УДК 577.128:546.47+576.343

МЕТАБОЛІЗМ ЦИНКУ В КЛІТИНАХ ПРИ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕННЯХ, ІММОБІЛІЗАЦІЇ ТА АЛКОГОЛІЗАЦІЇ.

Малько М.М.

Клітинний метаболізм цинку при фізичних навантаженнях, іммобілізації та алкоголізації вивчений недостатньо. Для вирішення цього питання нами використовувались високочутливі цитохімічні реакції, що отримувались за допомогою дитизону та 8-(п-толуол-сульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ) [1, 2]. Матеріалом досліджень були мазки крові, зрізи підшлункової залози та тонкої кишки.

Дослідження проводились на 72 особах, що підлягали впливу гострої та хронічної алкоголізації, одноразових та багаторазових фізичних навантажень, а також 236 тварин (миші та щурі), які в гострих та хронічних дослідах отримували фізичні навантаження, іммобілізацію та алкоголізацію. З метою вивчення впливу фізичних навантажень у людей використовували їзду на велоергометрі протягом 15 хв при потужності навантаження 1 вт/кг, а в хронічних дослідах обстежувались особи, що виконували щоденну фізичну роботу протягом 12 - 26 днів. У дослідах на тваринах з фізичними навантаженнями використовувались акваріуми з температурою води 32°С, в якій миші плавали протягом 1 год, а щурі - протягом 2 год. У випадку багаторазових фізичних навантажень тварини підлягали такому впливу щоденно протягом 10 діб. У дослідах з іммобілізацією тварин прив'язували за допомогою м'яких пов'язок до станка в положенні "на спині" (мишей - на 6 год, щурів - на 8 год). У випадку багаторазової іммобілізації такі досліди повторювались щоденно протягом 10 діб. Гостру алкоголізацію проводили шляхом одноразового введення в шлунок (тваринам через зонд) 20%-ного розчину етанолу в дозі 10 мл/кг. У хронічних дослідах тварини дев'ятиразово отримували етанол з інтервалами в 3 дні між вливаннями.

У гострих дослідах кров брали через 2 год з початку фізичної роботи, після закінчення строку іммобілізації, через 2 год після введення етанолу. У хронічних дослідах кров брали через 1 - 3 діб після останнього впливу надзвичайного подразника. Після взяття проб крові у тварин брали підшлункову залозу та тонку кишку на цитохімічне дослідження.

Мазки крові фіксувалися протягом 5 хв в парах формаліну (у випадку барвлення дитизоном), а при постановці реакції 8-ТСХ їх одночасно фіксували та флуорохромували обробкою протягом 1 хв 0,01%-ним ацетоновим розчином 8-ТСХ. Шматочки тканин фіксували в холодному (+ 4°С) ацетоні протягом 12 год, а потім через ксилоли доводили до парафіну. Зрізи готували товщиною 5 - 10 мкм. Для забарвлення мазків та зрізів дитизоном використовували його 0,2%-ний водно-аміачний розчин, в якому препарати витримувались протягом 3 год, потім промивались дистильованою водою та досліджувались в світловому мікроскопі. Цинк на забарвлених препаратах виявляли наявністю червоних гранул в цитоплазмі зернистих лейкоцитів, інсулоцитів та клітин Панета. У цих же ділянках отримували позитивну реакцію 8-ТСХ. Цинк виявляли наявністю гранул, люмінесціюючих жовто-зеленим світлом (світлофільтри ФС-1 та ЖС -18). Інтенсивність реакції дитизону та 8-ТСХ оцінювали за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським [3], а також Ф. Хейхоу та Д. Квагліно [4]. За один бал приймали слабопозитивну, два бали - помірну, три бали - виразну за інтенсивністю реакцію. Середні значення інтенсивності цитохімічної реакції визначали на основі підрахунку 100 клітин. Матеріали досліджень підлягали статистичній обробці. Крім середньої арифметичної (X), визначали помилку (m) та показник достовірності (p).

У контрольних осіб інтенсивність дитизонової реакції в гранулоцитах крові склала - 1,3±0,08, а 8-ТСХ - 1,4±0,10. Інтенсивність реакції дитизону у цих же клітинах контрольних мишей дорівнювала - 1,0±0,06, а у щурів - 1,1±0,08.

У осіб, що отримували одноразові фізичні навантаження, спостерігалось збільшення вмісту цинку в гранулоцитах крові, про що свідчило збільшення порівняно з контролем інтенсивності реакції дитизону (1,7±0,15; $p<0,05$) та реакції 8-ТСХ (1,8±0,12; $p<0,05$). У мишей після одноразових фізичних навантажень інтенсивність дитизонової реакції на цинк складала - 1,3±0,07 ($p<0,05$), що на 30% вище контрольних показників. В експериментах на щурах інтенсивність дитизонової реакції при одноразових фізичних навантаженнях збільшувалась на 27% та дорівнювала - 1,4±0,09 ($p<0,05$). Аналогічні результати отримувались при одноразовій іммобілізації мишей та щурів: 1,3±0,08 ($p<0,05$) та 1,3±0,06 ($p<0,05$) відповідно .

У осіб, що не страждали алкоголізмом, після одноразового введення етанолу спостерігалось збільшення вмісту цинку у зернистих лейкоцитах: інтенсивність реакції дитизону складала - 1,8±0,19 (p<0,01), а 8-ТСХ - 1,9±0,16 (p<0,01). Одноразове введення етанолу викликало збільшення інтенсивності дитизонової реакції у мишей (1,4±0,09; p<0,01) та щурів (1,5±0,10; p<0,01).

Збільшення концентрації цинку в клітинах при одноразовому впливі екстремальних факторів спостерігалось також в інших органах. Інтенсивність реакції 8-ТСХ в інсулоцитах мишей в контролі складала - 2,0±0,14, а після одноразової фізичної роботи, іммобілізації та гострої алкоголізації становила відповідно: 2,6 ±0,18 (p<0,01), 2,6±0,15 (p<0,01) та 2,5±0,15 (p<0,05).

Роль симпато-адреналової системи в змінах клітинної концентрації цинку оцінювали в дослідах з введенням адреналіну та його антагоніста пілокарпіну. Ін'єкції адреналіну проводили з розрахунку 0,05 мг/кг, а пілокарпіну - 1 мг/кг.

У осіб, що отримували адреналін, інтенсивність реакції дитизону в зернистих лейкоцитах була вищою, ніж у контрольних (1, 7±0,14; p<0,05). Такі ж результати були отримані при постановці реакції 8-ТСХ (1,8±0,13; p<0,05). Інтенсивність дитизонової реакції в гранулоцитах крові мишей та щурів після введення розчину адреналіну складала відповідно: 1,4±0,11 (p<0,01) та 1,4± 0,12 (p<0,05). При введенні пілокарпіну вміст цинку в досліджуваних клітинах зменшувався, на що вказує більш низька інтенсивність дитизонової реакції у мишей (0,6±0,07; p<0,001) та щурів (0,7±0,06; p<0,001). Введення адреналіну та пілокарпіну мишам змінювало інтенсивність реакції 8-ТСХ в інсулоцитах: 2,5±0,16 (p<0,01) та 1,3±0,16 (p<0,001) відповідно.

Призначення пілокарпіну викликало корекцію метаболізму цинку в клітинах тварин, що піддавались гострому впливові екстремальними факторами. Інтенсивність дитизонової реакції в гранулоцитах крові мишей при одноразових фізичних навантаженнях, іммобілізації та гострій алкоголізації у випадку введення пілокарпіну складала відповідно: 0,9±0,07 (p>0,05), 1,0±0,09 (p>0,05), 1,1±0,08 *(p>0,05*). Інтенсивність реакції 8-ТСХ в інсулоцитах мишей при введенні їм пілокарпіну після одноразової фізичної роботи, іммобілізації, гострої алкоголізації складала відповідно: 1,9±0,12 (p>0,05), 2,2±0,17 (p>0,05), 2,1±0,15 (p>0,05).

При багаторазових фізичних навантаженнях вміст цинку в зернистих лейкоцитах людей знижувався. Інтенсивність реакції у досліджуваних клітинах складала - 1,0±0,10 (p<0,05), а реакції 8-ТСХ - 1,1±0,09 (p<0,05). Такі ж зміни спостерігалися у тварин, що підлягали багаторазовим фізичним навантаженням та іммобілізації. Обидва фактори викликали дефіцит цинку, що позначилося на зниженні інтенсивності дитизонової реакції при багаторазовій фізичній роботі - 0,8±0,04 (p<0,05) та 0,7±0,06 (p<0,001), при багаторазовій іммобілізації - 0,9±0,05 (p<0,05) та 0,8±0,07 (p<0,01) у мишей та щурів відповідно.

Аналогічні результати отримані під час дослідження клітин інших тканин органів. Так, при багаторазових фізичних навантаженнях інтенсивність реакції 8-ТСХ в інсулоцитах мишей та щурів складала: 1,4±0,15 (p<0,001) та 1,6±0,12 (p<0,05) відповідно. У випадку багаторазової іммобілізації інтенсивність вищевказаної реакції складала у мишей - 1,5±0,13 (p<0,05), а у щурів -1,5±0,17 (p<0,05).

Хронічна алкоголізація осіб обумовлювала розвиток дефіциту цинку в зернистих лейкоцитах. Інтенсивність реакції дитизону при цьому складала - 0,9±0,08 (p<0, 001), а 8-ТСХ - 1, 0±0,07 (p<0,001). У випадку багаторазового введення етанолу інтенсивність дитизонової реакції в гранулоцитах крові мишей складала - 0,6±0,05 (p<0,001), а у щурів - 0,5±0,03 (p<0,05).

Дефіцит цинку в результаті хронічної алкоголізації спостерігається також в клітинах інших тканин організму. Так, в інсулоцитах мишей інтенсивність реакції 8-ТСХ - 1,4±0,11 (p< 0,001), а в клітинах Панета щурів - 1,2±0,14 (p<0,001).

Призначення адреналіну викликало корекцію метаболізму цинку в клітинах тварин, що підлягали хронічному впливу екстремальних факторів. Інтенсивність дитизонової реакції в гранулоцитах крові мишей, що багаторазово отримували етанол, фізичні навантаження та іммобілізацію у випадку введення адреналіну складала відповідно: 0,9±0,12 (p>0,05), 1,2±0,08 (p>0,05), 1,1±0,10 (p>0,05). Інтенсивність реакції 8-ТСХ в інсулоцитах мишей при введенні їм адреналіну після багаторазової алкоголізації, фізичної роботи та іммобілізації складала відповідно: 2,1±0,16 (p> 0,05), 1,9±0,12 (p>0,05), 2,0±0,15 (p>0,05). Ці дані свідчать про роль симпато-адреналової системи в механізмі розвитку змін клітинного метаболізму цинку при дії надзвичайних подразників.

Таким чином, виявлено однотипні зміни клітинного метаболізму цинку при дії екстремальних факторів, що дає можливість віднести ці зміни до прикмет неспецифічного адаптаційного синдрому клітинної системи.

Акумулювання цинку в клітинах при дії на організм екстремальних факторів треба розглядати як захисну реакцію. При цьому активізується ряд ферментативних систем, стабілізуються клітинні

мембрани, в результаті чого підвищується стійкість клітин до дії пошкоджуючих факторів. Показано, що адреналін збільшує вміст цинку в клітинах, а пілокарпін, навпаки, знижує, що вказує на роль симпато-адреналової системи в регуляції метаболізму даного металу. Збудження симпато-адреналової системи під час стресових впливів обумовлює акумулювання цинку в клітинах організму, а виснаження вказаної системи обумовлює зменшення кількості даного металу в них. Розвиток клітинного дефіциту цинку, мабуть, також пов'язаний з недостатністю інсулярного апарату, про що свідчить зниження вмісту цього металу в інсулінпродукуючих клітинах. Отримані дані можуть служити підкріпленням результатів дослідів інших авторів [5], присвячених вивченню загальних закономірностей змін клітинного метаболізму цинку при дії екстремальних факторів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ещенко В.А. //Цитология. -Т. 20, № 8.- С. 927 - 933.

2. Омельянчик Л.А., Ещенко В.А., Бовт В.Д. //Вопросы биоиндикации. - Запорожье: Изд-во ЗГУ, 1997. - С. 184 - 187.

3. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии. - Л.: Медицина, 1971.

4. Хейхоу Ф., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. - М.: Медицина, 1983.

5. Гольдберг Е.Д., Бовт В.Д., Ещенко В.А. //Сиб.мед.журн. - 1996. -№ 1. -С. 28-29.