**УДК 669.5:61**

# РОЗВИТОК ДЕФІЦИТУ ЦИНКУ В ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВІ ПІД ВПЛИВОМ ЗАБРУДНЕННЯ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ

***О.В. Важненко *, Ю.В. Єщенко **, Н.В. Григорова **, В.Д. Бовт ** , В.А. Єщенко *****

****Держуправління охорони навколишнього природного середовища в Запорізькій області***

*****Запорізький національний університет***

Були проведені дослідження зміни вмісту цинку в гранулоцитах крові людей та тварин, які зазнали шкідливого впливу високого рівня забруднення атмосферного повітря. Виявлено, що за умов техногенно навантаженого повітряного басейну м. Запоріжжя у людей розвивається дефіцит цинку в гранулоцитах крові, що служить показником порушень обміну цинку у всьому організмі. Це було підтверджено в дослідах на тваринах.

*Техногенная нагрузка, гранулоциты, загрязнение атмосферного воздуха, цинк*

## ВСТУП

Запоріжжя – є одним з навантажених міст України по промисловому потенціалу, який обумовлений наявністю і концентрацією підприємств чорної і кольорової металургії, енергетики, хімії та є одним з лідерів за рівнем забруднення атмосферного повітря. Сучасна екологічна ситуація в м. Запоріжжя характеризується як складна [2–4, 6]. У 2006 р. загальні викиди забруднюючих речовин в атмосферу склали 209,1 тис. т, з яких 149,5 тис. т – викиди від стаціонарних джерел забруднення.

Ріст обсягів виробництва та валових викидів в атмосферне повітря, що відбувається за останні роки, призводить до більш інтенсивного забруднення атмосферного повітря в місті.

Існує взаємозв'язок між ступенем забруднення довкілля та загальним рівнем захворюваності населення, яке проживає на відповідній території. У великих індустріальних центрах, таких як м. Запоріжжя, особливої актуальності набуває проведення оцінки стану повітряного басейну та дослідження змін, які відбуваються в живому організмі при існуванні в середовищі з високим рівнем забруднення атмосферного повітря.

Вплив негативних факторів викликає у клітинах порушення обміну речовин, які відносяться до неспецифічного адаптаційного синдрому клітинної системи (НАСКС) [1]. При дослідженні метаболічних зрушень у клітинах особливої уваги заслуговує стан обміну в них цинку [5,7]. Пояснюється це тим, що цинк входить до складу великої кількості

металоферментів [12], стабілізує клітинні мембрани [10]. Більшість ознак НАСКС (підвищення сорбційних властивостей цитоплазми, посилений вихід речовин із клітин, порушення процесів гранулоутворення, накопичення в клітинах вільних радикалі та ін.) пов'язані з мембранною проникністю, а, отже, можуть бути результатом дефіциту цинку в клітинах. Можна припустити, що дія на організм несприятливих факторів супроводжується відповідними за ступенем вираженності порушеннями обміну цинку в клітинах. А.С. Прасад [11] було доведено, що за вмістом цинку у фракції зернистих лейкоцитів можна судити про стан обміну цинку в усьому організмі, тобто виявляти цинкову недостатність, тестуючи по гранулоцитах крові.

Метою даного дослідження було визначення стану обміну цинку у людей та тварин, які зазнали впливу техногенно навантаженого атмосферного повітря.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для аналізу стану атмосферного повітря м. Запоріжжя були використані матеріали Держуправління охорони навколишнього природного середовища в Запорізькій області, статистичної звітності підприємств, матеріали обласної та міської СЕС, Головного управління статистики в Запорізькій області та інше.

Найбільший вплив на стан атмосферного повітря м. Запоріжжя здійснюють 11 підприємств – основних забруднювачів [3, 6]. Безперечним лідером за загальним обсягам викидів в м. Запоріжжя є ВАТ „Запоріжсталь", загальні обсяги викидів якого у 2006 р. склали 78,4 тис. т забруднюючих речовин. Інші підприємства-основні забруднювачі також здійснюють значний вплив на якість атмосферного повітря. Наприклад, така шкідлива речовина як фенол, за якого спостерігалось перевищення ГДК у 2006 р. до 4,3 ГДК у 58,3 % вимірів [2], є пріоритетом підприємства ВАТ „Запорожкокс". Тому для даного дослідження було обрано працівників цих двох промислових гігантів.

Для визначення впливу забруднення атмосферного повітря на вміст цинку у гранулоцитах крові людини обрали 3 групи осіб: контролем були мешканці сільських районів, що не зазнавали дії шкідливих факторів промислового походження (15 осіб), друга та третя – працівники промислових підприємств м. Запоріжжя ВАТ „Запоріжсталь" (14 осіб) та ВАТ „Запорожкокс" (12 осіб).

Також були проведені дослідження на 37 мишах, які були розділені на 3 групи, дві з яких утримувались протягом півтора місяця в промислових цехах підприємств, на яких проводились дослідження крові працівників (14 та 11 тварин). Крім того була виділена контрольна група тварин (12), які не зазнавали відповідного впливу.

Для визначення функціонального стану зернистих лейкоцитів та вмісту в них цинку використовували дитизон (дифенілтиокарбазон) та 8-(паратолуолсульфоніламіно)-хінолін (8-ТСХ). Наявні в літературі відомості, що вказують на зв'язок цинку з білками, роблять необхідним дослідження секреторного матеріалу гранулоцитів крові за допомогою метилового зеленого-еозину (МЗЕ).

У людей кров брали з пальця, у мишей – з хвоста. Мазки крові фіксували у парах формаліну з подальшим фарбуванням протягом 3 год. 0,2%-вим водно-аміаковим розчином дитизону та фарбували за методом МЗЕ. Мазки крові людей також протягом 1 хв. обробляли 0,01%-вим ацетоновим розчином 8-ТСХ. При фарбуванні по методу МЗЕ після фіксації в парах формаліну мазки фарбували 1% -вим розчином метилового зеленого (1 хв), після чого повторно фіксували в парах формаліну (30 хв.), промивали дистильованою водою (5 хв.), фарбували 0,5%-вим розчином еозину (30 хв.), повторно промивали дистильовано водою та розташовували у желатині [5].

На препаратах, забарвлених дитизоном, у цитоплазмі зернистих лейкоцитів виявлялись червоні гранули, кількість яких – показник вмісту цинку в клітинах. На препаратах, забарвлених МЗЕ, гранули секреторного матеріалу були фіолетового кольору.

Мазки крові, оброблені 8-ТСХ, розглядали під люмінесцентним мікроскопом. У гранулоцитах виявляли жовто-зелену люмінесценцію. Для збудження люмінесценції застосовували світлофільтр ФС-1, захисним (окулярним) слугував світлофільтр зі скла ЖС-18.

Інтенсивність цитохімічних реакцій оцінювали за трибальною системою, яка була запропонована В.В. Соколовським [8], а також Ф. Хейхоу та Д. Квагліно [9]. За один бал приймали слабопозитивну, два бали – помірну, три бали – виражену за інтенсивністю реакцію.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У табл. 1 наведені дані визначення вмісту секреторного матеріалу та цинку в гранулоцитах крові працівників промислових підприємств та контрольної групи.

У мазках крові, забарвлених за методом МЗЕ, інтенсивність реакції у мешканців сільських районів, які не підлягають постійному впливу промислових факторів становила 1,0±0,08 у.о., у той час як у осіб, які працюють на ВАТ „Запоріжсталь" (II група) – 0,6±0,04 у.о. ($p < 0,001$), на ВАТ „Запорожкокс" (III група) – 0,7±0,05 у.о. ($p < 0,01$)

При використанні в якості фарбника дитизону на препаратах крові контрольної групи інтенсивність реакції становила 1,3±0,09 у.о., у другій групі – 0,9±0,06 у.о. ($p < 0,001$), а у третій – 0,9±0,08 у .о. ($p < 0,001$), тобто в обох випадках нижче на 31,8 % ніж у мешканців сільських районів.

Таблиця 1 – Інтенсивність цитохімічних реакцій дитизону, МЗЕ та 8-ТСХ у гранулоцитах крові людей ($\bar{X}$ ±m, n= 41)

| Група обстежених осіб | МЗЕ | | Дитизон | | 8-ТСХ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Інтенсивність реакції, у.о. | Кількість гранул | Інтенсивність реакції, у.о. | Кількість гранул | Інтенсивність реакції, у.о. | Кількість гранул |
| Контроль | 1,0±0,08 | 129±4,8 | 1,3±0,09 | 140±5,1 | 1,4±0,10 | 143±4,8 |
| II група | 0,6±0,04*** | 88±2,6*** | 0,9±0,06*** | 114±4,6*** | 1,0±0,08** | 118±4,5*** |
| III група | 0,7±0,05** | 101±3,9*** | 0,9±0,08*** | 122±5,0** | 0,9±0,09*** | 121±5,1*** |

Примітка: ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$ порівняно з контролем

На препаратах крові, оброблених 8-ТСХ, у контролі інтенсивність реакції становила 1,4±0,10 у.о. У працівників ВАТ „Запоріжсталь" (II група) показник склав 1,0±0,08 у.о. ($p < 0,01$), ВАТ „Запорожкокс" (III група) – 0,9±0,09 у.о. ($p<0,001$), що відповідно нижче ніж показники контрольної групи на 28,6% та 35,7% відповідно.

Наведені дані вказують на суттєву відмінність від контролю у другій та третій групах обстежених осіб, що свідчить про те, що у цих випадках розвився дефіцит цинку в клітинах.

При підрахунку кількості дитизонових гранул у зернистих лейкоцитах отримані такі цифри: у контрольних осіб – 140 ± 5,1, у другої групи – 114 ± 4,6 ($p<0,001$), у третьої – 122±5,0 ($p < 0,01$). Таким чином, відбулось зниження показника на 18,6 та 12,9 % у порівнянні з контрольною групою.

Схожі результати отримані при підрахунку кількості гранул МЗЕ та 8-ТСХ: контроль – 129±4,8 та 143 ± 4,8, друга група – 88 ± 2,6 ($p < 0,001$) та 118 ± 4,5 ($p<0,001$) – нижче на 31,8 % та 17,4 % від контролю, а третя – 101±3,9 ($p < 0,001$) та 121±5,1 ($p < 0,001$), тобто нижче показників контрольної групи на 21,7 та 15,4 %.

В табл. 2 наведені дані вмісту цинку в гранулоцитах крові піддослідних мишей. У контрольних (інтактних) мишей інтенсивність цитохімічної реакції дитизону дорівнювала 1,2±0,09 у.о., а реакції МЗЕ – 0,9±0,06 у.о.

Таблиця 2 – Інтенсивність цитохімічних реакцій дитизону та метилового зеленого – еозину (МЗЕ) в гранулоцитах крові мишей ($\overline{X}$ ±m, n= 37)

| Група обстежених тварин | Дитизон | | МЗЕ | |
|---|---|---|---|---|
| | Інтенсивність реакції, у.о. | Кількість гранул | Інтенсивність реакції, у.о. | Кількість гранул |
| Контроль | 1,2±0,09 | 106±3,1 | 0,9±0,06 | 95±4,2 |
| II група | 0,8±0,06*** | 90±2,3*** | 0,5±0,03*** | 64±3,1*** |
| III група | 0,9±0,07** | 93±2,6** | 0,7±0,04** | 79±3,6** |

Примітка: ** – p<0,01; *** – p<0,001 у порівнянні з контролем

Перебування в умовах високого рівня забруднення атмосферного повітря призвело до зниження інтенсивності реакції у другій групі до 0,8±0,06 у.о. (p<0,001) та у третій до 0,9±0,07 у.о. (p<0,01) при фарбуванні дитизоном. Тобто, відбулось зниження вмісту цинку на 33 та 25 % відповідно.

При фарбуванні за методом МЗЕ у другій і третій групах відбулось зниження інтенсивності реакції відповідно на 44 та 22 %, тобто склало та 0,5±0,03 у.о. (p<0,001) та 0,7±0,04 у.о. (p<0,01).

Кількості гранул у контролі при фарбуванні дитизоном склало 106±3,1, а у випадку МЗЕ – 95±4,2. При підрахунку кількості дитизонових гранул у зернистих лейкоцитах тварин, які піддались впливу техногенно навантаженого повітря, отримані такі цифри: на ВАТ „Запоріжсталь” – 90±2,3 (p < 0,001), на ВАТ „Запорожкокс” – 93±2,6 (p < 0,01)**.** Таким чином спостерігається зниження показника на 15,1 та 12,3 % у порівнянні з контролем. Схожі результати отримані при підрахунку кількості гранул МЗЕ: друга група – 64±3,1 79±3,6 (p < 0,01), третя – 79±3,6 (p < 0,01), тобто нижче на 30,0 та 16,8 % кількості гранул у контрольній групі.

Приведені в таблиці дані вказують на те, що при утриманні тварин в умовах високого рівня забруднення атмосферного повітря відбувалось значне зниження вмісту цинку, тобто розвивався його дефіцит.

## ВИСНОВКИ

1. У працівників промислових підприємств відбулось зниження інтенсивності цитохімічних реакцій дитизону, МЗЕ та 8-ТСХ в

гранулоцитах крові, за допомогою яких визначається цинк. Це вказує на розвиток цинкової недостатності у зернистих лейкоцитах крові, що може служити показником незадовільного стану обміну цинку у всьому організмі. Ця тенденція підтверджена в дослідах на тваринах.

2. Дефіцит цинку в клітинах супроводжується імунодефіцитами, за яких знижуються адаптивні можливості організму відносно дії небезпечних факторів довкілля. У зв'язку з цим зростає захворюваність мешканців промислового регіону. Це особливо важливо для м. Запоріжжя, де екологічна ситуація є складною, а незадовільний стан повітряного басейну негативно впливає на стан здоров'я населення.

***ЛІТЕРАТУРА:***


1. *Браун А.Д., Моженок Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. – Л.: Наука.. – 1987. – 238 с.*
2. *Бюлетень стану навколишнього середовища м. Запоріжжя за 2006 рік // Запорізька міська санітарно-епідеміологічна станція. – Запоріжжя, 2006. – 9 с.*
3. *Довкілля області за 2006 рік / Під ред. В.П. Головешка. – Запоріжжя: Головне управління статистики у Запорізькій області. – 2006. – 138 с.*
4. *Довкілля України. Статистичний збірник // Державний комітет статистики України. – Київ, 2006. – 255 с.*
5. *Ещенко В.А. Гистохимическое исследование цинка // Цитология. – 1978. – Т. 20, № 8. – С. 927–933.*
6. *Твоє майбутнє-земля за порогами за матеріалами національної доповіді про стан навколишнього природного середовища в Запорізькій області у 2006 році. // Держуправління охорони навколишнього природного середовища в Запорізькій області. – Запоріжжя, 2006. – 170 с.*
7. *Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. – Новосибирск: Наука, 1983. – 233 с.*
8. *Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии. – Л.: Медицина.. – 1983. – 320 с.*
9. *Хейхоу Ф., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. – М.: Медицина. – 1983. – 320 с.*
10. *Bray T.M., Bettger W.J. The physiological role of zinc as an antioxidant // Free Radic. Biol.Med.-1990. – Vol. 8. – P. 281–291.*
11. *Prasad A.S. Neutrophill zinc: an indicator of zinc status in man // Trans. Assoc. Amer. Physicians. – 1982. – Vol. 95. – P.165–176.*

*12. Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology // Biofactors. – 1988. – Vol. 1. – P. 31–36.*

## DEVELOPMENT OF ZINC DEFICIENCY IN GRANULOCYTES IN CONDITIONS UNDER THE INFLUENCE OF THE HIGH LEVEL OF AIR POLLUTION

***O.V. Vazhnenko, J.V. Eshchenko, N.V. Grigorova, V.D. Bovt, V.A. Eshchenko***

Researches of zinc contents in granulocytes of blood of people and animals which were subject to influence of high level of air pollution have been conducted. It was exposed, that in the conditions of the technogenic air-polluted pool of Zaporizhzhia, people had the deficit of zinc developed in blood granulocytes, which serves as the index of violations of exchange of zinc in all of organism. It was confirmed in experiments on animals.

УДК 669.5:61

Важненко О.В., Єщенко Ю.В., Григорова Н.В., Бовт В.Д., Єщенко В.А. Розвиток дефіциту цинку в гранулоцитах крові під впливом забруднення атмосферного повітря // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2008. – Вип. 13, № 1. – С. 121–128.

Були проведені дослідження зміни вмісту цинку в гранулоцитах крові людей та тварин, які зазнали шкідливого впливу високого рівня забруднення атмосферного повітря. Виявлено, що за умов техногенно навантаженого повітряного басейну м. Запоріжжя у людей розвивається дефіцит цинку в гранулоцитах крові, що служить показником порушень обміну цинку у всьому організмі. Це було підтверджено в дослідах на тваринах.

Бібл. 12. Табл. 2.