УДК 669.5:61

ВПЛИВ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ХІМІЧНИХ ТА ФІЗИЧНОГО ФАКТОРІВ НА ВМІСТ ЦИНКУ В ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВІ

Григорова Н.В., к.б.н., ст.викладач, Єщенко Ю.В., аспірант, Бовт В.Д., д.б.н., професор, Скорняков В.І., аспірант

Запорізький державний університет

Вміст цинку в гранулоцитах крові визначався за допомогою високочутливих металохромних індикаторів. Кількість цього металу в зазначених клітинах знижувалась у робітників, які зазнавали дії сірководню, токсичних металів і високої температури.

Ключові слова: висока температура, гранулоцити, сірководень, токсичні метали, хеланти, цинк.

Григорова Н.В., Ещенко Ю.В., Бовт В.Д., Скорняков В.И. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИЧЕСКОГО ФАКТОРОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ЦИНКА В ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВИ / Запорожский государственный университет, Украина

Содержание цинка в гранулоцитах крови определялось с помощью высокочувствительных металлохромных индикаторов. Количество этого металла в указанных клетках снижалось у рабочих, подвергавшихся воздействию сероводорода, токсических металлов и высокой температуры.

Ключевые слова: высокая температура, гранулоциты, сероводород, токсические металлы, хеланты, цинк.

Grigorova N.V., Eshchenko J.V., Bovt V.D., Skornyakov V.I. THE INFLUENCE OF EXTREMAL CHEMICAL AND PHYSICAL FACTORS ON ZINC CONTENT IN BLOOD GRANULOCYTES / Zaporizhzhya State University, Ukraine

Zinc content in blood granulocytes was determined with the aid of highly sensitive metallochromic indicators. The quantity of this metal in indicated cells was decreased in the workers subjected to the action of sulfurated hydrogen, toxic mettalls and high temperature.

Key words: chelators, granulocytes, high temperature, sulfurated hydrogen, toxic metalls, zinc.

1. ВСТУП

При дії екстремальних факторів у клітинах розвиваються однотипні зміни, які позначені терміном неспецифічний адаптаційний синдром клітинної системи (НАСКС) [1]. Відсутність досконалих методів визначення цинку в клітинах не дозволила виявити та описати зміни вмісту цього металу при НАСКС. А втім дослідження цинку в клітинах дуже бажані, враховуючи його важливі біологічні функції. Цинк необхідний для активності багатьох металоферментів [6-10]. Він стабілізує клітинні мембрани [4, 5]. При дії на клітини екстремальних факторів якраз знижується активність ферментів і підвищується проникність мембран [1, 3].

Нами були використані розроблені методи, які передбачають застосування високочутливих реагентів на цинк дитизону та 8 - (п - толуолсульфоніламіно) - хіноліну (8-ТСХ) [2].

Як хімічні фактори була вивчена дія зв'язуючого метали агента сірководню та токсичних металів, які є продуктами та відходами промислового виробництва. Досліджувалась також дія фізичного фактора – високої температури (у робітників гарячих цехів металургійної промисловості).

2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили у 15 контрольних осіб і 36 індивідуумів, які зазнавали дії різних факторів (сірководню, токсичних металів, високої температури). Кров для дослідження брали з пальця. Перед забарвленням дитизоном мазки фіксували в парах формаліну. Для цього в чашку Петрі наливали 20 мл формаліну, на дно чашки поміщали дві скляні палички, на які клали мазками донизу предметні стекла. Чашку закривали кришкою. Фіксацію у висхідних парах формаліну проводили протягом 5 хв. Потім кришку знімали, мазки переносили в іншу чашку Петрі та наливали на них декілька краплин робочого розчину дитизону. Чашку знов закривали кришкою, яку знімали через 3 год. Мазки промивали дистильованою водою протягом 5 хв і замикали в гліцерин.

Робочий розчин дитизону готували шляхом п'ятикратного розведення його основного розчину. Для приготування останнього змішували 15 мл дистильованої води, 0,3 мл 25%-ного розчину гідроксиду амонію, 200 мг дитизону. Суміш перемішували на водяній бані при 70 ˚С протягом 10 хв і фільтрували через беззольний фільтр. Отриманий фільтрат являв собою 1%-ний водно-аміачний розчин дитизону.

Забарвлені дитизоном мазки вивчали під світловим мікроскопом. На препаратах у цитоплазмі зернистих лейкоцитів виявлялись червоні гранули. Кількість дитизонових зерен у клітинах – показник вмісту в них цинку.

При використанні 8 – ТСХ застосували одночасну фіксацію та забарвлення мазків шляхом їх обробки протягом 1 хв 0,01% - ним ацетоновим розчином 8-ТСХ. Потім мазки замикали в гліцерин і вивчали під люмінесцентним мікроскопом. Для збудження люмінесценції застосували світлофільтр ФС-1, як окулярний використовували світлофільтр зі скла ЖС-18. На препаратах у цитоплазмі зернистих лейкоцитів виявлялись гранули, які люмінесціювали жовто-зеленим світлом. Кількість цих гранул – показник вмісту цинку в клітинах. Обидва типи зернистості ідентичні та являли собою гранули цинку.

Кількість цинку в клітинах визначали шляхом підрахунку в них кількості гранул. Підрахунок у кожному випадку проводили у 100 клітинах. Встановлювали середню арифметичну величину ($\overline{X}$), похибку (m) та показник достовірності (p).

3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У контрольних осіб кількість гранул дитизону в зернистих лейкоцитах складала 141 ± 5,2 (див. таблицю). При дії сірководню їхня кількість скорочувалась до 122 ± 6,1, що складало 87 % по відношенню до норми ($p < 0,05$). Токсичні метали викликали зменшення кількості гранул (119 ± 4,4 – 84 %, $p < 0,01$). Такі ж результати виходили і при обстеженні робітників гарячих цехів (112 ± 6,8 – 79 %, $p < 0,01$).

У контрольних осіб кількість гранул 8-ТСХ у зернистих лейкоцитах складала 143 ± 5,1 (див. таблицю). У осіб, які зазнавали дії сірководню, ця кількість скорочувалась (126 ± 5,5 - 88 %, $p < 0,05$). При дії токсичних металів кількість гранул 8-ТСХ складала 110 ± 4,8 (77 %, $p < 0,01$). Під впливом високої температури також відбувалось скорочення кількості гранул (115 ± 5,4 – 80 %; $p < 0,001$).

Звертає на себе увагу той факт, що кількість гранул дитизону та 8-ТСХ суттєво не відрізняється у всіх обстежених осіб. Обидва типи зернистості мають подібну локалізацію в клітинах. Усе це дозволяє говорити про ідентичність гранул дитизону та 8-ТСХ, тобто віднести їх до гранул цинку.

Токсичні метали викликають зниження вмісту цинку в клітинах внаслідок його витискання із комплексів з біолігандами. Дефіцит цинку в клітинах при дії високої температури зумовлений втратою цього металу з потом.

Таким чином, різні, навіть протилежні за своєю природою, фактори викликають однотипну зміну в гранулоцитах крові – дефіцит у них цинку. Однотипність зміни дозволяє віднести її до ознак НАСКС.

Таблиця 1. - Кількість гранул дитизону та 8-ТСХ у зернистих лейкоцитах у робітників, які зазнали дії сірководню, токсичних металів і високої температури ($\overline{X} \pm m$).

Група обстежених осіб	Кількість обстежених осіб	Кількість гранул	
		дитизону	8-ТСХ
Контроль	15	141 ± 5,2	143 ± 5,1
Сірководень	11	122 ± 6,1	126 ± 5,5
p		< 0,05	< 0,05
Токсичні метали	13	119 ± 4,4	110 ± 4,8
p		< 0,01	< 0,001
Висока температура	12	112 ± 6,8	115 ± 5,4
p		< 0,01	< 0,001

4.ВИСНОВКИ

Під впливом шкідливих факторів у промисловості (сірководню, токсичних металів, високої температури) у зернистих лейкоцитах людей скорочувалась кількість гранул, які визначались забарвленням дитизоном і 8-ТСХ.

Дефіцит цинку в цих клітинах може бути віднесений до ознак НАСКС.

ЛІТЕРАТУРА

1. Браун А.Д., Моженок Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. – Л.: Наука, 1987. – 232 с.

2. Ещенко В.А. Гистохимическое исследование цинка // Цитология. - 1978. - №8. – С. 927-933.

3. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. – Новосибирск: Наука, 1983. – 233с.

4. Bettger W.T., O'Dell B.L. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes // Life Sci. – 1981. – V.28. – P.1405-1438.

5. Bray T.M., Bettger W.J. The physiological role of zinc as an antioxidant // Free Radic. Biol. Med. – 1990. – V.8. – P.281-291.

6. Crowder M. W., Maiti M.K., Banovic L., Makaroff C.A. Glyoxalase II from A. thaliana requires Zn (II) for catalytic activity // FEBS Lett. - 1997. – V.418. – P. 351 - 354.

7. Huang T.M., Huang H.C., Chang T.C., Chang G.G. Solvent kinetic isotope effects of human placental alkaline phosphatase in reverse micelles // Biochem. J. – 1998. – V.330. – P.267-275.

8. Rigobello M.P., Callegaro M.T., Barzon E., Benetti M., Bindoli A. Purification of mitochondrial thioredoxin reductase and its involvement in the redox regulation of membrane permeability // Free Radic.Biol.Med. – 1998. – V.24. – P.370 – 376.

9. Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology // Biofactors. – 1988. – V.1. – P.31-36.

10. Vallee B.L., Auld D.S. Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other proteins // Biochemistry. – 1990. – V.29. – P.5647-5659.