідно на 25% ($P < 0,05$), 22% ($P < 0,05$) і 29% ($P < 0,05$). БФН і БІ викликають зниження рівня цього металу в кістковомозкових клітинах у мишей на 37% ($P < 0,001$) і 25% ($P < 0,01$), щурів – на 33% ($P < 0,01$) і 22% ($P < 0,05$), золотистих хом'яків – на 43% ($P < 0,001$) і 29% ($P < 0,01$).

У таблицю 4 зведені результати визначень кількості металу в інсулінпродукуючих клітинах В піддослідних тварин.

З цієї таблиці видно, що під впливом ОФН вміст цинку в острівцевих В-клітинах підвищувався на 40% ($P < 0,01$) у мишей, 50% ($P < 0,01$) – у щурів, 38% ($P < 0,01$) – у золотистих хом'яків. У гостро іммобілізованих тварин зростання показника дорівнювало відповідно 35% ($P < 0,05$), 33% ($P < 0,05$) і 31% ($P < 0,01$). Після дії БФН і БІ спостерігалось зменшення рівня досліджуваного металу в В-інсулоцитах мишей на

30% ($P < 0,01$) і 25% ($P < 0,05$), щурів - 50% ($P < 0,001$) і 33% ($P < 0,001$), хом'ячків - 31% ($P < 0,001$) і 25% ($P < 0,01$).

Таблиця 4 – Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ у панкреатичних клітинах В мишей, щурів і золотистих хом'ячків після впливу фізичного навантаження та іммобілізації ($\bar{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність цитохімічної реакції, ум.од		
	Миші	Щури	Золотисті хом'ячки
Контроль (n=14)	2,0± 0,16	0,6± 0,04	1,6± 0,09
ОФН (n=12)	2,8± 0,23**	0,9± 0,07**	2,2± 0,15**
ОІ (n=14)	2,7± 0,21*	0,8± 0,06*	2,1± 0,13**
БФН (n=13)	1,4± 0,10**	0,3± 0,03***	1,1± 0,07***
БІ (n=12)	1,5± 0,08*	0,4± 0,02***	1,2± 0,06**

Примітка: позначення, як у табл.1.

Таким чином, гостре стресування обумовило підвищення вмісту цинку в тимоцитах, гранулоцитах крові та кісткового мозку, В-інсулоцитах мишей, щурів, золотистих хом'ячків, що вказує на активізацію захисних властивостей організму. Виснаження механізмів захисту клітин розвивалось при хронічному стресі, про що свідчить розвиток дефіциту металу в досліджених клітинах. Схожі зміни при дії фізичного навантаження та іммобілізації – екстремальних факторів не тільки різних, але навіть протилежних за своєю природою факторів, дозволяє віднести їх до неспецифічного адаптаційного синдрому клітинної системи.

Виявлена нами подібність змін вмісту цинку в тимоцитах, зернистих лейкоцитах крові та кісткового мозку, а також острівцевих клітинах В вказує на наявність функціональних зв'язків між клітинами імунної системи та інсулярним апаратом.

Перспективою подальших досліджень може бути з'ясування характеру взаємин між компонентами нейроімунноендокринної системи.

ВИСНОВКИ

1. ОФН у мишей, щурів, золотистих хом'ячків підвищувало вміст цинку на 38-42% у клітинах вилочкової залози, 40-45% у гранулоцитах крові, 30-38% - кісткового мозку та на 38-50% - в інсулінпродукуючих клітинах В.
2. Після дії ОІ на піддослідних тварин кількість металу зростала в тимоцитах на 20-33%, зернистих лейкоцитах крові – на 30-36%, кісткового мозку – на 22-29%, В-інсулоцитах – на 31-35%.
3. У випадку впливу БФН рівень цинку знижувався на 30-37% у тимусі, 30-36% - клітинах крові, 33-43% - кісткового мозку, 30-50% - панкреатичних острівцях, а у тварин з БІ ці цифри складали відповідно 20-25%, 20-27% і 22-23%.
4. Фазний характер змін вмісту цинку в тимоцитах, гранулоцитах крові та кісткового мозку, панкреатичних клітинах В стресованих тварин можна віднести до ознак неспецифічного адаптаційного синдрому клітинної системи, при чому накопичення металу в клітинах у гострому досліді відповідає стадії тривоги, його дефіцит у хронічному експерименті – стадії виснаження загального адаптаційного синдрому.

ЛІТЕРАТУРА

1. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / Скальный А.В. – М.: Оникс 21 век, 2004. – 216с.
2. Хімічні елементи і речовини в організмі у нормі та в патології: укр.-рос. довідник / Ф.О. Чмиленко, Т.С. Чмиленко, Ю.С. Сапа та ін. – Д.: Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2006. – 216с.
3. Tudor R. Zinc in health and chronic disease / R.Tudor, P.D.Zaleski, R.N.Ratnaike // J.Nutr. Health Aging. – 2005. – Vol. 9, №1. – P.45-51.
4. Кравців Р.Й. Цинк як модулятор імунної системи / Р.Й.Кравців, Р.П. Масленко // Вісн. аграр. науки. – 2003. - №6. – С.35-37.
5. Сергеев П.В. Цинкосодержажие препараты как модуляторы иммунной системы / П.В. Сергеев, Н.Л.Шимановский, К.Г. Гуревич // Междунар. мед. журнал. – 2000. – Т.6, №4. – С.99-101.
6. Ibs K.H. Zinc-altered immune function / K.H.Ibs, L.Rink // J.Nutr. – 2003. – Vol.133. – P.1452-1456.
7. Rink L. Zinc homeostasis and immunity / L.Rink, H.Haase // Trends immunol. – 2007. – Vol.28. – P.1-4.
8. Bach J.F. Thymulin, a zinc-dependent hormone / J.F. Bach // Med. Oncol. Tumor. Pharmacother. – 1989. – Vol.6, №1. – H.25-29.
9. Балаболкин М.И. Диабетология / Балаболкин М.И. – М.: Медицина, 2000. - 671с.
10. Development of an automated protein-tyrosine phosphatase inhibition assay and the screening of putative insulin-enhancing vanadium (IV) and zinc (II) complexes / A.P.Seale, L.A. de Jesus, C.J.Kim [et al.] // Biotechhol.Lett. – 2005. – Vol.27, №4. – P.221-225.
11. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии / Соколовский В.В. - Л.: Медицина, 1971. - 172с.
12. Хейхоу Ф. Гематологическая цитохимия / Хейхоу Ф., Кваглино Д. - М.: Медицина, 1983. - 320с.

УДК 591.111.1:616-002.5-057.6

СКЛАД ІМУНОЦИТІВ КРОВІ ПРИ ПЕРЕБІГУ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ У МЕШКАНЦІВ ПРОМИСЛОВОГО МІСТА

Колісник Н.В., д.б.н., професор, Мороз В.П., студент, Фурманець Н.В., студент

Запорізький національний університет

Встановлено, що при госпіталізації осіб з вперше діагностованим туберкульозом легень та наявністю виділення бактерій туберкульозу, які ніколи не приймали протитуберкульозні препарати (1-а група) та осіб з рецидивом хвороби й без бактеріовиділення (2-а група) відсутній лейкоцитоз, у 1,5 – 2,5 рази підвищено відносний та абсолютний вміст паличкоядерних, але на 10 - 15% знижено вміст сегментоядерних нейтрофілів, у хворих 2-ої групи визначався відносний та абсолютний лімфоцитоз в межах 20-30% від контролю. У хворих після курсу хіміотерапії протитуберкульозними препаратами (3-я група) знижено вміст лейкоцитів за рахунок сегментоядерних та еозинофілів. У хворих 1-ої та 2-ої груп