

Dosage du Zinc Sanguin et Plasmatique chez les Sujets Iraniens

par

Spectrophotométrie d'Absorption Atomique

Gh. MOHTAT* H. MOHAMMADIHA*

Introduction

Le zinc est l'un des oligo-éléments dont l'importance biochimique a été déjà étudiée depuis plusieurs années (17, 19).

Les rôles catalytiques du zinc dans la biosynthèse de hémoglobine, des polynucléotides (1,5,10) et aussi son effet d'activateur dans les nombreuses réactions enzymatiques sont connus. (9,14)

La carence du zinc dans l'organisme humain entraînerait des anomalies biochimiques qui en resulteraient des maladies comme: anémie, lésions cutanés, troubles sexuels et aussi l'arrêt de croissance. (2,3,8,16)

* — Département de Biochimie, Faculté de Médecine Université de Téhéran, Iran.

Dans la clinique médicale, le dosage du zinc dans les liquides biologiques par des méthodes colorimétriques a une utilisation courante. Ces méthodes de précision peu satisfaisante sont souvent longues et surtout difficiles à appliquer dans la pratique de routine. (11,13)

La détermination du zinc sanguin chez l'homme en Iran, jusqu'à présent, n'est que rarement effectuée et les résultats obtenus sont fragmentaires (18). C'est pourquoi, il nous a paru intéressant de définir la teneur sanguine et plasmatique du zinc chez plusieurs individus sains et essayer en connaître le taux normal. Pour nos essais, nous avons utilisé la méthode de spectrophotométrie d'absorption atomique (S.A.A.)* dont la rapidité et la simplicité étant supérieures à celles des procédés colorimétriques (12) et les résultats obtenus sont précis et reproductibles (4) (Fig. 1).

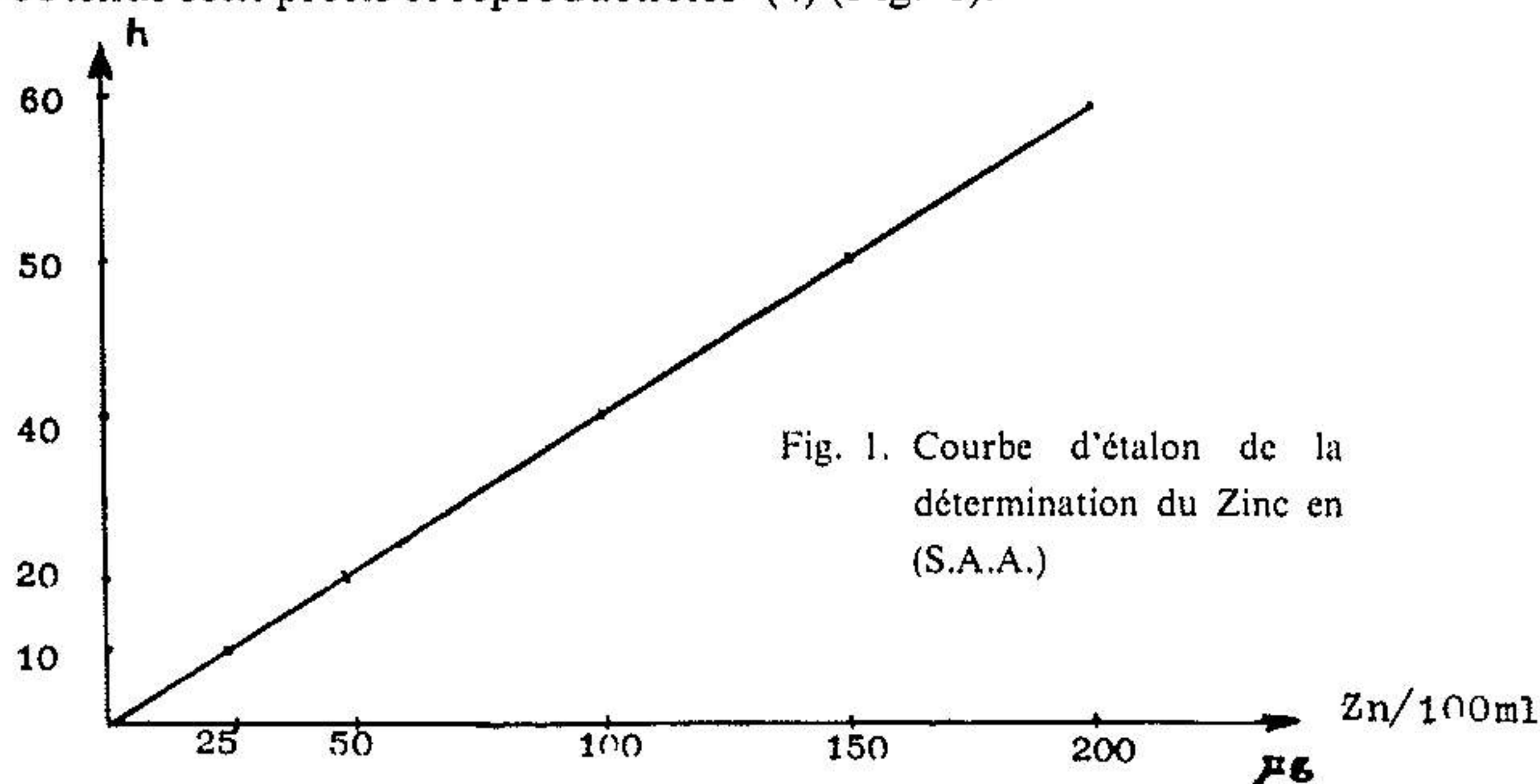


Fig. 1. Courbe d'étalon de la détermination du Zinc en (S.A.A.)

h: hauteur du pic en m.m.

Matériels et Méthodes

1 — Appareillage

Le spectrophotomètre d'absorption atomique de Zeiss- III Q utilisé que nous l'avons réglé sur 100 par l'eau bidistillée en choisissant le raie de résonance 2138 Å, la pression d'air 80 PSI et la pression d'acétylène 40 PSI.

2 — Etalonnage

Une solution aqueuse de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$ contenant 1gr. Zn/L. est

* — Nous utilisons l'abréviation de (S.A.A.) pour spectrophotométrie d'absorption atomique.

préparée comme solution stock et la courbe d'étalon fut construite à partir des dilutions 25,50,100,150 et 200 μ g Zn/100 ml.

3 — *Essais de contrôle*

Nous avons examiné l'éventuelle influence du ClNa et du CCl_3COOH sur nos essais. Le serum normal humain ayant une teneur de 102 mEq/L. du ClNa, en ajoutant la même qualité du ClNa à nos dilutions de standard, la courbe d'étalon reste inchangée. Le CCl_3COOH qui s'utiliserait comme un déprotéinisant, dans notre cas jusqu'à 8% dans la solution aqueuse n'a pas gêné le dosage du zinc en S.A.A. Afin de pouvoir maintenir le plus constant possible les paramètres expérimentaux, pour chaque série de dosage nous avons renouvelé la courbe d'étalon.

Toutes les verreries utilisées étaient plongées dans une solution de 20% de NO_3H pendant deux heures et dans l'eau bidistillée durant quatre heures, puis elles étaient lavées à l'eau bidistillée et séchées soigneusement avant l'usage. L'utilisation d'E.D.T.A. comme déionisant de verreries, dans notre cas n'a pas eu une influence perceptible sur les résultats.

4 — *Echantillonnage*

Les échantillons du sang veineux sont prélevés chez 216 individus sains (121 femmes et 95 hommes originaires de différentes régions de l'Iran et demeurant à Téhéran) dont l'âge variait de 15 à 50 ans. Les sangs examinés présentaient l'hématocrite normale. Chez les femmes le prélèvement fut effectué sur celles étant non enceintes et aussi n'utilisant pas des produits pharmaceutiques anticonceptionnels; en effet durant la grossesse et dans la période de la consommation des susdits médicaments la teneur sanguine et plasmatique du zinc chez la femme pourrait avoir des variations notables (7). Pour chaque prise du sang une seringue plastique fut utilisée et rejetée après l'usage. Chacun des échantillons est récolté sur héparine dans un tube à essai propre et sec (une solution d'héparine à raison de 0.2 mg/ml du sang était déposée dans chaque tube à essai et séchée préalablement à l'étuve de 80° c.).

5 — *Dosage*

Notre méthode de dosage est surtout inspirée de Hacle (6) et Par-

ker (15) que dans lesquelles nous avons apporté certaines modifications mineures. De chaque échantillon une partie est consacrée pour l'essai du sang total et le reste est centrifugé pendant 10 minutes à 3000/- tours, afin de l'obtention du plasma.

Pour le dosage, le sang fut dilué (1:10) par l'eau bidistillé, dont l'hémolyse était parfaite et le plasma (1:1) Ces dilutions étaient satisfaisantes qui pouvaient donner des pics à des hauteurs convenables sur enregistreur du S.A.A.

6 — Contrôle de dosage

Afin de pouvoir vérifier la fiabilité des résultats obtenus nous avons effectué des dosages répétés sur des échantillons du sang et du plasma, après avoir ajouter une quantité connue du zinc. Ces expériences nous ont donné les valeurs numériques suivantes:

Tableau 1 — Dosage du Zinc ajouté au sang

Teneur Initial $\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$	Quantité Ajouté $\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$	Résultat du Dosage $\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$	Différence
750	100	835	— 15
750	200	970	+20
750	300	1075	+25

Tableau 2 — Dosage du Zinc ajouté au plasma

Teneur Initiale $\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$	Quantité Ajouté $\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$	Résultat du Dosage $\mu\text{g Zn}/100 \text{ ml}$	Différence
90	25	118	+3
90	50	149	+9
90	100	183	— 7

Résultats et Discussion

Les résultats obtenus, ainsi que les valeurs statistiques retrouvées sont regroupés dans le tableau 3.

Tableau 3 — Dosage spectrophotométrie d'absorption atomique
du Zinc. (Unité $\mu\text{g}/100\text{ ml.}$)

Sujets (Sains)		Homme (âge: 20-50 ans)	Femme (âge: 15-45 ans)
Echantillons			
Examinés		95	121
Teneur Plasmatique du Zinc	Max.	130	145
	Min.	65	45
	Moyenne	100	91
	D.S.	± 15	± 18.5
Teneur Sanguine du Zinc	Max.	980	900
	Min.	600	440
	Moyenne	775	718
	D.S.	± 131	± 136

A notre connaissance, le taux normal du zinc n'est déterminé par S.A.A. que rarement en Iran (18) mais toutefois nos résultats sont concordants avec ceux de Davies et coll. (3') qui ont présenté les valeurs suivantes pour le zinc plasmatique sur 36 hommes et 31 femmes anglais âgés de 19 à 58 ans, en $\mu\text{g}/100\text{ml}$:

Femme : 96 ± 10.5
Homme : 95 ± 13

La méthode de dosage en S.A.A. a l'avantage d'être rapide, de sorte que du prélèvement jusqu'au dosage ne dure qu'environ 60 minutes; d'où dans une journée de travail, de nombreux échantillons peuvent être examinés en série. Dans les conditions de nos expériences, la précision de la méthode était $\pm 5\%$ et il nous fut possible de réduire la prise d'essai à 0.3 ml pour le plasma et 0.1 ml pour le sang total.

RÉSUMÉ

La teneur du zinc sanguin et plasmatique chez 216 individus sains (121 femmes et 95 hommes Iraniens) est déterminée par spectrophotométrie

d'absorption atomique. Cette méthode a la préférence d'être rapide et précise. On a trouvé les valeurs moyennes suivantes en $\mu\text{g}/100\text{ ml}$:

Femme: Sang 718 ± 212 , Plasma 91 ± 37

Homme: Sang 775 ± 262 , Plasma 100 ± 30

SUMMARY

The value of zinc in whole blood and plasma was determined in 216 Iranian subjects (121 women, and 95 men) by atomic absorption spectrophotometry. In women, the mean value in whole blood was $718 \pm 212 \mu\text{g}/100\text{ml}$ and in plasma was $91 \pm 37 \mu\text{g}/100\text{ml}$. In men, the mean value in whole blood was $775 \pm 262 \mu\text{g}/100\text{ml}$ and in plasma was $100 \pm 30 \mu\text{g}/100\text{ml}$.

Bibliographie

1. Becker, W.M., (1968), Effects of zinc deficiency in the rat on the binding of tissue zinc on the synthesis of DNA, RNA and protein. (thesis) Univ. Wisconsin Dissertation Abstr. 28, 3154B.
2. Caggiano, V., Schnitzler, R., Struss, W., Baker, R.K., Carter, A.C., Josephron, A.S. and Wallach, S. (1969). Zinc deficiency in a patient with retarded growth, hypogonadism, hypogammaglobulinemia and chronic infection, *Am. J. Med. Sci.* 257, 305-311.
3. Carter, J. P., Grivetti, L. E., Davis, J. T., Nasiff, S., Mansour, A., Mousa, W. A., Atta, A., Patwardhan, V. N., Moneim, M. Abdou, I. A., and Darby, W. J. (1969). Growth and sexual development of adolescent Egyptian village boys. Effects of zinc, iron, and placebo supplementation, *Am. J. Clin. Nutr.* 22, 59-78.
4. Davies, I.J.T., Musa, M. and Dormandy, T.L. (1968). Measurements of plasma zinc, *J. clin. Path.* 21, 389-365.
5. Dawson, J. B. and Walker, B. E. (1969). Direct determination of zinc in whole blood, plasma and urine by atomic absorption spectroscopy. *Clin. Chim. Acta.* 26, 465-475.
6. Fujioka, M., and Liberman, I. (1964). A zinc requirement for synthesis of DNA by rat liver, *J. Biol. Chem.* 239, 1164-1167.
7. Hackley, B. M., Smith, J. C. and Halsted, J. A. (1968). A simplified method for plasma zinc determination by atomic absorption spectrophotometry, *Clin. Chem.* 14, 1-5.

8. Halsted, J. A. Hackley, B. M. and Smith, J. C. (1968). Plasma zinc and copper in pregnancy and after oral contraceptives. *Lancet* 2, 278-279.
9. Herring, W. B., Leavell, B. S., Paixao, L. M. and Yoe, J. H. (1960), Trace metals in human plasma and red blood cells. A study of magnesium, chromium, nickel, copper and zinc., Observatoins of patients with hematologic diseases. *Am. J. Clin. Nutr.* 8, 855-863.
10. Keilin, D., and Mann, J. (1940). Carbonic anhydrase purification and nature of the enzyme, *Biochem, J.* 34, 1163-1167.
11. Macapinlac, M. P., Pearson, W. N., Barney, G. H. and Darby, W. J. (1968). Protein and nucleic acid metabolism in the testes of zinc-deficient rats, *J. Nutr.* 95, 569-577.
12. Mahanand, D. and Houck, J. C. (1968). Fluorometric determination of zinc in biologic fluids. *Clin. Chemi.* 14, 6-11.
13. Meret, S. and Henkin, R. I. (1971). Simultaneous direct estimation by atomic absorption spectrophotometry of copper and zinc in serum, urine, and cerebrospinal fluid, *Clin, Chemi.* 17 ,369-373.
14. Mikac-Devic, D. (1969). A new spectrophotometric method for determination of zinc in serum and trine, *Clin. Chem. Acta.* 23, 499-506.
15. Parisi, A. F. and Vallee, B. L. (1969). Zinc metalloenzyme; characteristics and significance in biology and Medicine. *Am. J. Clin. Nutr.* 22, 1222-1239.
16. Parker, M. M., Humoller, F. L. and Mahler, D. J. (1967). Determination of copper and zinc in biological material. *Clin. Chem.* 13, 40-48.
17. Prasad, A. S. ,Miale, A. Jr., Farid, Z., Sandstead, H. H. and Schulert A. R. (1963). Zinc metabolism in partients with syndrome of iron deficiency anemia, hepatomegaly, dwarfism and hypogonadism. *J. Lab. Clin. Med.* 61, 537-549.
18. Raulin, J. (1869). Etudes cliniques sur la végétation. *Ann. Sci. Natl. Botan. Biol. Végétale*, 11, 93-96.
19. Ronaghy, H., Spivey Fox, M. R., Garn, S. M., Israel, H., Harp. A., Moe, P.G., and Halsted, J. A. (1969). Controlled supplementation of malnourished school boys. A pilot experiment. *Am. J. Clin. Nutr.* 22, 1279-1289.
20. Todd, W. R., Elvehjem, C. A. and Hart, E. B. (1934). Zinc in the nutrition of the rat. *Am. J. Physiol* 107, 146-151.