

УДК 669.5:61

ВМІСТ ЦИНКУ В ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВІ ПРИ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ ТА ДІЇ ПРОМИСЛОВИХ ФАКТОРІВ

Бовт В.Д., Єщенко В.А., Малько М.М., Григорова Н.В., Скорняков В.І.

Цинк у клітинах виконує важливі функції. Він необхідний для активності багатьох ферментів, стабілізує клітинні мембрани [1-9]. Дія шкідливих факторів на організм людини та тварин позначається насамперед на активності ферментів і проникливості клітинних мембран. Можна припустити, що порушення метаболізму цинку в клітинах лежить в основі клітинно-молекулярних механізмів патологічних процесів, які викликаються зазначеними факторами. Серед останніх особливої уваги заслуговують речовини, що зв'язують цинк (сірководень та ін.), а також токсичні метали (ртуть, мідь), які витіснюють цинк із його комплексів з біолігандами. У літературі накопичились дані про зниження концентрації цинку в клітинах крові при алкоголізації організму [10]. У зв'язку з цим важливо було вивчити характер порушень клітинного метаболізму даного металу. Підвищений інтерес до досліджень цинку в клітинах при дії алкоголю пояснюється також тим, що цей метал є необхідною складовою алкогольдегідрогенази, яка каталізує процеси утворення етилового спирту в організмі.

У робітників гарячих цехів металургійних об'єктів багато цинку втрачається з потом. Важливо було з'ясувати, як при цьому змінюється клітинний метаболізм цього металу.

Для з'ясування ступеня вираженості порушень обміну цинку в клітинах у випадку комбінованої дії алкоголю, сірководню, токсичних металів і високої температури нами були виділені групи осіб, які регулярно споживали алкоголь, та особи, які утримувалися від його споживання.

Найбільш вигідним об'єктом досліджень у людей служили клітини крові. Для дослідження впливу шкідливих речовин у промисловості на метаболізм цинку у клітинах внутрішніх органів були використані миші, які утримувалися у тих же самих цехах, в яких працювали особи, що обстежувалися.

Дослідження проводились на 132 особах та 75 мишах. Контролем служили особи та тварини, які не зазнавали дії алкоголю та шкідливих факторів у промисловості. Для вивчення впливу на організм цих факторів обстежувались особи, які регулярно споживали алкоголь і зазнавали впливу сірководню, токсичних металів і високої температури на промислових об'єктах. При цьому вивчався вплив факторів окремо та в комбінації з алкоголізацією організму.

Вплив алкоголю на метаболізм цинку в клітинах крові та внутрішніх органів досліджувався у мишей в умовах лабораторії поза виробництвом. Дія сірководню та токсичних речовин вивчалась на живих тест-об'єктах тобто мишах, які знаходились у відповідних цехах на промислових об'єктах. Алкоголізували тварин введенням у шлунок через зонд по 2 мл/кг етилового спирту. Вливання алкоголю повторювали дев'ятикратно з інтервалами в три дні.

У людей кров брали з пальця, у мишей - з хвоста. Мазки крові фіксували в парах формаліну з подальшим фарбуванням протягом 3 годин 0,2%-ним водно-аміаковим розчином дитизону, або одночасно фарбували і фіксували протягом 1 хвилини 0,01%-ним ацетоновим розчином 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ). Робочий розчин дитизону отримували шляхом п'ятикратного розведення дистильованою водою його основного розчину.

Для виготовлення останнього на водяній бані перемішували протягом 10 хвилин при температурі 70°C суміш, яка складалась з 30 мл дистильованої води, 0,6 мл 25%-ного розчину гідроокису амонію, 400 мг дитизону. При фільтруванні на фільтрі залишалося близько чверті наважки дитизону, тобто отримували 1%-ний водно-аміаковий розчин реагенту.

Тварин забивали, використовуючи декапітацію, добували тонкий кишечник, підшлункову та передміхурову залози. Шматочки органів фіксували в холодному ацетоні (+4°C) протягом 12 годин, потім через ксилоли доводили до парафіну. Парафінові зрізи товщиною 5-10 мкм фарбували протягом 3 год 0,2%-ним (робочим) розчином дитизону, або флуорохромували протягом 1 хвилини 0,01%-ним ацетоновим розчином 8-ТСХ.

На препаратах, забарвлених дитизоном, у цитоплазмі клітин виявлялись гранули, які при дослідженні їх у світлому полі мали пурпурно-червоний колір, а у темному полі світилися рожево-червоним кольором.

При фарбуванні за допомогою 8-ТСХ в цих гранулах виявлялась жовто-зелена люмінесценція. Для збудження основної застосовували світлофільтр ФС-1, а в якості захисного (окулярного) використовували світлофільтр із скла ЖС-18.

В зернистих лейкоцитах та клітинах тканин вдавалось підрахувати кількість гранул. Тому для визначення вмісту цинку використовувались напівкількісний і кількісний методи. Перший оснований на бальній системі визначення інтенсивності реакції. За один бал приймали слабопозитивну, два бали - помірну, три бали - виражену за інтенсивністю реакцію. Кількісний метод заснований на підрахунку кількості гранул з рахунку на одну клітину.

У мазках крові, забарвлених дитизоном, інтенсивність реакцій у контрольних осіб складала $1,3 \pm 0,08$, алкоголізованих - $0,9 \pm 0,08$ ($p < 0,001$), у осіб, що зазнали вплив сірководню - $1,0 \pm 0,07$ ($p < 0,05$), токсичних металів - $0,9 \pm 0,09$ ($p < 0,05$), високої температури - $1,0 \pm 0,08$ ($p < 0,05$).

На препаратах крові, флуорохоромованих 8-ТСХ, у контролі інтенсивність реакції складала $1,4 \pm 0,10$. При дії алкоголю, сірководню, токсичних металів, високої температури показники дорівнювали відповідно $1,0 \pm 0,08$ ($p < 0,05$), $1,1 \pm 0,08$ ($p < 0,05$), $1,1 \pm 0,07$ ($p < 0,05$), $1,0 \pm 0,09$ ($p < 0,05$).

Приведені дані вказують на суттєву відмінність від контролю у всіх групах обстежених осіб. Інакше кажучи, у всіх випадках розвивався дефіцит цинку в клітинах.

При підрахунку кількості дитизонових гранул в зернистих лейкоцитах отримані цифри: у контрольних осіб - $141 \pm 5,2$, алкоголізованих осіб - $116 \pm 4,8$ ($p < 0,001$), у осіб, які зазнали впливу сірководню - $122 \pm 6,1$ ($p < 0,01$), токсичних металів - $119 \pm 4,4$ ($p < 0,01$), високої температури - $112 \pm 6,8$ ($p < 0,01$). Такі ж результати отримані при підрахунку числа гранул 8-ТСХ: контроль - $143 \pm 5,1$, дія алкоголю - $120 \pm 4,8$ ($p < 0,01$), сірководню - $126 \pm 5,5$ ($p < 0,05$), токсичність металів - $119 \pm 4,2$ ($p < 0,01$), високої температури - $115 \pm 5,4$ ($p < 0,01$). Алкоголь потенціював дію шкідливих факторів у промисловості у відношенні розвитку дефіциту цинку в гранулоцитах крові.

Як показали дані, які були отримані на тваринах (тест-об'єктах), зміни цинку в гранулоцитах крові відповідають за характером і ступенем вираженості змінам клітинного метаболізму цього металу у внутрішніх органах. У алкоголізованих мишей вміст цинку у всіх досліджених клітинах був зниженим. Такі ж самі зміни виявлялись у гранулоцитах крові і клітинах внутрішніх органів у мишей (тест-об'єктів), які зазнавали впливу сірководню та токсичних металів.

Встановлена нами відповідність характеру та ступеня вираженості змін метаболізму цинку у гранулоцитах крові та клітинах внутрішніх органів дозволяє нам рекомендувати цитохімічні реакції дитизону та 8-ТСХ в зернистих лейкоцитах в якості діагностичних тестів при цинковій недостатності, що викликається різноманітними патогенними факторами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ещенко В. А. Гистохимическое исследование цинка // Цитология. - 1978. - № 8. - С. 927-933.
2. Малько М. М. Метаболізм цинку в клітинах при фізичних навантаженнях, іммобілізації та алкоголізації // Вісник ЗДУ. - 1998. - № 1. - С. 123-125.
3. Bettger W. J., O'Dell L. L. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes // Life Sci. - 1981. - V. 28. - P. 1405-1438.
4. Chausmer A. B. Zinc, insulin and diabetes // J. Am. Coll. Nutr. - 1998. - V. 17. - P. 109-115.
5. Huang T. M., Hung H. C., Chang T. C. Solvent kinetic isotope effects of human placental alkaline phosphatase in reverse micelles // Biochem. J. - 1998. - V. 330. - P. 267-275.
6. Nogales E., Wolf S. G., Downing K. H. Structure of the alpha beta tubulin dimer by electron crystallography // Nature. - 1998. - V. 391. - P. 199-203.
7. Valee B. L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology // Biofactors. - 1988. - V. 1. - P. 31-36.
8. Vignolini F., Nobili F., Mengheri E. Involvement of interleukin-1beta in zinc deficiency-induced intestinal damage and beneficial effect of cyclosporine A // Life Sci. - 1998. - V. 62. - P. 131-141.