УДК 669.5:61

ВМІСТ ЦИНКУ В КЛІТИНАХ ЩУРІВ ПРИ КОМБІНОВАНІЙ ДІЇ ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА ХЕЛАТУЮЧОГО ФАКТОРІВ

Ю.В. Єщенко

Запорізький національний університет

При введении крысам дитизона и 8-(п-толуолсульфониламино)-хинолина содержание цинка в клетках снижается. Дефицит данного металла в них усиливается в случае предварительного охлаждения и перегревания животных.

Кишка, клетки, охлаждение, прегревание, простата, хеланты, цинк

ВСТУП

Цинк виконує дуже важливі функції в організмі людини та тварин [1–5, 13]. Він є необхідною складовою частиною більшості металоензимів [10–15], підтримує інтегральну структуру та функцію клітинних мембран [8–9]. В деяких клітинах (базальні відділи кишкових крипт, кінцеві відділи передміхурової залози та ін.) міститься багато цього металу [3, 5]. Дефіцит у них цинку супроводжує розвиток пошкодження клітин [3, 4]. Тому цитохімічні реакції на цей метал можуть бути чутливим індикатором пошкоджуючої дії різних факторів на клітини [3].

До екологічних несприятливих факторів відносяться висока та низька температура, а також хелатуючі агенти – продукти та відходи промислового виробництва. В дослідах на тваринах показано, що до пошкоджуючої дії хелатуючих агентів – дитизону та 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8–ТСХ) чутливими є вказані клітини, які містять цитохімічно визначаємий цинк [4, 5].

Викликає значний інтерес вивчення комбінованої дії на клітини хелатуючих та інших несприятливих екологічних факторів, наприклад, температурних. Мета роботи – вивчити вміст цинку в клітинах щурів, отримавших дитизон та 8-ТСХ після їх охолодження та перегрівання.

УМОВИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідах було використано 109 щурів, у тому числі контрольні (інтактні) тварини, а також щури, яких піддавали дії дитизону, 8–ТСХ, охолодженню та перегріванню. Дитизон та 8–ТСХ вводили щурам

внутричеревно в дозах відповідно 50–100 та 50 мг/кг. Перший агент використали у якості 1%-вого, другий – 0,5%-вого розчинів.

Для приготування дитизонового розчину в колбу, яка герметично закривається, наливали 45 мл дистильованої води, 0,9 мл 25%–вого аміачного розчину, додавали 600 мг дитизону. Суміш перемішували на водяній бані (70° С) протягом 10 хв та фільтрували. Отриманий фільтрат є 1%-вим водно-амміачним розчином дитизону.

Для приготування розчину 8–ТСХ до 10 мл 0,1 н розчину NaOH додавали 50 мл хеланта. Суміш перемішували на водяній бані впродовж 10 хв при 70 °С. При цьому уся наважка реагенту розчинялася повністю, тому фільтрування не було потрібне. У результаті отримували 0,5%-вий розчин 8–ТСХ.

У випадках з охолодженням щурів піддавали дії температури +21 °С, перегріванням – температури +50 °С. Тривалість впливу цих факторів – 1 год. Через 2 год з початку досліду тварини отримували дитизон та 8–ТСХ. Забивали щурів через 5 діб після введення хелантів.

Шматочки тонкої кишки та передміхурової залози фіксували впродовж 12 год у холодному (4 °С) ацетоні. Потім їх витримували у двох ксилолах (по 15 хв у кожному), суміші 50%-вого ксилолу та 50%-вого парафіну (30 хв), двох рідких парафінах (56 °С – по 1,5 год у кожному) та заливали у парафін.

Зрізи 5–10 мкм завтовшки депарафінували обробкою у двох ксилолах та спиртах (по 3 хв у кожному), дистильованій воді (5 хв).

На зрізи наносили декілька крапель 0,01%–вого ацетонового розчину 8–ТСХ, після чого зрізи промивали дистильованою водою, замикали у гліцерин та розглядали під люмінесцентним мікроскопом. Для збудження люмінесценції використовували світлофільтр ФС–1, в якості окулярного (захисного) застосовували світлофільтр зі скла ЖС–18.

На препаратах у цитоплазмі клітин визначали зернистість, яка люмінесціювала жовто-зеленим світлом. В тонкий кишці позитивну реакцію давали клітини Панета, а в простаті – клітини кінцевих відділів.

Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ визначали за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським [6] та Ф. Хейхоу і Д. Квагліно [7]. Результати оброблені статистично. Підраховували середню арифметичну ($\overline{X}$), похибку (m), показник вірогідності (P).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати з визначення вмісту цинку в клітинах тонкої кишки та простати при введенні дитизону з попереднім охолодженням та прегріванням наведені у табл. 1. У контрольних (інтактних) щурів вміст цинку в клітинах Панета складав 2,2±0,16 ум. од., в клітинах простати – 1,8±0,14 ум.од.

Таблиця 1 – Вміст цинку в клітинах Панета та передміхурової залози щурів, які одержали дитизон після охолодження та перегрівання ($\overline{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність реакції 8–ТСХ, ум. од.	
	клітини Панета	простата
Контроль (n = 15)	2,2 ± 0,16	1,8 ± 0,14
Дитизон (n = 34)	$0,8 \pm 0,09^{***}$	$0,9 \pm 0,10^{***}$
Охолодження + дитизон (n = 13)	$0,5 \pm 0,04^{***}_{\#\#}$	$0,6 \pm 0,05^{***}_{\#\#}$
Перегрівання + дитизон (n = 14)	$0,4 \pm 0,03^{***}_{\#\#\#}$	$0,5 \pm 0,06^{***}_{\#\#\#}$

Примітка: ** – P<0,01; *** – P<0,001 порівняно з контролем; ## – P<0,01: ### – P<0,01 порівняно з дитизоновими тваринами

При введенні дитизону концентрація цього металу була зниженою на 64 % (P<0,001) в клітинах кишки та на 50 % (P<0,001) – у простаті.

У випадку попереднього охолодження дитизон викликав зменшення вмісту цинку на 76 % (P<0,001) в клітинах Панета, та на 70 % (P<0,001) – в клітинах простати. В порівняння з дитизоновими щурами охолодження при введенні цього агенту викликало зменшення кількості цього металу на 37 % (P<0,01) в кишці та на 33 % (P<0,01) – в простаті.

При введенні тваринам дитизону у випадку попереднього перегрівання вміст цинку був знижений в клітинах Панета на 82 % (P<0,001), а в клітинах простати – на 72 % (P<0,001). В порівнянні з дитизоновими тваринами у випадку з перегріванням спостерігалося падіння концентрації цинку на 50 % (P<0,001) у кишці та на 44 % (P<0,001) у простаті.

У табл. 2 наведені дані з дослідження впливу охолодження та перегрівання на пошкоджуючу дію на клітини 8-ТСХ, який дає високоселективну реакцію на цинк. При введені цього хеланту щурам вміст цинку знижувався на 23 % (P<0,05) в клітинах Панета та на 22 % (P<0,05) – в клітинах передміхурової залози. При комбінованій дії охолодження та

хеланту концентрація цинку в перших клітинах падала на 41 % (P<0,001), а в останніх на 44 % (P<0,001).

В порівнянні з випадками, коли тварин піддавали дії тільки 8-ТСХ, охолодження та 8-ТСХ викликали зменшення вмісту цинку на 41 % (P<0,05) в клітинах кишки та на 29 % (P<0,01) – в клітинах простати.

Таблиця 2 – Інтенсивність реакції 8–ТСХ в клітинах Панета та передміхурової залози щурів, які одержали 8–ТСХ після охолодження та перегрівання ($\overline{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність реакції 8–ТСХ, ум. од.	
	клітини Панета	простата
Контроль (n = 15)	2,2 ± 0,16	1,8 ± 0,14
8–ТСХ (n = 34)	$1,7 \pm 0,13^{*}$	$1,4 \pm 0,11^{*}$
Охолодження + 8–ТСХ (n = 13)	$1,3 \pm 0,10^{***}_{\#}$	$1,0 \pm 0,08^{***}_{\#\#}$
Перегрівання + 8–ТСХ (n = 14)	$1,2 \pm 0,09^{***}_{\#\#}$	$1,0 \pm 0,07^{***}_{\#\#}$

Примітка: * – P<0,05; *** – P<0,001 порівняно з контролем; ## – P<0,01: ### – P<0,01 порівняно з 8-ТСХ тваринами

При перегріванні щурів та введенні їм 8-ТСХ кількість цього металу в клітинах Панета була зменшена на 45 % (P<0,001), в клітинах простати – на 44 % (P<0,001). У таких тварин у порівнянні з щурами, які отримували тільки 8-ТСХ, вміст цинку був знижений в перших клітинах на 45% (P<0,01), а у других – на 29 % (P<0,01).

Отже, перегрівання, як і охолодження, підвищують чутливість клітин до пошкоджуючої дії дитизону та 8-ТСХ. У подальших дослідженнях буде вивчатись вміст цинку в клітинах за дії різних, екологічно несприятливих факторів.

ВИСНОВКИ

1. При введенні дитизону вміст цинку був знижений на 64 % в клітинах Панета, на 50 % – в клітинах передміхурової залози. 8-ТСХ викликав зменшення кількості цього елементу на 23 та 22 % відповідно.

2. Охолодження з дитизоном призводили до зменшення вмісту цього металу на 76 % в клітинах Панета та на 70 % – у простаті. За дії перегрівання та дитизону отримані дані складали 82 та 72 % відповідно.
3. Охолодження з 8-ТСХ викликали зниження вмісту цинку на 41 % в клітинах Панета та на 44 % – в простаті, при перегріванні та введенні 8-ТСХ на 45 та 44 % відповідно.
4. Низька та висока температура підвищують пошкоджуючи дію хелантів на клітини.

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Авцын А.П., Жаворонков А.Д., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология). – М.: Медицина, 1991. – 496 с.*
2. *Альберт А. Избирательная токсичность. – М.: Медицина, 1989. – 432 с.*
3. *Берегова Т.В., Ещенко Ю.В. Зміни вмісту цинку в клітинах при різних функціональних станах інсулярного апарата підшлункової залози // Вісник ЗДУ. – 2003. – № 7. – С. 112–116.*
4. *Гольдберг Е.Д., Ещенко В.А., Бовт В.Д. Сахарный диабет. Этиологические факторы. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 1993. – 136 с.*
5. *Ещенко В.А. Гистохимическое исследование цинка // Цитохимия. – 1978. – Т. 20, № 8. – С. 927–933.*
6. *Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологи. – Л.: Медицина, 1977. – 178 с.*
7. *Хейхоу Ф., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. – М: Медицина, 1983. – 265 с.*
8. *Bettger W.J., O'Dell B.L. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes // Life Sci. – 1981. – Vol. 28. – P. 1425–1438.*
9. *Bray T.M., Bettger W.J. The physiological role of zinc as an antioxidant // Free Radic. Biol. Med. – 1990. – Vol. 8, № 3. – P. 281–291.*
10. *Parkin G. Synthetic analogs of zinc enzymes // Met. Ions Biol. Syst. – 2001. – Vol. 38. – P. 411–460.*
11. *Tan X., Bramlett M.R., Lindahe P.A. Effect of Zn on acetyl coenzyme A syntase: evidence for a conformation change in the alpha subunit during catalysis // J. Am. Chem. Soc. – 2004. – Vol. 126, № 19. – P. 5954–5955.*

12. *Toyama A., Tokahashi Y., Takenchi H. Catalytic structural role of metal free histidine residue in bovine Cu – Zn superoxide dismutase // Biochemistry. – 2004. – Vol. 43 № 16. – P. – 4670–4679.*
13. *Vallee B.L. Zinc: biochemistry physiology, toxicology and clinical pathology // Biofactors. – 1988. – Vol. 1. – P. 21–36.*
14. *Vallee B.L., Auld D.S. Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other proteins // Biochemistry. – 1990. – Vol. 19. – P. 5647–5659.*
15. *Williams R.T. Metalloenzime catalysis // Chem. Commun. (Gamb.). – 2003. – № 10. – P. 1109–1113.*

ZINC CONTENT IN RAT CELLS AFTER COMBINE ACTION OF TEMPERATURE AND CHELATING FACTORS

J.V. Eshchenko

Cell zinc content decreases under the injection to rats of dithizone and 8-(p-toluensulfonylamino)-quinoline. This metal deficit in the cells increases in the cases of preliminary cooling and overheating of the animals.

УДК 669.5:61

Єщенко Ю.В. Вміст цинку в клітинах щурів при комбінованій дії температурного та хелатуючого факторів // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2008. – Вип. 13, № 2. – С. 169–174.

При введенні щурам дитизону та 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну вміст цинку в клітинах знижується. Дефіцит даного металу в них підсилюється в випадку попереднього охолодження та перегрівання тварин.

Бібл. 15. Табл. 2.