ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
„ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ”
МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Присвячується пам’яті
д.м.н., професора Єщенка В.А. –
справжнього вченого
зі світовим визнанням,
засновника кафедри фізіології ЗНУ,
керівника наукової школи,
талановитого педагога,
мого вчителя

Н.В. ГРИГОРОВА

ВНУТРІШНЬОСЕКРЕТОРНА ФУНКЦІЯ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

Запоріжжя
2014

УДК 612.43:612.346:616.379-008.64
ББК Р415.1+Р415.160.23
Г831

Рецензенти:

Доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри
нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету
В.І.Філімонов

Доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри
медико-біологічних основ фізичного виховання та спорту
Запорізького національного університету
М.В.Маліков

Доктор біологічних наук, професор кафедри анатомії і фізіології
людини і тварин Мелітопольського державного педагогічного
університету імені Богдана Хмельницького
Т.І.Станішевська

Затверджено до друку вченою радою
Запорізького національного університету
(протокол №10 від 27.05.2014 р.)

Григорова Н.В.

Г831 Внутрішньосекреторна функція підшлункової залози в нормі та при патології: монографія / Н.В. Григорова. – Запоріжжя: Запорізький національний університет, 2014. – 304 с.

ISBN 978-966-599-482-4

Монографію присвячено вивченню внутрішньосекреторної функції підшлункової залози. Наводяться результати власних досліджень і аналіз відомих фактів, які стосуються цитофізіології клітин панкреатичних острівців та проявів порушення їх діяльності. Останні, як відомо, призводять до розвитку цукрового діабету. Розглянуті методи оцінки стану β-інсулоцитів, які ґрунтуються на проведенні цитохімічних реакцій з використанням металохромних індикаторів на цинк і магній. Представлені в книзі дані по клінічній та експериментальній діабетології можуть мати значення для з'ясування низки питань патогенезу, лікування та профілактики цукрового діабету у людей в різні періоди онтогенезу та при перебігу хвороби різного ступеня важкості.

Монографію можно використовувати при вивченні ендокринології, цитології, гістології, фізіології людини і тварин, патофізіології та фармакології.

УДК 612.43:612.346:616.379-008.64
ББК Р415.1+Р415.160.23

ISBN 978-966-599-482-4 © Григорова Н.В., 2014

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ 5
ВСТУП 8
ГЛАВА 1 МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВНУТРІШНЬОСЕКРЕТОРНОЇ ЧАСТИНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ 12
1.1. Будова та функції клітин панкреатичних острівців 12
1.2. Інсулін, секреція, цинк і магній 28
1.3. Патофізіологія секреції інсуліну 83
ГЛАВА 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ β-ІНСУЛОЦИТІВ І ЇХ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗВ'ЯЗКІВ З КЛІТИНАМИ ІНШИХ ОРГАНІВ 107
2.1. Організація досліджень 107
2.2. Цитохімічні методи визначення цинку, міді, магнію та секреторного матеріалу в клітинах людей і піддослідних тварин 111
2.2.1. Цитохімічні методи визначення металів у клітинах 111
2.2.2. Цитохімічні методи визначення секреторного матеріалу в клітинах 114
2.2.3. Методика оцінювання вмісту внутрішньоклітинних металів і секреторних матеріалів, що їх містять 115
2.3. Біохімічні методи визначення металів, інсуліну та глікемії 116
2.3.1. Визначення концентрацій цинку, міді та магнію в сироватці та плазмі крові 116
2.3.2. Визначення концентрацій інсуліну та глюкози в крові 118
2.4. Статистична обробка отриманих результатів 120
ГЛАВА 3. ВИЗНАЧЕННЯ ЦИНКУ, МАГНІЮ ТА ІНСУЛІНУ В ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦЯХ РІЗНИХ ВИДІВ ТВАРИН 121
ГЛАВА 4. НЕТРАДИЦІЙНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ТА ВІДНОВЛЕННЯ ЗДОРОВ'Я ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 163
4.1.Застосування стандартних методів і металохромних індикаторів у діагностиці цукрового діабету 163

4.2. Застосування нейтрадиційних методів відновлення здоров'я людей, хворих на діабет 182
ГЛАВА 5. ДІАБЕТОГЕННІ СПОЛУКИ І МОЖЛИВА РОЛЬ ПРОЦЕСІВ КОМПЛЕКСОУТВОРЮВАННЯ З ЦИНКОМ У ПАТОГЕНЕЗІ ДІАБЕТУ 187
5.1. Про здатність комплексоутворюючих хімічних сполук викликати діабет 187
5.1.1. Алоксан 187
5.1.2. Стрептозотоцин 193
5.1.3. Дитизон 196
5.1.4. Похідні 8-оксихіноліну 201
5.2. Про здатність попередження діабету, викликаного комплексо-утворюючими сполуками 211
ГЛАВА 6. СТАН ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ ПРИ РІЗНИХ ВИДАХ ДІАБЕТУ 218
ГЛАВА 7. ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИНКУ В ГІПОКАМПІ ТА ШИШКОПОДІБНІЙ, ВИЛОЧКОВІЙ, ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗАХ ДІАБЕТИЧНИХ ТВАРИН 238
ЛІТЕРАТУРА 261

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АЕ – адреналектомія

а.з. – амінокислотні залишки

АКТГ – адренокортикотропний гормон

АЛТ - аланінамінотрансфераза

АМФ – аденозинмонофосфат

АСТ – аспартатамінотрансфераза

АТ – артеріальний тиск

АТФ – аденозинтрифосфат

АФ – альдегідфуксин

БА – багаторазова алкоголізація

БІ – багаторазова іммобілізація

БО – багаторазове охолодження

БП – багаторазове перегрівання

БФН – багаторазове фізичне навантаження

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров’я

ГКГС – гістокомплекс гістосумісності

ГЛЮТ – глюкозний транспортер

ДЕТКН – діетилдитіокарбамат натрію

Дитизон – дифенілтиокарбазон

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ДТО – дитіооксамід

ЕДТА – етилендиамінтетраоцтова кислота

ЖК – жирні кислоти

ІЗЦД – інсулінозалежний цукровий діабет

ІНЦД – інсулінонезалежний цукровий діабет

ІР – інсуліновий рецептор

ІРС – інсулінорецепторний субстрат

$ІФ_з$ - інозитолтрифосфат

ІФР – інсуліноподібний фактор росту

КА - катехоламіни

ЛК – люмокупферон

ЛМ – люмомагнезон

ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності

ЛПДНЩ – ліпопротеїди дуже низької щільності

МЗЕ – метиловий зелений-еозин

мол.м. – молекулярна маса

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

МТ – металотіонеїн

НЕЖК – неетерифіковані жирні кислоти

ОА – одноразова алкоголізація

ОД – одиниці дії

ОІ – одноразова іммобілізація

ОО – одноразове охолодження

ОП – одноразове перегрівання

ОФН – одноразове фізичне навантаження

РНК – рибонуклеїнова кислота

СІР – субстрат інсулінового рецептора

СТГ – соматотропний гормон

ТГ - тригліцериди

ТЕК – тимусні епітеліальні клітини

ТК - тирозинкіназа

8-ТСХ – 8 – (п – толуолсульфоніламіно) – хінолін

ум.од. – умовні одиниці

ФІ - фосфатидилінозитол

цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат

ЦД – 1 – цукровий діабет 1-го типу

ЦД – 2 – цукровий діабет 2-го типу

ЦНС – центральна нервова система

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів

СаМ-ПКІІ – кальцій/кальмодулінзалежна протеїнкіназа ІІ

ССК – холецистокінін

DPP-4 – дипептидил пептидаза 4

G-білки – гуаніннуклеотидзв'язуючі білки

GIP – шлунковий інгибуючий поліпептид

GLP – глюкагоноподібний поліпептид

IL-1 – інтерлейкін – 1

MODY – діабет дорослих у юності, „мейсеновський тип"

PDX-1 – панкреатичний дуоденальний домашній домен гена 1

PC – прогормональна конвертаза

PP – панкреатичний поліпептид

SC – секретин

VIP – вазоактивний інтестинальний поліпептид

ВСТУП

Вже минуло 145 років з того часу, як Пауль Лангерганс описав інсулярні клітини підшлункової залози. З тих пір література збагатилася значним матеріалом спостережень, що стосуються гістоструктури та функції ендокринного відділу залози.

В острівцях Лангерганса було виявлено декілька типів клітин (α, β, с, δ, та ін.). Основне значення в функції інсулярного апарату підшлункової залози надається клітинам α і β, які в теперішній час є найбільш вивченим.

Клітини α складають 1/5 частину клітинної популяції острівців Лангерганса. На відміну від клітин β, вони мають непостійну форму та різний характер розподілу в острівцях у залежності від виду тварини.

Функція клітин α менш вивчена, ніж β-клітин. У них виробляється гіперглікемізуючий гормон глюкагон. Глюкагон виділений у чистому вигляді та описаний його синтез. Припускають, що утворення глюкагону відбувається не в ендоплазматичному ретикулумі, а в комплексі Гольджі, де формуються секреторні гранули, які, дозріваючи, переміщуються до капілярного полюсу клітини та вивільняються шляхом еміоцитозу.

Клітини β складають основну частину острівців Лангерганса. Форма їх більш постійна, ніж α -клітин; локалізуються вони переважно в центрі острівців. Специфічна зернистість, забарвлена альдегідфуксином, концентрується переважно в апікальних відділах клітин β, особливо на боці, оберненому до кровоносних капілярів. Встановлена пропорційність між вмістом цих гранул і кількістю інсуліну, що екстрагується з підшлункової залози. Інсулін є одним з найбільш вивчених білків. Дослідження Л.В.Соболева 1900-1901 рр. слугували передумовою відкриття інсуліну в наступні роки, назву якому дав Д.де Мейер в 1909 р. (від лат.insula-острівець). Накопичені численні дані про будову, фізичні, хімічні та біологічні властивості цієї молекули. Інсулін є першим гормоном білкової природи з розшифрованою первинною структурою, виділеним у гомогенному вигляді та отриманим

у вигляді кристалу. Він був також отриманий методами хімічного синтезу та генної інженерії.

Ультраструктура клітин β подібна до такої у клітин α. Інсулін утворюється з проінсуліну. Місцем біосинтезу останнього є ламелярна ергастоплазма, на зовнішній поверхні якої містяться рибосоми. Перетворення проінсуліну в інсулін відбувається в комплексі Гольджі. Воно здійснюється під впливом трипсиноподібного ферменту за участю атомів цинку, що пригнічують його активність. Інсулін накопичується всередині гладкостінних мембранозних мішків (секреторні гранули). По мірі дозрівання гранул секреторний матеріал ущільнюється, він переміщується до поверхні клітини та вивільняється.

За сучасними уявленнями, процес секреції інсуліну тісно пов'язаний з електричною активністю мембрани β-клітин підшлункової залози. Механізм, за допомогою якого відбувається стимуляція вивільнення інсуліну, містить у собі метаболізм глюкози в клітинах β, збільшення внутрішньоклітинної концентрації АТФ і зниження калієвої провідності за рахунок інактивації АТФ-залежних калієвих каналів. Деполяризація мембрани, що виникає внаслідок цього, викликає розвиток потенціалу дії. Вхід іонів кальцію всередину β-клітин під час спайків разом з виділенням його з внутрішньоклітинного депо призводить до збільшення концентрації вільного кальцію в цитозолі до рівня, необхідного для активації екзоцитозу секреторних гранул. Антагоністом кальцію є магній. Висока концентрація позаклітинного Mg^{2+} пригнічує індуковану глюкозою секрецію інсуліну шляхом гальмування входу Ca^{2+} у β-клітину. Представляло інтерес дослідити вміст магнію всередині β-інсулоцитів при впливі факторів, які активують, пригнічують, вимикають секреторну активність цих клітин. Такі дослідження потрібно проводити разом з визначенням рівня внутрішньоклітинного цинку, що є синергістом магнію та також як і останній відіграє важливу роль в функціонуванні підшлункової залози та регуляції вуглеводного обміну. Можна припускати, що атоми цинку, що в надлишку накопичуються в цитоплазмі клітин β, виконують роль інгибітора процесів біосинтезу та секреції інсуліну. По-перше, вони пригні-

чують перетворення проінсуліну в інсулін. По-друге, атоми цинку, накопичуючись в стінці ендоплазматичних мембран, утворюють бар'єр для виведення гормону з клітин. По-третє, утворюючи водонерозчинну сіль з інсуліном, атоми цинку сприяють депонуванню гормону в секреторних гранулах. Для перевірки цих припущень потрібно провести відповідні експерименти.

Дослідження механізмів секреції інсуліну з β-клітин є важливим етапом у вивченні патогенезу цукрового діабету. Діабет являє собою серйозну медико-соціальну проблему, що обумовлено його високою поширеністю, тенденцією до росту кількості хворих, хронічним перебігом, який визначає кумулятивний характер захворювання, високою інвалідизацією хворих і необхідністю створення системи спеціалізованої допомоги. У теперішній час у всьому світі налічується близько 160 млн. хворих на цей недуг в Україні - понад 1 млн., а за прогнозом експертів ВООЗ вже у 2025 р. кількість осіб, які страждають на це захворювання, буде становити близько 300 млн. осіб.

Прогрес у розумінні функцій острівців і їх порушень при цукровому діабету пов'язаний з уведенням в експериментальну практику хімічних моделей цього захворювання, що ґрунтуються на використанні алоксану, дитизону, стрептозотоцину, сполук хінолінового ряду та ін. Дослідження вмісту металів у панкреатичних клітинах β у діабетичних тварин сприяють розширенню уявлень про клітинно-молекулярні механізми розвитку цукрової хвороби.

На подальший напрямок наших досліджень в області діабетології вплинуло встановлення того факту, що багато з „хімічних" моделей насправді є хіміко-імунологічними, так як алоксан і стрептозотоцин запускають проти β-клітин аутоімунний процес, який, власне, й губить джерело інсуліну. Це стало відомо з експериментів, які довели, що дані моделі не відтворюються у тимектомованих імунодефіцитних тварин. Згідно літературних джерел іншою, крім вилочкової, залозою, що впливає на перебіг діабету, а шишкоподібна. Є свідчення про захисну дію витяжок епіфіза та, зокрема, мелатоніну відносно руйнувань β-інсулоцитів у діабетичних тварин.

Все більш актуальною проблемою сучасної біомедицини є з'ясування полікомпонентного та багаторівневого механізму єдиної нейроімунноендокринної регуляції фізіологічних функцій, якій належить роль універсального диригента усіх процесів життєдіяльності. Вивчення механізмів розвитку захворювань у людини показало, що доволі часто безпосередньою причиною їх виникнення саме є порушення нейроімунноендокринної регуляції функції внутрішніх органів, що призводить до зниження стійкості організму до дії патогенних факторів оточуючого середовища. З цих позицій важливо з'ясувати роль структур головного мозку в патогенезі цукрового діабету. Наші зусилля зосередились на дослідженні гіпокампа при експериментальному діабеті. Ще в 1983 р. Seto et al. показали, що електричне подразнення гіпокампа викликає підвищення в крові у тварин концентрації інсуліну.

Той факт, що глутаматергічні синапси зубчастої фасції та полей CA1-CA4 гіпокампа, синаптичні пухирці буловоподібно розширених відростків пінеалоцитів, які стикаються з капілярами, епітеліальні клітини тимуса та β-інсулоцити містять цинк, легко доступний для цитохімічного виявлення за допомогою високоселективного металохромного індикатора на цей метал – 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну, дозволило нам визначити вміст у них внутрішньоклітинного металу. Проведений кореляційний аналіз дав змогу виявляти характер зв'язку не стільки між змінами досліджуваного показника, а між змінами стану гіпокампа, шишкоподібної, вилочкової і підшлункової залоз, тому що на прикладі β-інсулоцитів нами було показано, що вміст цинку в клітинах є показником функціонального стану.

ГЛАВА 1. МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВНУТРІШНЬОСЕКРЕТОРНОЇ ЧАСТИНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

1.1. Будова та функції клітин панкреатичних острівців

Підшлункова залоза є залозою змішаної секреції, однією з найбільших залоз тіла людини. Залоза розміщена позаду шлунка на рівні тіл I та II поперекових хребців. Вона розташовується заочеревинно, очеревина покриває лише передню поверхню тіла органа. Підшлункова залоза має три частини: тіло, головку та хвіст [3, 6, 7, 72, 97, 101, 114, 129, 201]. Довжина її становить 15-16 см, ширина – 4-5 см, товщина – 2-3 см, маса – 80-100 г. Вона має сіро-рожевий колір та м'ясисту консистенцію. Ззовні вона вкрита сполучнотканинною капсулою. Перегородки, що відходять від капсули, поділяють залозу на часточки. У міжчасточковій сполучній тканині проходять міжчасточкові вивідні протоки, кровоносні судини, нервові стовбури, а також інкапсульовані чутливі нервові закінчення (рис.1.1).

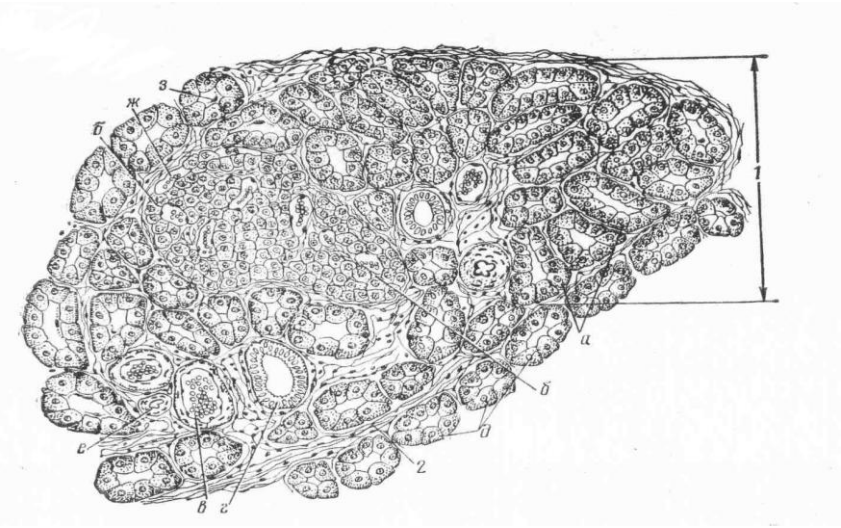

Рисунок 1.1. Будова підшлункової залози (Александровская О.В. и др., 1997):

1- частка; а-екзокринна частина; б-панкреатичні острівці (ендокринна частина залози); 2-міжчасточкова сполучна тканина; в-вена; г-міжчастковий вивідний проток; д-кінцеві відділи; е-артерія; ж-венозні капіляри; з-центроацинозні клітини.

Морфологічним субстратом ендокринної функції підшлункової залози слугує острівцевий апарат підшлункової залози, або панкреатичні острівці, які мають округлу чи овальну форму, дифузно розподілені в екзокринній паренхімі і складають від 1 до 3 % ваги органа (в середньому 130 острівців на 50 мм2 тканини залози). В острівцях виділяють 6 типів клітин: α – (продукують глюкагон), β – (інсулін), δ – (соматостатин), G – (гастрин), Е – (функція не з'ясована), рр - , або F – клітини (виробляють вазоактивний інтестинальний, гастроінтестинальний і панкреатичний поліпептиди) [3, 6, 7, 72, 97, 101, 114, 129, 201].

Основну масу клітин острівців складають β-клітини (60%), значно менше α-клітин (25%), ще менше δ- (10%) і РР-клітин (5%). G і Е-клітини складають менше 1% клітин острівців [3, 6, 7, 72, 97, 101, 114, 201]. У центрі розташовані переважно β-клітини, а по периферії – α-, δ- і РР-клітини. У головці підшлункової залози β-клітини складають 74 % клітин острівців, α-клітини – 20%, РР-клітини – 4,5%, δ-клітини – 1,5%, у хвості – відповідно 68%, 28%, 2% і 4 %. Більша частина острівців зосереджена в хвості залози. Так, їх відносний об'єм у головці органа складає 0,76–1,86 %, а в хвості – 1,9 – 3,28%. Показано, що в 1 см3 тканини головки підшлункової залози знаходиться 1833 ± 24 острівця, в тілі – 2518 ± 38, у хвості – 3259 ± 47 [6, 7, 72, 97, 101, 114]. У новонароджених діаметр острівців коливається від 50 до 150 мкм, у дорослих – від 50 до 250 мкм (більша частина острівців має діаметр 200 мкм) [6, 97].

В ембріональному періоді ендокринні клітини панкреатичних острівців щурів утворюються на 10-й день розвитку плода в результаті метаплазії епітелію протоків підшлункової залози [6, 72, 129, 175, 246, 261, 278, 330].

Імунногістохімічні дослідження довели, що процентний вміст інсулінпозитивних клітин у підшлунковій залозі новонароджених щурів також залежить від величини посліду. Зі збільшенням числа плодів у посліді він зменшується. Більш того, відносний вміст інсулінпозитивних

клітин у підшлунковій залозі новонароджених щурів у багато разів вище, ніж у дорослих тварин. Ці дані вказують про те, що до моменту народження в підшлунковій залозі щурів відбувається інтенсивне формування острівців з підсиленою проліферацією β-клітин [6, 129, 175, 189, 246, 261, 330].

Окремі ендокринні клітини підшлункової залози спочатку здібні одночасно синтезувати декілька гормонів і лише пізніше диференціюються у вузькоспеціалізовані ендокринні клітини [6, 7, 99, 129, 175, 246, 261, 300, 330, 376]. Крім того, найбільш ранім маркером біосинтезу гормонів у цих клітинах є експресія пептида YY (PYY). Окрім PYY, в острівцях підшлункової залози експресується й нейропептид Y (NPY), який виявляється в інсуліновмісних клітинах [6, 7, 129, 175, 246, 261, 275, 330, 376]. Нарівні з виявленим соматостатинтранскриптаційним фактором – 1, який стимулює експресію соматостатинсекретуючих клітин у підшлунковій залозі, був ідентифікований також специфічний трансактиватор гена інсуліну (IPF-1), що є по суті одним білком, синтез якого контролюється геном, що отримав назву „панкреатичний дуоденальний домашній домен гена 1”, або PDX – 1 [262, 268, 342].

Так як β-клітини підшлункової залози розвиваються з епітеліальних клітин, які експресують глюкозний транспортер типу 2 (ГЛЮТ – 2), то, останній разом з PYY, PDX-1 входить до складу найбільш раніх маркерів ендокринних клітин підшлункової залози [6, 129, 175, 246, 261, 268, 275].

Встановлено, що для проліферації β-клітин в острівці підшлункової залози потребується наявність аміліну, що утворюється в цих клітинах разом з інсуліном [223]. Роль адгезивних молекул в острівці підшлункової залози виконують специфічні білки кадгерини, зокрема Є-кадгерин, який створює відповідну упорядковану структуру в дисперсії β-клітин [253].

Вважають, що PDX-1 необхідний для нормальної експресії декількох генів: інсуліну, аміліну, глюкокінази та ГЛЮТ-2 [6, 129, 262, 275, 305]. Мутація гена PDX-1 у людини призводить до порушення функцій β-клітин

і може проявлятися високою частотою діабету MODY-4 [6, 7, 114, 261]. Для нормальної експресії PDX-1 необхідний печінковий ядерний фактор – 3β(HNF-3β) [262, 268, 275].

Для розвитку ендокринних клітин острівця підшлункової залози необхідні й інші додаткові гени, зокрема транскриптаційні фактори Pax, які мають парні ділянки („коробочки"). Pax4 і Pax6 експресуються в епітеліальних клітинах підшлункової залози. Для нормальної диференційовки інсулінпродукуючих β-клітин і соматостатинпродукуючих клітин потрібні гени Pax4, а для диференційовки глюкагоновмісних α-клітин і нормального розвитку острівців – гени Pax6. Встановлено, що Pax4 здійснює репресивний, а Pax6 – активуючий вплив на базальну транскриптаційну активність [6, 7, 129, 175, 238, 246, 261, 268, 275, 305].

Диференційовка в ендокринні клітини потребує участі Smad – білків, які задіяні в роботі ростових факторів, зокрема TGF-β [6, 129, 175, 238, 246, 261, 268, 275, 305]. Диференційовка β-клітин і їх виживання залежать від інтактності субстрата інсулінового рецептора – 2 (CIP-2). У регуляції кількості β-клітин також бере участь так званий „рецептор, який належить до інсулінового рецептора" (IRR). Він експресується в острівцях підшлункової залози і бере участь у трансдукції сигналу до CIP – 2 і в регуляції загальної кількості β-клітин в острівці [321, 338].

Панкреатичні острівці на відміну від екзокринної частини володіють гарною регенераційною здібністю [97, 176, 237, 278, 281]. Існує ряд прямих і непрямих доказів постійного оновлення β-клітин у підшлунковій залозі дорослої людини, що індукується рівнем глікемії і регулюється процесами проліферації, регенерації і апоптозу [146, 176, 236, 273, 332, 333, 355, 368].

Регенерація β-клітин і острівців Лангерганса показана на різних експериментальних моделях у тварин: після часткової резекції підшлункової залози [350], при перев'язці її протоків [275], уведенні стрептозотоцину й

алоксану [255, 370], в умовах гіперглікемії при хронічній інфузії глюкози [329], а також на трансгенних мишах з гіперпродукцією ІФН-γ [314] та інтерлейкіном ІЛ-6 [359].

Деякі автори припускають, що неогенез β-клітин і острівцевих клітин у підшлунковій залозі як у новонароджених, так і дорослих щурів і мишей з цукровим діабетом 1 типу виникає внаслідок наступних механізмів:

– неогенезу β-клітин в уцілілих панкреатичних острівцях (за рахунок диференційовки внутрішньоострівцевих прогеніторних клітин, а також дедиференційовки соматостатинвмісних α-клітин);

– проліферації епітеліальних клітин протоків і наступної їх диференційовки у позаострівцеві β-клітини, а також шляхом дозрівання прогеніторних клітин, які розташовані всередині й навколо протоків підшлункової залози;

– дедиференційовки ацинарних клітин і наступної їх диференційовки у позаострівцеві β-клітини або неогенезу панкреатичних острівців за рахунок трансдиференційовки ацинарних клітин;

– реплікації і проліферації β-клітин в острівцях, що збереглися [176, 257, 261].

У ряді робіт заперечувалась можливість участі прогеніторних клітин підшлункової залози в процесах новоутворення β-клітин і показано, що реплікація інсулінпродукуючих клітин є основним механізмом, який підтримує чисельну сталість β-клітинної маси в постнатальному періоді [176, 281, 236, 238, 278].

Інші вчені довели, що реплікація є не єдиним механізмом постнатальної регенерації β-клітин у тварин [176, 237, 340]. Було показано, що у щурів з 90% резекцією підшлункової залози після введення Br – dU (5-bromo-2-deoxyuridine) – маркера клітинної проліферації – позитивна флюоресценція з’являлася в першу чергу в ділянці епітеліальних клітин протоків органа [176, 237].

Було встановлено, що цитокератини є маркерами диференційовки клітин протоків і процесу неогенезу острівців у підшлунковій залозі неонатальних щурів. Утворення острівців із клітин екзокринної тканини цієї залози підтверджувалось й іншими авторами [6, 7, 129].

У численних експериментальних роботах було показано, що деякі речовини здібні збільшувати масу β-клітин in vivo та in vitro шляхом стимуляції проліферації (реплікації) β-клітин, а також шляхом диференційовки дуктальних, ацинарних і прогеніторних клітин підшлункової залози [176, 236]. Серед них виділяють гастроінтестинальні гормони: гастрин [237], глюкагоноподібний поліпептид – 1 (GLP -1) та exendin -4 (Ex-4) – антагоніст рецептора GLP-1 [265, 283, 284], глюкозозалежний інсулінотропний поліпептид (GIP) [268], грелін [282]; фактори росту; HGF (фактор росту гепатоцитів), EGF (епідермальний фактор росту), IGF-1 або 2 (інсуліноподібний фактор росту), TGF-α (трансформуючий фактор росту α) [238]; лактогенні гормони (пролактин, соматотропін і плацентарний лактоген) [281], а також бетацелюлін (BTC – білок сімейства епідермальних факторів росту) [340] та INGAP (протеїн гена неогенезу острівців) [314]. Стимуляцію регенерації β-клітин можна здійснювати також шляхом пригнічення апоптозу та імунних дизрегуляцій [284].

Сформовані острівці Лангерганса складаються з ендокриноцитів ентодермального походження, кровоносних капілярів, симпатичних терміналей, еферентів і аферентів блукаючого нерву, нейронів, гліальних клітин і резидентних тканинних макрофагів (рис.1.2) [3, 6, 7, 72, 97, 101, 129].

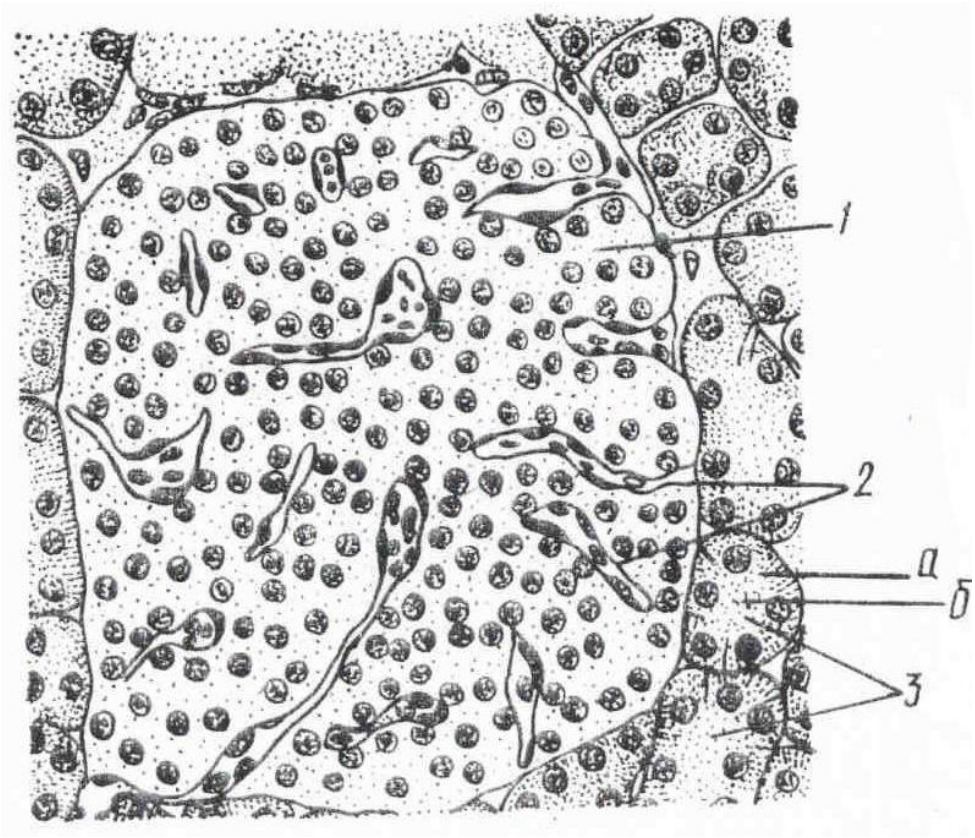

Рисунок 1.2. Панкреатичний острівець підшлункової залози (Александровская О.В. и др., 1987):

1-інсулярні клітини; 2-кровоносні капіляри острівця; 3-кінцеві секреторні відділи; а-зимогенні гранули; б-гомогенна зона.

Клітини острівців містять гранули різної величини, що оточені надійними мембранами. Комплекс Гольджі звичайно розташовується біля ядра, складається з гладеньких мембран і різної кількості ендосекреторних гранул, які характеризуються невеликою щільністю порівняно з типовими зрілими гранулами. Шорсткий ендоплазматичний ретикулум і полісоми розкидані по всій цитоплазмі, є відносно небагато лізосом, чітко виявляється мікротубулярно-мікроворсинчата система, що відіграє важливу роль у процесах транспорту секреторної гранули до плазматичної мембрани клітини та у процесах вивільнення гормону з клітини. Гормони синтезуються в шорсткому ендоплазматичному ретикулумі, зберігаються в секреторних цитоплазматичних гранулах і вивільняються в інтерстиційних простір і міжклітинну рідину у відповідь на адекватні стимули. У клітинах острівця підшлункової залози

людини, крім того визначаються так звані стероїдні тільця, що містять ліпіди, причому з віком кількість цих тілець збільшується, особливо в β-клітинах [3, 6, 7, 72, 101, 129].

Для клітин острівця характерно наявність десмосом, „хвірточних", або коридорних сполучень, щільних, або тісних, з'єднань, які є свідченням присутності в острівці прямих контактів „від клітини до клітини", що обумовлюють дифузію гормонів між клітинами. У період стимуляції вивільнення інсуліну збільшується кількість коридорних сполучень між β-клітинами острівця. Через хвірточні з'єднання відбувається обмін іонами та невеликими молекулами. Ці з'єднання представлені двома видами білків: конексинами (гексамерні білкові субодиниці) та конексонами, що є складовою частиною клітинних мембран. Конексони, подібно до іонних каналів, опосередковують вплив різних фармакологічних і фізіологічних сигналів на регуляцію клітинної секреції. Вони також високочутливі до змін трансмембранних і транскоридорних потенціалів. Усередині панкреатичного острівця кожний вид гормональних клітин має такі хвірточні з'єднання не тільки між собою, але і з клітинами, що секретують інші гормони. Морфологічно хвірточні з'єднання складаються з маленьких полігональних або лінійних похідних конексонів, на частку яких припадає близько 30% клітинної поверхні. У клітинах острівця, включаючи β-клітини, експресуються декілька типів конексинів, серед яких найбільш поширеним є конексин – 43 [3, 6, 7, 101].

В острівцях підшлункової залози людини, морських свинок і деяких інших видів ссавців глюкагонсинтезуючі клітини розташовуються по всій площині острівця, тоді як у підшлунковій залозі мишей, щурів, золотистих хом'ячків вони знаходяться на периферії („плащові острівці"), а у підшлунковій залозі коня та мула – в центрі острівця [6, 72, 102, 201].

α-інсулоцити мають гранули, що добре зберігаються в спиртових фіксаторах, але руйнуються – у формалінових. α-гранули мають оксифільні властивості, вони забарвлюються кислим фуксином, флоксином, по Хелмі, оранжем G [72, 102, 201]. При електронномікроскопичному дослідженні гра-

нули мають сфероподібну форму, в їх центрі міститься осмифільна речовина, а самі гранули відокремлені від мембрани світлим вузьким обідком. Діаметр гранул, які містять гормон, коливається від 200 до 300 нмкм. Вони мають щільну серцевину, що займає 60-90% усієї площини гранули [6, 7, 72, 101, 102]. Цитохімічними методами в α-інсулоцитах виявляється глюкагон, але існує думка, що склад α-гранули неоднорідний. У її центрі, як вважають, міститься сам глюкагон, а по периферії – катехоламіни та гастриноподібна речовина [6, 7, 72, 102].

Гормон α-інсулоцитів – глюкагон являє собою поліпептид, який складається з 29 амінокислот у вигляді одного ланцюга. У молекулі глюкагону не міститься простетичної групи. У кристалах глюкагону часто присутні сліди цинку та інших металів, але, на відміну від інсуліну, ці метали не утворюють тут необхідного компоненту кристалу [6, 7, 72, 101, 102, 114, 156]. Глюкагон легко кристалізується в присутності потужних комплексоутворюючих (хелатних) агентів, наприклад, етилендиамінтетраоцтової кислоти. Кристали глюкагону належать до ізометричної системи та мають форму ромбічних додекоядрів. Глюкагон порівняно погано розчинний у воді. Ізоелектрична точка гормону лежить у межах pH 7,5-8,5 [72, 102]. Методом ультрацентрифугування, а також хімічними методами встановлено, що молекулярна маса глюкагону коливається в межах від 3500 до 4000 структурний аналіз показує, що мол.м. гормону дорівнює 3485. У людини ген глюкагону локалізується в другій хромосомі. Попередником глюкагону є проглюкагон, молекула якого в 5-6 разів більша за глюкагон і складається зі 160 амінокислот [6, 7, 101, 102, 114, 156, 264]. У склад проглюкагону крім глюкагону входять гліцентинзв'язаний пептид, глюкагоноподібний пептид 1 (GLP-1) і глюкагоноподібний пептид 2 (GLP-2) [6, 7, 101, 156, 257, 265, 283, 297, 310, 347].

У здорових осіб концентрація імунореактивного глюкагону в плазмі крові натщесерце близько 75 пг/мл (25 пмоль/л). Секреція глюкагону в крові різко збільшується у відповідь на гіпоглікемію. Його секрецію також стимулюють деякі амінокислоти (аргінін, аланін), катехоламіни, глюкокортикоїди,

холецистокінін, панкреазимін, шлунковий інгибуючий поліпептид (GIP), псевдотенін, речовина Р, симпатична та парасимпатична нервова система. Секрецію глюкагону гальмує глюкоза, або прямо, або через інсулін і соматостатин, тому що обидва ці гормони гальмують секрецію глюкагону. Гальмівний вплив здійснюють жирні кислоти, кетонові тіла й секретин [6, 7, 22, 67, 101, 134, 137, 154, 204, 221, 244, 268, 280, 313].

Основна функція глюкагону полягає в забезпеченні енергетичних потреб організму в перервах між харчуванням і підтриманні нормального рівня глюкози в крові, щоб забезпечити мозок глюкозою [67, 101, 102, 156].

На відміну від інсуліну глюкагон є катаболічним гормоном. Глюкагон забезпечує тканини енергією в проміжках між їжею. Він стимулює глікогеноліз, глюконеогенез у печінці, кетогенез, стимулює у жировій тканині ліполіз шляхом активації гормонзалежної ліпази, а в тканинах, насамперед у печінці, катаболізм білків, і збільшення синтезу сечовини [6, 7, 101, 102, 134, 221, 244]. Печінка – головний кінцевий орган для ефектів глюкагону. Рівень його в портальній вені може досягати високих значень – 300 - 500 пг/мл (100-166 пмоль/л). Глюкагон зв’язується з рецепторами на мембранах печінкових клітин і активує аденілатциклазу з утворенням цАМФ, що забезпечує глікогеноліз і глюконеогенез [6, 7, 101, 102, 156, 247].

Рецептор до глюкагону являє собою глікопротеїн, який містить 4N – зв’язані олігосахаридні ланцюги та внутрішньомолекулярні дисульфідні містки. Мол.м.рецептора становить 62000. Глюкагон – зв’язуючі місця розташовуються на СООН – термінальному домені рецептора. Здібність рецепторів до глюкагону взаємодіяти з відповідним гормоном непостійна та залежить від декількох факторів. Зв’язування глюкагону з рецепторами зменшується при гіперглюкагонемії, викликаної тривалим голодуванням, інсуліновою недостатністю або екзогенним уведенням глюкагону. Але, не зважаючи на таку зворотню регуляцію, процес активування аденілатциклази під впливом глюкагону не змінюється. Цей стан досягається підвищеною здібністю рецепторів до комплексування з гормоном [6, 7, 101, 102, 156].

Руйнування глюкагону відбувається в печінці та нирках. Ферментна система, що руйнує глюкагон, за одними даними, відрізняється від глутатіон-інсулін-трансгідрогенази; за іншими, інсулін-специфічна протеаза бере участь у руйнуванні як інсуліну, так і глюкагону. Близько 0,5 мг/добу глюкагону, виділяється з жовчю [6, 7, 101, 102, 156].

β-клітини, що продукують інсулін, мають овальні або круглі ядра з чітко окреслиним ядерцем і злегка дисперсним хроматином. При елекронномікроскопічному дослідженні виявляються два типи секреторних гранул розміром від 45 до 200 нмкм. Гранули I типу характеризуються паракристилізованою гранульованою серцевиною округлої, квадратної або полігональної форми. Значно менше зустрічається у β-клітинах гранул другого типу, що характеризується наявністю аморфного вмісту, що вказує на незрілу стадію гранул. У цитоплазмі клітин між гранулами виявляється комплекс Гольджі, біля якого локалізуються звичайно гранули другого типу, шорсткий і гладенький ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії, мікротрубочки, мікроворсинки [6, 7, 72, 101, 274, 305, 357].

У щільній серцевині гранули першого типу містяться конденсовані молекули інсуліну у вигляді ді-, тетра- й гексамерів [6, 7, 19]. Останні, як припускають, знаходяться у комплексі з іонами цинку: два іони цього металу зв’язують шість молекул інсуліну [228, 258, 337].

Проінсулін міститься в основному в гранулоцитах другого типу. Він є і в комплексі Гольджі. Тут міститься конвергуючі ферменти, за допомогою яких проінсулін трансформується в С-пептид та інсулін [6, 7, 102, 274, 305, 357].

Кожна β-клітина містить близько 13000 секреторних гранул, які знаходяться на різних стадіях дозрівання. У цих гранулах, крім інсуліну, виявляються й інші пептиди, моноаміни, ферменти й різні мінерали. Кислий глікопротеїн – хромогранін α – містить ряд біологічно активних пептидів (панкреастатин, хромостатин і бетагранін). Важливим компонентом гранул β-клітин є амілин, або острівцевий амілоїдний пептид (ОАП або IAPP), а також нейро-

трансмітер γ-аміномасляна кислота (ГАМК) і фермент, необхідний для її утворення – глютаматдекарбоксилаза [6, 7, 274, 305, 357].

У δ-клітинах, які секретують соматостатин, містяться гранули розміром 150-400 нмкм. Вони відрізняються меншим ступенем щільності порівняно з двома зазначеними вище типами клітин. Комплекс Гольджі відносно невеликий. Подібні клітини були виявлені в шлунково-кишковому тракті, де вони секретують соматостатин, молекула якого містить 28 амінокислот. Соматостатин δ-клітин острівця підшлункової залози складається з 14 амінокислотних залишків (а.з.) [6, 7, 72, 101, 102, 274].

Соматостатин є тетрадекапептидом, який складається з 14 а.з. і дисульфідного містка. Ген соматостатину в людини розташований у 3 хромосомі. Попередником соматостатину є препросоматостатин. Під впливом протеолітичних ензимів з препросоматостатину утворюється гормон соматостатин, який складається з 14 амінокислот у вигляді одного ланцюга з молекулярною масою 1640. Соматостатин вперше був виявлений у гіпоталамусі та отримав свою назву через його інгибіторну дію на секрецію гормону росту з соматотрофів гіпофіза. Пізніше соматостатин був ідентифікований у багатьох тканинах, включаючи ділянки мозку, шлунково-кишковий тракт і δ-клітини острівців Лангерганса [6, 7, 72, 101, 102, 156]. Соматостатин здійснює вплив на β-клітини паракринним шляхом, пригнічуючи секрецію інсуліну. Електронномікроскопічні дослідження виявили сполучнотканинні містки між клітинами, що дозволяють гормонам з мол.м. менше 800 Д переміщуватися з однієї клітини в іншу, можливо без переходу в міжклітинний простір [6, 7, 101, 156]. Механізм такої дії соматостатину полягає не тільки в реполяризації мембрани, викликаній зниженням концентрації внутрішньоклітинного кальцію, але й зниженні чутливості секреторного матеріалу до іонів кальцію та прямий вплив на процеси екзоцитозу. Соматостатин селективно зв’язується з G-білками, що впливають на іонні канали, сприяючи зниженню концентрації цитозольного кальцію [363]. Гальмівний вплив гормону поширюється також на секрецію глюкагону та СТГ. Пригнічуючи виділення глюкагону, соматос-

татин знижує концентрацію глюкози в периферичній крові шляхом зменшення виходу її з печінки у ворітну вену. Але після внутрішньовенного навантаження глюкозою або тривалого введення соматостатину замість очікує мого зниження рівня глюкози в крові спостерігається гіперглікемія, що пояснюється одночасним значним пригніченням секреції інсуліну [6, 7, 101, 102, 156, 362, 381].

Соматостатин уповільнює всмоктування харчових речовин з кишечнику в лімфу та кров, зменшує секрецію соляної кислоти та гастрину, гальмує секрецію панкреатичних ферментів. Уповільнюючи всмоктування харчових речовин, соматостатин, вірогідно, запобігає гострому підвищенню рівня метаболітів у крові, поки не буде мобілізована система інсулін-глюкагон [6, 7, 101, 102, 156, 362].

Усі стимулятори секреції інсуліну також стимулюють секрецію панкреатичного соматостатину. Ці стимули включають глюкозу, аргінін, лейцин, холецистокінін, гастрин, GIP, глюкозозалежний інсулінотропний пептид, цАМФ. Норадреналін і діазоксид пригнічують вивільнення соматостатину. У нормі концентрація соматостатину в плазмі крові не перевищує 80 пг/мл (49 пмоль/л) [6, 7, 101, 134, 154, 156, 221, 268, 280, 313].

Зміни секреції соматостатину відмічається при деякій патології. Так, у мишей з ожирінням і гіперглікемією виявляється як зниження вмісту соматостатину, так і зменшення кількості β-клітин у панкреатичних острівцях, і, навпаки, при інсулінзалежному цукровому діабеті, та в щурів при руйнуванні β-клітин стрептозотоцином δ-клітини збільшені в об’ємі, що свідчить про їх підвищену функціональну активність [6, 7, 101, 102, 156, 381].

РР-клітини, що виробляють і секретують панкреатичний поліпептид, відрізняються тим, що мають більш дрібні секреторні гранули, ніж клітини α, β, δ. Розміри гранул становлять 80-200 нмкм [6, 7, 72, 102]. У людини РР-клітини локалізуються переважно по периферії острівців, у інших видів тварин – також безладно розкидані по усьому острівцу [6, 7, 72]. Їх виявляють у паренхімі підшлункової залози біля протоків малого й середнього калі-

бру [3, 6, 7]. Розрізняють два типи клітин: у головці підшлункової залози знаходять клітини з круглими або ангулярними гранулами, а в іншій частині залози ці клітини мають більш дрібні гранули [6, 7].

Панкреатичний поліпептид (РР) представлений ланцюгом з 36 амінокислот. У здорових осіб концентрація РР у плазмі крові натщесерце – близько 24 пмоль/л. РР пригнічує зовнішньосекреторну діяльність підшлункової залози та сприяє релаксації жовчного міхура, що як припускають, дозволяє зберігати ферменти підшлункової залози (запобігає їх надмірній витраті) та викликає затримку жовчі до наступного прийому їжі. Для РР на печінку та підшлункову залозу протилежна впливу холецистокініну. Вміст РР у плазмі крові підвищується з віком, при діареї, хронічній нирковій недостатності, гіпоглікемії. Концентрація РР у плазмі крові, що перевищує 300 пмоль/л, свідчить про наявність пухлини, такої як глюкагонома, панкреатична холера або гастринома. При ІЗЦД спостерігається гіперплазія клітин, які секретують РР. Пероральне уведення білків, жирів, вуглеводів викликає підвищення концентрації РР у крові. У той же час при внутрішньому введенні цих речовин секреція даного гормону не змінюється. Стимуляція блукаючого нерва та введення гастрину, секретину або холецистокініну викликає підвищення вмісту ПП у крові. Секрецію цього гормону блокують уведенням атропіну та ваготомія [6, 7, 97, 101, 102, 134, 268].

У секреторних гранулах клітин β острівців міститься амілін, або острівцевий амілоїдний поліпептид, який вивільняється з них разом з інсуліном у відповідь на введення глюкози та інших речовин. Ген, відповідальний за синтез аміліну, знаходиться на короткому плечі 12-ї хромосоми. Молекула аміліну містить 37 а.з., препроаміліну – 89. Невелика кількість аміліну виявляється в α- і δ- клітинах острівців, шлунково-кишковому тракті, легенях, ЦНС [223]. На ізольованих клітинах β були продемонстровані подібні зміни вмісту в них аміліну та інсуліну. Можливо, ці обидва компоненти функціонально пов’язані між собою [279]. Концентрація аміліну в плазмі крові натщесерце в практично здорових осіб складає 4-8 пмоль/л, у хворих на цукровий діабет

типу 2 вона збільшена, а при цукровому діабеті типу 1 зменшена в зв'язку з аутоімунною деструкцією β-клітин, у здорових людей вона зменшувалась у період інсулінової гіпоглікемії і двофазно збільшувалось при внутрішньовенному введенні глюкози [6, 7, 101, 114, 156].

В острівцях підшлункової залози виявляються клітини, що містять гастрин, вазоактивний інтестинальний пептид, тироліберин, соматоліберин. Кількість цих клітин незначна, але при певних станах вони можуть слугувати джерелом утворення аденом, які у надлишку секретують перелічені гормони [6, 7, 156].

Усі біологічні ефекти аміліну можна поділити на внутрішньо- та позапанкреатичні. До внутрішньопанкреатичних впливів аміліну належать: пригнічення секреції інсуліну та глюкагону, стимуляція вивільнення соматостатину. Накопичуючись всередині клітин β, амілін сприяє зменшенню кількості цих клітин через збільшення апоптозу (можливо, некрозу), що сприяє розвитку діабету. Надлишкове годування жиром викликало секрецію у мишей аміліну, відкладення якого в острівцях підшлункової залози сприяло розвитку діабету, можливо шляхом прискорення апоптозу [6, 7, 101, 156, 223, 279, 280].

Позаклітинні впливи аміліну проявляються у вигляді пригнічення інсулінстимульованого синтезу глікогену та підвищеного утворення лактату в скелетних м'язах; помірної анорексії або пригнічення швидкості евакуації шлунка, гальмування шлункової секреції, стимуляції ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, вазодилатації та пригнічення резорбції кісткової тканини [6, 7, 101, 156, 223, 279].

У панкреатичних острівцях виявляється ряд місцевих гормонів. Деякі з них секретуються клітинами острівців разом з відповідними гормонами. Поліпептиди панкреастатин (49 а.з.), галанін (29 а.з.) і нейропептид Y (36 а.з.) пригнічують секрецію інсуліну, а С-термінальний тетрапептид холецистокінін, навпаки, викликає вивільнення інсуліну з секреторних гранул клітин. У багатьох ендокринних клітинах ссавців містяться білки

хромограніни, основна функція яких, можливо, полягає в стабілізації внутрішнього матриксу секреторних гранул. Разом з тим усі хромограніни можуть розглядатися як прогормони, що слугують джерелом утворення пептидів, як панкреастатин, регуляторний GAWK – пептид (74 а.з.), хромостатин (20 а.з.) та ін. Пептид 7В2 має структурну подібність до інсуліну виявляється у багатьох ендокринних клітинах, у тому числі в панкреатичних β-клітинах. В останніх при дії імунологічних факторів може утворюватися IL-1, який пошкоджує ці клітини [6, 7, 101, 156].

У підшлунковій залозі виробляється так званий „ліпокаїчний фактор". При нестачі цієї речовини спостерігається жирова інфільтрація печінки. Дефіцит у їжі метіоніну та холіну призводить до ожиріння печінки, але для використання цих речовин в якості захисних від жирової інфільтрації необхідна участь ліпокаїчної субстанції підшлункової залози. При лікуванні діабету ліпокаїн підвищує витривалість до вуглеводів та усуває кетонемію [6, 7, 101].

З підшлункової залози виділені ще дві речовини білкової природи-ваготонін і цетропнеїн. Перша з них гальмує вплив адреналіну на хронаксію рухомих нервів і сприяє розвитку алкалозу. Друга – стимулює дихальний центр [6, 7, 101, 156].

1.2. Інсулін, секреція, цинк і магній

Вивченню інкреторної функції β-клітин панкреатичних острівців присвячена більша частина робіт [72, 97, 129, 136, 147, 201, 206, 263, 268, 272, 322, 318, 376]. У літературі є докази того, що при допомозі альдегідфуксину в панкреатичних клітинах β виявляється гормон інсулін. За допомогою імунофлюоресцентного методу продемонстрована присутність інсуліну в острівцевих клітинах β [324]. Показана кореляція між кількістю інсуліну, екстрагованого з підшлункової залози людини, та вмістом зернистості, що виявляється в цитоплазмі клітин β за допомогою забарвлення альдегідфуксином [72]. Позитивну реакцію з останнім дає електрофоретично виділений інсулін [323]. При порівнянні на зрізах підшлункової залози цитохімічної реакції альдегідфуксину та специфічної люмінесцентної реакції на інсулін псевдоізоціаніну показана подібна локалізація в клітинах цих двох реакцій, а також схожі їх зміни при різному функціональному стані цих клітин [72].

Інсулін є одним із стародавніх гормонів, його наявність встановлена не тільки у ссавців, але і у рептилій і птахів. Напростіші, наприклад амеба, мають інсуліноподібні молекули [72, 198, 199]. За хімічною структурою інсулін відноситься до великого сімейства молекул, включаючи інсуліноподібні фактори росту 1 і 2, які мають гомологічні ділянки молекул і відповідні за інсуліноподібну активність сироватки крові [2, 5, 156].

Молекула інсуліну людини складається з двох ланцюгів: А-ланцюг містить 21 амінокислотний залишок з гліцином на N-кінці, В-ланцюг – 30 а.з. із фенілаланіном на N-кінці. Обидва ланцюги з'єднані двома дісульфідними містками через залишки цистеїну в положеннях B_7 і A_7, B_{19} і A_{20}. Крім того, в А-ланцюзі є ще третій дисульфідний місток між залишками цистеїну в положеннях $A_{6\text{-}11}$. Дотепер послідовність амінокислотних залишків у молекулі інсуліну вивчена більш ніж у 25 видів тварин. Встановлено, що вона постійна, за винятком амінокислотних залишків у положеннях 4,8,9 і 10 А-ланцюга

й амінокислотних залишків у положеннях 1, 2, 3, 27, 29 і 30 В-ланцюга (рис.1.3) [6, 7, 72, 101, 102, 197].

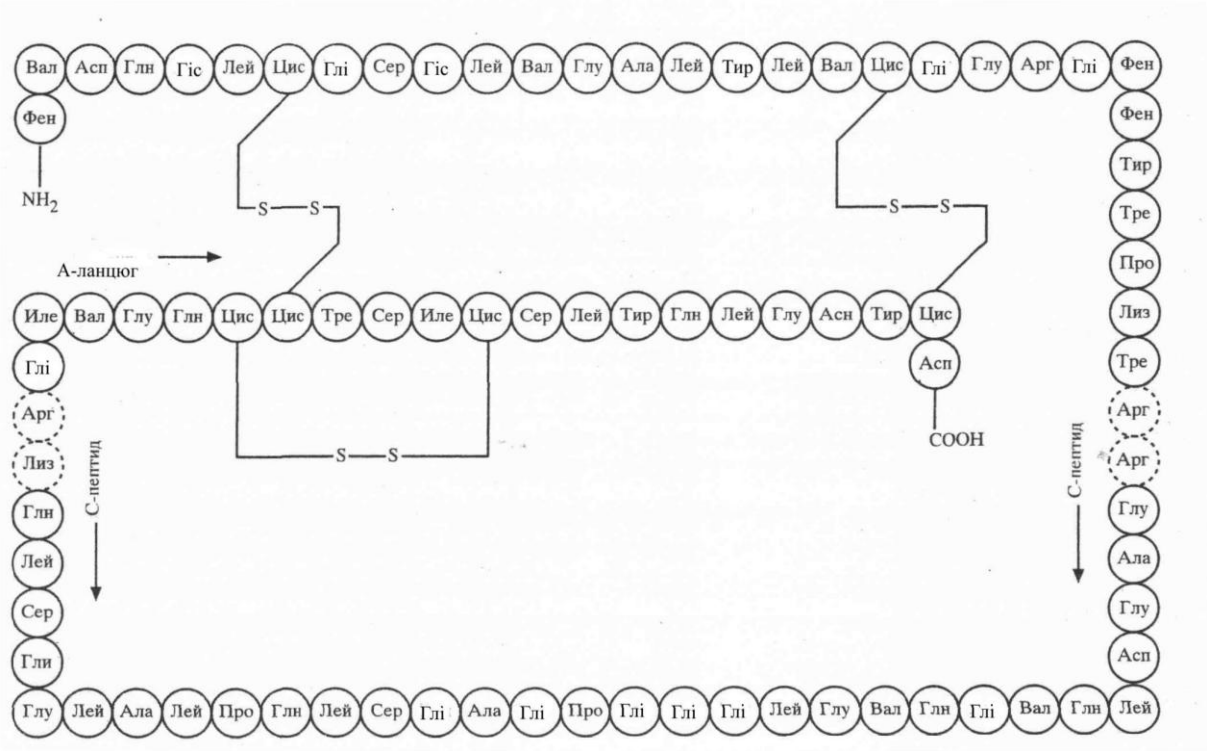

Рисунок 1.3. Структура інсуліну людини (Балаболкин М.И., 1998).

Інсулін людини за своєю первинною структурою найбільш близький до інсуліну свині та до інсуліну кроля, які відрізняються один від одного тільки однією амінокислотою в положенні B_{30}; у інсуліна свині в цьому положенні локалізована амінокислота аланін, а в інсуліні кроля – серин, тоді як в інсуліні людини – треонін [6, 7, 72, 101, 197].

Різні види інсуліну відрізняються не тільки амінокислотним складом, але й по α-спіралі, що обумовлює вторинну структуру гормона. Більш складною є третинна структура, яка утворює ділянки (центри), відповідні за біологічну активність і антигенні властивості гормону. Внутрішня будова молекули інсуліну важлива для взаємодії з його рецептором і проявлення біологічної дії. При дослідженні за допомогою рентгеноструктурного аналізу встановлено, що одна гексамерна одиниця кристалічного цинк-інсуліну складається з трьох димерів, згорнутих навколо вісі, на якій розташовані два атоми цинку. У такому гексамері ділянки в мономерних одиницях B_1 – B_8

і B_{20} – B_{30} відштовхуються α-спіральними ділянками B_9–B_{19}. Тому цей конформаційний стан має назву напруженого (tense, t-стан). Іони металів координують залишки гістидинів у положенні B_{10} усіх трьох димерів. У кожному мономері димера А- і В-ланцюги утворюють компактну молекулу, що містить дві α-спиралі А-ланцюга та одну α-спираль В-ланцюга (стан T_6) [6, 7, 197]. Проінсулін, так само як і інсулін, утворює димери та цинковмісні гексамери (рис.1.4) [6, 7, 101].

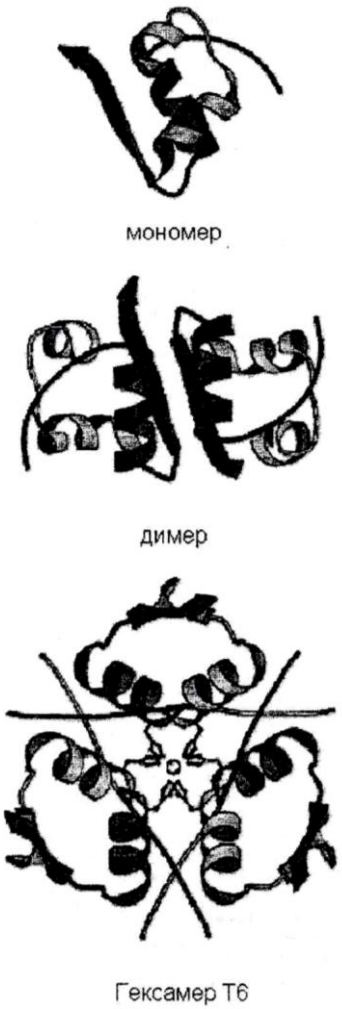

Рисунок 1.4. Схематичне зображення можливих третинних структур інсуліну людини IPDB Protein Database (Whittingham J.L. et al., 2002).

Таким чином, гексамерна одиниця кристалічного цинк-інсуліну складається з трьох димерів, розташованих навколо вісі, що проходить крізь два атоми, кожний з яких координований на імідазольні групи залишку гістидину в положенні 10 В-ланцюга. Димери інсуліну з’єднані в кристали водневими

містками між пептидними групами в положеннях 24 і 26 С-кінцевого залишка В-ланцюга [6, 7, 72, 197]. Припускають, що гексамер, який при цьому утворюється, депонується в секреторних гранулах клітин В острівців у кристалічному вигляді. Результати наших досліджень підкріплюють таке положення [16, 72, 112, 207, 287, 366].

У подальшому були описані гексамерні структури, що містили й по чотири іони цинку. У такому гексамері при високих концентраціях хлорид-іонів три N-кінці В-ланцюга (залишки амінокислот у положеннях $B_1 – B_8$) асоціюються в α-спираль. Подібна конформація зветься R_6, або ослабленою (relaxed). Перехід із T_6 у R_6 стан можливий при зв'язуванні молекули з такими лігандами, як фенол, крезол, метилпарабен, резорцин та ін. Подібне зв'язування відбувається по ділянкам молекули інсуліну, названим гідрофобною кишенею. У стані T3R3 (несиметрична структура, в якій 4 іони цинку координуються B_{10} гістидинами) є три таких кишені, а в стані R_6 – шість. Відомо, що фенол і його похідні можна використати в лікарських препаратах інсуліну і як антибактеріальні консерванти, і як домішки, що запобігають протіканню реакцій дезамінування. Нещодавно було показано, що сполуки фенольного ряду сприяють також стабілізації T3R3 і R_6 гексамерів, підвищуючи тим самим стійкість молекули до термічної денатурації і полімеризації [197].

У розчині молекули інсуліну легко переходять у агрегований стан, поява якого залежить від температури, pH середовища та вмісту цинку. Інсулін при pH > 6,0 захоплює значну кількість цинку з розчину, причому з підвищенням pH ця кількість зростає. При pH, який відповідає pH нормальної крові, інсулін зв'язує понад 2% цинку. Сполука з цинком сильно впливає на розчинність інсуліну. При pH > 6,0 у присутності надлишку цинку та у відсутність більш сильних комплексоутворюючих речовин інсулін стає нерозчинним. При цих умовах цинк з'єднується з імідазольними групами інсуліну. Цинк, зв'язаний з інсуліном зберігає здібність приєднувати інші основні групи, а саме основні групи амінокислот, протаміну та ін. Кристалічний інсулін

має активність у 24 МЕ на 1 мг [6, 7, 102]. Кристалічний інсулін містить 0,4-0,5% цинку. Молекулярна маса інсуліну близько 5800Д, ізоелектрична точка – 5,35. Молекулярна маса агрегованих молекул інсуліну 12000-50000 і навіть 300000Д [6, 7].

Ген, який контролює процес синтезу інсуліну β-клітинами підшлункової залози, локалізується на короткому плечі 11p15,5 хромосомами між геном тирозингідроксилази і геном, відповідальним за синтез інсуліноподібного фактора росту 2 (ІФР-2). Ген інсуліну в довжину складається з 1355 базових пар, і його кодуючі ділянки містять три екзони, що перериваються двома інтронами ДНК. Перший екзон-сигнальний пептид N-кінцевого залишка препроінсуліну, другий – В-ланцюг і ділянка С-пептида і третій екзон – А-ланцюг та інша частина С-пептида [6, 7, 71, 101, 156].

Роботами D.Steiner і співав. (1967-1969 рр.) було показано, що в процесі біосинтезу спочатку утворюється молекула проінсуліну, від якої в подальшому відщепляється молекула інсуліну та С-пептид. Доведено, що в процесі біосинтезу спочатку утворюється препроінсулін, який складається зі 110 а.з. (препептид – 24, А-ланцюг – 21, В-ланцюг – 30, С-пептид – 35 залишків) і має молекулярну масу 11500. Синтез препроінсуліну відбувається на полірибосомах шорсткої ендоплазматичної сітки (ШЕС). Тривалість існування препроінсуліну близько 1 хвилини. Після відщеплення препептида сигнальною пептидазою молекула препроінсуліну перетворюється в молекулу інсуліну [6, 7, 71, 72, 101]. Поліпептидний ланцюг проінсуліну містить 86 а.з., його молекулярна маса – 9000, а біологічна активність складає всього 10% від активності інсуліну. Проінсулін при взаємодії з цинком утворює комплекси з молекулярною масою 54000, які також є гексамерами з двома атомами цинку в кожнім. Проінсулін за участю цинку або без нього може утворювати кристали [6, 7, 71].

Рисунок 1.5. Схематичне зображення проінсуліну людини (сірим кольором показані амінокислотні залишки, що відповідають С-пептиду, а білим – інсуліновій частині) (Grant P.T., 1971).

Швидкість трансляції та утворення проінсуліну в основному регулюються глюкозою. Крім глюкози, в регуляції швидкості трансляції проінсуліну беруть участь неестерифіковані жирні кислоти, що пригнічують глюкозостимульовану трансляцію препроінсулінової мРНК [6, 7, 72, 101, 156].

Проінсулін транспортується у вигляді мікропухирців крізь простори цистерн до комплексу Гольджі, де відбувається „упаковка” в секреторні пухирці. Перехід від початку до надходження його в комплекс Гольджі становить близько 20 хв. [6, 7, 72, 72, 101].

У секреторних гранулах комплексу Гольджі відбувається конверсія проінсуліну в інсулін. Це енергозалежна реакція, для здійснення якої необхідно 20-30 хв. Вважається, що утворення інсуліну з проінсуліну відбувається не тільки в комплексі Гольджі, але і в знов утворених секреторних гранулах, або в „програнулах", які залишають комплекс Гольджі та розташовуються в цитоплазмі клітин. У цих гранулах інсулін утворюється з проінсуліну протягом багатьох годин [6, 7, 72, 101, 156].

Конверсія проінсуліну в інсулін протікає за участю двох ендопептидаз: 1-го типу, або РС3, та ендопептидази 2-го типу, або РС2 (ендопептидази називають також прогормональними конвертазами 3-го (РС3) і 2-го (РС2) типу відповідно), та карбоксипептидази Н. РС3 необхідні для відщеплення С-пептиду, в результаті чого утворюється проміжна форма проінсуліну - інтермедіат І, в якому С-пептид відокремлений від термінальної групи А-ланцюга. Інша форма проінсуліну – інтермедіат ІІ утворюється під дією РС2. В інтермедіаті ІІ С-пептид відокремлений від С-кінця В-ланцюга. Утворення інтермедіату – І відбувається при відщепленні двох амінокислот (лізин ^{64} і аргінін^{65}) від А-ланцюга, а інтермедіату ІІ – при відщепленні двох амінокислот (аргінін^{31} і аргінін^{32}) від В-ланцюга. Під дією прогормональних конвертаз або ендопептидаз відбувається розрив поліпептидного ланцюга в зазначених позиціях, а за допомогою карбоксипептидази Н-повне відщеплення двох відповідних амінокислот (32-33 і 65-64), внаслідок чого утворюється С-пептид та інсулін (рис.1.6). Порушення процесів перетворення проінсуліну в інсулін призводить до накопичення першого в крові та розвитку деяких форм цукрового діабету. У нормі в людини на добу виробляється 40 ОД інсуліну, а в панкреатичних острівцях його вміст складає 200 ОД [6, 7, 71, 101, 197].

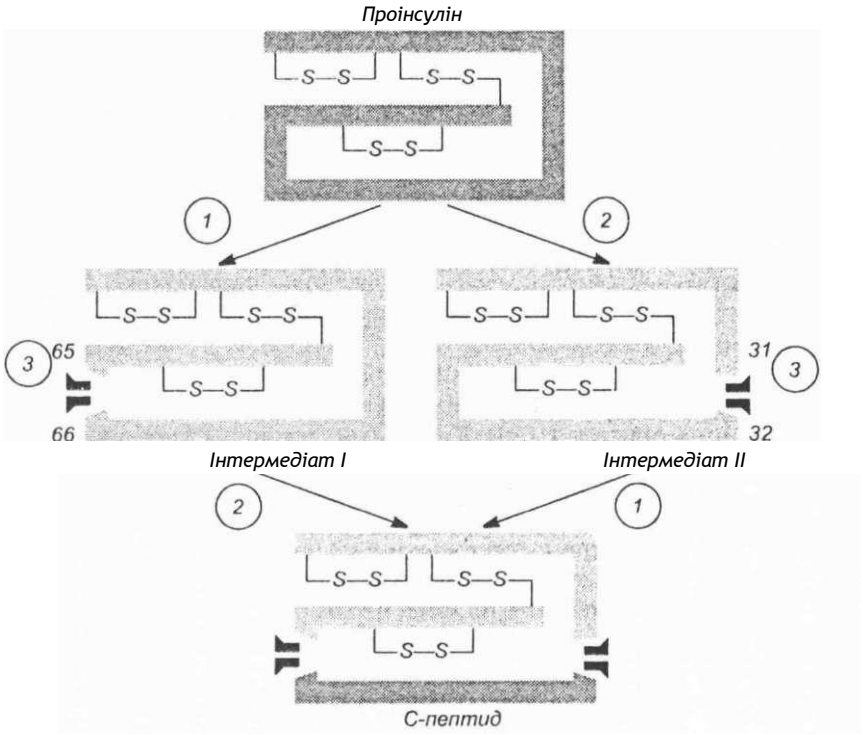

Рисунок 1.6. Конверсія проінсуліну в інсулін (Балаболкин М.И., 1998): 1-ендопептидаза II типу, або PC2; 2-ендопептидаза 1 типу, або PC3; 3-карбоксипептидаза H.

Таким чином, у секреторних гранулах клітин β містяться проінсулін, інтермедіатні форми I і II, інсулін, С-пептид та іони цинку. При дозріванні гранул зменшується кількість проінсуліну та збільшується кількість інсуліну, котрий, взаємодіючи з іонами цинку, утворює кристали. Останні локалізуються в центрі гранули та обумовлюють підвищену електронну щільність при морфологічних дослідженнях підшлункової залози. С-пептид розташовується по периферії гранули. Більша частина цинку, що міститься в острівцях підшлункової залози, знаходиться в гранулах і вивільняється в період секреції інсуліну [6, 7, 72]. Різні метаболіти (цитрат, оксалоацетат, глутатіон, цистеїн, гістидин і органічні сполуки фосфору) утворюють більш міцні сполуки з цинком, ніж з інсуліном. Ці речовини можуть перевести нерозчинні цинк-інсулінові комплекси у розчин з вивільненням інсуліну [102]. Крім інсуліну та С-пептиду (94%) вміст „зрілої” секреторної гранули складають проінсулін

та інтермедіати I і II (близько 6%), а також амілін, β-гранін (аналог хромагранін А хромафінної тканини) та іони цинку [6, 7]. Період напівжиття секреторної гранули становить декілька діб, і якщо за цей період не відбувається екзоцитозу, то інсулін деградується лізосомами всередині β-клітини, і цей процес отримав назву „кринофагія” (рис.1.7) [6, 7, 101].

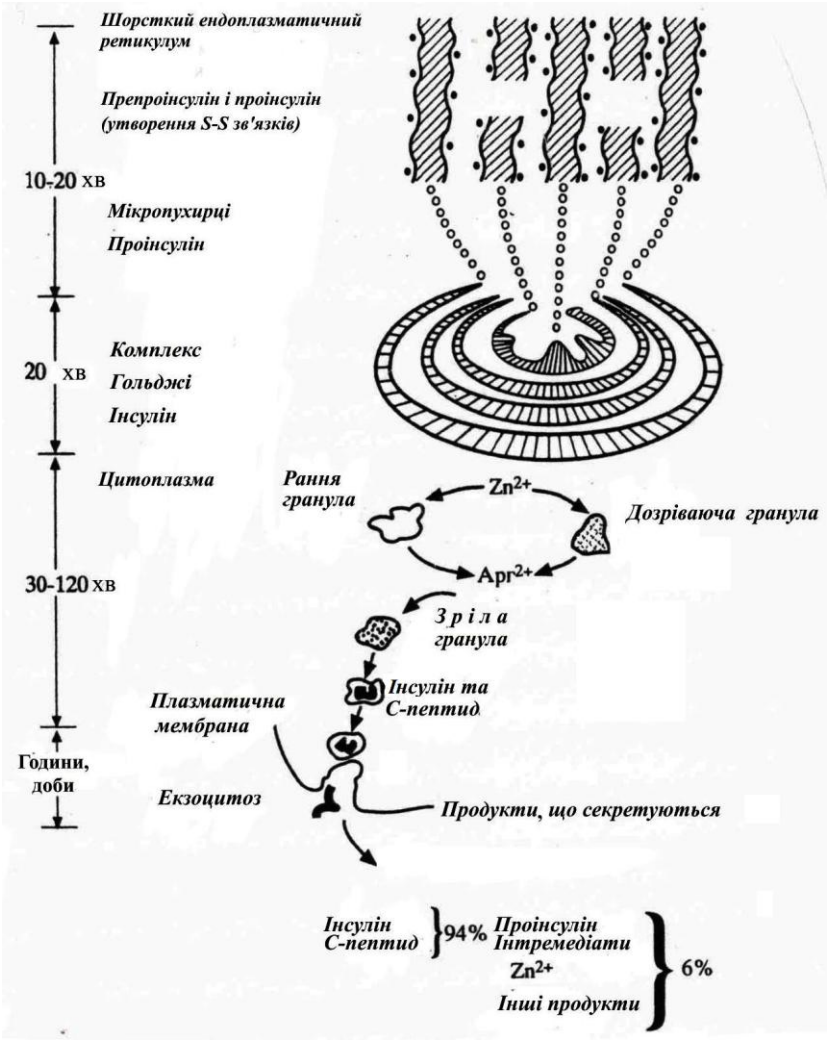

Рисунок 1.7. Схема біосинтезу інсуліну та секреторного механізму β-клітин (Балаболкин М.И., 1998).

Для причалювання секреторної гранули до акцепторної мембрани-мішені з наступним екзоцитозом необхідно наявність залишків цистеїну в положеннях 85 і 88 у мембрані, що асоціюються з білком SNAP-25 в інсулін-секретуючих клітинах. Інсулін – секреторні гранули мають на своїй мембрані два v-SNARE, що належать до сімейства білків vAMP / synaptobrevin, це vAMP-2 і целубревін, тоді як на плазматичній мембрані є SNAP-25 і синап-

син I [6, 7, 230, 231, 294]. Крім того, у процесі секреції інсуліну бере участь кальцій / кальмодулінзалежна протеїнкіназа II, яка фосфорилює синапсин I, викликаючи розволокнення ниток актину та вивільняючи актинзв'язані гранули [6, 7, 230, 231, 234].

Активування протеїнкінази С викликає зрушення секреторної гранули по напрямку до периферії клітини. Активування протеїнкіназ С і А викликає транслокацію гранул інсуліну, збільшення їх кількості на периферії клітини та підсилення вивільнення інсуліну. Транспорт гранул інсуліну здійснюється міозином, який є „руховим" білком, тоді як білок актин є своєрідним „канатом" і здійснює причалювання гранул до плазматичної мембрани [6, 7, 101, 230, 231, 294].

У процесах транспорту секреторної гранули беруть участь також такі білки, як кінезин і дінеїн [6, 7, 230, 231, 294]. Процес переміщення гранули по цитозолю клітини до мембрани потребує іонів кальцію, що в надлишку містяться в цитозолі клітини. У відповідь на стимуляцію глюкозою мікродомени Ca^{2+} з високим вмістом кальцію тісно стикаються з гранулами інсуліну, що рухаються [6, 7, 115, 218, 302, 361, 377].

У регуляції секреції інсуліну бере участь білок, який міститься в гранулах разом з інсуліном і визначається за допомогою електронної мікроскопії. Стимулює секрецію та екзоцитоз інсуліну інозітол, який розглядається як сигнальна молекула, що регулює переміщення гранул в інсулінпродукуючих клітинах [6, 7, 230, 231, 294]. Інсулін виділяється панкреатичними клітинами β шляхом еміоцитозу, що полягає в міграції гранул до плазматичної мембрани β-клітини, злитті з нею, розчиненні мембрани в ділянці контакту, прориві вмісту гранули ззовні в інтерстиціальний простір і міжклітинну рідину, дифузії його в капіляри [6, 7, 101, 230, 231, 294]. При цьому слід відмітити, що саме мікротубулярно-мікроворсинчаста система бере активну участь у процесі переміщення гранул до плазматичної мембрани. Мікротубули (мікрофіламенти) утворюються шляхом полімеризації білкових (тубулінових) субодиниць [6, 7, 230, 231, 294]. Зміну рівноваги між субодиницями та мікроту-

булами в бік полімеризації перших обумовлюють іони кальцію та кальмодулін, які впливають на секрецію інсуліну [115, 218, 302, 361, 377]. Вплив цАМФ на мікроканальцеву систему опосередковується через фосфорилювання мікроканальцевих білків [371]. Завдяки мікроканальцям (мікротубулам) секреторна гранула проштовхується до мембрани клітини. Вірогідно, у її переміщенні задіяні скоротливі білки-актин і міозин [6, 7, 101].

Мікроворсинки (мікрофіламенти) мають діаметр 4-8 нм і складаються з актину, що активується фосфорильованим міозином, утворюючи активований актиноміозин, що має здібність до скорочення. Мікроворсинки є складовою частиною мікротубулярно-ворсинчатої системи та розташовані по периферії клітини, оточуючи секреторні гранули і щільно прилягаючи до плазматичної мембрани. При наближенні гранули, що містить інсулін, до плазматичної мембрани мікроворсинки немовби огортають гранулу і підводять її до мембрани клітини, здійснюючи їх злиття та розчинення мембрани в точці дотику, сприяючи тим самим прориву вмісту гранули в інтерстиційний простір і міжклітинну рідину. Внаслідок змін фізичних властивостей середовища відбувається відщеплення цинку, та кристалічний інсулін стає розчинним [6, 7, 230, 346].

Стимуляція секреції інсуліну супроводжується активуванням процесів, які беруть участь у транспорті секреторних гранул до мембрани, а також мобілізацією великої кількості гранул, які знаходяться в цитозолі клітини в стані „про запас”. Глюкоза збільшує полімеризацію тубуліна в панкреатичних β-клітинах і стабілізує мікроворсинчасту систему через підвищення іонізованого кальцію, ГМФ і фосфорилювання протеїнкіназ (рис.1.8) [6, 230, 231, 294, 302, 346, 361, 377].

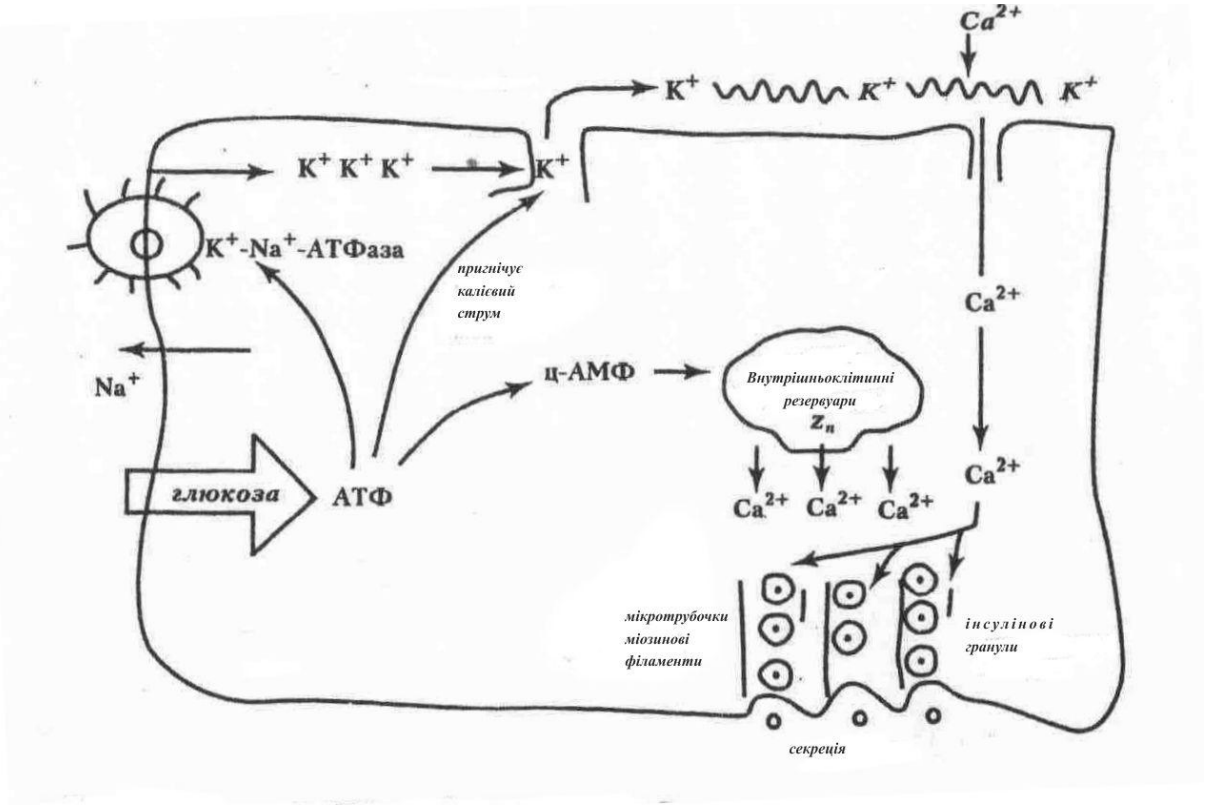

Рисунок 1.8. Секреція інсуліну β-клітинами (Бекстер Дж., Гріпспен Ф., 1994).

Вивчення впливу глюкози на вихід ^{45}Ca з β-клітин острівців Лангерганса показало, що існує 2 фази виходу: 1 настає через 1 хвилину, коли спостерігається гальмування виходу ^{45}Ca з β-клітин у відповідь на стимуляцію глюкозою. Це гальмування пояснюють зменшенням транспорту кальцію з β-клітин за рахунок раптового включення цитозольного кальцію во внутрішньоклітинні органели, або за рахунок зміни спорідненості кальцію до якого-небудь компонента клітинної мембрани, що сприяє тимчасовому зниженню його виходу. 2 фаза настає через 3-4 хвилини, коли спостерігається різке збільшення виходу ^{45}Ca з β-клітини у відповідь на стимуляцію глюкозою. Якщо 1 фаза співпадає з початком секреції інсуліну, то 2 триває увесь період стимуляції глюкозою. Продемонстровано, що 2 фаза має відношення до екзоцитозу: виділення кальцію відбувається з секреторних гранул, які містять достатню його кількість [6, 72, 230, 231, 266, 294, 302, 361, 377].

У тих випадках, коли перфузат позбавлений Ca^{2+} і містить 1мм/ЕДТА, 2 фаза цілком пригнічується. При трохи підвищених концентраціях Ca^{2+} та у відсутність ЕДТА спостерігається збільшення, хоча і дещо уповільнене, виходу з β-клітини ^{45}Ca. Висока концентрація позаклітинного Mg^{2+} також пригнічує індуковану глюкозою секрецію інсуліну шляхом гальмування входу Ca^{2+} у β-клітину [136, 206]. У даному випадку Mg^{2+} виступає як конкурент Ca^{2+} у загальній системі переносу через мембрану. При високій концентрації позаклітинного Mg^{2+} разом з гальмуванням секреції інсуліну також гальмується вихід ^{45}Ca з β-клітини [115].

Відомо також, що секреція інсуліну може стимулюватися без збільшення виходу ^{45}Ca з β-клітини [136, 206, 259, 266, 302, 361, 377]. У процесі секреції інсуліну у відповідь на стимуляцію глюкозою та іншими інсулінотропними речовинами Ca^{2+} може заміщатися Ba^{2+}. За допомогою радіоізотопного методу було продемонстровано накопичення Ba^{2+} у межах β-клітини. Ці дані підтверджують результати ультраструктурних досліджень, які продемонстрували акумуляцію Ba^{2+} в основному в мітохондріях і в меншому ступеню в плазматичній мембрані та секреторних гранулах. Вважається, що Ba^{2+} виснажує запаси ^{45}Ca, тобто Ba^{2+} , входячи у β-клітини, витискує Ca^{2+} , і секреція інсуліну у відповідь на стимуляцію глюкозою відбувається без збільшення виходу ^{45}Ca з В-клітин [136, 206, 218].

Усі ці експерименти показують, що збільшення виходу ^{45}Ca в 2 фазу у відповідь на стимуляцію глюкозою може бути обумовлено не тільки екзоцитозом секреторних гранул, але також внутрішньоклітинним перерозподілом кальцію, входом його у β-клітину через плазматичну мембрану з міжклітинного простору. Глюкоза, збільшуючи транспорт Ca^{2+} усередину β-клітини, провокує обмін між раніш накопиченим ^{45}Ca та Ca^{2+}, який знову увійшов у β-клітину. При цьому відбувається збільшення виходу ^{45}Ca з β-клітини. Цей факт заслуговує на увагу, тому що часові інтервали фаз виходу ^{45}Ca з β-клітини співпадають з часовими інтервали секреції інсуліну у відповідь на стимуляцію глюкозою [115, 136, 206, 377].

Важлива роль у процесах екзоцитозу відводиться G-білкам (гуанін-нуклеотидзв'язуючі білки). Гетеротриметричні G-білки складаються з трьох субодиниць (α-, β-, γ-субодиниці), що комплексуються з сотнями рецепторів різних гормонів, нейротрансміттерів, факторів росту та аутокоїдів. G-білки регулюють такі ефекторні молекули, як аденілатциклаза, фосфаліпаза, а також іонні канали. Простагландин $Є_2$, адреналін, соматостатин і галанін, які пригнічують секрецію інсуліну, проявляють свій специфічний вплив шляхом взаємодії з гетеротриметричними G-білками [185, 320, 377]. При вивченні механізму дії простагландину $Є_2$ на панкреатичні острівці і НІТ-$Т_{15}$ клітини було встановлено, що простагландин $Є_2$, зв'язуючись со специфічним рецептором, викликає зменшення концентрації цАМФ і зниження секреції інсуліну [6, 7, 371]. Перелічені вище гормони (адреналін, соматостатин, галанін і простагландини $Є_2$) пригнічують секрецію інсуліну на багатьох рівнях і різними механізмами, включаючи вплив як на експресію гена інсуліну, так і на глюкозоіндукований екзоцитоз інсуліну [6, 7, 97, 101, 114, 136, 206, 263, 268, 272, 305].

Гальмівну дію на синтез інсуліну здійснюють глюкокортикоїди, які вкорочують термін життя препроінсулінової РНК і тим самим знижують продукцію інсуліну в β-клітинах [6, 7, 101, 114, 136, 206, 263, 268, 272].

Специфічним стимулятором секреції інсуліну є глюкоза. Процес секреції цього гормону відбувається в дві фази: перша – стадія швидкого, раннього вивільнення інсуліну, що триває 1-3 хв, друга – триває до 25-30 хв. У першу фазу виділяється в кров готовий до секреції інсулін, який знаходиться в депонованому стані в β-клітинах острівців, а в другу фазу секретується знову синтезований інсулін і в невеликих кількостях проінсулін [6, 7, 72, 101, 114, 134, 221, 231, 268, 272, 294].

Стимулюють секрецію інсуліну також інші сахариди: маноза, гліцеральдегід, дігідроксиацетон. Дія стимуляторів секреції гормону може потенціюватися фруктозою, N-ацетилглюкозаміном, α-гліцеральдегідом. Маногептульоза та глюкозамін пригнічують дію глюкози, а галактоза, рибоза і деякі

інші сахариди взагалі не впливають на секрецію інсуліну [6, 7, 72, 97, 101, 129, 134, 136, 206, 231, 268, 294, 357].

У нормі регульована чутливість β-клітин до глюкози обумовлена особливою експресією вуглеводних транспортерів і ферментів, що дозволяє забезпечити адекватну секреторну реакцію у відповідь на зміни концентрації цукру в крові. Максимальна стимуляція секреції інсуліну має місце при вмісті глюкози близько 8 ммоль/л. Виділяють три основні молекулярні відмінності глюкозного метаболізму в β-клітинах. 1. Глюкоза перетинає плазматичну мембрану за допомогою низькоафінного транспортера ГЛЮТ-2 [114, 129, 136, 206, 230, 272, 294, 376]. 2. Фосфорилювання глюкози до глюкозо-6-фосфату в присутності АТФ і йонів Mg каталізує фермент з високою $К_м$ – гексокіназа IV (глюкокіназа), що є швідкість – лімітуючим ферментом гліколізу, який отримав назву „сенсора глюкози” [6, 7, 115, 218]. Це білок з молекулярною масою близько 52000, містить 465 амінокислотних залишків. Глюкокіназа експресується у β-клітинах острівців підшлункової залози та печінці, а також у деяких ендокринних клітинах шлунково-кишкового тракту та мозку [6, 7, 101, 156]. 3. Піруват, що утворюється в процесі гліколізу, в основному надходить до мітохондрій, в яких понад 90% глюкозних вуглеців перетворюються до CO_2 [114]. Крім того, бета-клітинам притаманна надзвичайно низька активність лактатдегідрогенази – ферменту, що каталізує перетворення пірувату до лактату [101, 114, 322]. До того ж, незначна експресія транспорту монокарбоксилатів у плазматичній мембрані пояснює відсутність у пірувату та лактату здатності до стимулювання секреції інсуліну в нативних β-клітинах, що є особливо важливим за умов фізичного навантаження [233, 294, 376].

Надходження пірувату до мітохондрій забезпечує субстратом циклу трикарбонових кислот, активація якого призводить до підвищення продукції відновлюючих еквівалентів НАДН і $ФАДН_2$ у мітохондріальному матриксі та переносу електронів до електрон-транспортного ланцюга, до якого також надходять електрони з гліцерофосфатного шунта. Внаслідок цього підвищуєть-

ся цитозольне співвідношення АТФ/АДФ, закриваються АТФ-чутливі K^+-канали в умовах підвищеної концентрації АТФ, клітини деполяризуються, відкриваються потенціал залежні Ca^{2+}-канали α-типу. Приплив кальцію всередину клітини активує ключовий фермент у секреції інсуліну – кальцій/кальмодулінзалежну протеїнкіназу II (Са М – ПК II). Цей фермент фосфорилює ряд білків цитоскелету, що викликає екзоцитоз секреторних гранул [6, 7, 101, 218, 231, 266, 294, 361, 376].

Вивчаючи ультрацитохімічний розподіл кальцію всередині β-клітини в І-й і ІІ-й фазах секреції інсуліну у відповідь на стмуляцію 3 мМ і 20 мМ Д-глюкози, встановлено, що в період ранньої секреції інсуліну на внутрішній поверхні мембрани β-клітини відбувається накопичення іонів кальцію, що ініціюють процеси екзоцитозу вакуолей, розташованих у цій ділянці клітини, і тим самим здійснюють швидку секрецію інсуліну. Збільшення концентрації мембранозв'язаного кальцію обумовлено його переміщенням із міжклітинного простору всередину клітини. У цей період (І фаза секреції) не відмічається перерозподілу внутрішньоклітинного кальцію [6, 7, 136, 206, 230, 231, 294, 305, 376, 377].

При прediабеті й легкому цукровому діабеті секреція інсуліну в І фазі менше, ніж у здорових людей. ІІ фаза секреції інсуліну в цих хворих не змінюється [114, 259].

У панкреатичних клітинах АТФ-чутливі K^+- канали активуються аніонними фосфоліпідами. Ці канали тісно пов'язані з клітинним метаболізмом. Низка хімічних агентів, яка блокує зазначені канали, полегшує вивільнення інсуліну. Сульфонілсечовина та імідазоліни стимулюють секрецію інсуліну з панкреатичних β-клітин внаслідок зниження активності K^+- каналів цього класу. Галанін і соматостатин пригнічують виділення інсуліну острівцями Лангерганса відкриванням досліджуваних каналів через активацію G-білка. Глюкагоноподібний пептид, який стимулює секрецію інсуліну непрямим блокуванням АТФ-чутливих K^+-каналів, виявляє антидіабетичну дію в пацієнтів з інсулінонезалежним цукровим діабетом. Ендосульфін – ендогенний

інгибітор цих каналів – стимулює секрецію інсуліну β-клітинами [6, 136, 217, 233, 259, 263, 266, 268, 272, 294]. Була доведена здібність препаратів глібенкламіду, гліпизиду, толбутаміду та меглитиніду пригнічувати K^+-канали [6, 7, 263, 273].

Із вище викладеного зрозуміло, що секреція інсуліну є кальційзалежним процесом: Ca^{2+} стимулює екзоцитоз інсулінових гранул і виконує роль внутрішньоклітинного месенджера, який об'єднує глюкозний метаболізм і секрецію інсуліну. Підвищення рівня внутрішньоклітинного кальцію відіграє для секреції гормону основну роль. Його підвищення здійснюється як за рахунок збільшення його входження у клітину через іонофори (такі, як А 23187), так і вивільнення із запасів ендоплазматичного ретикулума за участю інозитолтрифосфат ($ІФ_3$). Компонентом мембрани β-клітин є фосфатидилінозитолбіфосфат, який містить велику кількість інозитолу. Фосфатидилінозитолбіфосфат гідролізується кальційзалежною фосфоліпазою С і наступним вивільненням $ІФ_3$ і діацилгліцерину, який в свою чергу активує протеїнкіназу С і секрецію інсуліну [6, 7, 136, 206, 218, 230, 231, 259, 266, 268, 294, 302]. Механізм дії цього ферменту аналогічний Са М-ПК II [6, 7, 101, 114].

С-пептид, який з'єднує А- і В-ланцюги інсуліну в проінсуліні, не володіє біологічною активністю та вивільняється в кров у рівних кількостях з інсуліном. У зв'язку з цим за концентрацією С-пептида в плазмі крові можна робити висновки про синтетичну та секреторну активність β-клітин острівців. Період напіврозпаду С-пептида в 3-4 рази триваліший, ніж інсуліну, тому що він не катаболізується в печінці. Тому в базальному стані (натщесерце) концентрація С-пептида в плазмі крові значно перевищує концентрацію інсуліну (в 10 - 15 разів) і може досягати 1000 пмоль/л (5 - 6 нг/мл) [6, 114, 334].

Встановлено, що регуляція функції β-клітин неглюкозними факторами може здійснюватися декількаами шляхами: класичним ендокринним – коли регулятори секретуються залозою внутрішньої секреції і надходять в острівці Лангерганса з кровотоком; нейрокринним – коли регулятори вивільняються з нервових закінчень, розташованих в острівцях; паракринним – коли регуля-

тори надходять із сусідних клітин панкреатичних острівців; аутокринним, при якому регуляторні функції здійснюються біорегуляторами, що синтезуються в самій клітиніи [6, 7, 101, 114, 129, 221, 231, 294].

Система регуляції інсулярного апарату підшлункової залози виглядає наступним чином. Глюкоза та деякі амінокислоти є основними, найбільш потужними метаболічними стимуляторами секреції інсуліну. У той же час діяльність β-клітин здійснюється під постійним контролем нервової системи, який реалізується в основному через холінергічну та β-адренергічну систему, а також під впливом „паракринних" регуляторів – глюкагону та соматостатину [6, 7, 72, 97, 101, 114, 129, 136, 147, 206]. Всі інші регулятори функції β-клітин діють на фоні цих факторів, тобто на фоні мінливої концентрації метаболітів у крові, активності паракринних факторів і при різних рівнях нервової імпульсації [126, 134, 157, 231, 263, 268, 272, 294, 322, 358, 376]. Тому багатьох неглюкозних регуляторів секреції інсуліну можна віднести до разряду „модуляторів" дії глюкози на острівцевий апарат підшлункової залози (табл.1.1).

Таблиця 1.1

Регулятори інсулярної функції підшлункової залози

Метаболічні	Ендокринні	Паракринні	Нейрокринні
1	2	3	4
Глюкоза Амінокислоти Жирні кислоти та ін.	Соматостатин Глюкагон Соматоліберин Соматотропін Кортикостероїди Катехоламіни Опіоїди Трийодтиронін	Соматостатин Глюкагон Соматоліберин Секретин Опіоїди Панкреастатин Панкреатичний поліпептид (PP)	Катехоламіни Нейротензин Тиреоліберин Кортикотропін-рилізинг-фактор Гастрин-рилізинг-пептид (GRP)

Продовження табл.1.1

1	2	3	4
	Холецистокінін Гастрин Секретин Нейротензин Інтерлейкін 1 Субстанція Р Поліпептид II Шлунковий інгибуючий поліпептид (GIP)	Простагландини Шлунковий інгибуючий поліпептид (GIP) С-пептид	Холецистокінін і фрагменти Субстанція Р Нейропептид I Кальцитонін Галанін Вазоактивний інтестинальний поліпептид (VIP) Пептид HI

Білки й амінокислоти стимулюють секрецію інсуліну. Аргінін і лейцин здійснюють найбільш виражений вплив. Перший безпосередньо сприяє деполяризації мембрани та відкриттю кальцієвих каналів. Другий генерує АТФ у процесі власного метаболізму. АТФ, що утворюється, здійснює свій вплив, як описано вище [6, 7, 72, 101, 114, 129, 134, 136, 147, 206, 242, 268, 293].

Серед пептидних гормонів найбільш значущою та різноманітною фізіологічною дією на острівцевий апарат володіють гормони ентеринової системи та нейропептиди. Добре відомий факт більш сильної стимуляції інсуліну при пероральному прийомі глюкози порівняно з внутрішньовенним (у класичній літературі – „інкретиновий ефект”). Безсумнівно, гормони ентеринової системи слугують фізіологічно значущим регулятором інсулінової секреції, який дозволяє при прийомі їжі почати стимулювати острівці до зростання концентрації глюкози в крові [4, 6, 7, 97, 101, 114, 206, 297].

Найбільш сильним стимулятором секреції інсуліну серед гормонів ентеринової системи вважається шлунковий інгибуючий поліпептид (GIP).

Його вміст у портальній крові зростає після прийому їжі, він збільшує секрецію інсуліну дозозалежним чином GIP стимулює анаболізм, збільшує швидкість колооберту ліпопротеїдів, потенціює ліпідмобілізуючі ефекти й пригнічує глюкагонзалежний ліполіз. Для прояву інсулінової дії GIP необхідна гіперглікемія насичення. При надлишковій вазі існує гіперчутливість до GIP [6, 7, 101, 114, 129, 268].

Холецистокінін (ССК) у фізіологічних концентраціях стимулює виробку всіх основних острівцевих гормонів, ефект цей особливо помітний у новонароджених і супроводжується гальмуванням апетиту та підсиленням виробки пролактину й АКТГ [6, 7, 72, 101, 114, 154].

Холецистокінін і його фрагменти присутні в нервових закінченнях панкреатичних острівців. Тому холецистокінін і його фрагменти та деякі інші гормонально-активні пептиди кишкової групи можуть здійснювати вплив на функцію острівців підшлункової залози не тільки шляхом секреції у кровоток, але й місцево, виконуючи роль нейромедіаторів [6, 7, 114, 221, 229, 239].

Вазоактивний інтестинальний поліпептид (VIP) – має рецептори на β-клітинах, стимулює виробку інсуліну та може діяти як індуктор диференційовки. Паралельно VIP збільшує продукцію лютеїнізуючого гормону, соматотропіну й пролактину в аденогіпофізі [6, 7, 101, 114, 129, 147, 268].

Секретин (SC) стимулює виробку інсуліну in vivo та in vitro ССК, VIP і SC не збільшують свій вміст у крові при насиченні, що не дозволяє вважати провідниками інкретинового ефекту, як GIP [6, 7, 101, 114, 129, 134, 268].

Гастрин; який бере участь у підсиленні вивільнення інсуліну та глюкагону у відповідь на змішану їжу та амінокислоти, стимулює виробку соматотропіну [6, 7, 101, 114, 129, 134, 136, 206, 268].

Грелін продукується не тільки шлунком, але й іншими тканинами, включаючи підшлункову залозу, і регулює її функцію завдяки паракринним і аутокринним механізмам. У підшлунковій залозі гормон стимулює

проліферацію й пригнічує апоптоз β-клітин. Така його дія здійснюється через доки що не ідентифікований рецептор і активує в β-клітинах фосфоінозитол – 3 – кіназу – мішень дії інсуліну, а також протеїнкіназу А й утворення цАМФ – медіаторів сигналів багатьох гормонів [114, 145, 157, 282].

Мотилін стимулює виробку соматотропіну й володіє СТГ-подібною дією на острівці [101, 114, 129, 268].

Інкретини інгибітор дипептидил пептидази 4 (DPP-4) і глюкозозалежний інсулінотропний пептид (GIP) здатні швидко розпадатися до дипептидил пептидази 4. DPP-4 належить до сімейства клітинних мембранних білків, які представлені у багатьох клітинах, включаючи імунні. Інгибітори DPP-4 – це невеликі молекули, що підсилюють ефект GLP-1 і GIP, підвищують рівень секреції інсуліну та пригнічують секрецію глюкагону [114, 156, 268].

Галанін викликає найбільший інтерес серед панкреатичних нейропептидів. Виділяється пептидергичними нейронами й безпосередньо впливає на острівцеві клітини. Вважається, що його роль особливо велика при стресорних впливах на острівці. Галанін при внутрішньовенному введенні значно підвищує рівень соматотропіну, вірогідно пригнічуючи утворення соматостатину δ-клітинами, і є одночасно стимулятором апетиту. Інтерес до цього пептиду диктується тим, що при експериментальному введенні собакам і мишам галанін викликає у них транзиторну інсулінопенію та гіперглікемію [6, 7, 101, 114, 156, 268].

Регулюючу секрецію інсуліну дію опіоїдних сполук, і зокрема метенкефаліну, досліджували при різних концентраціях препарату та в присутності субнормальної (5,5 мМ) і підвищеної (16,5 мМ) концентрації глюкози в середовищі інкубації. Як свідчать отримані результати, метенкефалін у дозах 0,2 і 2 мкМ здійснював інсулінстимулюючий вплив на острівцеві клітини, причому стимуляція секреції інсуліну була виражена в більшому ступеню при субнормальному рівні глюкози, ніж при підвищеному (57 % і 44 % відповідно). Ці результати свідчать про те, що опіоїдні пептиди типу

метенкефалін здібні модулювати секреторну відповідь β-клітин на дію глюкози [114, 136, 263].

Інсулінозалежний цукровий діабет (ІЗЦД) супроводжується пониженням продукції енкефалів у панкреатичних острівцях [114, 156].

Нейропептид Y пригнічує стимульовану відповідь глюкагону на амінокислоти й одночасно підвищує апетит [22, 114, 147].

Гіпоталамічні нейропептиди аргінін-вазопресин, окситоцин, бомбезин, нейротензин, пептид, споріднений гену кальцітоніну стимулюють виділення інсуліну [1, 10, 22, 53, 67, 114, 147, 204].

Ацетилхолін, так само як і холецистокінін, відноситься до гормонів – активаторів секреції інсуліну так званого 1 класу, що діють через активацію гідролізу фосфатидилінозитолів. Стимуляція M_1 –холіно- і ССК – В-рецепторів β-клітин викликає G-білокопосередковану активацію фосфоліпази С (ФЛ-С), що розщеплює мембранні фосфоліпіди на два вторинних посередника –$ІФ_3$ і діацилгліцерол. $ІФ_3$ відкриває на мембранах ендоплазматичної сітки й мітохондрій кальцієві канали, викликаючи збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+}. Діацилгліцерол активує протеїнкіназу С (ПК-С), яка, так само як СаМ – ПК II, фосфорилює білки цитозоля й викликає екзоцитоз секреторних гранул [6, 7, 101, 114, 129, 147, 221, 239].

GLP-1 належить до гормонів – активаторів секреції інсуліну 2 класу. Він, так само як GIP, стимулює аденілатциклазу [129, 257, 297, 347].

GLP-1 здатний знижувати секрецію глюкагону підшлунковою залозою [114, 297]. Він підвищує функціональну активність β-клітин острівців, а у пацієнтів з раннім і важким початком ЦД 2-го типу знижує підйоми рівня цукру в крові, що виникає після кожного прийому їжі [114, 283, 284].

Екзендин 4 гомологічний людському GLP-1, але має більш тривалий період напіввиведення. Він зв’язується з ГПП-1 рецепторами β-клітин підшлункової залози та підвищує прандіальну секрецію інсуліну. Синтетичний екзендин-4 (екзенатид) пригнічує секрецію глюкагону [114, 263].

Обидва класи гормонів синергічно підсилюють секрецію інсуліну при глікемії вище 4,0 ммоль/л, практично не впливаючи при більш низьких концентраціях глюкози [114, 257, 263, 297, 347].

Інтерлейкін-1 (IL-1) у малих дозах, у ранній термін після введення в умовах гіперглікемії стимулює, а в протилежних ситуаціях знижує вивільнення інсуліну з острівців у щурів, не впливаючи на вивільнення глюкагону (це має фізіологічний сенс у продромі інфекцій і при лихоманці) [114, 147].

У привушних залозах щурів виявлені неідентифіковані пептиди, що підсилюють утворення інсуліну у відповідь на глюкозу, причому ефекти паротидектомії особливо відбиваються на концентрації глюкози у старих щурів [114].

Частина АКТГ – поліпептид 19-39 має рецептори на β-клітинах й іноді розглядається в якості основного кандидата на роль центрального гіпофізарного регулятора роботи інсулінпродукуючих клітин [114, 129, 147].

Соматотропін, як і АКТГ, виробляється у відповідь на гіпоглікемію, що, в свою чергу, впливає на острівці. Він знижує метаболічну дію інсуліну, є контрінсулярним гормоном, який сильно стимулює ліполіз, кетогенез і глюконеогенез [6, 7, 101, 114, 129, 136, 147].

Ефект гормону відставлений у часі та, вважають, реалізується через прискорення біосинтезу проінсуліну. Підтвердженням цьому слугують дані літератури, що свідчать про прискорення включення міченого лейцину в проінсулін під впливом соматотропіну [6, 7, 101, 114].

Інсулін і система „соматотропін-інсуліноподібні фактори росту” (ІФР) – дві родинні ендокринні системи, що перехрещуються на багатьох рівнях. ІФР-1 і його рецептори мають високу схожість і перехресну реактивність з інсуліном і його рецептором. ІФР-1 визначає чутливість острівців до СТГ. Існує зв’язок між порушеннями в системі „соматотропін-інсуліноподібні фактори росту” й патогенезом ускладнень ІЗЦД [114, 137, 145, 157].

Плацентарний аналог СТГ – хоріонічний гонадотропін (ХГ) і пролактин, який зветься „малий СТГ”, що діє на острівці подібно СТГ. Лютеїнізуючий гормон (ЛГ) через стимуляцію синтезу прогестерону активізує вивільнення інсуліну [101, 114, 129].

Широко представлений в організмі тиреоліберин. Крім гіпоталамуса й гіпофіза, де цей трипептид виконує роль рилізинг-фактора, тироліберин був знайдений в інших відділах ЦНС, у нервових елементах шлунково-кишкового тракту. Він здібний стимулювати секрецію інсуліну. Слід відзначити, що стимулюючий ефект проявляється в дозах, які суттєво перевищують концентрації тиреоліберину, що здійснюють вплив на секрецію пролактину та тиреотропного гормону в клітинній культурі аденогіпофіза. В острівцях вплив тиреоліберину здійснюється в місці синтезу, тоді як по шляху до аденогіпофізу гіпоталамічний тиреоліберин „розводиться” кров’ю, потрапляючи в систему ворітної вени гіпофіза. Стимулюючий ефект гормону пов’язують з прискоренням виділення з β-клітин вже синтезованого інсуліну, що знаходиться в секреторних гранулах [6, 7, 101, 114, 129, 147, 376].

Тиреоїдні гормони: тироксин (T_4) і трийодтиронін (T_3) збільшують базальний і стимульований синтез інсуліну та глюкагону, але знижує ефект інсуліну. При гіпертиреозі функція β-клітин підвищена, але і резистентність до інсуліну збільшена, що викликає гіперінсулінемію та гіпер- С-пептидемію. Гормони прищитоподібних залоз належать до стимуляторів виділення інсуліну острівцевими клітинами [6, 7, 72, 101, 114, 126, 136, 206, 376].

Прогестерон зменшує швидкість проліферації β-клітин, але підсилює вивільнення інсуліну. Стимулює секрецію цього гормону і серотонін [6, 7, 72, 101, 114, 129, 136, 147, 206, 268].

Продукти ліпооксигеназного шляху, особливо лейкотрієни (Lt) і 15-гідропероксиейкозатетраенові кислоти, стимулюють інсулінову відповідь [114, 134, 268, 272].

Стимулюють секрецію інсуліну також жирні кислоти та кетокислоти [241, 242, 260, 310].

Вітамін Д (через обмін кальцію) підсилює секрецію інсуліну. Метаболізм цього тканинного гормону частково знаходиться під контролем інсуліну, який впливає на етап повторного гідроксилювання вітаміну Д. У зв'язку з цим при ІЗЦД у дітей рахіт посилює важкість хвороби й утворюється порочне коло, пов'язане з патогенезом діабетичної остеопатії [114, 268, 272, 358].

Препарати сульфонілсечовини, агоністи β-адренорецепторів, глініди знижують рівень глюкози за рахунок стимуляції секреції інсуліну. Сульфаніламіди, агоністи кальцію, потенційний попередник аденінових нуклеотидів – AICA рибозид-активатори аденілатциклазної активності в β-клітинах, ефіри бурштинової кислоти стимулюють як секрецію інсуліну, так і біосинтез проінсуліну [6, 7, 73, 101, 114, 129, 263, 272]. Серед ефірів високу здатність до стимулювання біосинтетичної активності в ендокринній частині підшлункової залози виявляють гліцерил – 1, 2 – диметилсукцинат [73, 320].

Загальновідома контрінсулярна дія глюкокортикоїдів, які конкурують з інсуліном за гексокіназу та сильно стимулюють глюконеогенез. Окремо стоїть гідрокортизон, який гальмує in vivo розпад інсуліну [6, 7, 72, 101, 114, 129, 263].

Катехоламіни (КА), діючи в мінімальних концентраціях, пригнічують вивільнення інсуліну та знижують його ефект, не впливаючи на вміст глюкагону, хоча й слугують його синергістами, а також гальмують утворення соматостатину. У середніх концентраціях, діючи як нейромедіатори, КА ще сильніше гальмують секрецію інсуліну (рецепторно опосередкований α-ефект), підсилюють виробку глюкагону (рецепторно опосередкований β-ефект) і підвищують рівень соматостатину (α/β-ефект). Таким чином, нейротрансміттерна дія β-адреноміметиків – інсулінотропна, а α-адреноміметиків - антиінсулінова [6, 7, 101, 114, 129, 156, 263, 272].

Соматостатин гіпоталамічного походження понижує секрецію інсуліну шляхом пригнічення виділення соматропного гормону, а соматостатин, який утворюється в δ-клітинах острівців, безпосередньо гальмує секрецію інсуліну [147, 244, 268, 362, 363, 381].

Андрогени знижують рівні секреції інсуліну та його ефекти [114, 136, 206, 268, 272, 376].

У ряді досліджень показано, що лептин – регулятор харчової поведінки, що синтезується в адипоцитах, гальмує транскрипцію гена інсуліну та його секрецію [167, 214, 222, 227, 293].

Лептин є сигналом негативного зворотнього зв'язку з жирової тканини в підшлункову залозу, формуючи, таким чином, за думкою H. Fehmann і співавт., адипозоінсулярну вісь [167]. Ефект лептину реалізується через пригнічення збільшення внутрішньоклітинної концентрації цАМФ і Ca^{2+} [222]. Вплив гормону на секрецію інсуліну може також опосередковуватися через симпатичну нервову систему. З іншого боку, тривалі інфузії інсуліну або збільшення його вмісту вище фізіологічного супроводжуються підвищенням рівня пептиду [157, 167, 214, 293].

При „нокаутуванні" гена адипонектину, так само як при дефіциті лептину, розвивається метаболічний синдром, ожиріння, резистентність до дії інсуліну та інші форми патології [135, 157, 159, 214, 220, 293]. Уведення адипонектину, так само як ін'єкції лептину, підвищує ефективність дії інсуліну та чутливість до нього органів і тканин [157, 159, 220, 293]. Надмірне споживання жирів викликає ожиріння, яке супроводжується накопиченням ліпідів у м'язовій тканині, що знижує її чутливість до інсуліну, зменшує її чутливість до інсуліну, зменшує споживання м'язами вуглеводів і індукує розвиток інсулінорезистетності. Але ці порушення зникають після спільного уведення адипонектину та лептину [135, 157, 159, 214, 220]. Дефіцит гормонів жирової тканини або блокування їх гормональної дії асоціюється у людей і тварин із ЦД 2-го типу [157, 159, 167, 214, 293].

Усі похідні циклооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти, особливо простагландини (Pg $Є_2A$), знижують стимульовану глюкозою секрецію інсуліну та підвищують базальну виробку глюкагону та соматостатину. Простагландини знімають вплив GIP на секрецію інсуліну [6, 7, 101, 114, 156, 376].

Дофамін знижує вивільнення інсуліну. При цьому дофамін пригнічує викид соматостатину та стимулює вивільнення глюкагону, впливаючи через адренорецептори [6, 7, 101, 114, 129, 147, 156, 376].

Фармакологічні речовини – фенітоїн, колхіцин, тіазиди, агоністик α-адренорецепторів – пригнічують секрецію інсуліну (рис.1.9) [6, 7, 101, 114, 156, 263, 319, 376].

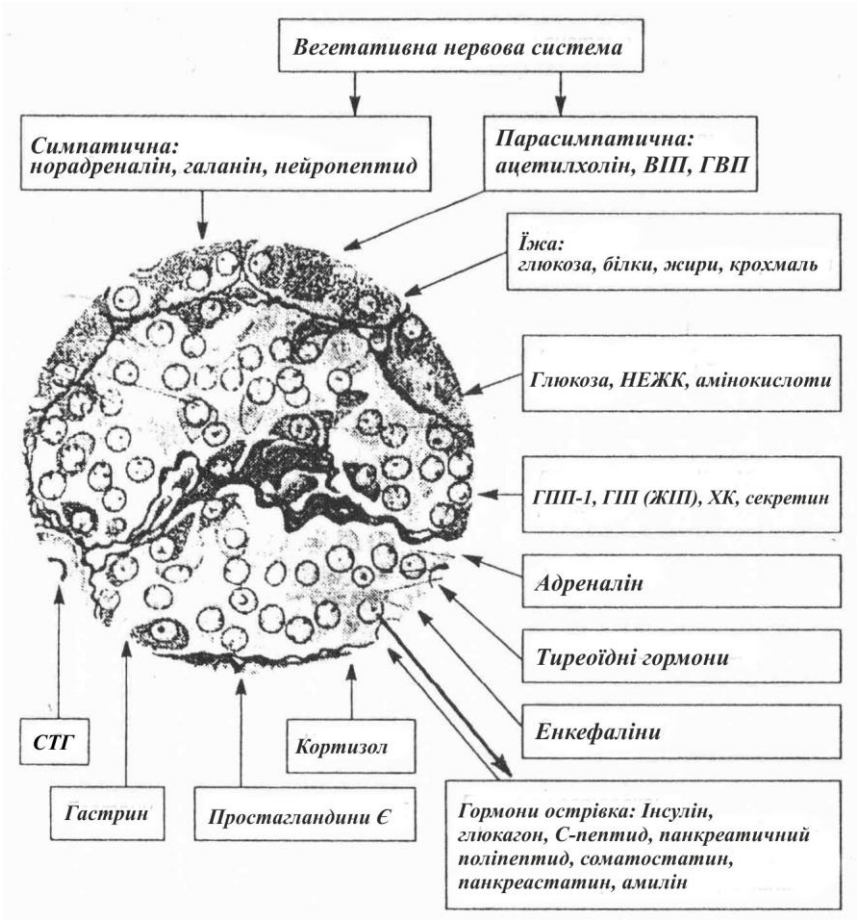

Рисунок 1.9. Схема гормональної регуляції функції острівцевих клітин (Балаболкин М.И., 2000): ГВП –гастрин-вивільняючий пептид; ГІП - глюкозозалежний інсулінотропний пептид.

Волокна вегетативної нервової системи, що досягають острівця підшлункової залози, також активно впливають на секрецію інсуліну. Парасимпатична нервова система завдяки мускариноподібним холінергічним рецепторам стимулює, тоді як симпатична нервова система через катехоламіни (що вивільняються закінченнями волокон або надходять із центральним кровопотіком) через α_2- рецептори пригнічують секрецію інсуліну [6, 7, 72, 101, 114, 137, 229, 239].

У патологічних умовах до цього обширного переліку регуляторів і модуляторів інсулярної функції підшлункової залози можуть приєднуватися аутоантитіла до інсуліну, до поверхневих і цитоплазматичних антигенів β-клітин, а також інші фактори плазми, що можуть суттєво впливати на секреторні процеси [114, 147, 359, 376, 378]. Інсулін здібний здійснювати аутокринний інгибіторний вплив на свою секрецію через власні рецептори на β-клітинах, підсилюючи захоплення Ca^{2+} ендоплазматичною сіткою [6, 7, 101, 156, 221].

Встановлено вплив плазми хворих з тількино виявленим цукровим діабетом I типу на секрецію інсуліну культивованими острівцевими клітинами. Фактори, що з'являються в крові хворих, можуть здійснювати як гальмівний, так і стимулюючий вплив на функцію β-клітин. Під впливом сироватки хворих на діабет змінювалась не тільки інтенсивність базальної секреції інсуліну культурою, але в значному ступені пригнічується відповідь клітин на наступне введення в середовище інкубації високої концентрації глюкози. Це вказує на суттєве зростання рівня сироватковах факторів, які впливають на функцію β-клітин. Очевидно, що здійснюваний ними вплив може бути спрямований на пригнічення як базального, так і глюкозостимульованого шляху секреції інсуліну [114, 359].

У сироватці хворих на цукровий діабет, особливо при формах, які не лікуються, відмічають підвищені рівні деяких метаболітів і гормонів. У понад 70 % таких хворих виявляються антитіла до різних компонентів

β-клітин, які здібні впливати на їх функцію і навіть давати цитотоксичний ефект [6, 7, 114, 359].

З крові хворих на цукровий діабет було виділено сироватковий фактор, який стимулює секрецію інсуліну β-клітинами. Молекулярна маса виділеного фактора складає 60000 – 100000 дальтон. Цей білок до імуноглобулінів не належить [114, 359].

H.Rasmussen і співав. було запропоновано модель регуляції секреції інсуліну в фізіологічних умовах. Вони припускають, що секреція інсуліну протікає в 3 фази: цефалічну, ранню кишкову та пізню кишкову. Основною подією, що відбувається в перші 2 фази, є переніс ПК-С на мембрану в Ca^{2+} - чутливій конформації, що не супроводжується збільшенням рівня внутрішньоклітинного Ca^{2+}. ЗгідноW.Zawalich і співав., за цефалічну фазу відповідає ацетилхолін, який вивільняється із закінчень блукаючого нерву в острівцях Лангерганса. У пізній кишковій фазі відбувається глюкозостимульоване підвищення рівня внутрішньоклітинного Ca^{2+} і як наслідок активація СаМ-ПК II і ПК-С, що і викликає секрецію інсуліну [6, 7, 230, 231, 266, 294, 361, 363, 373].

Розрізняють декілька рівнів функціонування β-клітин у залежності від умов їх існування: 1) одиничні β-клітини (суспензія в інкубаційному середовищі), здібні реагувати на регуляторні впливи зміною синтезу та секреції інсуліну; 2) кооперована субпопуляція β-клітин. Контакти між клітинами генерують синхронну й більш виражену відповідь на дію регулятора; 3) моношарова культура острівцевих клітин-реагреговані, „соціально організовані β-клітини”, які контактують з іншими видами клітин. Регуляторний стимул у цьому випадку може опосередковуватися через вплив на інші клітини, які секретують глюкагон і соматостатин; 4) острівці Лангерганса, що функціонують in vivo в умовах повноцінного кровообігу та наявності нервової імпульсації. Секреція інсуліну при цьому в кожний конкретний момент являє собою інтегральну відповідь на дію всього комплексу регуляторів [272, 322].

Сигнальна система інсуліну містить у собі три основні компоненти: інсулін (та його секрецію) (I), рецептор (II) і спряжені з рецептором білки, що реалізують сигнал інсуліну всередині клітини (III) [6, 7, 101, 156, 321, 338].

Існування мембранного рецептора, специфічного для інсуліну (IP), було постульовано ще 30 років потому, а в 1985 р. Була розшифрована його первинна структура [6, 7, 101, 156].

Рецептор до інсуліну являє собою тетрамерну білкову структуру, складову частину мембрани клітини. Рецептор містить дві субодиниці, кожна з яких також складається з двох частин. Поліпептидний ланцюг α-субодиниці складається з 719 а.з., а його молекулярна маса (мол.м.) становить 135000. β-субодиниця містить 620 а.з. і має мол.м. 95000. Дві α-субодиниці і дві β-субодиниці ковалентно зв'язані дисульфідними містками, утворюючи α_2 β_2-гетерогексамер. α-субодиниця розташовується позаклітинно і містить два специфічних місця (цистеїнвмісні місця 1 і 2) для зв'язування інсуліну, тоді як β-субодиниця умовно складається з трьох частин короткої позаклітинної частини, трансмембранного домена та внутрішньоклітинної інсулінрегулюємої тирозинкіназної активності. Трансмембранний домен рецептора до інсуліну стабілізує ті конфірмаційні зміни, що виникають після взаємодії α-субодиниці з рецептором. Обидві субодиниці ковалентно пов'язані дисульфідними містками, утворюючи α_2 β_2-гетеротетрамер. У зв'язку з тим, що обидві субодиниці є глюкопротеїдами, між ними існують додаткові O- і N- вуглеводні зв'язки через бічні ланцюги. Видалення сіалових кислот і галактози за допомогою екзоглікозидаз викликає зниження зв'язування інсуліну (рис.1.10) [6, 7, 101, 158, 321, 338].

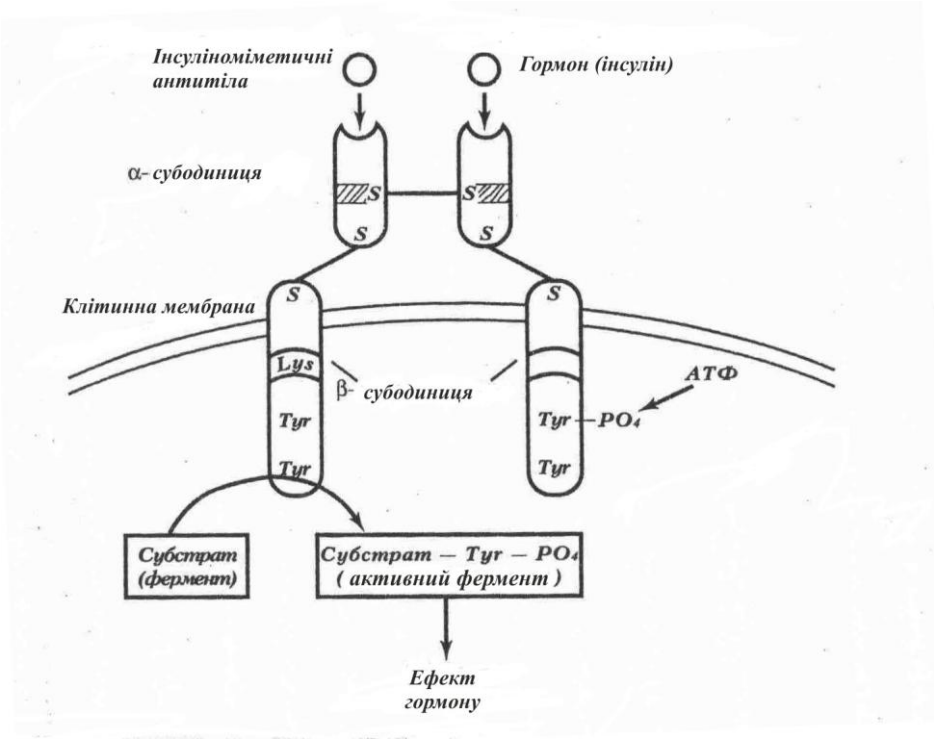

Рисунок 1.10. Рецептор інсуліну-приклад гормонального рецептора тирозинкіназного типу (Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 2007).

Синтез однієї α- і β-субодиниці здійснюється на ендоплазматичному ретикулумі із загального попередника великого прорецепторного поліпептида, похідного відповідного гена, локалізованого на короткому плечі 19-ої хромосоми та розташованого поруч з геном рецептора ліпопротеїдів низької щільності [6, 7, 72, 101, 156, 158, 321].

Послідовність α-субодиниці рецептора інсуліну знаходиться в N-кінцевій частині попередника, а β-субодиниця – у С-кінцевій його частині. α-субодиниця містить збагачені цистеїном домени, а β-субодиниця рецептора інсуліну не тільки має активність специфічної до тирозину протеїнкінази, але й містить також АТФ- зв’язуючу ділянку або один чи декілька сайтів аутофосфорилювання [6, 7, 101, 156, 158, 321]. Ген рецептора до інсуліну має 150 кв (кілобаз) і складається з 22 екзонів, поділених довгими інтронами. Попередник рецептора до інсуліну містить 1370 а.з. і має мол.м. близько 190000-210000 [338].

Встановлено, що рецептор інсуліну синтезується спочатку у вигляді білка з молекулярною масою 170000 дальтон, внаслідок чого утворюється білок – попередник з молекулярною масою ~ 190000. При блокуванні процесу гліколізування залишку аспарагіну тунікаміцином прорецептор інсуліну не трансформується та накопичується в клітинах. Після видалення тунікаміцину процес гліколізування відновлюється, й утворюється нормальний рецептор інсуліну. Виявлена ще одна форма попередника рецептора інсуліну з молекулярною масою 210000. Мабуть, ступінь гліколізування прорецептора інсуліну різна в різних типах клітин і тому в деяких клітинах виявляються білки – попередники з мол.масою не тільки 190, але й 210000 дальтон. Далі гліколізовані форми попередника рецептора переміщуються в комплекс Гольджі, де вони перетворюється в α- і β-субодиниці. Тут також відбувається приєднання до субодиниць рецептора інсуліну манози, фукози, глюкозоаміну та сіалових кислот. Повний синтез інсулінового рецептора людини здійснюється за 1,5-3 години. В α-субодиниці є 15 ділянок, які містять аспарагін і являють собою потенціальні місця для гліколізування, тоді як β-субодиниця містить тільки 4 залишка аспарагіну. Крім того, α-субодиниця містить велику кількість залишків цистеїну, а у β-субодиниці їх тільки 4. Цистеїнові залишки відіграють велику роль у взаємодіях субодиниць і комплексуванні інсуліну з рецептором [6, 7, 101, 156, 158, 197, 321].

Рецептор виконує три основні функції:

1) з високою специфічністю „розпізнає” в молекулі місця зв’язування інсуліну та здійснює комплексування з останнім;

2) опосередковує передачу відповідного сигналу, спрямованого на активацію внутрішньоклітинних обмінних процессів;

3) здійснює ендоцитоз (занурення всередину клітини) гормон-рецепторного комплексу, що викликає лізосомальний протеоліз інсуліну з одночасним повертанням субодиниці до мембрани клітини [6, 7, 101, 156, 321].

Встановлено, що інсулінові рецептори здійснюють не тільки передавальну функцію (передають регуляторний інсуліновий сигнал), а й регуляторну (кількість їх збільшується під час зниження і зменшується в разі підвищення рівня інсуліну в крові). Припускають, що рецептори, з комплексу з якими легко вивільняється інсулін, можуть виконувати також функцію депо гормону. У деяких випадках (ожиріння і ЦД) резистентність до інсуліну пов'язана зі зниженням активності інсулінових рецепторів, хоч вона може визначатись і на пострецепторному рівні [6, 7, 101, 156, 321].

У результаті зв'язування інсуліну з позаклітинним димером (α-ланцюг IP) відбувається аутофосфорилювання специфічних тирозинових залишків у цитоплазматичному димері рецептора чи, іншими словами, активація тирозинкінази (ТК) та ініціація каскаду внутрішньоклітинної трансдукції сигналу інсуліну [6, 7, 101, 197, 321].

Кількість рецепторів зумовлена рівнем циркулюючого в крові інсуліну. У більшості випадків існує зворотна залежність між рівнем гормону та кількістю рецепторів, з якими він зв'язується, -down-регуляція. Проте можливий також інший тип залежності: підвищення рівня гормону спричинює збільшення кількості рецепторів –up-регуляція. Максимальний біологічний ефект інсуліну залежить від кількості „зайнятих" рецепторів, які складають невелику частину (близько 10%) від загальної кількості, причому збільшення текучості мембрани поєднується з підвищенням концентрації рецепторів до інсуліну [6, 7, 101, 321].

Стан рецепторів до інсуліну вивчено при різних станах у норми та при патології. Кількість інсулінових рецепторів і їх аффінність підвищуються у практично здорових людей увечері та вночі, знижуються зранку (зростають у фолікулярну фазу менструального циклу) при фізичному навантаженні, вагітності, зменшуються у похилих людей. Аналогічний стан виявлено при вродженій ліподистрофії, м'язовій дистрофії Дюшена, ожирінні, періодичному гіпокаліємічному паралічі, різко вираженій інсуліновій резистентності типу А і В, ацидозі, ліпоатрофічному діабеті, цирозі

печінки, гіперкортицизмі, атаксії, телеангіектазії та інших патологічних станах. Збільшення кількості рецепторів до інсуліну з підвищенням їх афінності спостерігається при нервовій анорексії, гіпоглікемії у новонароджених і дітей, глюкокортикоїдній недостатності та після гіпофізектомії [6, 7, 101, 156, 321].

Ще в 1976 р. була передбачена теоретична модель молекули IP, в якій обидві α-субодиниці, що утворюють позаклітинний примембранний димер, беруть участь у високоафінному зв'язуванні інсуліну. А в 1999 р. були отримані перші експериментальні докази високоафінного зв'язування тільки однієї молекули інсуліну двома α-субодиницями рецептора. Зв'язування цієї єдиної молекули інсуліну відбувається в результаті контакту багатого на цистеїн L_1 району однієї α-субодиниці рецептора і L_2 району іншої α-субодиниці. Ці дані підтверджуються дослідженнями по зв'язуванню інсуліну мономерним рецептором, в яких показана негативна кооперативність і низька афиність зв'язування гормону. Встановлено, що зв'язування єдиної молекули інсуліну викликає конформаційні зміни во внутрішньоклітинному примембранному димері (ТК) рецептора, приводячи його в активну форму й роблячи доступним для фосфорилювання тирозин 1162 β-субодиниць. Далі внутрішньоклітинний сигнал від IP опосередковується спочатку через специфічне фосфорилювання тирозинових залишків у білках-субстратах сімейства IP, таких як 185 кД білок-інсулінорецепторний субстрат 1 (IPC-1), які, в свою чергу, зв'язуються з різними SH_2-домен-вмістними білками. Деякі з доменних білків SH_2, комплектованих з субстратом інсулінового рецептора-1 (CIP-1), є ферментами, до яких відноситься фосфатидилінозитол 3-кіназа (ФІ-3-кіназа) і фосфотирозинфосфатаза SHPTP 2, що має також назву Syp [6, 7, 101, 321].

ФІ-3-кіназа каталізує фосфатидилінозитол (ФІ) і фосфатидилінозитол-4-фосфат і фосфатидилінозитол-4,5-фосфат у фосфатидил-інозитол-3-фосфат, фосфатидилінозитол-3,4-фосфат$_2$ і фосфатидилінозитол-3,4,5-фосфат$_3$ відповідно. Таке фосфорилювання мембранного фосфатидиліно-

зитола за допомогою ФІ-3-кінази й утворення перелічених сполук проявляються активуванням і підвищеною активністю білкового, ліпідного обміну й різних біологічних систем. Комплексування CIP-1 із відповідними білками SH_2 викликає швидку стимуляцію їх ферментативної активності. Із цих SH_2 білків добре вивчений білок GRB_2, який після комплексування з CIP-1 здійснює біологічний ефект інсуліну через так званий RAS-комплекс, який бере участь у регуляції мітогенезу, синтезу глікогену та ліпідів [6, 7, 101, 321].

Біологічний ефект GRB_2 після його комплексування з CIP-1 проявляється в стимуляції процесів росту, тоді як комплексування ФІ3-кінази з CIP-1 супроводжується метаболічними ефектами інсуліну (транспорт глюкози, синтез білка, глікогену та ліпідів). Інсулін також стимулює фосфорилювання білка або білків з мол.м. 55000-60000 (р 55-р 60), функція яких полягає в здійсненні додаткових зв'язків з ФІ-3-кіназою без впливу на активування білка Ras [6, 7, 101, 156, 321].

Білок Ras (p21 ras) є інтегральним компонентом регулюючої системи, що бере участь у диференційовці та клітинному рості. Активна форма Ras, утворюючи відповідний комплекс, активує Raf-1-кіназу, що в свою чергу активує МАР-кіназу-кіназу (МАРКК). МАРКК фосфорилює та активує МАРК, яка потім фосфорилює та активує білок 90 rsk. Активний p90rsk фосфорилює гліконегсполучаючу білкову фосфатазу-1 (PP1G). Остання відповідна за дефосфорилювання та активування глікогенсинтази. Крім того, цей фермент (PP1G) дефосфорилює й інактивує фосфорилазу кіназу. Білок p90rsk також фосфорилює й інактивує глікогенсинтазу й кіназу-3 (GSK-3). Таким чином, шлях Ras-МАРК- p90rsk є виключно важливим в опосередкуванні дії інсуліну на ріст і метаболічні процеси [6, 7, 101, 156, 321].

Взаємодія IPC-1 з ФІ-3-кіназою викликає також активацію іншого сигнального шляху, що сприяє підсиленню транспорту глюкози в клітинах. Цей шлях пов'язаний з регулюємою інсуліном системою транспорта глюкози (ГЛЮТ4), внаслідок чого відбувається ГЛЮТ4 білків

із внутрішньоклітинного пула та їх транслокація в плазматичну мембрану [6, 7, 101, 156, 321].

Аналізуючи дані про взаємодію інсуліну з рецептором, багатьма дослідниками відзначена, насамперед, важливість залучення залишків 22-26 В-ланцюга інсуліну як у взаємодії з рецептором, так і в утворенні димеру інсуліну. Дані по мутантним інсулінам і по різним напівсинтетичним аналогам підтверджує важливість С-кінцевого району В-ланцюга інсуліну з акцентуванням уваги на Phe (B24) і Phe (B25), як найбільш афінних в інсулін-рецепторній взаємодії. Цікаво відмітити, що амінокислотна послідовність Gly (B23) - Phe (B24) - Phe (B25) - Tyr (B26) є незмінною в ході еволюції тварин. Винятком є акула та нутрія, в яких Phe (B25) замінений на Tyr. Ці дані дозволили припустити, що амінокислотні залишки гліцину (B23), фенілаланіну (B24 і B25) і тирозину (B26) формують активну область молекули інсуліну. Кристалографічний аналіз 2-Zn гексамера інсуліну показав, що Phe (B24), Phe (B25), Tyr (B26) на С-кінці В-ланцюга з Val (B12) і Tyr (B16) утворюють кластер інваріантних гідрофобних залишків на поверхні мономера інсуліну, відповідальний за взаємодію з рецептором. Домен, утворений Phe (B24), Phe (B25), Tyr (B26) формують димер з другою молекулою інсуліну в 2-Zn гексамерній формі. Причому Phe (B24) і Tyr (B26) розташовуються уздовж мономер-мономерної поверхні таким чином, що є найбільш захищеними від розчинника [197].

Було встановлено, що один з районів зв’язування гормону з рецептором сформований на С-кінцевих ділянках А-ланцюга (20-21) і В-ланцюга (19-26) інсуліну, просторово зближених між собою і формуючих ділянку одного з активних центрів гормону. Використовуючи програму візуалізації просторової структури інсуліну (ONIX, ІБМХ РАМН), були помічені ці амінокислотні залишки та виявлено розташування їх у структурі інсуліну (рис.1.11) [197].

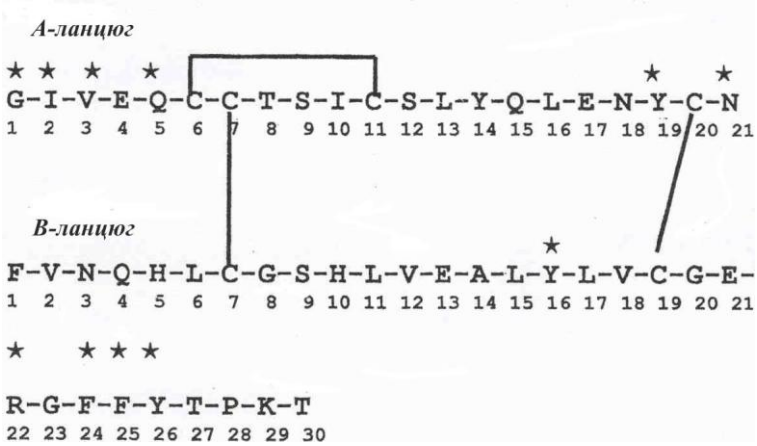

Рисунок 1.11. Первинна структура інсуліну людини (Прозоровский В.Н. и др., 2003): N-амінокислотні залишки, що беруть участь у зв'язуванні інсуліну з рецептором.

Доведено, що N-кінцева послідовність А-ланцюга входить до центру зв'язування інсуліну з рецептором і заміни в ній призводять до різкого зниження біологічної активності інсуліну [6, 7, 197, 321].

В останні роки ряд робіт присвячений вивченню механізмів взаємодії рецептора з молекулою проінсуліну. Проінсулін є слабким агоністом інсуліну та його активність зв'язування з рецептором складає лише 2% по відношенню до інсуліну. Значне зростання цієї активності спостерігається у похідних проінсуліну з вільним N-кінцем А-ланцюга (14-22%). Вважається, що N-кінцевий залишок гліцину з вільною α-аміногрупою також важливий для з'язування інсуліну з рецептором і проявлення ним біологічної активності [197, 321].

І, накінець, ще одним залишком, який бере участь в організації центру зв'язування з рецептором, є Gln (А5). Заміни амінокислотного залишка глутаміну в цієй позиції також призводить до значного зниження як біологічної активності інсуліну, так і здібності зв'язуватися з рецептором [197, 321].

Припускають, що ще один район зв'язування гормону з рецептором сформований N-кінцевою ділянкою А-ланцюга (А-1,2,3,5) і С-кінцевим тирозином (А19) інсуліну, які просторово наближені між собою і формують

додаткову ділянку активного центру гормону, що була локалізована також за допомогою комп'ютерної програми візуалізації просторової структури молекули інсуліну (ONIX) (рис.1.12), центр зв'язування 2) [197, 321].

Таким чином, у теперішній час в інсуліні виявлені практично всі амінокислотні залишки, безпосередньо відповідальні за зв'язування гормону з рецептором (рис.1.12). Амінокислотні залишки, що беруть участь у зв'язуванні з рецептором знайдені як в А-ланцюзі, так і В-ланцюзі. Звертає на себе увагу той факт, що всі вони, як правило, виявлені у виключно консервативних районах молекули. Використовуючи програму візуалізації просторової структури інсуліну (ONIX), ці амінокислотні залишки були помічені й виявлено їх розташування в структурі. Це дозволило з'ясувати, що найбільш важливі для з'ясування з рецептором амінокислотні залишки інсуліну групуються в двох, чітко відрізняємих районах. Так G-23, F-24, F-25, Y-26 В-ланцюга й N-21 А-ланцюга формують центр зв'язування інсуліну з рецептором, умовно позначений як 1, а залишки G-1, I-2, V-3, Q-4, Y-19 А-ланцюга формують другий центр зв'язування (2) (рис.1.12) [197, 321].

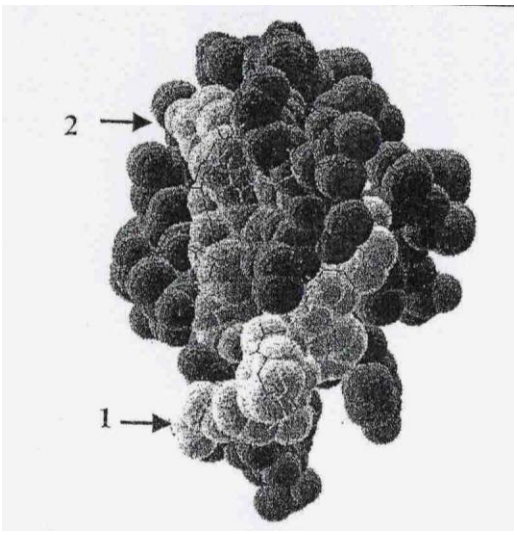

Рисунок 1.12. Центри зв'язування з рецептором у молекулі інсуліну (Прозоровский В.Н. и др., 2003):

1-(Глі-1А; Іле-2А, Вал-3А, Ілн-5А, Тир-19А); 2-(Глі-23В, Фен-24В, Фен-25В, Тир-26В, Асн-21А).

Слід відзначити, що район 2 містить N-кінцевий залишок гліцину з вільною α-аміногрупою (заряд+), а район 1 містить С-кінцевий залишок аспарагіну з карбоксильною групою (заряд -). Можливо, що такий розподіл зарядів на кінцевих амінокислотних залишках двох різних районів сприяє орієнтації молекули інсуліну при взаємодії з рецептором. Виявлені для інсуліну райони зв'язування з рецептором вказує на те, що і в рецепторі інсуліну повинні бути присутніми також два райони для зв'язування однієї молекули гормону [197, 321].

Встановлено, що зв'язування пептидів або пептидомиметиків з рецептором обов'язково викликає активацію рецепторної тирозинкінази (ТК). Проінсулін здібний зв'язуватися з рецептором за рахунок тільки одного центру зв'язування (другий центр утворюється внаслідок дозрівання інсуліну, внаслідок протеолізу та вивільнення С-пептиду), але до активації ТК не призводить. Тому проінсулін не володіє біологічною активністю самого інсуліну. Аналогічно, мутантні форми інсуліну, хімічно модифіковані молекули гормону із заміною тією чи іншою функціонально важливою для зв'язування з рецептором амінокислотою, синтетичні пептиди й фрагменти, що імітують тільки один центр зв'язування, не зважаючи на зв'язування з рецептром, повної біологічної активності нативного інсуліну не має [6, 7, 101, 156, 197, 321].

Зв'язування нативного інсуліну з рецептором викликає значні структурні зміни, які здібні змінити конформацію в цитозольному домені рецептора з активацією ТК. Такі конформаційні зміни здійснюються з розривом одного з дисульфідних зв'язків між α-субодиницями рецептора. Припускається, що в цьому зв'язку бере участь один із залишків цистеїну α-субодиниці в положенні 682, 683 або 685, у так званому вбудованому домені (insert domain, α-662-719), з невстановленою просторовою структурою. Перерозподіл дисульфідних зв'язків у молекулі рецептора, відновлення субодиничного та утворення внутрішньосубодиничного дисульфідного зв'язку можливі тільки внаслідок реакції тиолсульфідного обміну [6, 7, 101, 321].

Такі серйозні конформаційні зміни при взаємодії інсуліну та рецептора (реакції тиолдисульфідного обміну) викликають структурні зміни в самому рецепторі й активацію ТК його цитозольного домену. Дані літератури підтверджують, що в цілому активність рецептора пов'язана з окислювально-відновним станом самої молекули. Логічно припустити, що реакції тиолдисульфідного обміну між інсуліном та рецептором можливі, якщо в рецепторі є домен з дисульфідізомеразною активністю. Порівняльний аналіз первиних структур α-субодиниць рецептора (амінокислотні залишки 667-719), і тиоредоксинових доменів білкової дисульфідізомерази дозволив виявити тиоредоксиноподібний домен в А-ланцюзі рецептора. Іншими словами можна сказати, що існує позаклітинний домен із дисульфідізомеразною активністю, відповідальний за конформаційні зміни, що призводять до активації внутрішньоклітинної ТК рецептора [6, 7, 101, 197, 321].

Тирозинкіназна активність очищених рецепторів інсуліну, що оцінюється за аутофосфорилюванням β-субодиниці рецептора і за фосфорилюванням гістонів підсилюється інсуліном у 10-20 разів, причому напівмаксимальний ефект цього гормону досягається через 3с, а максимальний – через 15 с після початку інкубації. Ефект інсуліну на специфічну до тирозину протеїнкіназну активність очищених рецепторів інсуліну був дозозалежним, тобто підвищувався з підвищенням концентрації гормону й швидко зникав після видалення з інкубаційного середовища інсуліну. Високоощичені рецептори інсуліну не дефосфорилюються, тому що не володіють, можливо, фосфатазною активністю. Високоочищені рецептори швидко дефосфорилюються при додаванні до них цитозолу. Базальна й стимульована інсуліном специфічна до тирозину протеїнкіназна активність очищених рецепторів інсуліну підсилюється при додаванні до них АТФ, але зв'язування інсуліну з рецепторами при цьому не змінюється. Вивчення залежності специфічної до тирозину протеїнкіназної активності очищених рецепторів інсуліну від АТФ у присутності Mg^{2+} і Mn^{2+} дозволило виявити, що максимальна активність даної протеїнкінази у присутності Mn^{2+} досягається при 0,2 мМ АТФ, тоді як

у присутності Mg^{2+} для досягнення максимальної активності потребуються значно більші концентрації АТФ (0,5-2,0 мМ) [6, 7, 101, 197, 321].

Ступінь аутофосфорилювання рецепторів інсуліну залежить також від рівня катехоламінів і тиреоїдних гормонів у організмі. З'ясовано, що у тиреоїдектомованих щурів інсуліннезалежне фосфорилювання β-субодиниці рецептора інсуліну підсилюється в 2-3 рази та відновлюється до нормального рівня після введення цим тваринам трийодтироніну, причому кількість і афінність рецепторів інсуліну при цьому суттєво не змінювалися. Під впливом катехоламінів стимульоване інсуліном аутофосфорилювання рецепторів інсуліну знижується майже в 3 рази, але при цьому знижується зв'язування інсуліну з рецепторами. Кінетичний аналіз рецепторів, ізольованих із адипоцитів щурів, показав, що попередня інкубація адипоцитів з катехоламінами викликає збільшення $К_м$ для АТФ у специфічній до тирозину протеїнкінази рецепторів інсуліну [6, 7, 101, 321].

Після зв'язування інсуліну з мембраним рецептором і аутофосфорилювання його β-субодиниці відбувається інтерналізація утвореного комплексу всередину клітин. Біологічний сенс інтерналізації гормон-рецепторного комплексу полягає, можливо, в доставці гормону до внутрішньоклітинних структур, взаємодіючи з якими інсулін і його фрагменти безпосередньо впливають на біохімічні процеси. Якщо ізольовані адипоцити щура інкубувати в середовищі без інсуліну, то на поверхні даних клітин буде міститься ~ 90 % рецепторів інсуліну й тільки ~ 10 % - у цитоплазмі. Уведення в середовище інкубації інсуліну викликає перехід рецепторів з поверхні всередину клітин. Це енергозалежний процес. Інтерналізація рецепторів інсуліну протікає з великою швидкістю та вже через 6 хв після додавання в середовище інкубації інсуліну внутрішньоклітинний вміст рецепторів даного гормону досягає максимальних значень (30 %) загального вмісту рецепторів інсуліну в клітинах, що обумовлено досягненням рівноваги між поглинанням клітинами рецепторів інсуліну та їх рециркуляцією в плазматичній мембрані [6, 7, 101, 321].

Тривала рециркуляція рецепторів інсуліну в клітинах не супроводжується помітною втратою рецепторів, оскільки інкубація адипоцитів з інсуліном впродовж 4 год не викликає зниження загального вмісту рецепторів інсуліну в клітинах. Повертання рецепторів інсуліну на плазматичну мембрану частково пригнічують хлорохін і препарат TRIS, але якщо хлорохін не знижує загальної кількості рецепторів у клітинах, то TRIS знижує їх кількість. Обумовлено це збільшенням розпаду рецепторів інсуліну у випадку пригнічення їх рециркуляції, що і відбувається в присутності TRIS, але хлорохін має подвійну дію: з одного боку, він уповільнює рециркуляцію рецепторів, а з іншого – пригнічує деградацію рецепторів, за рахунок чого рівень рецепторів інсуліну в присутності хлорохіну не знижується [6, 7, 101, 321].

Інтерналізація інсулін-рецепторних комплексів описана на різних клітинах. Виявлено, що всередині клітин інсулін локалізується в ендосомах, а не в лізосомах. Активно поглинають інсулін і ацинарні клітини підшлункової залози. Виявляється у складі зимогенних гранул цих клітин, а в меншому ступені – у мультивезикулярних тільцях [6, 7, 101, 321, 322].

Інтерналізація інсулін-рецепторних комплексів відбувається таким чином, що α-субодиниці рецептора виявляються орієнтованими всередину везикул, а ділянки β-субодиниць рецептора розташовуються на зовнішньому боці проникаючих у клітину структур. Останні в свою чергу дисоціюють і рецептори дуже швидко повертаються на плазматичну мембрану. Рецептори інсуліну, що повертаються з цитоплазми на мембрану клітини, залишаються інтактними, тому що вони зберігають біологічну активність [6, 7, 101, 321].

Інсулін, який надходить у клітину в складі гормон-рецепторних комплексів, здійснює свій біологічний вплив і частково деградує. На ізольованих адитоцитах показано, що ~ 25 % поглиненого клітинами інсуліну повертається в інтактному вигляді в середовище інкубації, тобто спостерігається ретроендоцитоз інсуліну. Швидкість ретроендоцитозу інсуліну знижується під час пригніченні синтезу АТФ, але інтенсивність деградації інсуліну при цьому не змінюється. Ендосоми, які містять інсулін-рецепторні комплекси, виявляють-

ся во фракції мембран ендоплазматичного ретикулума й апарату Гольджі, причому во фракції апарату Гольджі виявлено два типи компонентів (з низькою й високою щільністю), які містять інсулін-рецепторні комплекси. Інсулін у перші хвилини після інтерналізації накопичується в компонентах з низькою щільністю, а через 5-10 хв виявляється переважно в компонентах апарату Гольджі з високою щільністю [6, 7, 101, 156, 321].

Більша частина інсуліну метаболізується в печінці, причому за один пасаж у ній затримується 40-60% гормону, що надходить із системи портальної вени [6, 7, 101, 114, 156, 321].

Захистити інсулін від інактивації у травному тракті поки не вдається і тому вводити його потрібно парентерально. Для продовження дії інсуліну його готують у вигляді препаратів з цинком, протаміном або гістоном. Ці препарати-протамін-цинк-інсулін, гістон-цинк-інсулін та інсулін-цинк-суспензія – мають здібність більш тривало знижувати рівень цукру в крові. Одноразова доза інсуліну для дорослої людини коливається звичайно в межах від 10 до 60 ОД [71, 123, 354].

Уведений підшкірно інсулін протягом 3-15 хв виявляється в кровоносному руслі, після чого він зникає з судинної системи та тривало залишається фіксованим у тканинах (переважно у м’язах). Особливо швидко зникає інсулін з крові інсулінрезистентних хворих на діабет. Інсулін інактивується форменними елементами крові, причому найбільшу роль відіграють лейкоцити, багаті на протеолітичні ферменти [6, 7, 101, 102, 114, 123, 354, 358].

Близько 40% інсуліну (по даним деяких авторів, 15-20%) інактивується нирками. При нирковій недостатності поглинання й деградація інсуліну нирками зменшуються до 9-10%, тому у хворих на цукровий діабет при нирковій недостатності потреба в інсуліні зменшується. Роль нирок в інактивації екзогенного інсуліну велика, тому що, всмоктуючись з місця ін’єкції, інсулін потрапляє у велике коло кровообігу й нирки, а ендогенний інсулін спочатку надходить у печінку й лише потім менша його частина – у велике коло кровообігу й нирки. У нирках інсулін фільтрується в клубочках, а в проксимальних

канальцях майже повністю реабсорбується й руйнується протеолітичними ферментами, причому ендосомально-лізосомальний шлях інактивації інсуліну в ниркових канальцях практично відсутній [6, 7, 101, 102, 114, 123, 354].

Основна дія інсуліну полягає в посиленні транспорту глюкози в клітини, що відбувається за допомогою білка – переносника. Він зв'язує її в одній із двох своїх конформацій, яка звернена місцем зв'язування ззовні. Транспортмобілізуюча дія інсуліну на глюкозу здійснюється за допомогою рецепторної кінази, що фосфорилює певні клітинні білки [6, 7, 13, 101, 114, 156, 158, 319, 327]. Встановлено, що інсулін стимулює в адипоцитах фосфорилювання клітинних білків, які мають молекулярну масу, близьку до такової білків – переносників глюкози (рис.1.13) [306].

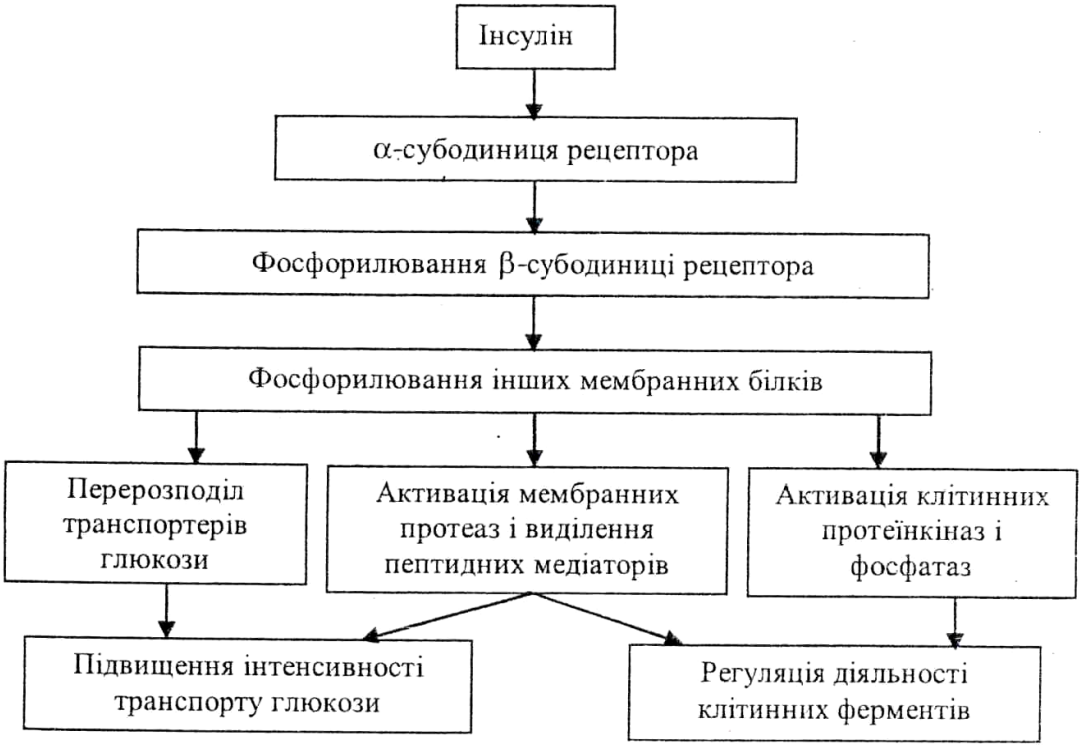

Рисунок 1.13. Схема механізму дії інсуліну (Швед М.І. та ін., 2006).

Відомо, що одноклітинні поглинають глюкозу шляхом пасивної дифузії крізь водні мікропростори, розташовані між упорядкованими молекулами полярних фосфоліпідів – фосфатидилхолінів. З часом клітини

сформували поріни-трансмембранні канали, які утворені інтегральними білками з переважанням β-складчастих структур. Пізніше клітини почали синтезувати та виставляти на мембрану ГЛЮТ – спеціалізовані білки, в яких домінують α-спіральні структури [6, 7, 101, 141, 156, 327].

ГЛЮТ „працюють" за принципом осцилятора; канал не буває відкритим одночасно з двох боків; при переносі глюкози ГЛЮТ виражено змінює конформацію (просторову форму) [6, 7, 101, 141, 156, 327].

Чим більше пілоєнової жирної кислоти етеріфіковано в фосфоліпідах мембрани, чим нижче його в'язкість, тим вище активність ГЛЮТ і поглинання клітинами глюкози. Білок переносить глюкозу як в клітину, так і із клітини за електрохімічним градієнтом (градієнтом концентрації). Для поглинання глюкози рівень її у цитозолі повинен бути завжди нижче, ніж у

позаклітинному середовищі. У фізіологічних умовах клітини виставляють на мембрану тільки декілька процентів ГЛЮТ, інші депоновані в мікросомах. При гіперглікемії у позаклітинному середовищі клітини підсилюють поглинання глюкози шляхом переміщення на мембрану більшої кількості ГЛЮТ. ГЛЮТ переносять у клітини глюкозу шляхом полегшеної, але все ж таки дифузії [6, 7, 101, 125, 141, 156, 327].

Хоча всі ГЛЮТ – це гомологічні білки-переносники, у філогенезі відбулася їх спеціалізація, і клітини різних тканин синтезують ГЛЮТ з різними кінетичними параметрами [198, 199]. Факторами, які регулюють експресію транспортерів глюкози, є інсулін, фактори росту, пероральні цукропонижуючі препарати, ванадій, глюкокортикоїди, цАМФ, голодування, диференційовка клітин і протеїнкіназа С [6, 7, 101, 125, 141, 156].

Існує два класи транспортерів глюкози. Перший охоплює 6 типів (ізоформ) власних транспортерів глюкози, які здійснюють перенесення її за градієнтом концентрації. Нумерація білків –переносників глюкози відповідає порядку їх відкриття. Вони поділяються в залежності від їх чутливості до глюкози (табл. 1.2) [6, 7, 101, 125, 141, 156].

ГЛЮТ-1 (еритроцитарний тип) – найбільш стародавній; цей білок є у мембранах усіх клітин. Він дуже чутливий до глюкози й транспортує її у клітини при відносно низьких концентраціях глюкози в крові, головним чином у базальному стані (натщесерце). Ці ж білки сприяють переходу

глюкози крізь гематоенцефалічний бар'єр, забезпечуючи адекватний транспорт глюкози в центральну нервову систему [6, 7, 101, 125, 156].

ГЛЮТ-2 (печінковий тип) – у цього білка низька чутливість до глюкози. Він переносить глюкозу в клітину тільки при відносно високому її рівні в крові, тобто в посттравному періоді. Він є основним транспортером глюкози в В-клітини острівців підшлункової залози та печінкові клітини. Глюкоза надходить у ці клітини в посттравний період, коли рівень глюкози в крові відносно високий. Це запобігає надлишковому поглинанню печінкою глюкози й неадекватній секреції інсуліну натщесерце (у базальному стані) [6, 7, 101, 125, 247].

ГЛЮТ-3 (мозковий тип) знаходиться, як і ГЛЮТ-1, у всіх тканинах і дуже чутливий до глюкози. Особливе значення цей білок має для мозкових клітин. Він сприяє переходу глюкози з капілярів у клітини мозку при відносно низьких кількостях глюкози в крові у базальному стані (натщесерце, при голодуванні) і забезпечує живлення мозку глюкозою [6, 7, 101, 125, 156, 304].

ГЛЮТ-4 (м'язово-жировий тип) – знаходиться у м'язових і жирових клітинах. ГЛЮТ-4 міститься всередині цих клітин і не здібний до переносу глюкози до тих пір, поки не отримає сигнал від інсуліну. Тільки тоді він транспортується на мембрани посмугованих клітин й адипоцитів і переносить глюкозу в цитоплазму. Таким чином, ГЛЮТ-4 є цілком інсулінзалежним [6, 7, 101, 125, 141, 327, 384].

ГЛЮТ-5 (кишковий тип) – знаходиться у мембрані клітин тонкої кишки, і, як припускають він в основному транспортує моносахарид фруктозу, інші моносахариди з низькими константами швидкості реакції переносять ГЛЮТ-1. ГЛЮТ-5 знаходиться у клітинах печінки та сперматозоїдах [6, 7, 101, 125, 141, 156, 327].

Виділений ще ГЛЮТ-6, який у подальшому виявився псевдогеном ГЛЮТ-7, що локалізується в гепатоцитах [6, 7, 101, 114, 156].

Другий клас – Na^+-глюкозний котранспортер – здійснює активний транспорт глюкози проти градієнта її концентрації. Цим шляхом транспорт глюкози поєднаний із перенесенням іонів натрію, які транспортуються за градієнтом концентрації, що є джерелом енергії [6, 7, 101, 114, 125, 141].

Таблиця 1.2

Типи транспортних білків для глюкози у людини

Тип глюкозо-транспортного білка	Склад молекули	Хромосома геном ГЛЮТ	Головні місця експресії	Чутливість до рівня глюкози в плазмі крові
ГЛЮТ-1	492 амінокислотних залишків	1	Судини мозку, еритроцити	Дуже висока (переносить глюкозу в капіляри мозку при її рівні 1 ммоль/л)
ГЛЮТ-2	524 амінокислотних залишків	3	Печінка, β-клітини острівців підшлункової залози	Середня (переносить глюкозу при її рівні > 5,07 ммоль/л)
ГЛЮТ-3	496 амінокислотних залишків	12	Мозкові нейрони, у всіх тканинах	Дуже висока
ГЛЮТ-4	509 амінокислотних залишків	17	М’язова, жирова тканина	Низька (переносить глюкозу при її рівні > 6 ммоль/л)
ГЛЮТ-5	501 амінокислотних залишків	1	Тонка кишка, печінка, сперматозоїди	Середня (6 ммоль/л)

Інсулін здійснює вплив на усі види обміну речовин, він сприяє анаболічним процесам, збільшуючи синтез глікогену, жирів і білків, гальмуючи ефекти численних контрінсулярних гормонів (глюкагону, катехоламінів, глюкокортикоїдів і соматотропіну) (табл.1.3) [6, 7, 101, 102, 114, 123, 125, 126, 141, 145, 158, 247, 322, 327, 354].

Таблиця 1.3

Вплив інсуліну на обмін речовин (Швед М.І. та ін., 2006)

Вид обміну	Стимуляція	Гальмування	Не впливає
Вуглеводний	Синтез глікогену в печінці і м'язовій тканині; проникнення глюкози в клітини; гліколіз; фосфоршнування глюкози	Глікогенез; глюконеогенез; глікозування білків; сорбітоловий шлях обміну глюкози; розпад глікогену; активність глюкозо-6-фосфатази	На проникність глюкози в клітини нервової і ниркової тканин, кришталик, сітківку, ендотелій судин і формені елементи крові
Жировий	Синтез жирних кислот; синтез тригліцеридів; утворення гліцерофосфату; поступлення глюкози в адипоцити; активність ліпопротеїнової ліпази	Ліполіз; кетогенез	
Білковий	Синтез білка; засвоєння амінокислот; анаболізм білка; транспорт амінокислот через цитоплазматичну мембрану	Розпад білка; глюконеогенез із білка	
Нуклеїнових кислот	Синтез циклічних нуклеотидів; (ц-АМФ і ц-ГМФ) засвоєння нуклеїнових кислот; синтез РНК і ДНК; біосинтез рибонуклеотидів		

Усі ефекти інсуліну за швидкістю їх реалізації поділяється на 4 групи: дуже швидкі (через декілька секунд) – гіперполярізація мембран клітин за винятком гепатоцитів, підвищення проникності для глюкози, активація Na–K-АТФази, входу K^+ і відкачування Na^+, пригнічення Са – насосу та затримка Ca^{2+}; швидкі ефекти (протягом декількох хвилин) – активація та гальмування різних ферментів, які пригнічують катаболізм і підсилюють анаболічні процеси; повільні процеси (протягом декількох годин)–підвищення поглинання амінокислот, зміни синтезу РНК і білків –ферментів; дуже повільні ефекти (від годин до діб) – активація мітогенезу та розмноження клітин [6, 7, 101, 102, 114, 123, 125, 126, 141, 145, 158, 327].

Широкий спектр метаболічних ефектів свідчить про те, що інсулін необхідний для здійснення функціонування всіх тканин, органів і фізіологічних систем, реалізації емоційних і поведінкових актів підтримання гомеостазису, здійснення механізмів пристосування та захисту від несприятливих факторів середовища [5-7, 13, 101, 102, 114, 123, 125, 126, 158, 245, 254, 298, 315, 327, 352, 354, 384].

У своїх тканинах-мішенях інсулін впливає як на мембранні, так і на внутрішньоклітинні процеси (табл.1.4) [6, 7, 101, 114, 126, 145, 158, 307, 322, 327].

Таблиця 1.4

Деякі ефекти інсуліну (Швед М.І. та ін., 2006)

Мембранні ефекти	Внутрішньоклітинні ефекти
1	2
1. Стимуляція транспорту глюкози (і деяких інших моносахаридів). 2. Стимуляція транспорту амінокислот (особливо аргініну). 3. Стимуляція транспорту жирних кислот. 4.Стимуляція поглинання клітиною K^+ і Mg^{2+}.	1. Стимуляція синтезу РНК і ДНК. 2. Стимуляція синтезу білка. 3. Підсилена стимуляція глікогенсинтази (глікогенез). 4. Стимуляция глюкокінази. 5.Пригнічення глюкозо-6-фосфатази. 6. Стимуляція ліпогенезу.

Продовження табл.1.4

1	2
	7. Пригнічення ліполіза (пригнічення синтезу цАМФ). 8. Стимуляція синтезу жирних кислот. 9. Активація Mg^{2+}-стимулюємої $Na^{+}/K^{\pm}$- АТФ-ази.

У присутності інсуліну проникання глюкози в клітини різко підсилюється. Цей ефект інсуліну проявляється лише при наявності концентраційного градієнту глюкози, конкурентно пригнічується іншими моносахаридами (наприклад, галактозою) і відповідає кінетиці насичуваного процесу. Таким чином, інсулін стимулює процес полегшеної дифузії глюкози, що здійснюється за участю чутливих до гормонів білкових ГЛЮТ, розташованих на клітинній мембрані. Ці транспортери здібні переносити глюкозу через клітинну мембрану в обох напрямках, але її потік залежить від концентраційного градієнту, що спрямований з позаклітинного простору во внутрішньоклітинний. Тільки ГЛЮТ 4, присутній у мембранах клітин скелетних і серцевих м'язів, а також жирової тканини, є інсулінозалежним [6, 7, 101, 114, 141, 145, 158, 327].

Деякі тканини цілком задовольняють свої потреби в глюкозі за рахунок інсуліннезалежних механізмів. Наприклад, у клітини печінки та ЦНС глюкоза потрапляє за допомогою інсуліннезалежних ГЛЮТ, і поглинання глюкози цими тканинами залежить тільки від її рівня в крові. Крім того, мембрану еритроцитів, клітин нирок і кишечника глюкоза перетинає разом з іонами натрію, що надходять у клітини шляхом пасивної дифузії за градієнтом концентрації [6, 7, 71, 101, 114, 141, 145, 156, 158, 322, 327].

Інсулін впливає й на внутрішньоклітинні процеси обміну речовин. У печінкових та інших клітинах він стимулює синтез глікогену, підвищує активність глікогенсинтетази, що прискорює включення глікозильних залишків у глікоген [6, 7, 101, 102, 114, 141, 145, 156, 158, 322, 327].

Інсулін підвищує також активність печінкової глюкокінази, це фермент каталізує фосфорилювання глюкози (з утворенням глюкозо-6-фосфату). Одночасно гормон пригнічує печінкову фосфатазу, що дефосфорилює глюкозо-6-фосфат, з утворенням вільної глюкози. Такі зміни активності печінкових ферментів обумовлюють зниження продукції глюкози та нарівні зі стимуляцією поглинання глюкози периферичними клітинами визначають зниження рівня глюкози в крові, що виникає під впливом інсуліну. Утилізація глюкози клітинами, що зростає під дією інсуліну, забезпечує зберігання запасів інших внутрішньоклітинних енергетичних субстратів, таких як жири та білки [6, 7, 101, 114, 123, 125, 141, 145, 322, 327].

Інсулін стимулює не тільки активний транспорт амінокислот в периферичні клітини, але й безпосередньо синтез білка. Оскільки ці два ефекти можуть не залежити друг від друга, інсулін впливає, вочевидь, не тільки на клітинну мембрану, але й на внутрішньоклітинні процеси. Стимуляції синтезу білка передує зростання активності мРНК. Оскільки інсулін з трудом проходить крізь мембрани клітин, у механізмі його ядерного ефекту повинен брати участь другий посередник. Синтез білка під дією інсуліну підсилюється та внаслідок зростання кількості амінокислот, які подходили в клітину. З іншого боку, зростання утилізації глюкози уповільнює розпад білка. Прискорення синтезу та уповільнення розпаду білка під впливом інсуліну викликає зростання білкових запасів у клітині. Усі ці ефекти визначають важливу роль інсуліну в регуляції процесів росту та розвитку [5-7, 101, 114, 141, 145, 158, 322, 327].

Інсулін стимулює поглинання та окислення глюкози клітинами жирової тканини. Він також стимулює синтез ліпопротеїнової ліпази в ендотеліальних клітинах. Цей фермент каталізує гідроліз тригіцеридів, зв’язаних з ліпопротеїнами крові, та сприяє надходженню жирних кислот в адипоцити. Нарівні з прямою стимуляцією мітогенезу в печінці та жировій тканині це викликає збільшення запасів жиру. Крім того, інсулін пригнічує опосередкований цАМФ ліполіз, гальмуючи гормончутливу внутрішньоклітинну ліпопротеїнову ліпазу. Присутність інсуліну необхідно для підтримання внутрішньоклітинної концен-

трації іонів калію; цей ефект вірогідно, є наслідком прямого впливу гормону на клітинну мембрану [6, 7, 101, 114, 125, 141, 145, 158, 218, 364].

Інсулін відіграє важливу роль у регуляції серцево-судинної системи. Одним із механізмів його впливу на тонус судин є активація синтезу та виділення вазодилататорного ендотеліального фактора, який ідентифікуємо як оксид азоту. Крім того, інсулін може стимулювати продукцію ендотелієм ендотеліального гіперполяризуючого фактора, ендотеліну – 1 та інших вазодилататорних та вазоконстрикторних факторів [149]. Відомо також, що інсулін може змінювати дію агоністів адренергічних і холінергічних рецепторів у зв'язку зі змінами вихідної активності симпатичної та парасимпатичної систем. У багатьох дослідженнях було показано, що в інтактних тварин після введення інсуліну в крові значно підвищується рівень адреналіну, норадреналіну та деяких інших гормонів. Крім дії на ефекторні структури вплив інсуліну на кардіогемодинаміку реалізується через центральні нервові механізми модуляції адренергічної та холінергічної реактивності [150].

Інсулін не тільки призводить до зменшення вираженості адренергічних і холінергічних реакцій вінцевих судин, але й створює умови для маніфестації їх α-адренергічних пресорних реакцій, які за фізіологічних умов закономірно спостерігаються лише після блокади β-адренергичних та М-холінергічних рецепторів [150]. Феноменальною особливістю є обумовлене інсуліном розширення вінцевих судин і в той самий час, зниження скоротливої функції, уповільнення ритму серця, зменшення споживання кисню міокардом, зниження АТ. Розширення вінцевих судин на фоні зменшення споживання міокарда в енергії свідчить про переустановку рівнів регуляції кровообігу [210]. Захисна дія інсуліну при ішемії міокарда не може бути пояснено тільки збільшенням частки вуглеводних субстратів в енергетиці міокарда та зниженням вмісту жирних кислот у крові, але й переустановкою рівня симпатичних і парасимпатичних впливів на функцію та метаболізм міокарда, зокрема, зниження адренергічної реактивності та значне підвищення активності парасимпатичних механізмів регуляції [149, 210, 254].

Основна біологічна роль інсуліну, можливо, - енергетичне забезпечення функції локомоції. Тому довго в філогенезі єдиними інсулінзалежними клітинами були міоцити, в них інсулін сформував ГЛЮТ-4 і депо глікогену для функції локомоції. Внаслідок цього in vivo сформовано 2 функціонально різних пули глікогену: пул в гепатоцитах для компенсації гіпоглікемії у міжклітинному середовищі та пул глікогену в міоцитах для функції локомоції. Після інтенсивного фізичного навантаження пухкі гранули глікогену займають 3 % цитозолю, при дії інсуліну – 40 %. Отже, кількість глюкози, що можна при дії інсуліну депонувати в формі глікогену, визначено в першу чергу кількістю міоцитів, тобто масою м'язовою тканини [198, 199].

Підсилення поглинання клітинами глюкози та її окислювальне фосфорилювання в Гл-6-Ф при дії гексокінази потребує кисню, підсилення оксигенації міоцитів. При дії інсуліну кількість відкритих капілярів на одиницю площі скелетних м'язів зростає в 4-6 разів. При суттєвому збільшенні зрізу капілярного русла підсилення перфузії м'язів досягається шляхом збільшення серцевого викиду та деякого підвищення артеріального тиску [198, 199, 384].

Резистентність до інсуліну може бути фізіологічною, функціональною та структурно обумовленою. І в кожному випадку шляхи подолання її можуть бути різними [327, 352]. „Обов'язок" інсуліну регулювати поглинання міоцитами як глюкози, так і неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК). Є основою того, що генетичні дефекти на шляхах поглинання та метаболізму міоцитами глюкози призводять до високого рівня в крові тригліцеридів (ТГ) і НЕЖК. У свою чергу вроджені порушення рецепторного поглинання клітинами ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) супроводжуються структурною резистентністю міоцитів і адиноцитів до інсуліну та гіперглікемії. Сходним є і патогенез метаболічного синдрому, всі клінічні прояви якого є наслідком порушення активного поглинання жирних кислот (ЖК) у формі ТГ у складі ЛПДНЩ шляхом апоЕ/В-100 – рецепторного ендоцитозу. Функціональна резистентність до інсуліну розвивається при активації ендогенного та екзогенного запалення. Функці-

ональна резистентність до інсуліну залежить також від того, які та скільки ЖК етерифіковані в ТГ їжі [114, 198, 199, 254, 298, 384].

Розглядання ролі інсуліну з позицій фундаментальної біології показує, що підтримання верхнього рівня нормоглікемії в пулі міжклітинної та внутрішньосудинної рідини є наслідком активації поглинання клітинами глюкози та її перетворення в глікоген, поліненасичені ЖК і ТГ. Формуванні в філогенезі біологічної функції локомоції, синтез інсуліну та наведених вище функціональних систем по суті вивело багатоклітинні організми на новий рівень гуморальної регуляції усіх метаболічних процесів in VIVO. Сформоване при дії інсуліну апоферменту Е (апоЕ/В)-100 – рецепторне поглинання ЖК (і глюкози в формі Пн ЖК) використовують усі клітинні, коли вони, підсилюючи функціональну активність, поглинають додаткову кількість ТГ. Основний же компартмент, який реалізує дію інсуліну, є активність міоцитів, фізичне навантаження. У філогенезі інсулін мільйони років формував систему енергетичного забезпечення біологічної функції локомоції – тривалого, інтенсивного фізичного навантаження; ту біологічну функцію, що вид Homo sapiens в один момент практично втратив [114, 198, 199, 352, 384].

Інсулін присутній не тільки в підшлунковій залозі, а й в тканинах мозку. Кількість „мозкового” інсуліну варією в межах від 91 пг на 1 сухої маси мозкової тканини, тобто в 25 разів вище рівня інсуліну в плазмі до 3-9 пг/г і навіть менше 1пг/г, тобто 25 % від плазменого рівня. Найбільший вміст гормону встановлений у гіпоталамусі, потім у нюховій цибулині, мозочку, корі великих півкуль, середньому мозку. Виявлені інсулінові рецептори до різних структур мозку. Найбільша кількість їх у нюховій цибулині, потім йдуть у порядку зменшення: кора великих півкуль, гіпокамп, передній гіпоталамус, амігдала, перегородка, задній гіпоталамус, мозок, стриатум, мезенцефалон, таламус, міст, довгастий мозок, спинний мозок, гіпофіз [11, 215].

Інсулінорецепторний комплекс у нервових клітинах регулює надходження норадреналіну в нейрон і не впливає на споживання глюкози, тоді як в гліальних клітинах приєднання інсуліну до рецепторів запускає процеси, що регу-

люють надходження та утилізацію глюкози, так само як і в периферичних тканинах-мішенях для інсуліну [380].

Авторами була показана проникність гематоенцефалічного бар'єру для панкреатичного інсуліну, висловлена гіпотеза мозкового походження інсуліну. На користь того, що гормон синтезується в ЦНС, окрім кількісних розрахунків, свідчать і такі факти, як незалежність рівня інсуліну мозку від коливань його концентрацій у крові, цитохімічне виявлення інсуліну в нейронах, а також дані про те, що в 5 % клітин мозку, що ростуть in vitro, є РНК, здібна до гібридизації інсуліновим геном [304, 310].

Інсулін виявлений не тільки в мозковій тканині, але й в нервах. Вивільнення інсуліну нервовими клітинами є двофазним і за кінетикою співпадає з вивільненням інсуліну клітинами підшлункової залози під дією глюкози [304].

Вважають, що інсулін у мозку може виконувати функції нейротрансмітера або нейромодулятора [11, 215, 307]. Інсулін необхідний на ранніх стадіях розвитку плода для нормальної організації мозку під час росту, диференційовки нейронів, встановлення міжнейрональних контактів [380]. З'ясована роль ядерних інсулінових рецепторів в забезпеченні виходу мРНК у цитоплазму клітин. Понад 50 білків синтезуються в клітині за участю інсуліну. Інсулін потенціює ріст відростків нервових клітин і роботу нервово-м'язових синапсів. Нейрофізіологічні дослідження показали, що навчання тварин новим навичкам у ЦНС спостерігається активація експресії нових генів збільшення білкового синтезу, підвищення розгалуження відростків нейронів і кількості синаптичних контактів. Можливо, інсулін і в період пренатального розвитку мозку та при навчанні тварин бере участь у організації нейрональних взаємодій при формуванні нових функціональних систем. Така оцінка ролі інсуліну пояснює зміни в тварин з експериментальним діабетом найрізноманітніших форм поведінки, а не тільки їжодобувної та підтримання ваги тіла [11, 215, 311].

1.3. Патофізіологія секреції інсуліну

Надлишок інсуліну викликає гіпоглікемію з різкими порушеннями функцій ЦНС, яка використовує глюкозу в якості джерела енергії незалежно від інсуліну [6, 7, 75, 76, 101, 156, 327, 358]. Нестача інсуліну спричинює метаболічні порушення та розвитку призводить до цукрового діабету (ЦД) (рис.1.14, табл.1.5) [6, 7, 72, 101, 102, 128, 139, 151, 168, 205, 211].

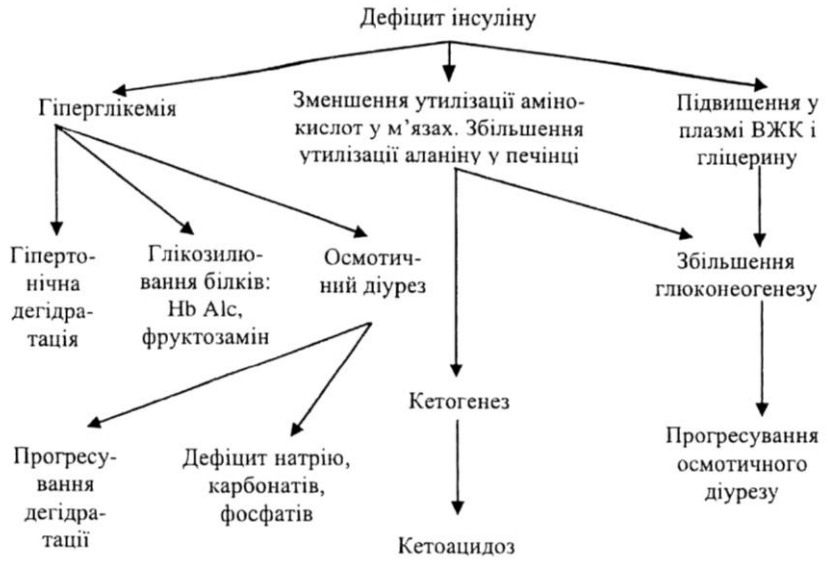

Рисунок 1.14. Метаболічні порушення, що зумовлені дефіцитом інсуліну (Швед М.І. та ін., 2006).

Таблиця 1.5

Метаболічні зрушення при діабеті та їх прояви

(Боднар П.М. та ін., 2002)

№ п/п	Метаболічні зрушення	Метаболічні прояви	Клінічні симптоми
1	2	3	4
1.	Вуглеводів: зменшення утилізації глюкози, збільшеня продукції глюкози, посилення розпаду глікогену	Гіперглікемія Глюкозурія	Поліурія Спрага Свербіж Сухість
2.	Ліпідів: погіршання ліпосинтезу, зростання ліполізу, кетогенез	Гіперліпідемія Гіперкетонемія Кетонурія Кетоацидоз	Нудота Блювання Схуднення Запах ацетону

Продовження табл.1.5

1	2	3	4
3.	Білків: посилення розпаду білків, посилення глюкогенезу, зменшення синтезу	Гіперглікемія Глюкозурія Аміноацидурія Підвищення вмісту сечовини у крові	Схуднення Кволість Зменшення об'єму м'язів Схильність до інфекцій

ЦД – захворювання гетерогенне клінічно та етіопатогенетичне (табл.1.6 і 1.7) [6, 7, 72, 101, 102, 124, 126, 128, 139, 151, 168, 234, 331, 358, 372, 382, 383].

Таблиця 1.6

Етіологічна класифікація цукрового діабету (ВОО3, 1999)

I. **Цукровий діабет 1-го типу** (деструкція β-клітин, що призводить до абсолютної інсулінової недостатності):
A. Аутоімунний;
B. Ідіопатичний.
II. Цукровий діабет 2**-го типу** (з переважною резистентністю до інсуліну і відносною імунною недостатністю, або з переважно секреторним дефектом і резистентністю до інсуліну або без неї).
III.Інші специфічні типи:
A.Генетичні дефекти функції β-клітин:
1) MODY-3 (хромосома 12, ген HNF-1a);
2) MODY-2 (хромосома 7, ген глюкокінази);
3) MODY-1 (хромосома 20, ген HNF-4a);
4) мітохондральна мутація ДНК;
5) інші дефекти.
B. Генетичні дефекти в дії інсуліну:
1) резистентність до інсуліну типу A;
2) лепрегаунізм;
3) синдром Рабсона-Менденхолла;
4) ліпоатрофічний діабет;

5) інші дефекти.

C. Хвороби екзокринної частини підшлункової залози:

1) панкреатит;

2) травма (панкреатектомія);

3) неоплазії;

4) кістозний фіброз;

5) гемохроматоз;

6) фіброкалькульозна панкреатопатія.

D. Ендокринопатії:

1) акромегалія;

2) синдром Кушинга;

3) глюкагонома;

4) феохромоцитома;

5) тиреотоксикоз;

6) соматостатинома;

7) альдостерома;

8) інші.

E. Цукровий діабет, індукований ліками та хімікатами:

1) вакор;

нікотинова кислота;

2) глюкокортикоїди;

3) тиреоїдні гормони;

4) діазоксид;

5) антагоністи а-адренорецепторів;

6) тіазиди;

7) дилантан;

8) а-інтерферон;

9) інші.

F. Інфекції:

Продовження табл.1.6

1) вроджена краснуха;

2) цитомегаловірус;

3) інші.

G. Незвичні форми імуноопосередкованого діабету:

1) "Stiff-man" - синдром (синдром нерухомості);

2) аутоантитіла до рецептора інсуліну;

3) інші.

H. Інші генетичні синдроми, які інколи поєднуються з діабетом:

1) синдром Дауна;

2) синдром Клайнфельтера;

3) синдром Тернера;

4) синдром Вольфрама;

5) атаксія Фрідрейха;

6) хорея Гентінгтона;

7) синдром Лоренса-Муна-Бідля;

8) міотонічна дистрофія;

9) порфірія;

10) синдром Прадера-Віллі;

11) інші.

IV. Гестаційний цукровий діабет.

Таблиця 1.7

Клінічна (робоча) класифікація цукрового діабету

(Боднар П.М. та ін., 2002)

I. Клінічні форми цукрового діабету

1. Первинний: есенціальний, генетичний (з ожирінням або без нього).
2. Вторинний (симптоматичний): гіпофізарний, стероїдний, тиреогенний, адреналовий, панкреатичний (запалення підшлункової залози, пухлини або видалення), бронзовий (при гемахроматозі);
3. Діабет вагітних (гестаційний);
4. Порушення толерантності до вуглеводів (латентний) ЦД;
5. Фактори ризику (переддіабет).

II. Типи діабету за перебігом:

1. I тип – інсулінозалежний (ІЗЦД) (тип 1);
2. II тип – інсулінонезалежний (ІНЦД) (тип 2).

III. Ступінь важкості:

1. Легкий;
2. Середньої важкості;
3. Важкий.

IV. Стан компенсації:

1. Компенсація;
2. Субкомпенсація;
3. Декомпенсація.

V Наявність ангіопатій (I – II – III стадії) та нейропатії:

1. Мікроангіопатія – ретинопатія, нефропатія, ангіопатія (капіляропатія) нижніх кінцівок або іншої локалізації;
2. Макроангіопатія – ураження судин серця, мозку, нижніх кінцівок або іншої локалізації;
3. Універсальна мікро-, макроангіопатія;
4. Нейропатія (периферійна, автономна, вісцеральна, енцефалопатія).

Продовження табл.1.7

Ураження інших органів і систем:

1. Гепатопатія;
2. Дерматопатія;
3. Ентеропатія;
4. Катаракта;
5. Остеоартропатія;
6. Інші.

VII.Гострі ускладнення діабету:

7. Кетонемічна (кетоацидотична) кома;
8. Гіперосмолярна кома;
9. Гіперлактацидемічна кома;
4. Гіпоглікемічна кома.

Первинний, або есенціальний, діабет буває двох типів: 1) діабет, що виникає в дорослих; 2) діабет, який проявляється в дитячому або юнацькому віці та звичайно зветься юнацьким. Початкові періоди цих двох типів діабету суттєво відрізняються (табл.1.8) [6, 7, 72, 101, 102, 156, 168, 234, 358].

Таблиця 1.8

Порівняння характерних особливостей двох типів первинного, або есенціального діабету (Вільямс Р., 1964)

Характерна ознака	Юнацький діабет	Діабет дорослих
1	2	3
Частота	Зустрічається доволі рідко	Зустрічається часто
Початок	Гострий	Поступовий
Тривалість періоду між початком симптомів і встановлення діагнозу	Декілька тижнів	Декілька тижнів або років

Продовження табл.1.8

1	2	3
Вік хворого до моменту початку захворювання	Менше 15 років	Більше 40 років
Вага тіла до початку захворювання	Нормальна або недостатня	Надлишкова
Вміст цукру в крові натщесерце до початку лікування	Підвищений	Часто нормальний
Результат тесту на толерантність до глюкози	Незначне зниження вмісту цукру в крові через 2-3 год	Виражене зниження вмісту цукру в крові через 2-3 год
Кількість β-клітин у підшлунковій залозі	Понижена	Відповідає нормі
Стабільність	Нестабільність	Стабільний
Чутливість до інсуліну	Різко виражена Не виражена	Порівняно низька Виражена
Чутливість до препаратів сульфонілсечовини	Різко виражена	Не виражена
Схильність до розвитку кетозу	Підвищує лабільність	Не впливає на лабільність
Вплив фізичного навантаження	Рідкі	Часті
Наявність транзиторних ремісій	З’являються рано	З’являються пізно
Швидкість розвитку дегенеративних змін	Зустрічається рідко	Зустрічається часто
Хронічна інфекція сечових шляхів		

Діабет у дорослих характеризується порівняною стабільністю. Він часто протягом тривалого часу не дає ніяких симптомів. Даний тип діабету можна поділити на 2 підтипи в залежності від чутливості до препаратів сульфонілсечовини: більш 2/3 хворих на діабет такого типу дають реакцію на препарати сульфонілсечовини (чутливі до сульфонілсечовини), менш 1/3 – не дають такої реакції. Відомі скарги при діабеті можна поділити на 2 групи: 1) скарги, типові для неускладненого діабету. Це полідипсія, поліурія, втрата у вазі, слабкість, свербіж, ніктурія, поліфагія, порушення зору, головний біль, втрата апетиту, сонливість; 2) скарги, типові для ускладнень діабету, а саме пов'язані зі змінами в судинній системі та ті, що стосуються очей, коронарного кровообігу, нирок і периферичних судин; інфекції, особливо уражаючі шкіру та сечові шляхи, а також захворювання нервової системи, що проявляються у вигляді діабетичної нейропатії. Дегенеративні зміни, що вважаються характерними для діабету, зустрічаються в більшості випадків первинного діабету [6, 7, 101, 102, 114, 168, 234, 358, 382, 383].

Симптоми юнацького діабету, що зустрічається в дітей, юнаків і в порівняно невеликому відсотку випадків у дорослому віці, наступні: поліурія, полідипсія, втрата у вазі; легка втомлюваність, поліфагія, ніктурія та дратівливість. Клінічна картина нерідко ускладнюється інфекцією. Крім того, у таких хворих часто відмічаються симптоми, характерні для діабетичного кетозу. Найчастіше зустрічаються підсилення поліурії та загальної слабкості, втрата апетиту, нудота, блювота, болі в животі та задишка. До моменту встановлення діагнозу при юнацькому діабеті звичайно не спостерігаються ознаки дегенеративних захворювань. У неускладнених випадках найбільш характерними об'єктивними симптомами юнацького діабету є: втрата у вазі та виражені ознаки зневоднення [6, 7, 101, 102, 114, 168, 358].

Симптоми вторинного діабету, обумовлені надлишковими гормональними впливами або зменшенням об'єму функціонуючої тканини підшлункової залози, звичайно не відрізняються від симптомів первинного діабету. Якщо в таких випадках вдається усунути причину вторинного діабету, то можна досягти

цілковитого одужання. Характерно, що до моменту постановки діагнозу вторинного діабету не відмічається уражень дегенеративного характеру, звичайно супутніх первинному, або есенціальному, діабету. При вторинному діабеті продромальна фаза, протягом якої діабет не виявляється, короткочасна, що прямо пов'язано з тривалістю основного захворювання, що супроводжується вторинним діабетом [6, 7, 75, 101, 102, 114, 124, 168, 358].

Фізикальні симптоми, що зустрічаються в дорослих хворих при неускладненному діабеті, обмежуються головним чином втратою ваги. У більшості дорослих, хворих на діабет, до моменту встановлення діагнозу відмічаються симптоми, пов'язані з ураженням судин: ретиніт, атеросклероз, коронарна недостатність, порушення функції нирок і розлади периферичного кровообігу. Симптоми цих судинних уражень можуть зустрічатися як ізольовано, так і в комбінації [6, 7, 72, 101, 102, 114, 156, 168, 358].

ЦД, згідно класифікації ВООЗ, поділяється на два типи – ЦД типу I, або інсулінозалежний діабет (ІЗЦД), і ЦД типу II, або інсуліннезалежний діабет (ІНЦД), які мають ряд відмінностей (табл.1.9) [126].

Таблиця 1.9

Відмінності цукрового діабету 1 та 2 типів (Потьомкін В.В., 1999)

Показники	I тип	2 тип
1	2	3
1. Вік, в якому виникає хвороба	Дитячий, підлітковий	Середній, старший
2. Сімейні форми захворювання	Рідко	Часто
3. Сезонність виникнення	Осінньо-зимовий	Немає
	період	
4. Фенотип	Худі	Ожиріння
5. Гаплотипи (НЬА)	B_8, B_{15}, D_{W3}, D_{W4} $DR_{W3,}$ DR_{W4}	Зв'язок не встановлено
6. Розвиток хвороби	Швидкий	Повільний
7. Вираженість симптомів	Виражені	Малосимптомно
8. Зміни в аналізі сечі	Глюкоза та ацетон	Глюкоза
9. Кетоацидоз	Схильні	Резистентні
10. Концентрація сироваткового інсуліну (IPI)	Низька або відсутня	Нормальна або підвищена

Продовження табл.1.9

1	2	3
11. Антитіла до острівцевих клітин	Присутні	Відсутні
12. Ефект від лікування	Інсуліном	Дієтою, таблетованими цукрознижувальними препаратами, інсуліном
13. Конкордантність моно-зиготних близнюків, %	50	100

Нині уявлення про первинність інсулінорезистентності, або зниженої ефективності інсуліну, в патогенезі ІНЦД є провідним. При цій формі діабету, як правило, є десенсибілізація β-клітин до глюкози, в основі якої можуть бути різноманітні й навіть незалежні від інсулінорезистентності причини [6, 7, 72, 75, 101, 102, 114, 124, 128, 168, 322, 327, 358]. Це призводить до характерної трифазної картини перебігу ІНЦД (Дж.Фостер, 1994), який включає наступні періоди: а) стадія початкової інсулінорезистентності та компенсації; б) стадія вираженої інсулінорезистентності та відносної інсулінової недостатності; інтолерантність до глюкози; в) стадія зниження інсулінової секреції та явного діабету [114].

У першу стадію спостерігається інсулінорезистентність, яка викликає гіперфункцію β-клітин і їх гіперплазію. У другу стадію інсулінорезистентність підсилюється, що супроводжується ожирінням, пролонгованою гіперглікемією після їжі [114].

У третій стадії немає суттєвого подальшого зростання інсулінорезистентності, але знижуються секреторні можливості β-клітин. Ця стадія може бути викликана ендогенними токсичними впливами на β-клітини та іншими чинниками, що прискорюють загибель β-клітин або старіння [114].

ІЗЦД захворювання, обумовлене хронічним аутоімунним запаленням острівців Лангерганса, при якому відбувається поступова деструкція та за гибель

інсулінпродукуючих β-клітин (переважно шляхом апоптозу з розвитком абсолютної інсулінової недостатності та стійкої гіперглікемії) (табл.1.10) [69, 113, 143, 146, 169, 178, 179, 250, 273, 250, 326, 332, 333, 339, 353, 355, 368].

Таблиця 1.10

Етіологія цукрового діабету 1 типу (Швец М.І. та ін., 2006)

1. Генетичні порушення:
Схильність до ЦД 1 типу зумовлена декількома генами, які належать до системи HLA і розміщені в короткому плечі 6- хромосоми: - генотип HLA-DR_3/ DR_4 знаходять у 40 % хворих на ЦД; - алелі HLA-DR_3 - DR_4 або DR_3/ DR_4 мають 95 % хворих. Хворі з алелями HLA-DR_2 та DR_5 резистентні до ЦД, при наявності антигенів HLA-B_7, А**з,** D_{W2}**,** DR_{w2} - ризик захворіти на ЦД в 14,5 разів менший
2. Аутоімунне пошкодження β-клітин:
- у 60-80 % хворих на ЦД 1 типу в 10-12 разів зростає кількість антитіл до β-клітин; - у 80-95 % хворих виявляється до GAD-65, GAD-67 – ізоформ глютаматдекокарбоксилази
3.Вірусні інфекції:
- β-цитотропні віруси (Коксакі В4, краснухи, кору, епідемічного паротиту, вітряної віспи, цитомегаловірусу); - віруси, які викликають перехресну аутоімунну реакцію до β-клітин; - порушення імунної відповіді на вірус, тропний до β-клітин
4. Токсичні впливи на β-клітини:
- сполуки нітрозосечовини - алоксан, вакор; - лікарські засоби (протипухлинний препарат стрептозин; гіпотензивний діазоксид; діуретики - групи ті азидів); гормонотерапія - глюкокортикостероїди, пероральні стероїдні контрацептиви
5. Захворювання та пошкодження підшлункової залози:
- гострі та хронічні панкреатити; - пухлини, кістоподібні переродження залози, кальцинуючий фіброз; - гемохроматоз; - панкреатектомія (повна або часткова)

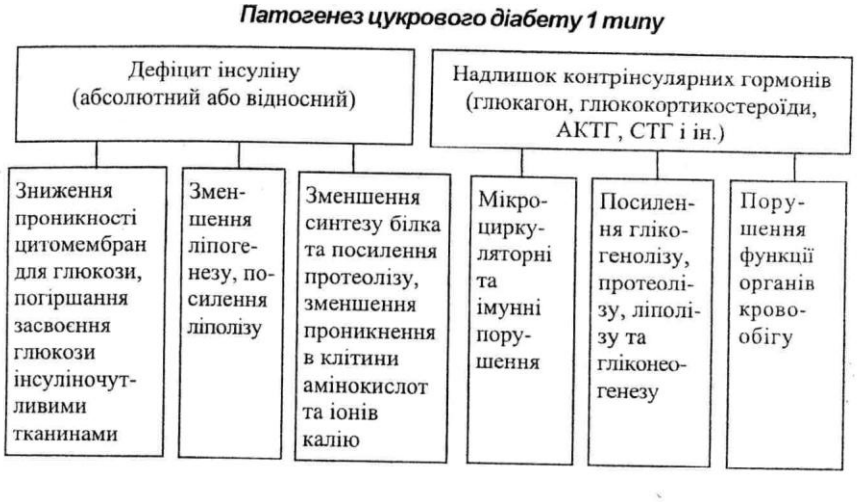

Рисунок 1.15. Патогенез цукрового діабету 1 типу (Швед М.І. та ін., 2006).

ІНЦД обумовлений відносною інсуліновою недостатністю, коли спостерігається не тільки та не стільки дефіцит гормону як речовини, скільки дефіцит його функції (табл.1.11, рис.1.16) [6, 7, 75, 101, 102, 114, 124, 156, 168, 322].

Таблиця 1.11

Етіологія цукрового діабету 2 типу (Швед М.І., 2006)

1.Генетичні пошкодження:
- у хворих на ЦЦ МОДУ-2 виявляють мутацію гена гексокінази, який контролює глюконеогенез в печінці і секрецію інсуліну в β-клітинах; - ЦЦ з мітохондріальним спадкуванням; - сімейні форми діабету з домінантним типом спадкування. Гени ЦД 2 типу локалізуються в 11-й хромосомі.
2. Негенетичні фактори інсулінорезистентності:
- похилий вік - зниження чутливості рецепторів до інсуліну; - ожиріння - спостерігається у 85 % хворих і є причиною інсулінорезистентності; - переїдання, малорухливий спосіб життя; - артеріальна гіпертензія - у хворих на ЦД 2 типу зустрічається в 1,5 раза частіше, ніж в популяції; - дисліпопротеїдемія - підвищення рівня тригліцеридів ЛПНЩ та зниження рівня холестерину ЛПВЩ і активності ліпопротеїдліпази; - голодування у грудних дітей та дітей молодшого віку; - стрес - супроводжується викидом контрінсулярних гормонів; - вагітність.

Продовження табл.1.11

3. Гіперпродукція контрінсулярних гормонів:
- синдром Іценка-Кушинга; - гіпоталамічний синдром; - акромегалія; - феохромоцитома; - тиреотоксикоз.

Рисунок 1.16. Патогенез цукрового діабету 2 типу і синдрому інсулінорезистентності (Швед М.І., 2006).

За даними ВООЗ захворюваність на ЦД у середньому становить 1,5– 4 %, значно зростаючи в розвинених країнах світу – 5 – 6 %. У структурі ендокринних захворювань ЦД становить 60-70 %. На дитячий контингент припадає 8 % хворих із цією патологією. Нині в світі налічується близько 150 млн. хворих на ЦД, в Україні – понад 1 млн. Справжня захворюваність значно більша, оскільки в кожного другого – третього хворого ЦД залишається недіагностованим [6, 7, 101, 114, 156, 168, 205, 234].

Поширеність явного ЦД становить 4 % у популяції, а його прихованих форм – 8-10 %. Число хворих на ЦД кожні 10 років подвоюється. Серед усіх хворих частота ЦД 1 типу становить – 10-15 %, а ЦД 2 типу – 40-80 %. ВООЗ констатує, що ЦД призводить до підвищення смертності в 2-3 рази і скорочує

тривалість життя на 10-30 %. Економічна й соціальна шкода внаслідок поширеності хвороби та інвалідизації хворих величезна [6, 7, 101, 114, 124, 156, 205, 234]. Серед чинників довкілля, що сприяють ЦД – 1 типу, слід відзначити віруси, хімічні речовини, токсини. Останнім часом важливого значення в деструкції β-клітин надають нітрогену (азоту) оксиду, що справляє цитотоксичний ефект. При цьому ген NO-синтетази, який стимулює утворення нітрогену оксиду, локалізується на 11 хромосомі поруч із геном, який кодує синтез інсуліну, звідки можливість розвитку ЦД унаслідок одночасної мутації обох генів [6, 7, 69, 101, 102, 114, 129, 139, 151, 234, 266, 358, 372, 382, 383].

Роль провокуючою події при ІЗЦД полягає в екзогенному запускі аутоімунного процесу в острівцях Лангерганса. При певних умовах – наприклад, системних аутоіммуних поліендокринопатіях, що є приблизно в 10 % хворих з підтипом ІЗЦД1в – провокація не є необхідною. ІЗЦД – захворювання з тривалим імунологічним продромом і ще більш пролонгованим періодом певної метаболічної компенсації. Максимальний інтервал від початку аутоімунного процесу до початку інтолерантності до глюкози складає 3-4 роки, а найбільш тривалий розрив між першими проявами зниження здібності виробляти інсулін і явною метаболічною декомпенсацією – 10-12 років. Крива захворюванності на ІЗЦД найбільш різко зростає у вікові періоди від новонародженості до 3 років, і від 9 до 13 років, а після 14 років – прогресивно знижується. Таким чином, провокуюча подія повинна відбутися в ранньому онтогенезі: на початку внутрішньоутробного життя або навіть до народження. Після певного вікового періоду потенціальні можливості більшості екзогенних діабетогенів спровокувати деструкцію β-клітин знижуються. Більш того, спровокований діабетогенними факторами процес не завжди „доходить” до рівня явного діабету (рис.1.17) [69, 114, 169, 178, 179, 234, 250, 303].

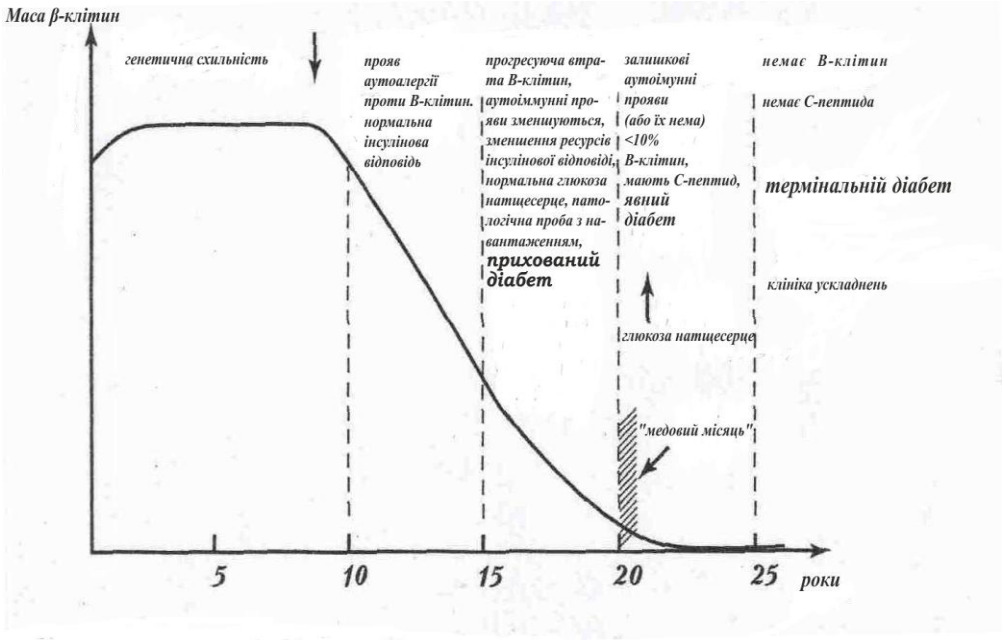

Рисунок 1.17. ІЗЦД I типу як стадійний хронічний аутоімунний процес (Ейзенбарт Дж., 1984). Пояснення – у тексті. ↓ - момент провокуючої дії діабетогену (Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 2007).

У відповідь на альтерацію острівцевого β-клітинного компоненту в панкреатичних острівцях розвивається інсуліт. Загибель острівцевих β-клітин, ексудативні зміни, інфільтрація острівців лімфоцитами, макрофагами, а при неонатальному початку ІЗЦД й еозинофілами, все це обумовлює повне порушення топографічних взаємин цитотипів всередині панкреатичного острівця, викривлення нейроваскуляторних взаємин, пошкодження міжклітинних контактів. При ІЗЦД гетероклітинні зони, що можуть функціонувати як „пейсмейкер" усього острівця та в які аферентні капіляри та нерви входять в острівець саме в цих зонах, припиняють своє існування та острівці являють собою дезорганізоване скупчення α- і δ-клітин, коли частка α-клітин зростає до 75%, а частка δ-клітин – до 25%. Кількість β-клітин прогресивно скорочується й до моменту формування явного ІЗЦД складає менше 10 % початкового. Бігормональне гальмування α-клітин втрачається [69, 114, 128, 169, 178, 179, 250, 303, 331]. Тому для явного ІЗЦД характерні підвищені рівні глюкагону, концентрації якого надлишкові, відносно до підвищених концентрацій глюкози:

- рівні глюкагону відносно вище рівней глюкози, визначених натщесерце, та не пригнічуються подальшим підвищенням концентрації глюкози в крові;

- гіпоглікемія не викликає підйому концентрації глюкагону в плазмі, що зайвий раз свідчить про автономність функції α-клітин від контролюючої дії глюкози в крові [6, 7, 101, 102, 114, 156, 168, 322].

При ІЗЦД виявляються наступні особливості функцій острівцевих α-клітин:

- зберігається відповідь α-клітин на вільні жирні кислоти (ВЖК), тобто вікові рівні ВЖК пригнічують виділення глюкагону;

- відповідь α-клітин на аргинін підсилений;

- високі концентрації інсуліну частково відновлюють відповідь α-клітин і на аргінін, і на глюкозу [6, 7, 101, 102, 114, 168].

Отже, природній гальмівний паракринний вплив інсуліну на виробку глюкагону α-клітинами при ІЗЦД зменшується. У результаті співвідношення глюкагон/інсулін у крові хворих на ІЗЦД по мірі розвитку хвороби „прямує до нескінченності" (Д.Фостер, 1994) [114].

Концепція стадійності перебігу ІЗЦД, яка ґрунтується на трактовці цього недуга як хронічного аутоімунного захворювання, була сформульована Дж. Ейзенбартом у другій половині 80-х років XX століття [114]. На рисунку 1.17 продемонстровані наступні стадії процесу.

I. Стадія генетичної схильності.

Характеризується наявністю генетичних маркерів підвищеного ризику ІЗЦД. Може продовжуватися від декількох місяців до десятків років (є випадки ІЗЦД у грудних дітей і старих людей). У цю стадію відсутні як порушення вуглеводного обміну (в спокої та при пробах навантаження), так і імунологічні аномалії. У осіб з системною схильністю до органоспецифічних аутоімунних захворювань в цю стадію можуть виявлятися ознаки аутоімунної патології інших органів. Індивіди в цю стадію не хворі, не повинні включатися в групи високого диспансерного ризику по ІЗЦД [6, 7, 101, 102, 114, 168, 234, 358, 382, 383].

II. Провокуючі події.

Як правило, порівняльно короткочасна інфекція або вплив хімічного діабетогену. Може мати субклінічний перебіг і виявлятися тільки за даними серологічних проб, секвенсаналізу латентного вірусного геному та при ретельному зборі анамнезу. Може відбуватися в пренатальному та ранньому постнатальному онтогенезі [6, 7, 101, 102, 114, 168, 234, 358, 372, 382, 383].

III. Стадія явних імунологічних аномалій.

Триває від 2-3 міс до 2-3 років і полягає в розвитку змішаної аутоімунної реакції проти клітин панкреатичних острівців, опосередкованої як аутореактивними $СД_8$-лімфоцитами, так і циркулюючими аутоантитілами. З'являються позитивні тести на клітинний і гуморальний аутоімунітет проти антигенів острівцевих клітин, зокрема власного інсуліну, глутаматдекарбоксилази та карбоксипептидази. Морфологічно виявляється прогресуючий інсуліт з лімфоцитарною інфільтрацією макрофагів, іноді – еозинофільними інфільтратами. Ресурси інсулінової секреції все ще достатні не тільки для підтримання нормального рівня глюкози „натщесерце", але й для непатологічних цукрових навантажувальних проб [70, 114, 169, 178, 179, 234, 250, 331].

IV. Стадія латентного діабету.

Характеризується прогресуючим зниженням виробки інсуліну при нормальному рівні глюкози „натщесерце" [114, 139, 151, 234].

За тривалістю відповідає III стадії і залежність від генетично детермінованого резерву β-клітин. Виявляються додаткові позитивні навантажувальні проби з глюкозою (інтолерантність до глюкози за критерієм Національного інституту здоров'я США).

Про патологічну навантажувальну пробу з глюкозою можна говорити, якщо:

Через 120 хв після прийому дорослим пацієнтам 75 г глюкози її рівень у венозній крові перевищує 200 мг/дл (11,1 ммоль/л) і в любий з термінів – 60, 90, 120 хв. Також перевищував 200 мг/дл (11,1 ммоль/л) – тобто потребує дворазо-

вої фіксації підвищенного рівня протягом 2 год після навантаження [114, 168, 234].

За критеріями Американської діабетичної асоціації:

Людина без ЦД має рівень глюкози в крові натщесерце менше 110 мг/дл. Хворий з явним ЦД має рівень глюкози в крові натщесерце 126 мг/дл або більше. При порушеній толерантності до глюкози (прихований ЦД) рівень глюкози в крові натще між 110 і 126 мг/дл. При пероральній пробі на толерантність до глюкози: у людини без ЦД рівень глюкози в крові стає нижче 140 мл/дл за 2 год після прийому розчину глюкози. У хворого з явним ЦД рівень глюкози в крові 200 і більше мг/дл через 2 год після прийому. При порушеній толерантності до глюкози (прихований ЦД) рівень глюкози в крові між 140 і 200 мг/дл через 2 год після прийому розчину глюкози [114, 168, 234].

У той же час ступінь вираженості аутоімунного процесу в стадію латентного ІЗЦД повільно слабшає. Клінічних і лабораторних симптомів гіперглікемії поза навантажувальних проб немає [102, 114, 168, 234].

V. Явний діабет.

Реєструється з момента, коли до симптомів, властивим попереднім стадіям, приєднується гіперглікемія натщесерце (понад 140 мг/дл – 7,8 ммоль/л у венозній крові зранку, до їди, зареєстровані не менше ніж двічі в різні дні). Це призводить до розвитку виражених клінічних симптомів, пов’язаних з гіперглікемією. Зовнішньо, з точки зору пацієнта, латентний діабет стає явним раптово, іноді протягом діб. Поштовхом слугують стреси, гострі захворювання та інші події, які збільшують потребу в інсуліні. До того моменту більше ніж у ½ хворих початкові аномалії аутоімунітету повністю знаджуються. Ось чому тривалий час природа ІЗЦД. Як результату тривалого аутоалергічного процесу не усвідомлювалась медиками. Існували хибні уявлення про можливості розвитку „гострого первинного інсулінопенічного діабету”, а значення стресу (психоемоційної травми) в генезі ІЗЦД збільшувалось аж до відведення йому ролі основного причинного фактору. Підвищення рівня глюкози натщесерце індукує останні резерви β-клітин, у зв’язку з чим відразу після початку явного

діабету буває „медовий місяць” – короткочасний період зниження потреби в інсулінотерапії [6, 7, 101, 102, 114, 123, 168, 234, 354, 372].

При порівнянні ранньої і пізньої фаз інсулінової відповіді на глюкозне навантаження в нормі та при ІЗЦД були виявлені наступні відмінності (рис.1.18).

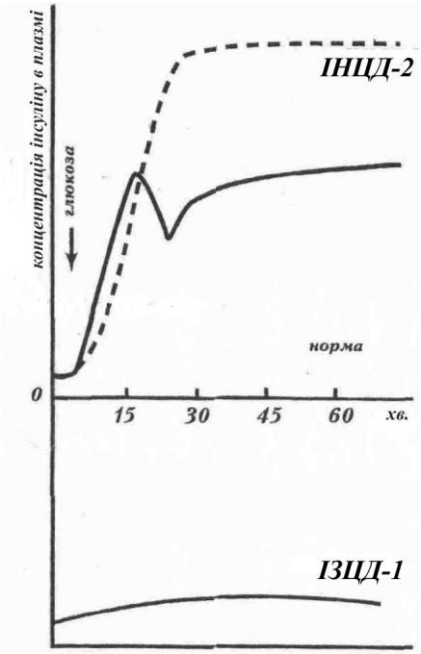

Рисунок 1.18. Рання та піздня фази інсулінової відповіді на глюкозне навантаження в нормі (в середині), при ІЗЦД (унизу) і при ІНЦД II типу (угорі) (Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 2007).

Так, секреція інсуліну (0,4 – 0,8 нг/мл, або 10-20 мкОД/мл) і С-пептида (0,9-3,5 нг/мл) у крові здорових осіб стимулюються глюкозою, холінергічними нервами та амінокислотами (лейцин, аргінін), деякими гормонами ентеринової системи та препаратами сульфонілсечовини, причому в нормальних умовах in vivo відмічаються 2 характерні піки гіперінсулінемії: ранній і пізній (2-10 хв і 10-60 хв), обумовлені викидом депонованих продуктів і активацією їх синтезу de novo відповідно. В.Кумар і співавт. (1997) підкреслюють, що синтез інсуліну de novo активують лише глюкоза та холінергічні нервові впливи на острівці. Амінокислоти, ентерогормони, а також похідні сульфонілсечовини сильно потенціюють стимулюючий ефект глюкози на інсулінову секрецію й активують

викид готового гормону. Секреція інсуліну стимулюється також низкою інших гормонів. У здорових осіб рівень стимульованого (посттравного) інсуліну в плазмі крові рідко перевищує 690 пмоль/л (100 нг/мл) [6, 7, 10, 72, 101, 114, 147, 154, 156, 272, 334, 376].

Крім того, показано, що підвищення секреції інсуліну настає до початку всмоктування харчових субстратів з кишки, що може вказувати на нервовий механізм першої фази інсулінової секреції („мозкова фаза") [6, 7, 101, 114, 156].

При ІЗЦД в IV-V фазі хвороби характерно пригнічення реакції інсуліну, а потім і С-пептида, спочатку – на нервові стимули та глюкозу, а потім на амінокислоти, причому страждають обидві фази відповіді інсуліну. Концентрації проінсуліну при ІЗЦД не має характерних змін, проте можуть підвищуватися при глікемії, інсуліном та спадковій проінсулінемії.

Оскільки в хворих з інсуліномами в крові є аутоантитіла й антитіла к інсуліну, дані визначення імунореактивного інсуліну при ІЗЦД практично завжди неадекватні та викривлені в бік заниження. Тому радіо імунологічне визначення та імуноферментний аналіз інсуліну при ІЗЦД не можуть слугувати засобом діагностики й не замінюють генетико-імунологічних даних і тестів на толерантність до глюкози. У діагностичному та прогностичному плані для уточнення стадії хвороби більш корисно визначення С-пептиду. Для ІЗЦД типово вміст С-пептиду нижче 300 пМ/л і його прогресивне падіння до нуля протягом 2-3 років хвороби.

ІЗЦД характеризується помірною гіперглюкагонемією, але навіть 4-разове підвищення вмісту глюкагону perse, при нормальному рівні інсуліну, не відбивається на толерантності до глюкози. Тому багато хто з авторів не вважають визначення глюкагону в хворих з ІЗЦД інформативним тестом. При ІЗЦД вміст соматостатину в крові стабільно зростає по мірі втрати функцій β-клітин. Що стосується РР, пептидних регуляторів, похідних арахідонової кислоти цикло- та ліпооксигеназного ряду, то динаміка усіх цих регуляторів при ІЗЦД мало вивчена [6, 7, 101, 102, 156, 168, 381].

VI. Термінальний діабет.

Дана стадія – еквівалент повної загибелі β-клітин, з високою потребою в інсулінотерапії (не менше 60 МЕ на добу), а також з початковими проявами мікроангіопатії, негативними або слабопозитивними тестами на аутоімунітет і повним зникненням β-клітин, а отже – здібністю генерувати С-пептид. Характерно, що імунореактивний інсулін позапанкреатично й екзогенного походження при цьому може продовжувати виявлятися в крові стадія повної відсутності β-клітин може бути досягнута відносно швидко – за 3,5 роки. Але частіше потребує більш тривалий термін. По мірі застосування інсулінотерапії можуть з'являтися ознаки вторинної імунозалежної інсулінорезистентності, дози інсуліну зростають до плато, а іноді потреба в інсуліні стає коливальною, в залежності від ендогенних імунопатологічних причин, зокрема стану антиідіотипічної імунної відповіді (лабільний діабет) [70, 123, 169, 178, 179, 250, 331, 354].

Шляхи індукції аутоімунної реакції і механізми руйнування β-клітин різні. Це може бути аутоімунний інсуліт внаслідок активізації, як клітинного, так і гуморального ланцюгів імунітету, що виявляється насамперед мононуклеарною інфільтрацією панкреатичних острівців ще в доклінічному періоді [6, 7, 69, 113, 114, 169, 178, 250]. Перед маніфестацією ЦД-1 острівці інфільтровані активованими лімфоцитами СД8 (Т-супресорами та цитотоксичними Т-лімфоцитами) і СД4 (Т-хелперами). На β-клітинах з'являються антигени HLA класу I (В8, В15) і класу II (ДR). В аутоімунній реакції клітинного ланцюга імунітету беруть участь лімфоцити і макрофаги (моноцити). Ці клітини утворюють цитокіни, які або опосередковують клітинні реакції проти β-клітин, або безпосередньо пошкоджують останні. Цитотоксичну дію справляють такі цитокіни, як інтерферон, фактор некрозу пухлин В й інтерлейкін 1. Доведена також участь простагландинів і циліарного нейротрофічного фактора [69, 114, 169, 178, 179, 250, 331, 336].

Клітинні механізми аутоімунної агресії є головною причиною деструкції β-клітин у ході ІЗЦД. Захворювання піддається адаптивному переносу: СД8+ Т-лімфоцитами хворих гризунів можна викликати інсуліт, а також інтолерант-

ність до глюкози в здорових тварин – реципієнтів. Адаптивний перенос можливий у тварин, який представляє різні генетичні моделі ІЗЦД (як у щурів ВВ, так і мишей NOD, тобто діабетичних мишей без ожиріння). Але конкретні імунопатологічні порушення в цих двух моделей ІЗЦД можуть бути різними: ВВ мають виражену спадкову лімфопенію та дефіцит цитотоксичних лімфоцитів, а миші NOD, навпаки, надлишок Т-ефекторів при дефекті Т-супресорів. Неонатальна тимектомія запобігає або затримує діабет у всіх цих тварин [114, 131, 143, 276, 303, 336].

Найбільш зручним для масового скринінгового тестування механізмів гіперчутливості уповільненого типу при ІЗЦД є реакція гальмування міграції лейкоцитів, яка позитивна у 55-65 % пацієнтів у передгіперглікемічну фазу ІЗЦД та в його розпал, причому як в аутологічній, так і в ксеногенній системах [106, 114, 182, 183].

У хворих на ІЗЦД є різні ознаки активації Т-системи імунітету, наприклад, підвищення частки Т-клітин, які експресують рецептори IL-2 та антигени ГКГС 2-класу [69, 138, 178, 250, 276, 303, 331].

Гуморальний аутоімунітет при ІЗЦД також змінений, і в теперішній час вважається доведеною участь у розвитку цього захворювання аутоалергії типу ГНТ [106, 178, 182, 183, 250, 303].

У здорових осіб аутоантитіла проти β-клітин зустрічаються не більше ніж у 0,5% випадків. Але їх зустрічаємість у 10-30 разів більша у близьких родичів хворих і в 60 разів вище в хворих з органоспецифічними аутоімунними захворюваннями без ІЗЦД, при прегнодіабеті процент антитілопозитивних сироваток досягає 10 %, при ІНЦД – 20 %, а при ІЗЦД – 100 % у III стадію хвороби [169, 178, 179, 250]. Поява аутоантитіл передує морфологічній картині інсуліту при ІЗЦД. При ІЗЦД регулярно виявляються аутоантитіла проти цілої низки панкреатичних і позапанкреатичних антигенів:

- поверхневих антигенів острівцевих клітин (AISA);
- цитоплазматичних антигенів острівцевих клітин (AICA);
- ядерних антигенів острівцевих клітин (AINA);

- власного інсуліну (АІА);

- ряд антитіл неорганоспецифічного та панкреатотропного неострівцевого характеру;

- органоспецифічні непанкреатотропні ауто антитіла [12, 69, 169, 178, 179, 250, 303, 336].

Гуморальні механізми можуть викликати деструкцію острівцевих β-клітин шляхом комплемент залежного клітинного лізису або антитілоопосередкованої клітинної цитотоксичності. При вперше виявленому ІЗЦД відмічаються ознаки активації комплементу за класичним і альтернативним шляхом та комплемент-опосередкований лізис β-клітин. Аутоімунні ефектори призводять до накопичення в острівцях IL-1. IL-1 знижує вивільнення інсуліну β-клітинами, зменшує їх чутливість до глюкози та до неглюкозних стимулів і володіє прямою ушкоджуючою дією на β-клітини. Отже, через IL-1 вивільнення інсуліну при ІЗЦД може бути загальмовано раніше, ніж наступить деструкція β-клітин. Дія IL-1 у більшості випадків опосередкована ліпідними модуляторами. При ІЗЦД в острівцях накопичується фактор активації тромбоцитів і простагландини, що пригнічують гостру фазу інсулінової відповіді на глюкозу. Антагоністи циклооксигенази, наприклад, аспірин, полегшують перебіг ІЗЦД. Цитокіни діють на β-клітини сильніше in vivo, ніж in vitro; у зв’язку з цим β-клітина з її низькою цитотоксичною резистентністю стає немовби „невинною жертвою” цитокіномедіаторного удару, що відбувається внаслідок аутоімунного процесу, який має інші мішені IL-1, ФНОα, лімфотоксин і інтерферон – γ, які виділяються при інсуліті лімфоцитами та макрофагами, володіють синергічним потенціюючим цитотоксичним, антипроліферативним і антисекреторним ефектом на острівцеві β-клітини. В уражених острівцях, незважаючи на клітинну деструкцію та значну кількість медіаторів проліферації, практично повністю відсутні мітози [69, 106, 178, 179, 182, 250, 303].

Виявлені імуноглобуліни – блокатори вивільнення інсуліну, що не викликають деструкції клітин – мішеней. Для антитіл проти компонентів глюкозного рецептора і / або взаємодіє глюкозопереносників білків з аутоантигенами буде

викликати функціональний блок відповіді β-клітин на глюкозу без їх руйнування. Аутоантитіла до ГДК можуть, вірогідно, втручатися в паракринну регуляцію інсулінової секреції, а аутоантитіла до карбоксипептидази Н- до секреції інсуліну [69, 106, 178, 182, 250, 303].

Найбільше значення при ІЗЦД належить вибірковій аутоімунній деструкції: показано, що до початку явного діабету маса залози знижується в 2, маса острівців – у 3,3, а маса β-клітин – більше ніж у 850 разів [69, 113, 143, 169, 178, 179, 250].

Таким чином: особливості аутоімунного ураження β-клітин полягають як у тому, що руйнування β-клітин прискорюється внаслідок їх надзвичайно високої чутливості до імунної атаки, так і в тому, що сама імунна атака виявляється більш вираженою, тривалішею та менш вибірковою, ніж повинно було б бути при нормальній імунній відповіді [146, 178, 250, 273, 326, 333, 355, 368]. Підвищена чутливість β-клітин обумовлена тим, що:

1) при пошкодженні на їх поверхні з'являється вибіркова кількість молекул ГКГС класу 1 і починається аберантна експресія глюкопротеїдів ГКГС класу 2, що полегшує аутоалергічне ураження;

2) дані клітини особливо схильні до ушкоджуючої дії цитокінів, зокрема, IL-1 має прямий токсичний вплив на β-клітини, але менш токсичний для інших типів клітин;

3) β-клітини надзвичайно сприйнятливі по відношенню до вільних радикалів, які вивільняються ушкодженими клітинами і макрофагами, тому що антиоксидантні ресурси незначні [169, 177, 179, 180, 235, 250, 316, 335, 344, 385].

Таким чином, в острівцях підшлункової залози міститься ряд гормонів, які прямо чи опосередковано впливають на вуглеводний обмін в організмі. Порушення нейрогуморальної регуляції функції інсулярного апарату призводить до розвитку захворювання інсулярного апарату підшлункової залози.

ГЛАВА 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ β-ІНСУЛОЦИТІВ І ЇХ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗВ'ЯЗКІВ З КЛІТИНАМИ ІНШИХ ОРГАНІВ

2.1. Організація досліджень

У дослідах на 377 мишах, 392 щурах, 98 кролях, 84 золотистих і 65 китайських хом'ячках вивчався стан активації, пригнічення та виключення функції острівцевих β-клітин. Було обстежено 186 осіб, хворих на цукровий діабет. Матеріалом досліджень слугували: у людей – проби та мазки крові, сеча у тварин – проби та мазки крові, а також шматочки внутрішніх органів (гіпокампа, шишкоподібної, вилочкової і підшлункової залоз).

Стан пригнічення секреторної функції клітин панкреатичних острівців одержували уведенням тваринам адреналіну, преднізолону та гострим стресуванням організму голодуванням, фізичним навантаженням, іммобілізацією, алкоголізацією, перегріванням. Посилення секреторної активності цих клітин викликали ін'єкціями глюкози, пілокарпіну та хронічним стресом.

Преднізолон уводили тваринам внутрішньом'язово, а пілокарпін і адреналін – підшкірно в дозах відповідно 10 мг/кг, 1 мг/кг і 0,05 мг/кг. У дослідах з голодуванням мишей позбавляли їжі на 12 год, щурів, золотистих і китайських хом'ячків – на 1 добу, а кролів – на 2 доби. Глюкозу мишам, щурам, хом'ячкам уводили внутрішньочеревинно, а кролям – у крайову вену вуха в дозі 10 г/кг у вигляді 40 % розчину.

Вплив фізичного навантаження на клітини мишей і щурів вивчали після годинного плавання в акваріумі з температурою води 32 °С. У дослідах з іммобілізацією мишей, щурів і кролів прив'язували м'якими пов'язками до станка в положенні на спині. Тривалість іммобілізації– 6 год.

Для вивчення дії охолодження мишей і щурів поміщали на півгодини в холодну ванну (температура води 21 °С), а для з'ясування впливу перегрівання –

в гарячу ванну (температура води 40 °С). Кожну процедуру в хронічному досліді повторювали щоденно впродовж 10 діб.

Алкоголізацію мишей, щурів, кролів проводили шляхом уведення через зонд у шлунок етанолу у вигляді 20 % розчину в дозі 2 мл/кг одноразово в гострому досліді, а в хронічному експерименті – дев'ятиразово з інтервалами в три доби.

Стан гіпофункції острівцевого апарату підшлункової залози, пов'язаний з порушенням біосинтезу інсуліну, одержували введенням мишам, щурам, хом'ячкам і кролям діабетогенних речовин (алоксану, дитизону стрептозотоцину та 8-(паратолуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ).

Ін'єкцію алоксану робили підшкірно в дозі 200 - 400 мг/кг у вигляді 2-5 % розчинів. Мишам, щурам, хом'ячкам внутрішньочеревинно, а кролям внутрішньовенно вводили стрептозотоцин в дозі 200 мг/кг у вигляді 2 % водного розчину, дитизон – у дозі 50 мг/кг у вигляді 1% водно-аміачного розчину, 8-ТСХ – у дозі 50 мг/кг у вигляді 0,5 % розчину на 0,1 н розчині гідроксиду натрію.

Розчин дитизону для ін'єкцій готували наступним чином. У колбу з притертою кришкою наливали 30 мл дистильованої води, 0,6 мл 25 % розчину гідрооксиду амонію та додавали 400 мг дитизону. Суміш перемішували на водяній бані при 70 °С впродовж 10 хв, потім фільтрували через беззольний фільтр. При цьому отримували 1 % водно-аміачний розчин дитизону, тому що чверть наважки реагенту залишалось у вигляді осаду на фільтрі.

Розчин 8-ТСХ також готувався перемішуванням на водяній бані впродовж 10 хв при температурі 70 °С. На відміну від дитизону, 8-ТСХ у розчині цілком розчинявся, тому що на фільтрі практично не залишалось осаду. Для отримання 0,5 % розчину в 10 мл 0,1н розчином гідроксиду натрію розчиняли 50 мг 8-ТСХ.

Для компенсації гіпофункції інсулярного апарату використовували ін'єкції гормону інсуліну, який уводили підшкірно в кількості 0,2 мл (20 ОД/кг). Для цього мишам уводили гормон, розведений у 20 разів, щурам – у 2 рази. Першу

ін’єкцію робили через 1 добу після введення алоксану, інші ін’єкції – щоденно впродовж 4 діб. Посилення гіпофункції інсулярного апарату викликали попереднім гострим стресуванням організму цих видів тварин фізичним навантаженням та іммобілізацією та введенням їм адреналіну й преднізолону.

Стан гіпофункції наднирників у щурів викликали адреналектомією. Для компенсації гіпофункції цих залоз адреналектомованим тваринам уводили адаптивні гормони (адреналін, преднізолон, інсулін) та створювали ситуацію гострого стресу.

Для вивчення функціональних зв’язків нейронів гіпокампа, клітин тимуса, епіфіза, острівцевих β-клітин, а також гранулоцитів крові досліджували вміст металів (цинку, магнію та міді) при різному функціональному стані інсулярного апарату та гіпокампа.

Для дослідження впливу металів на їх вміст у клітинах мишам і щурам уводили сульфати цинку, магнію та міді. Розчин сульфатів цинку та магнію вводили внутрішньочеревинно в дозі 10 мг/кг, а розчин сульфату міді в такий самий спосіб у дозі 5 мг/кг. У всіх експериментах інтактні тварини слугували контролем.

Дослідження з використанням лабораторних тварин проводились згідно з вимогами ст.26 Закону України „Про захист тварин від жорстокого поводження”, „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986) та принципів біоетики.

Після закінчення експериментів у тварин дослідних і контрольних груп отримували кров (у мишей і щурів з хвоста, у кролів – з вуха, у хом’ячків – з вуха чи хвоста) та готували мазки за стандартною методикою. Для отримання внутрішніх органів тварин забивали декапітацією, попередньо надаючи їм ефірний наркоз, через 2 год з початку фізичного навантаження та після введення етанолу, по закінченні іммобілізації в гострому досліді, через 12 год – 2 доби з початку голодування, після закінчення терміну одноразових охолодження та перегрівання, через 2 год після введення адреналіну, преднізолону, інсуліну,

0,5–1 год після ін’єкції пілокарпіну, 12 год – після введення солей металів, 5 діб – після ін’єкції діабетогенних речовин, через 3 доби після хронічних стресових впливів. Попередні ін’єкції адреналіну, преднізолону, інсуліну тваринам робили за 2 год до введення алоксану.

Для дослідження стану осіб, хворих на цукровий діабет, використовували методи: гематологічні (визначення загальної кількості еритроцитів, лейкоцитів у крові, рівня гемоглобіну, гематокриту, швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ), кольорового показника, лейкоцитарної формули); біохімічні (визначення рівня глюкози в крові та сечі, концентрації сечовини, креатиніну, кетонових тіл, показників печінкових проб (концентрації білірубіну, аспартатамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ); показників водно-сольового балансу крові (концентрація іонів калію, кальцію, натрію та хлору), осмолярності сироватки та pH крові).

Рівень гемоглобіну в крові визначали гемоглобінціанідним методом і виражали в г/л. Величина гематокриту (%) встановлювалася мікрометодом у модифікації Й.Тодорова. Для визначення концентрації загального білка в крові (г/л) використовували біуретовий метод. Рівень у сироватці крові сечовини (ммоль/л) встановлювали діацетилмонооксимним методом, а креатиніну - за кольоровою реакцією Яффе. Для визначення концентрації іонів калію та натрію в крові (ммоль/л) був використаний аналізатор електролітів АЕК-01. Визначення проводилося згідно керівництва щодо експлуатації «Аналізатора електролітів АЕК-01». О-крезолфталеїн комплексон застосовували для визначення вмісту загального кальцію в сироватці крові (ммоль/л). Рівень загального білірубіну в сироватці крові (мкмоль/л) проводили по Ієндашику, а метод Райтмана-Френкеля використовували для визначення в сироватці крові концентрацій АСТ і АЛТ (мкмоль/год·мл).

Біохімічні методи використовували також для визначення концентрації у крові інсуліну, цинку, магнію та міді, а цитохімічні методи – для встановлення у клітинах вмісту цих металів і секреторного матеріалу.

Не тільки у людей при проведенні гематологічних і біохімічних досліджень використовували стандартні методи та металохромні індикатори, але й у тварин дані цитохімічних досліджень порівнювали з результатами, отриманими за допомогою традиційних функціональних тестів.

Цитохімічне визначення цинку проводили забарвленням 8-ТСХ, дитизоном і сульфарсазеном. Магній визначали за допомогою магнезону та люмомагнезону (ЛМ), мідь – дитіооксаміду (ДТО). Для виявлення секреторного матеріалу в β-інсулоцитах використовували забарвлення альдегідфуксином і псевдоізоціаніном, гранулоцитів крові – метиловим зеленим - еозином (МЗЕ).

2.2. Цитохімічні методи визначення цинку, міді, магнію та секреторного матеріалу в клітинах людей і піддослідних тварин

2.2.1. Цитохімічні методи визначення металів у клітинах

Визначення вмісту цинку в гранулоцитах крові.

Дитизонова реакція. Мазки крові перед їх фарбуванням дитизоном попередньо фіксували протягом 5 хв у висхідних парах формаліну. По закінченні цього терміну мазки фарбували робочим 1 % водно-аміачним розчином дитизону, який готували п’ятиразовим розведенням дистильованою водою його основного розчину (30 мл дистильованої води, 0,6 мл 25 % розчину гідроксиду амонію та 400 мг дитизону). Фарбування проводили протягом 3 год. По закінченні часу фарбування мазки промивали двома порціями дистильованої води (по 5 хв кожною). Потім на мазки наносили краплю підігрітого гліцерину чи желатину, мазки накривали покривним склом та мікроскопіювали з використанням масляної імерсії.

На препаратах у червоний колір були забарвлені гранулоцити. У цитоплазмі зернистих лейкоцитів виявлялися червоні гранули (показник вмісту цинку) [72]. Ядра не забарвлювалися та мали вигляд світлих утворень.

Реакція 8-ТСХ. Мазки крові фіксували протягом 5 хв у висхідних парах формаліну, потім флуорохромували 0,01 % ацетоновим розчином 8-ТСХ протягом 4 хв, підсушували на повітрі та замикали в імерсійне масло. На препаратах у цитоплазмі гранулоцитів крові виявлялась зернистість, що люмінесціювала жовто-зеленим світлом.

Реакція сульфарсазену. Мазки крові фіксували протягом 5 хв у висхідних парах формаліну, після закінчення терміну фіксації мазки занурювали в суміш для забарвлення де витримували впродовж 3 год при температурі 70 ^{0}С. Суміш містила 10 об'ємних частин 1 % водного розчину сульфарсазену, 10 об'ємних частин 4 % водного розчину ацетату натрію, 0,04 об'ємних частин 25 % водного розчину гідроксиду амонію. Після цього препарати промивали протягом 1 хв дистильованою водою та замикали в желатин. Мазок розглядали під світловим мікроскопом. На препаратах цинк визначали в гранулах зернистих лейкоцитів за помаранчевим забарвленням [164].

Визначення вмісту цинку на парафінових зрізах. Гіпокамп та епіфіз фіксували протягом 4 год у холодному (+4 °С) 70° спирті, насиченому сірководнем. Потім їх проводили через спирти зростаючої міцності (80°, 90°, 96°, 100° - по 4 год у кожному), два ксилоли (по 15 хв у кожному), суміш 50 % ксилолу та 50 % парафіну (по 30 хв при температурі 40 ºС), два рідкі парафіни (по 1,5 год у кожному при 56 °С) та заливали в парафін [89, 92, 288].

Парафінові зрізи 5 мкм завтовшки обробляли у двох ксилолах і спиртах (по 3 хв у кожному), забарвлювали 5 хв 0,01% спиртовим розчином 8-ТСХ [121], промивали 1 хв у гарячому (70 °С) 0,1н розчині їдкого натру, підсушували на повітрі, замикали в гліцерин і розглядали під люмінесцентним мікроскопом. Для збудження люмінесценції використовували світлофільтр ФС-1, а в якості захисного (окулярного) застосовували світлофільтр (зі скла) ЖС-18. На препаратах жовто-зелена люмінесценція визначалася в глутаматергічних синапсах зубчастої фасції та полей СА1 – СА4 гіпокампа, синаптичних пухирцях булавовидно розширених відростків пінеалоцитів, які стикаються з капілярами.

Визначення цинку в інших органах. Шматочки тканин (вилочкової і підшлункової залоз) фіксували протягом 12 год у холодному (+4 ^{0}C) ацетоні. Після цього шматочки проводили через два ксилоли (по 15 хв у кожному), суміш 50 % ксилолу та 50 % парафіну (30 хв при +40 ^{0}C), два рідкі парафіни (по 1,5 год у кожному при +56 ^{0}C) та заливали в парафін. Парафінові зрізи 10 мкм завтовшки обробляли двома ксилолами та спиртами (по 3 хв у кожному). У випадку з підшлунковою залозою зрізи забарвлювали протягом 1 хвилини 0,01% ацетоновим розчином 8-ТСХ, а у випадку з тимусом – 0,1 % спиртовим розчином цього реагенту впродовж 5 хв. Після цього промивали дистильованою водою впродовж 5 хв. Забарвлені зрізи замикали в гліцерин та розглядали під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1, ЖС-18). На препаратах жовто-зелена люмінесценція (показник вмісту цинку в клітинах) визначалась в клітинах тимуса та панкреатичних острівців [73, 108, 109, 200-202].

Цитохімічне визначення магнію.

Реакція магнезону в гранулоцитах крові. Мазки крові фіксували протягом 5 хв у висхідних парах формаліну. Забарвлювали протягом 12 год у суміші, яка складається з 1 об'ємної частини 1 % розчину магнезону, 5 об'ємних частин 10 % розчину ацетату натрію, 1 об'ємної частини 0,25 % розчину гідроксиду амонію та 3 об'ємних частин дистильованої води. Після забарвлення мазки промивали дистильованою водою впродовж 5 хв. На зафарбований препарат наносили каплю імерсійної олії та розглядали під світловим мікроскопом [162]. На препаратах магній визначали за червоним забарвленням гранул у цитоплазмі зернистих лейкоцитів.

Для цитохімічного визначення магнію в підшлунковій залозі заморожені зрізи органа 30-60 мкм завтовшки флуорохромували 1 % водним розчином ЛМ впродовж 3 год і розглядали під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1 і ЖС-18). У мишей і щурів β-інсулоцити давали рожеве світіння.

Цитохімічне визначення міді.

Реакція дитіооксаміду в гранулоцитах крові (ДТО). Мазки крові фіксували протягом 5 хв у парах формаліну, потім їх забарвлювали розчином ДТО (суміш

1 об'ємної частини насиченого спиртового розчину рубеанової кислоти, 19 об'ємних частин 2 % водного розчину ацетату натрію та 0,02 об'ємних частин 25 % водного розчину гідроксиду амонію) протягом 3 годин при 70 ^{0}С. Після забарвлення мазки крові промивали дистильованою водою протягом 5 хв, підсушували на повітрі, замикали в гліцерин-желатин. Препарати розглядали під світловим мікроскопом. Мідь визначали в цитоплазмі гранулоцитів крові за темно – зеленим забарвленням гранул [161].

2.2.2. Цитохімічні методи визначення секреторного матеріалу в клітинах

Реакція метилового зеленого-еозину (МЗЕ) в гранулоцитах крові. Мазки крові фіксували в висхідних парах формаліну протягом 5 хв. Потім мазки забарвлювали 1 % водним розчином метилового зеленого. Через 1 хв забарвлення мазки повторно фіксували протягом 15-30 хв у парах формаліну, промивали дистильованою водою впродовж 1 хв та забарвлювали 1 % водним розчином еозину протягом 30 хв. Зафарбовані та промиті дистильованою водою мазки крові замикали в гліцерин-желатин та досліджували в світловому мікроскопі. На забарвлених препаратах у цитоплазмі базофілів виявляли сині, еозинофілів – червоні, нейтрофілів – фіолетові гранули – показник вмісту секреторного матеріалу [163].

Реакція альдегідфуксину (АФ) і псевдоізоціаніну в панкреатичних клітинах β. Шматочки підшлункової залози фіксували протягом 24 год у рідині Буена (суміш пікринової кислоти, формаліну, оцтової кислоти). Потім їх проводили через спирти зростаючої міцності (70^0; 80^0; 96^0; абсолютний по 4 год у кожному). Зневоднені шматочки витримували в ксилолах, суміші ксилолу з парафіном, рідких парафінах та заливали в парафін, як вказано вище. Парафіновані зрізи 5-10 мкм товщиною витримували в суміші перманганату калію та сірчаної кислоти (до порудіння), щавлевої кислоти (до знебарвлення), дистильованій воді.

При постановці АФ-реакції зрізи забарвлювали протягом 6 хв 0,25 % спиртовим розчином альдегідфуксину, обробляли солянокислим спиртом, промивали водопровідною водою та замикали в гліцерин-желатин. Препарати розглядали в світловому мікроскопі. На препаратах у цитоплазмі панкреатичних клітин β визначали синьо-фіолетову зернистість – показник вмісту інсуліну [165].

При постановці псевдоізоціанінової реакції зрізи залози забарвлювали впродовж 30 хв 1 % спиртовим розчином псевдоізоціаніну та розглядали під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1 і ЖС-18). На препаратах у цитоплазмі інсулінпродукуючих клітин β виявляли жовто-зелену люмінесценцію.

2.2.3. Методика оцінювання вмісту внутрішньоклітинних металів і секреторних матеріалів, що їх містять

Вміст цинку в клітинах оцінювали в мкг/мл, так як тільки реакція 8-ТСХ на цинк є кількісною. Нами були отримані докази відсутності метахромазії, вицвітання препаратів під впливом збуджуючого люмінесценцію світла. Оптична щільність об’єкту була мала (менше 0,2 одиниць щільності), тому для збудження люмінесценції клітин використовували світлофільтр ФС–1, який пропускає світло з довжиною хвилі більше 300 нм. Підлеглість закону Бугера-Ламберта доведена вимірюванням флуоресценції зрізів різної товщини. Для доказу підлеглості закону Бера були проведені порівняльні дослідження флуоресценції клітин результатами прямого хімічного аналізу екстрактів із забарвленням зрізів. Таким чином, була доведена придатність цитохімічної реакції 8-ТСХ для кількісного визначення цинку в клітинах [192].

Нами застосовувався цифровий фотографічний варіант цитофлуоріметрії. Результати цитомікрофлуориметрії можна було перевести у відносні одиниці вмісту цинку, для чого використовували калібрувальну криву. Для її побудови на вісі ординат відкладали інтенсивність світіння об'єкту, а на вісі абсцис - концентрацію цинку (в мкг/мл стандартних розчинів).

Стандартні розчини готували наступним чином. Перемішували 0,43 г сульфату цинк, 91 мл 1 % ацетонового розчину 8-ТСХ, дистильованої води до 1л. Суміш відфільтровували через беззольний фільтр. 10 мл огарку сірки розчиняли в 100 мл ацетону. Отриманий основний розчин містив 1 мл 10 мкг цинку. Серія стандартних розчинів готували розведенням основного розчину таким чином, щоб 1 мл містилось 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 мкг/мл цинку. Еталонний об'єкг готували шляхом просочування вказаними розчинами депарафінованих зрізів постійної товщини.

При постановці цитохімічних реакцій ЛМ і псевдоізоціаніну інтенсивність флуоресценції клітин (в ум.од.) також визначали за допомогою мікрофлуориметру.

Інтенсивність цитохімічних реакцій (дитизону, сульфарсазену, ДТО, магнезону, альдегідфуксину, МЗЕ, флоксину) оцінювали напівкількісним методом, який полягав у визначенні інтенсивності реакції за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським [187], Ф.Хейхоу та Д.Квагліно [208]. За один бал приймали слабопозитивну реакцію, два бали – помірну, три бали – виражену за інтенсивністю реакцію. На підставі підрахунку на 100 клітинах виводили середню величину інтенсивності реакції. Кількісний метод полягав у підрахунку кількості гранул у клітинах. Середня величина виводилась на підставі підрахунку на 100 клітинах.

2.3. Біохімічні методи визначення металів, інсуліну та глікемії

2.3.1. Визначення концентрацій цинку, міді та магнію в сироватці та плазмі крові

Визначення концентрації цинку в крові виконували колориметричним методом без депротеїнизації стандартним набором реактивів «SPINREACT» для визначення концентрації цинку в біологічному матеріалі.

Принцип методу: Цинк, присутній у сироватці крові, взаємодіє з 5-Br-PAPS – 2 - (5 – бромо – 2 - пиридиласол) – 5 - (N – пропіл – N - сульфо-пропіламіно)-фенолом, який входить до складу буферного розчину з pH 8,6 та утворює хелатний комплекс рожевого кольору. Інтенсивність забарвлення прямопропорційна концентрації цинку в пробі.

Розрахунок концентрації цинку виконували за допомогою формули:

$$\text{Цинк (мкмоль/л)} = \frac{A_{\text{досл.}}}{A_{\text{станд.}}} \times 30{,}6,$$

де $A_{\text{досл.}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$A_{\text{станд.}}$ – оптична щільність стандартної (еталонної) проби;

30,6 – концентрація цинку (мкмоль/л) в стандартній пробі.

Референтні величини: концентрація цинку в сироватці / плазмі – 10,4 – 16,4 мкмоль/л.

Визначення концентрації магнію в біологічному середовищі виконувалося стандартним набором реактивів «Lachema» для фотометричного визначення концентрації магнію в біологічному матеріалі.

Принцип методу: в лужному середовищі 1-(2-оксіазо)-2-нафтол-3-(2,4-диметил)-карбоксианілид (магон) реагує з іонами магнію та утворює комплекс червоного кольору [469].

Розрахунок концентрації магнію виконували за допомогою формули:

$$\text{Магній (ммоль/л)} = \frac{A_{\text{досл.}}}{A_{\text{станд.}}} \times 0{,}823,$$

де $A_{\text{досл.}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$A_{\text{станд.}}$ – оптична щільність стандартної (еталонної) проби;

0,823 – концентрація магнію (ммоль/л) в стандартній (еталонній) пробі.

Референтні величини: концентрація магнію в сиворотці крові 0,7 – 1,07 ммоль/л.

Визначення концентрації міді в крові виконували стандартним набором реактивів «Lachema» для фотометричного визначення концентрації міді в сироватці крові.

Принцип методу: батокупроїн, який присутній в реакційній суміші, взаємодіє з іонами одновалентної міді, що знаходяться в сироватці крові, утворює стійкий комплекс оранжевого кольору, який можна використовувати для фотометричного визначення концентрації міді в сироватці крові [160].

Розрахунок концентрації міді виконували за допомогою формули:

$$\text{Мідь (мкмоль/л)} = 30 \times \frac{A_1}{A_2},$$

де A_1 - оптична щільність дослідної проби;

A_2 – оптична щільність стандартної (еталонної) проби;

30 – концентрація міді (мкмоль/л) в стандартній (еталонній) пробі.

Референтні значення: концентрація міді в сироватці крові – 11,0 - 24,4 мкмоль/л.

2.3.2. Визначення концентрацій інсуліну та глюкози в крові

Кількісне визначення інсуліну в сиворотці крові проводилось за допомогою стандартного набору реактивів Інсулін ELISA «DIAMER», який призначений для визначення інсуліну в крові за даною методикою.

Принцип методу: Набір Інсулін ELISA, твердофазний двобічний ензимний імуноаналіз. Він базується на принципі «сандвіча» в якому два моноклональних антитіла направляються проти розподілених антигенних детермінант на молекулі інсуліну. Протягом інкубації інсулін у зразку вступає в реакцію з біотин-кон'югованими анти-інсулін антитілами, зв'язується в мікротитраційних лунках. Промивкою зразка усувається залишки не зв'язаного біотин-антитіла.

Протягом другої інкубації ензимний комплекс стрептавідін-пероксидази зв'язується з біотин-анти-інсулін антитілами. Зв'язаний комплекс визначається

реакцією з 3,3′, 5,5′-тетраметілбензидіном. Реакція зупиняється доданням кислоти, яка дає забарвлення. Абсорбцію виміряють спектрофотометром.

Розрахунок результатів проводили за стандартною калібрувальною кривою, яка готувалася для кожного тесту окремо. Для цього відмічали значення абсорбції для стандартів проти концентрації інсуліну на логарифмічному папері та креслили стандартну криву, за допомогою якої визначали концентрацію інсуліну в невідомих зразках.

Референтні значення: концентрація інсуліну в сироватці крові від 2 до 25 мкМО/мл (первинний результат).

Визначення глюкози в сироватці крові проводилося двома методами глюкозооксидазним у людей та методом Хаггедорна-Йєнсена в щурів, який визнаний більш специфічним для тварин.

Глюкозооксидазний метод. Аналіз проводився при застосуванні стандартного набору «Філісіт-Діагностика» для визначення глюкози в біологічних рідинах глюкозооксидазним методом.

Принцип методу. Глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназолом з утворенням хініноміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометричним методом.

Розрахунок вмісту глюкози виконували за допомогою формули:

$$\text{Глюкоза (ммоль/л)} = 10 \times \frac{E_{досл.}}{E_{кал.}},$$

де $E_{досл.}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{кал.}$ – оптична щільність калібрувальної проби;

10 – концентрація глюкози (ммоль/л) в калібрувальній пробі.

Референтні значення: концентрація глюкози в сироватці крові – 4,22 – 6,11 ммоль/л.

Метод Хаггедорна-Йєнсена використовувався для визначення глюкози в крові тварин [73, 201, 202]. 0,1 мл крові змішували з сумішшю 5 мл 0,45 % розчину сірчанокислого цинку та 1 мл 0,1 н розчину гідрооксиду натрію. Отриману суміш ретельно перемішували, піддавали кип'ятінню протягом 3 хв та фільтрували крізь беззольний фільтр. До отриманого фільтрату додавали 2 мл 2 % розчину циано-(III) феррату, кип'ятили 15 хв та додавали суміш з 3 мл трійчастого розчину та 2 мл 3 % розчину оцтової кислоти.

Потрійний розчин готували заздалегідь наступним чином: 1г йодистого калію розчиняли в 40 мл подвійного розчину (суміш 2 г сірчанокислого цинку, 10 г хлористого натрію та 40 мл дистильованої води). Визначення концентрації глюкози проводили за допомогою титрування дослідного розчину 0,005 н розчином гіпосульфіта. За даними таблиці встановлювали концентрацію глюкози.

2.4. Статистична обробка отриманих результатів

Експериментальні дані обробляли з використанням t – критерію Стьюдента, що пояснюється нормальним характером розподілу варіант у вибірках (критерій Колмагорова-Смірнова, Statistica, 6.0). для оцінки ступеня зв'язку між змінами досліджених показників обчислювали коефіцієнт кореляції Пірсона (r).

ГЛАВА 3. ВИЗНАЧЕННЯ ЦИНКУ, МАГНІЮ ТА ІНСУЛІНУ В ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦЯХ РІЗНИХ ВИДІВ ТВАРИН

Виклад матеріалу в попередніх главах матеріалу свідчить про те, що інсулін є специфічним продуктом (гормоном) β-клітин острівців Лангерганса, в яких присутній цинк, що здатний утворювати гексамер [6, 7, 73, 258, 337]. Останній можливо, накопичується в секреторних гранулах („депо-форма" гормону) вказаних клітин [73, 201, 202, 207, 252, 366]. Чисельні літературні дані стосуються також клітинно-молекулярних механізмів інкреторної функції підшлункової залози, але до кінця це питання залишається не з'ясованим. Не зважаючи на те, що магній відіграє важливу роль в діяльності інсулярного апарату, значення цього металу для функціонування β-інсулоцитів остаточно не визначено. Відомо тільки, що глюкоза впливає на секрецію інсуліну опосередковано, через збільшення входження в β-клітини іонів Ca^{2+}, які активують у них мікротубулярно-мікрофіламентну систему, відповідальну за транспорт і екзоцитоз секреторних гранул [184, 209, 212, 243, 289, 325]. Антагоністом Ca^{2+} є Mg^{2+} [115, 184, 209, 243, 291]. Викид інсуліну прямо залежить від концентрації глюкози та вмісту Ca^{2+} [253, 302, 377]. На відміну від кальцію, який присутній у нем'язових клітинах у низьких концентраціях, магній здатний накопичуватися в них у значній кількості [160, 184, 209, 289]. Розробка в нашій лабораторії нових, досконалих методів цитохімічного визначення цинку та магнію в панкреатичних острівцях тварин і людини відкриває шляхи до вирішення зазначених проблем.

Насамперед, необхідно порівняти розподіл в острівцях Лангерганса інсуліну та зазначених металів у людини та деяких видів лабораторних тварин. Також становлять інтерес порівняльні дослідження змін вмісту трьох компонентів у панкреатичних β-клітинах за певних експериментальних впливів на організм, які змінюють функціональний стан цих клітин.

У таблиці 3.1 наведені дані вмісту цукру в крові, цинку, магнію та інсуліну в панкреатичних клітинах β у людей і тварин різних видів.

Таблиця 3.1

Глікемія, вміст цинку, магнію, інсуліну (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних острівцях тварин різних видів і людей

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Магній β-клітин, ум.од.	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
				Метод альдегід-фуксину, ум.од.	Метод псевдоізо-ціаніну, ум.од.	
1	2	3	4	5	6	7
Контроль (n=24)	5,8±0,17	63±4,7	58±4,2	1,2 ± 0,13	83 ± 10,0	0,92***
Миші (n=14)	5,9±0,21	67±5,3	92±6,7***	1,5 ± 0,12	108 ± 8,3	0,75***
Щури (n=16)	5,7±0,18	17±0,9***	108±7,5***	1,6 ± 0,12*	117±9,2*	0,44*
Золотисті хом'ячки (n=15)	6,4±0,21*	53±3,0	8±1,7***	1,4 ± 0,07	100±5,0	0,52*
Китайські хом'ячки (n=15)	6,3±0,18*	50±3,7	8±2,5***	1,3 ± 0,09	92±5,8	0,53*
Кролі (n=15)	5,7±0,24	63±5,0	17±3,3***	1,3 ± 0,10	92±6,7	0,58*

Примітка: * - P < 0,05; *** - P < 0,001 порівняно з контролем,
r – коефіцієнт кореляції.

Як видно з даних таблиці, у золотистих хом'ячків порівняно з людьми, які складали контрольну групу, рівень глюкози в крові був вище на 10 % (P < 0,05), а в китайських хом'ячків – на 9 % (P < 0,05). У мишей, щурів і кролів не встановлено суттєвих відмінностей глікемії від контрольних величин (P > 0,05). У панкреатичних клітинах β мишей, золотистих і китайських хом'ячків, а також кролів вміст цинку та інсуліну достовірно не відрізнявся від значень контролю (P > 0,05). В інсулінпроду-куючих клітинах β щурів порівняно з людьми рівень

металу був знижений на 74 % (P < 0,001), а вміст інсуліну, навпаки, підвищений на 33 – 41 % (P < 0,05).

Відносно людей вміст магнію в панкреатичних β-клітинах був підвищений на 59 % (P < 0,001) у мишей, 87 % (P < 0,001) – у щурів і, навпаки, знижений на 71 % (P < 0,001) у кролів, 86 % (P < 0,001) – у золотистих і китайських хом'ячків.

Порівняння результатів визначення вмісту інсуліну в панкреатичних клітинах β за допомогою специфічної люмінесцентної реакції псевдоізоціаніну та цитохімічної реакції альдегідфуксину показало, що обидва методи є достатньо інформативними та взаємозамінними. На це вказує подібна локалізація в клітинах β цитохімічних реакцій альдегідфуксину та псевдоізоціаніну.

Таким чином, у щурів на відміну від людей та інших видів тварин вміст цинку в β-інсулоцитах значно (в 3-4 рази) нижче. Для мишей і щурів характерний високий вміст магнію в острівцях, у людей встановлена помірна його кількість, а в кролів і обох видів хом'ячків – низький рівень цього внутрішньоклітинного металу. Вміст у цих клітинах інсуліну та глюкози в крові у людей і тварин різко не відрізнявся [14, 40, 68, 91, 181, 186].

Враховуючи отримані результати, представляють інтерес порівняльні дослідження у даних видів тварин стану β-клітин при експериментальних впливах, які змінюють функціональний стан інсулярного апарату.

У таблиці 3.2 містяться дані визначень глікемії, вмісту цинку та інсуліну в β-клітинах панкреатичних острівців у мишей, які зазнали впливу голодування, навантаження глюкозою та алоксану.

Із таблиці видно, глікемія у мишей, які голодували, знижувалася на 34 % (P < 0,01). У β-клітинах цих тварин підвищення вмісту цинку складало 30 % (P < 0,01), а інсуліну – 27 % (P < 0,05) - 31 % (P < 0,01). Уведення мишам глюкози призводило до підвищення рівня цукру в крові порівняно з контролем на 83 % (P < 0,001). У панкреатичних острівцях встановлено зменшення вмісту цинку на 25 % (P < 0,05), а інсуліну – на 27 % (P < 0,05) - 31 % (P < 0,01). У

тварин, які отримали алоксан, підвищення глікемії досягло 158 % (P < 0,001), падіння в клітинах β острівців вмісту цинку – 65 % (P < 0,001), інсуліну – 80% – 84 % (P < 0,001) [8, 23-25, 26, 79, 94, 117, 118, 172, 174, 248, 252, 287].

Таблиця 3.2

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β мишей при голодуванні, введенні глюкози та алоксану

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегід-фуксину, ум.од.	Метод псевдоізо-ціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=14)	5,9 ± 0,21	67±5,3	1,5 ± 0,12	108±8,3	0,52*
					0,70**
Тварини,які голодували (n=12)	3,9±0,16***	87±4,7**	1,9 ± 0,10*	142±6,7**	0,51*
					0,48*
Тварини,які отримали глюкозу (n=15)	10,8±0,42***	50±3,7*	1,1 ± 0,09*	75±5,0**	0,63*
					0,80***
Тварини,які отримали алоксан (n=43)	15,2±0,39***	23±1,7***	0,3 ± 0,05***	17±2,5***	0,61*
					0,68**

Примітка: * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 порівняно з контролем.

Отже, пригнічення інкреторної функції підшлункової залози мишей при голодуванні викликало накопичення, а активація цієї функції при навантаженні глюкозою – навпаки, зменшення вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β. Виключення інкреторної функції клітин при введенні алоксану призводило до розвитку дефіциту двох компонентів у клітинах. У всіх випадках визначалась позитивна вірогідна кореляція між рівнем металу та гормону в β-інсулоцитах піддослідних мишей, що свідчить про зв'язок цих двох показників.

Дані таблиці 3.3 відображають результати проведення досліджень впливу голодування, введення глюкози та алоксану на стан інсулярного апарату щурів.

Таблиця 3.3

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β щурів при голодуванні, введенні глюкози та алоксану

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфук-сину, ум.од.	Метод псевдоізо-ціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=16)	5,7 ± 0,18	17±0,9	1,6 ± 0,12	117±9,2	0,53*
					0,44*
Тварини,які голодували (n=14)	4,0±0,17***	23±1,3***	2,0 ± 0,11*	150±12,5*	0,52*
					0,49*
Тварини,які отримали глюкозу (n=13)	10,5±0,39***	13±0,9*	1,2 ± 0,10*	83±5,8**	0,61*
					0,58*
Тварини, які отримали алоксан (n=49)	14,3±0,50***	7±0,7***	0,2 ± 0,04***	17±0,8***	0,58*
					0,75**

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Як видно з даних цієї таблиці, у тварин після голодування глікемія зменшувалася на 30 % ($P < 0,001$), а в панкреатичних клітинах β встановлено збільшення вмісту цинку на 40 % ($P < 0,001$) та вмісту інсуліну на 25 – 28 % ($P < 0,05$). Уведення глюкози щурам призводило до підвищення рівня цукру в крові на 81 % ($P < 0,001$), зниження вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β відповідно на 20 % ($P < 0,05$) і 25 % ($P < 0,05$) – 29 % ($P < 0,01$).

Ін'єкція алоксану в щурів викликала зростання глікемії на 151 % ($P < 0,001$). У β-клітинах острівців цих тварин діабетогенний агент призводив до падіння вмісту металу на 60 % ($P < 0,001$), гормону – на 85 – 87 %

(P < 0,001) [8, 15, 23, 25, 32, 33, 89, 92, 117, 118, 172, 174, 207, 249, 252, 287, 288, 386].

Отже, пригнічення функції інсулінпродукуючих клітин у щурів при голодуванні викликало накопичення, а активація цієї функції при навантаженні глюкозою – навпаки, зменшення вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних β-клітинах. Виключення інкреторної функції клітин при введенні алоксану призводить до розвитку дефіциту двох компонентів у клітинах. Позитивні достовірні коефіцієнти кореляції вказують на те, що зміни вмісту цинку супроводжуються відповідними змінами вмісту інсуліну в панкреатичних β-клітинах щурів при різному функціональному стані їх інсулярного апарату.

У таблиці 3.4 зведені дані визначень рівня глюкози в крові, вмісту цинку та інсуліну в клітинах β панкреатичних острівців у золотистих хом'ячків, які зазнали впливу голодування, навантаження глюкозою та введення алоксану.

Таблиця 3.4

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β золотистих хом'ячків при голодуванні, введенні глюкози та алоксану

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=15)	6,4±0,21	53±3,0	1,4 ± 0,07	100 ± 5,0	0,54*
					0,61*
Тварини, які голодували (n=11)	4,2±0,18***	70±3,7***	1,7 ± 0,08**	125 ± 9,2*	0,55*
					0,76**
Тварини, які отримали глюкозу (n=10)	11,5±0,43***	43±2,0*	1,2 ± 0,05*	83 ± 5,8*	0,56*
					0,75**
Тварини, які отримали алоксан (n=12)	17,1±0,41***	10±0,7***	0,1 ± 0,01***	8±2,5***	0,46*
					0,87***

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Із таблиці видно, що у тварин після голодування глікемія зменшувалася на 34 % (P < 0,01). В інсулінпродукуючих клітинах β вміст цинку збільшувався на 31 % (P < 0,001), рівень інсуліну – на 21 % (P < 0,01) - 25 % (P < 0,05). Після ін'єкції глюкози у хом'ячків рівень цукру в крові зростав на 80 % (P < 0,001), вміст цинку та інсуліну в β-клітинах острівців на 19 % (P < 0,05) і 14 % - 17 % (P < 0,05) відповідно менше контрольних величин. У тварин, які отримали алоксан, глікемія підвищувалася на 167 % (P < 0,001). У β-інсулоцитах хом'ячків цієї групи вміст цинку зменшувався на 81 % (P < 0,001), а інсуліну – на 92 – 93 % (P < 0,001) [16, 23, 39, 95, 171, 287, 301, 367].

Висока достовірність коефіцієнтів кореляції при високій їх щільності вказує на існування певного зв'язку між змінами рівня металу та гормону в панкреатичних острівцях піддослідних тварин.

Аналогічна картина спостерігалась у дослідах на китайських хом'ячках.

Таблиця 3.5

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M*± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β китайських хом'ячків при голодуванні, введенні глюкози та алоксану

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=15)	5,7±0,24	50±3,7	1,3 ± 0,09	92±5,8	0,53*
					0,68**
Тварини, які голодували (n=14)	4,4±0,15***	63±5,0*	1,6 ± 0,11*	117±10,0*	0,52*
					0,78***
Тварини, які отримали глюкозу (n=12)	11,0±0,26***	40±2,3*	1,0 ± 0,06*	67±4,2**	0,54*
					0,82***
Тварини, які отримали алоксан (n=14)	16,6±0,39***	10±0,9***	0,2 ± 0,01***	17±2,5***	0,65**
					0,74**

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Отримані дані вказують на те, що під впливом гострого голодування концентрація глюкози в крові знижувалась на 30 % (P < 0,01), а вміст цинку та інсуліну в острівцевих β-клітинах зростав відповідно на 27 % (P < 0,05) і 23 – 27 % (P < 0,05). Навантаження глюкозою викликало в китайських хом'ячків зростання рівня цукру в крові на 75 % (P < 0,001) та зменшення в інсулінпродукуючих β-клітинах кількості металу на 20 % (P < 0,05), гормону – на 23 % (P < 0,05) – 27 % (P < 0,01). У алоксанових тварин гіперглікемія досягала 163 % (P < 0,001), а дефіцит внутрішньоклі-тинних компонентів відповідно 80 % (P < 0,001) і 82 - 85 % (P < 0,001). У всіх випадках встановлені високої вірогідності та щільності позитивні коефіцієнти кореляції змін вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях китайських хом'ячків.

Отже, гальмування секреторної активності β-клітин у золотистих і китайських хом'ячків при голодуванні викликало накопичення цинку та інсуліну в них. Зворотні відносини (зменшення кількості двох компонентів) спостерігалися при підсиленні секреторної активності цих клітин внаслідок уведення глюкози. Виключення функції інсулярного апарату тварин після ін'єкції алоксану призводило до виснаження в клітинах депо цинку та інсуліну. Встановлена позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в β-клітинах.

Про вплив голодування, навантаження глюкозою та введення алоксану на рівень цукру в крові, цинку та інсуліну в острівцевих β-клітинах кролів можна судити на підставі даних таблиці 3.6.

Після голодування глікемія зменшувалась на 37 % (P< 0,001), а в панкреатичних клітинах β збільшувався вміст цинку на 26 % (P < 0,05), інсуліну – на 31 - 36 % (P < 0,01). Уведення глюкози кролям призводило до зростання рівня цукру в крові на 81 % (P < 0,001) і падіння вмісту цинку та інсуліну в острівцевих β-клітинах відповідно на 26 % (P < 0,05) і 38-46 % (P < 0,001). Призначення діабетогенного агенту алоксану тваринам викликало підвищення глікемії на 305 % (P < 0,001) і зниження рівня цинку на 89 % (P < 0,001) та вмісту інсуліну на 91- 92 % (P < 0,001) [23, 25, 28, 89, 170-172, 251].

Таблиця 3.6

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M*± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β кролів при голодуванні, введенні глюкози та алоксану

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=15)	5,7 ± 0,24	63±5,0	1,3±0,10	92±6,7	0,56* 0,73**
Тварини, які голодували (n=14)	3,6±0,13***	80±4,3*	1,7±0,10**	125±10,0**	0,51* 0,89***
Тварини, які отримали глюкозу (n=12)	10,3±0,42***	47±4,0*	0,8±0,05***	50±3,3***	0,50* 0,91***
Тварини, які отримали алоксан (n=14)	23,1±0,46***	7±0,9***	0,1±0,02***	8±0,08***	0,58* 0,90***

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Таким чином, при голодуванні у кролів спостерігалось зниження рівня цукру в крові, накопичення цинку та інсуліну в β-клітинах панкреатичних острівців внаслідок гальмування функції інсулярного апарату. Підсилення його функції при уведенні глюкози, специфічного стимулятора секреції інсуліну, навпаки, викликало у тварин збільшення глікемії та зменшення кількості двох компонентів. Подальше зростання концентрації глюкози, виснаження в досліджених клітинах депо цинку та інсуліну розвивалось після ін'єкції алоксану внаслідок виключення функції інсулярного апарату. Позитивні коефіцієнти кореляції вказують на односпрямовані зміни вмісту та інсуліну в інсулінпродукуючих клітинах В піддослідних кролів.

Дані вмісту інсуліну в крові та цинку та інсуліну в β-інсулоцитах кролів, які зазнали впливу голодування, введення глюкози та алоксану, зведені в таблицю 3.7.

Таблиця 3.7

Вміст інсуліну в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у кролів при голодуванні, введенні глюкози та алоксану

Група тварин	Інсулін крові, мкО/мл	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=15)	13,4±1,28	63±5,0	1,3±0,10	92±6,7	0,56*
					0,73**
Тварини, які голодували (n=14)	5,7±0,64***	80±4,3*	1,7±0,10**	125±10,0**	-0,52*
					-0,83**
Тварини, які отримали глюкозу (n=12)	18,7±1,36**	47±4,0*	0,8±0,05***	58±3,3***	- 0,53*
					- 0,90***
Тварини, які отримали алоксан (n=14)	1,2±0,17***	7±0,9***	0,1±0,02***	0,8±0,08***	0,51*
					0,50*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Голодування у тварин викликало зниження вмісту інсуліну в крові на 57 % ($P < 0,001$) і підвищення вмісту металу та гормону в β-клітинах відповідно на 26 % ($P < 0,05$) і 31 – 36 % ($P < 0,01$). Призначення глюкози у кролів збільшувало рівень гормону в крові на 40 % ($P < 0,01$) і зменшувало вміст внутрішньоклітинних цинку на 26 % ($P < 0,05$), інсуліну – на 37 – 38 % ($P < 0,001$).

Такі різноспрямовані зміни в обох випадках підтверджувалися негативним кореляційним зв'язком вмісту інсуліну в крові та цинку та інсуліну в острівцях. Достовірний характер коефіцієнтів кореляції при їх помірній

щільності вказує на існування певного зв'язку між змінами цих показників у піддослідних кролів.

Ін'єкція діабетогенного агенту алоксану призводило до падіння концентрації інсуліну в крові на 90 % ($P < 0,001$), цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β на 89 % ($P < 0,001$) і 91 – 92 % ($P < 0,001$) відповідно. Встановлена позитивна кореляція змін вмісту гормону в крові зі змінами гормону та металу в клітинах β.

Отже, гальмування секреторної активності β-клітин при голодуванні викликало зниження вмісту інсуліну в крові та підвищення вмісту цинку та інсуліну в острівцевих клітинах β. Зворотні відносини (збільшення концентрації гормону в крові та зменшення його рівня та металу в β-інсулоцитах) спостерігалися при підсиленні секреторної активності цих клітин внаслідок уведення глюкози. Виключення функції інсулярного апарату після ін'єкції алоксану призводило до різкого падіння вмісту інсуліну в крові, цинку та інсуліну в клітинах β панкреатичних острівців.

У табл.3.8 містяться результати досліджень вмісту цинку за допомогою 8-ТСХ-реакції та магнію за допомогою реакції люмомагнезону (ЛМ) в острівцевих клітинах β мишей і щурів, які зазнали впливу голодування, введення глюкози та алоксану.

Після голодування в мишей рівень цинку та магнію в β-клітинах острівців підвищувався відповідно на 30 % ($P < 0,01$) і 36 % ($P < 0,001$), а в щурів – на 35 % ($P < 0,001$) і 39 % ($P < 0,001$) .

Призначення глюкози викликало в мишей зниження в β-інсулоцитах вмісту цинку на 24 % ($P < 0,05$), магнію – на 27 % ($P < 0,01$), а в щурів відповідно – на 24 % ($P < 0,05$) і 23 % ($P < 0,05$).

Ін'єкція алоксану мишам викликала падіння рівня цинку на 66 % ($P < 0,001$) і магнію – на 54 % ($P < 0,001$). У щурів ці цифри становили відповідно 59 % ($P < 0,001$) і 54 % ($P < 0,001$) [24, 87, 91, 181].

Таблиця 3.8

Вміст цинку та магнію (*M* ± *m*) і їх взаємозв'язок (r)
у панкреатичних клітинах β мишей і щурів при голодуванні,
введенні глюкози та алоксану

Група тварин	Миші		Щури		$r_{2,3}$	$r_{4,5}$
	Метод 8-ТСХ, мкг/мл	Метод ЛМ, ум.од.	Метод 8-ТСХ, мкг/мл	Метод ЛМ, ум.од.		
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	67 ± 5,3 (n=14)	92 ± 6,7 (n=14)	17 ± 0,9 (n=16)	108±7,5 (n=16)	0,60*	0,42*
Тварини, які голодували	87±4,7** (n=12)	125±8,3*** (n=12)	23±1,3*** (n=14)	150±9,2*** (n=14)	0,48*	0,41*
Тварини, які отримали глюкозу	50 ± 3,7* (n=15)	67±5,0** (n=15)	13±0,9* (n=13)	83±6,7* (n=13)	0,54*	0,46*
Тварини, які отримали алоксан	23±1,7*** (n=43)	42±2,5*** (n=43)	7±0,6*** (n=49)	50±3,3*** (n=49)	0,60*	0,41*

Примітка: * - P < 0,05; ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

Таким чином, пригнічення інкреторної функції підшлункової залози при голодуванні викликає накопичення цинку та магнію, а активація цієї функції при навантаженні глюкозою – навпаки, зменшення їх вмісту в панкреатичних клітинах β мишей і щурів. Виключення інкреторної функції клітин β при введенні алоксану призводило до розвитку дефіциту двох компонентів у клітинах. У всіх випадках спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку та магнію в β-клітинах тварин.

Серія дослідів була присвячена впливу катехоламіну, глюкокортикоїда, холіноміметика й холінолітика на рівень інсуліну, цинку та магнію в β-інсулоцитах підшлункової залози.

У табл.3.9 наведені результати визначення стану інсулярного апарату у мишей при введенні речовин, які модулюють вплив симпатичної і парасимпатичної частин вегетативної нервової системи.

Таблиця 3.9

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у мишей при введенні адреналіну, преднізолону, пілокарпіну

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=14)	5,9±0,21	67 ± 5,3	1,5 ± 0,12	0,42*
Тварини, які отримали адреналін (n=12)	12,1±0,48***	87±4,3**	2,0 ± 0,15**	0,41*
Тварини, які отримали преднізолон (n=10)	11,7±0,46***	83±4,0*	1,9 ±0,12*	0,41*
Тварини, які отримали пілокарпін (n=11)	3,4±0,15***	47±3,7**	0,8±0,7***	0,42*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Як видно з таблиці, призначення адреналіну щурам викликало збільшення вмісту цукру в крові на 105 % (P < 0,001), цинку та інсуліну в β-інсулоцитах відповідно на 30 % (P < 0,01) і 33 % (P < 0,01).

Аналогічні, але менш виражені, зміни спостерігалися після призначення тваринам преднізолону: вміст глюкози в крові збільшувався на 95 % (P < 0,001), а цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях відповідно на 24 % (P < 0,05) і 27 % (P < 0,05).

Зворотні зміни кількості цих компонентів спостерігається під впливом пілокарпіну: зниження рівня цукру в крові дорівнювало 42 % (P < 0,001), цинку та інсуліну в β-інсулоцитах – 30 % (P < 0,01) і 47 % (P < 0,001) [19, 24, 27, 29, 43, 52, 153, 174, 248].

Отож, наведені в таблиці дані вказують на те, що гормони наднирників викликають у мишей накопичення цинку та гормону в панкреатичних клітинах β. Зворотній результат при введенні пілокарпіну пов'язаний з підсиленням секреторної активності інсулярного апарату та гальмуванням інкреторної функції наднирників. Встановлена позитивна кореляція змін вмісту цинку та гормону інсуліну в острівцевих β-клітинах.

Про зміни глікемії, вмісту цинку та інсуліну в клітинах β панкреатичних острівців у щурів, які зазнавали впливу адреналіну, преднізолону, пілокарпіну, можна судити на підставі даних таблиці 3.10.

Таблиця 3.10

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у щурів при введенні адреналіну, преднізолону, пілокарпіну

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=16)	5,7±0,18	17 ± 0,9	1,6 ± 0,12	0,43*
Тварини, які отримали адреналін (n=12)	11,8±0,42***	23 ± 2,7**	2,1 ± 0,14**	0,47*
Тварини, які отримали преднізолон (n=10)	11,5±0,43***	20 ± 1,0*	2,0 ±0,13*	0,42*
Тварини, які отримали пілокарпін (n=11)	3,5±0,18***	10 ± 0,7***	0,9±0,7***	0,44*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Як видно з таблиці, призначення адреналіну щурам викликало збільшення вмісту цукру в крові на 109 % (P < 0,001), цинку та інсуліну в β-інсулоцитах відповідно на 35 % (P < 0,01) і 31 % (P < 0,01).

У тварин, які отримали преднізолон, глікемія зростала на 102 % (P < 0,001). У панкреатичних острівцях рівень цинку та інсуліну 18 % (P < 0,05) і 25 % (P < 0,05) відповідно вище контрольних величин.

Після ін'єкції пілокарпіну, навпаки, встановлено зниження рівня глюкози в крові на 39 % (P < 0,001), в інсулінпродукуючих клітинах вмісту цинку та інсуліну відповідно на 41 % (P < 0,001) і 44 % (P < 0,001) [19, 29, 33, 43, 52, 174, 366].

Таким чином, у щурів рівень цукру в крові, вміст цинку та інсуліну в клітинах В острівців підвищують адреналін, преднізолон та знижує пілокарпін.

У табл. 3.11 представлені результати досліджень глікемії, рівня цинку та інсуліну в клітинах β острівців золотистих хом'ячків після ін'єкцій симпатоміметика, глюкокортикоїда, холіноміметика.

Таблиця 3.11

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у золотистих хом'ячків при введенні адреналіну, преднізолону, пілокарпіну

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=15)	6,4±0,21	53 ± 3,0	1,4 ± 0,07	0,54*
Тварини, які отримали адреналін (n=12)	10,5±0,44***	67 ± 4,0**	1,8±0,10***	0,58*
Тварини, які отримали преднізолон (n=10)	10,2±0,40***	63 ± 3,3*	1,7±0,11*	0,57*
Тварини, які отримали пілокарпін (n=11)	3,7±0,14***	37 ± 3,0***	0,9±0,06***	0,50*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Із таблиці видно, що у хом'ячків, які отримали адреналін, концентрація глюкози в крові на 64 % більше за норму (P < 0,001). Вміст цинку та інсуліну в клітинах β острівців підвищувався на 26 % (P < 0,01) і 29 % (P < 0,01).

Схожі зміни глікемії, вмісту металу та гормону спостерігалися після ін'єкції преднізолону цим тваринам: зростання глікемії складало 59 % (P < 0,001), рівня цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях на 19 % (P < 0,05) і 21 % (P < 0,05) відповідно.

Призначення пілокарпіну, навпаки, призводило до зниження в крові вмісту цукру на 42 % (P < 0,001), в інсулінпродукуючих клітинах цинку – на 30 % (P < 0,001) і гормону – на 36 % (P < 0,001) [29, 82].

Отже, у хомячків спостерігалося підвищення глікемії, вмісту цинку та інсуліну в клітинах β при введенні адреналіну, преднізолону, а при введенні пілокарпіну всі три показники були знижені. Встановлена позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в досліджених клітинах.

Результати визначень концентрації глюкози в крові, цинку та інсуліну в інсулінпродукуючих клітинах β кролів, які зазнали впливу адреналіну, преднізолону, пілокарпіну зведені в таблиці 3.12.

Як видно з даних цієї таблиці, у кролів після ін'єкції адреналіну підвищення в крові цукру досягло 65 % (P < 0,001), в панкреатичних клітинах β – вмісту цинку та інсуліну на 38 % (P < 0,01) і 31% (P < 0,01) відповідно.

Збільшення глікемії, рівня цинку та інсуліну в острівцевих клітинах β було менш виражене у тварин, які отримали преднізолон, і складало відповідно 61 % (P < 0,001), 32 % (P < 0,01), 38 % (P < 0,01).

Призначення пілокарпіну кролям, навпаки, призводило до зниження глікемії на 39 % (P < 0,001), вмісту цинку та інсуліну в β-інсулоцитах – на 37 % (P < 0,001) і 54 % (P < 0,001) відповідно [19].

Таблиця 3.12

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у кролів при введенні адреналіну, преднізолону, пілокарпіну

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=15)	5,7±0,24	63 ± 5,0	1,3 ± 0,10	0,54*
Тварини, які отримали адреналін (n=12)	9,4±0,46***	87 ± 4,7**	1,7 ± 0,11**	0,50*
Тварини, які отримали преднізолон (n=10)	9,2±0,41***	83 ± 5,3**	1,8 ±0,10**	0,51*
Тварини, які отримали пілокарпін (n=11)	3,5±0,12***	43 ± 5,3**	0,6±0,03***	0,55*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Таким чином, у кролів, як і в інших видів тварин, відмічалося підвищення глікемії, вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β при введенні адреналіну, преднізолону, а пілокарпін викликав, навпаки, зменшення трьох показників. Спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β піддослідних тварин.

Про зміни вмісту інсуліну в крові та в панкреатичних острівцях у кролів, які отримали ін'єкції адреналіну, преднізолону, пілокарпіну можна судити на підставі даних таблиці 3.13.

Із таблиці видно, що у кролів після уведення адреналіну концентрація інсуліну в крові знижувалася на 54 % ($P < 0,001$), а в клітинах β острівців підвищувалася на 27 % ($P < 0,05$) – 31 % ($P < 0,01$). Ін'єкція преднізолону у тварин викликала схожі зміни: його зростання в клітинах β становило 36 %

(P < 0,01) – 38 % (P < 0,001) та падіння рівня інсуліну в крові складало 47 % (P < 0,001).

Таблиця 3.13

Вміст інсуліну в крові та в панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) у кролів та їх взаємозв'язок (r) при введенні адреналіну, преднізолону, пілокарпіну

Група тварин	Інсулін крові, мкО/мл	Інсулін β-клітин		$r_{2,3}$	$r_{2,4}$
		Метод альдегід-фуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціа-ніну, ум.од.		
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=15)	13,4 ± 1,28	1,3 ± 0,10	92±6,7	0,51*	0,48*
Тварини, які отримали адреналін (n=12)	6,2 ± 0,75***	1,7 ± 0,11**	117±8,3*	-0,63*	-0,36*
Тварини, які отримали преднізолон (n=10)	7,1 ± 0,56***	1,8 ± 0,10***	125±10,0**	-0,57*	-0,30*
Тварини, які отримали пілокарпін (n=11)	20,3 ± 2,12**	0,6 ± 0,03***	50±4,2***	- 0,50*	-0,64*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

У тварин, які отримали пілокарпін, підвищення вмісту гормону в крові дорівнювало 51 % (P < 0,01), а його зниження в інсулінпродукуючих клітинах відповідало 54 % (P < 0,01).

Отож, у кролів вміст інсуліну знижувався в крові та підвищувався в β-клітинах при введенні адреналіну, преднізолону. Зворотні результати (підвищення кількості інсуліну в крові та зниження в клітинах) відмічали при введенні пілокарпіну. Ці дані вказують на те, що адреналін, преднізолон гальмують, а пілокарпін – активує секрецію інсуліну β-клітинами. Встановлена негативна кореляція змін вмісту гормону в крові та острівцевих клітинах β.

Представляли інтерес порівняльні дослідження вмісту цинку та магнію в панкреатичних острівцях тварин при введенні холіноміметика, глюкокортикоїда та холінолітика.

Результати таких досліджень у мишей і щурів наведені в табл.3.14.

Таблиця 3.14

Вміст цинку та магнію (*M* ± *m*) і їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β мишей і щурів при введенні адреналіну, преднізолону, пілокарпіну

Група тварин	Миші		Щури		$r_{2,3}$	$r_{4,5}$
	Метод 8-ТСХ, мкг/мл	Метод ЛМ, ум.од.	Метод 8-ТСХ, мкг/мл	Метод ЛМ, ум.од.		
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	67 ± 5,3 (n=14)	92 ± 6,7 (n=14)	17±0,9 (n=16)	108±7,5 (n=16)	0,60*	0,42*
Тварини, які отримали адреналін	87±4,3* (n=12)	125±10,0* (n=12)	23±2,7** (n=12)	150±8,3*** (n=12)	0,44*	0,45*
Тварини, які отримали преднізолон	83±4,0* (n=10)	117±8,3* (n=10)	20±1,0* (n=10)	133±10,0* (n=10)	0,53*	0,46*
Тварини, які отримали пілокарпін	47±3,7** (n=11)	50±5,8*** (n=11)	10±0,7*** (n=11)	67±5,0*** (n=11)	0,88***	0,49*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Із таблиці видно, що призначення адреналіну викликало зростання в інсулінпродукуючих клітинах β мишей кількості цинку–на 30 % ($P < 0,05$), магнію – на 36 % ($P < 0,01$), щурів – на 35 % ($P < 0,01$) і 39 % ($P < 0,001$) відповідно.

Призначення преднізолону викликало підвищення рівня цинку та магнію в β-клітинах острівців на 24 % ($P < 0,05$) і 27 % ($P < 0,05$) у мишей, 18 % ($P < 0,05$) і 23 % ($P < 0,05$) - у щурів відповідно.

Після ін'єкції пілокарпіну, навпаки, в панкреатичних клітинах β були зменшені вміст цинку на 30 % ($P < 0,01$) і вміст магнію на 46 % ($P< 0,001$) у мишей, 41 % ($P < 0,001$) і 38 % ($P < 0,001$) – у щурів [24, 87, 91, 181, 186].

Таким чином, наведені в табл. 3.14 дані вказують на те, що гормони наднирників викликали накопичення цинку та магнію в панкреатичних клітинах β тварин. Зворотній результат при введенні пілокарпіну пов'язаний з підсиленням секреторної активності інсулярного апарату та гальмуванням інкреторної функції наднирників. У всіх випадках спостерігалась позитивна кореляція досліджених внутрішньоклітинних компонентів.

У таблиці 3.15 містяться дані впливу гострого стресування на стан клітин β панкреатичних острівців кролів.

Таблиця 3.15

Глікемія, вміст інсуліну в крові та панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у кролів при іммобілізації та алкоголізації

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Інсулін крові, мкО/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$	$r_{3,5}$
			Метод альдегід-фуксину, ум.од.	Метод псевдоізо-ціаніну, ум.од.		
1	2	3	4	5	6	7
Контроль (n=15)	5,7±0,24	13,4 ± 1,28	1,3±0,10	92±6,7	0,51*	0,48*
Тварини, які піддавалися іммобілізації (n=10)	8,5±0,39***	6,3±0,61***	1,8±0,12***	125±8,3**	-0,55*	-0,32*
Тварини, які піддавалися алкоголізації (n=10)	8,3±0,35***	6,1±0,59***	1,7±0,13*	117±7,5*	-0,53*	-0,34*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Із таблиці виходить, що іммобілізаційний стрес у гострому експериментів викликав у кролів зростання концентрації цукру в крові на 49 % ($P < 0,001$), вмісту інсуліну в клітинах В острівців – на 36 % ($P < 0,01$) – 38 % ($P < 0,001$) та зниження рівня цього гормону в крові на 53 % ($P < 0,001$).

Схожі зміни рівня досліджених гормонів спостерігались у випадку одноразового уведення алкоголю кролям. Концентрація глюкози в крові на 46 %

(P < 0,001), а кількість інсуліну в інсулінпродукуючих клітинах на 27 % - 31 % (P < 0,05) вище норми. При цьому його вміст у крові був знижений на 54 % (P < 0,001) [116].

Таким чином, гостре стресування організму кролів іммобілізацією та алкоголізацією викликало пригнічення інкреторної функції підшлункової залози, на що вказує зростання рівня глюкози в крові, накопичення інсуліну в інсулярному апараті та падіння рівня цього гормону в крові.

Встановлений негативний кореляційний зв'язок між змінами рівня гормону інсуліну в крові та панкреатичних острівцях стресованих тварин.

Серія дослідів була присвячена дослідженню впливу стресогених факторів на рівень цукру в крові та вміст цинку та інсуліну в β-клітинах панкреатичних острівців різних видів тварин. Результати таких досліджень у мишей представлені в таблиці 3.16.

Із таблиці видно, що в мишей глікемія зростала на 39 % (P < 0,001) у випадку дії ОФН та ОІ, 34 % (P < 0,001) – ОА, 31 % (P < 0,001) – ОП, 32 % (P < 0,001) – ОО. Вміст цинку в клітинах β панкреатичних острівців збільшувався на 34 % (P < 0,01) під впливом ОФН, 40 % (P < 0,01) – ОІ, 30 % - ОА (P < 0,01) і ОО (P < 0,05), 24 % (P < 0,05) – ОП. Кількість внутрішньоклітинного інсуліну в стресованих тварин підвищувалась на 33 % (P < 0,01) внаслідок дії ОФН, ОІ й ОО, 27 % (P < 0,05) – ОА й ОП.

Після багаторазової дії зазначених екстремальних факторів спостерігались протилежні зміни рівня цукру в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях. У мишей зниження концентрації глюкози в крові складало 14 % (P < 0,01) після впливу БФН, 17 % (P < 0,001) – БІ, 15 % (P < 0,001) – БА, 12 % (P < 0,05). У В-клітинах острівців зменшувався вміст металу на 30 % (P < 0,01) внаслідок дії БФН, БА і БП, 21 % (P < 0,05) – БІ, 25 % (P < 0,05) – БО [8, 27, 30, 44, 46, 48, 49, 57, 79, 105, 112, 117-119, 127, 153, 186].

Таблиця 3.16

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β (*M±m*) та їх взаємозв'язок (r) у мишей при одноразовому фізичному навантаженні (ОФН), іммобілізації (ОІ), алкоголізації (ОА), одноразовому перегріванні (ОП), одноразовому охолодженні (ОО), багаторазових фізичному навантаженні (БФН), іммобілізації (БІ), алкоголізації (БА), перегріванні (БП), охолодженні (БО)

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=14)	5,9 ± 0,21	67 ± 5,3	1,5 ± 0,12	0,42*
ОФН (n=10)	8,2 ± 0,35***	90 ± 4,7**	2,0 ± 0,14**	0,54*
ОІ (n=10)	8,2 ± 0,29***	94 ± 6,0**	2,0 ± 0,16**	0,60**
ОА (n=10)	7,9 ± 0,25***	87 ± 4,3**	1,9 ± 0,15*	0,52*
ОП (n=10)	7,7 ± 0,32***	83 ± 4,3*	1,9 ± 0,15*	0,55*
ОО (n=10)	7,8 ± 0,36***	87 ± 5,0*	2,0 ± 0,12**	0,52*
БФН (n=10)	5,1 ± 0,20**	47 ± 3,3**	1,0 ± 0,08**	0,51*
БІ (n=10)	4,9 ± 0,17***	53 ± 2,7*	1,1 ± 0,07**	0,45*
БА (n=10)	5,0 ± 0,14***	47 ± 3,0**	1,2 ± 0,09*	0,49*
БП (n=10)	5,2 ± 0,19*	47 ± 3,7**	1,1 ± 0,05**	0,52*
БО (n=10)	5,2 ± 0,20*	50 ± 3,3*	1,2 ± 0,06*	0,44*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Аналогічні зміни спостерігались після впливу гіпоксії, сірководню та токсичних металів [36, 61, 78, 82, 96, 195].

Отож, підсилення інкреторної функції наднирників при гострому стресі (одноразовій дії екстремальних факторів) викликало підвищення вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β. Зворотній результат (зниження вмісту цих компонентів) спостерігався у випадку виснаження функції наднирників при хронічному стресі (багаторазовій дії факторів). Вміст цукру в крові був підвищений при гострому та знижений при хронічному стресі, що зв'язано відповідно з підсиленням та гальмуванням інкреторної функції наднирників. Встановлена позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β.

Аналогічні зміни вмісту цукру в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях встановлені у стресованих щурів (табл.3.17).

Дані, наведені в цій таблиці, свідчать про те, що у щурів глікемія зростала на 46 % ($P < 0,001$) у випадку дії ОФН, 40 % ($P < 0,001$) – ОІ, 44 % ($P < 0,001$) – ОА, 33 % ($P < 0,001$) – ОП, 35 % ($P < 0,001$) – ОО.

У панкреатичних клітинах β вміст цинку підвищувався на 59 % ($P < 0,001$) під впливом ОФН і ОА, 35 % ($P < 0,05$, $P < 0,001$)– ОІ й ОО, 18 % ($P < 0,05$) - ОП. Рівень інсуліну в острівцевих клітинах стресованих тварин підвищувався на 31 % ($P < 0,05$) внаслідок дії ОФН, 25 % ($P < 0,05$) – ОІ й ОО, 31 % ($P < 0,01$) – ОА, 19 % ($P < 0,05$) – ОП.

Протилежні зміни глікемії, вмісту внутрішньоклітинних цинку та інсуліну спостерігались після хронічної дії вказаних екстремальних факторів. У щурів зниження концентрації глюкози в крові складало 18 % ($P < 0,01$) після впливу БНФ, 16 % ($P < 0,01$) – БІ, 12 % ($P < 0,01$) – БА, 11 % ($P < 0,05$) – БП, 14 % ($P < 0,01$) - БО. Вміст металу в клітинах β острівців зменшувався на 60 % ($P < 0,001$) внаслідок дії БФН, БО й БІ, 40 % ($P < 0,001$) – БА й БП. Падіння кількості гормону в досліджених клітинах досягло 31 % ($P < 0,01$) після впливу БФН, 25 % ($P < 0,001$) – БІ, БА та БО [8, 15, 27, 30, 37, 46, 48, 49, 54, 57, 79, 116-118, 173, 288, 366].

Гіпоксія, сірководень і токсичні метали викликають подібні зміни рівня цукру в крові, цинку та інсуліну в β-інсулоцитах щурів [61, 78, 82, 96, 195].

Таблиця 3.17

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у щурів при одноразових фізичному навантаженні (ОФН), іммобілізації (ОІ), алкоголізації (ОА), перегріванні (ОП), охолодженні (ОО),багаторазових фізичному навантаженні (БФН), іммобілізації (БІ), алкоголізації (ОА), перегріванні (БП), охолодженні (БО)

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=16)	5,7 ± 0,18	1,6±0,12	17±0,9	0,40*
ОФН (n=12)	8,3±0,38***	2,1±0,12**	27±2,3***	0,55*
ОІ (n=10)	8,0±0,33***	2,0±0,10*	23±2,0*	0,48*
ОА (n=10)	8,2±0,34***	2,1±0,10**	27±1,7***	0,46*
ОП (n=10)	7,6±0,82***	1,9±0,08*	20±0,9*	0,47*
ОО (n=10)	7,7±0,29***	2,0±0,11*	23±1,7***	0,48*
БФН (n=10)	4,7±0,20**	1,1±0,08**	7±0,9***	0,54*
БІ (n=10)	4,8±0,19**	1,2±0,08**	7±0,7***	0,57*
БА (n=10)	5,0±0,18**	1,2±0,07**	10±0,7***	0,55*
БП (n=10)	5,1±0,16*	1,3±0,06*	10±1,3***	0,52*
БО (n=10)	4,9±0,18**	1,2±0,09**	7±0,7***	0,51*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Таким чином, спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β. При одноразовому впливу екстремальних факторів підвищувався вміст цукру в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β.

При багаторазовому впливу цих факторів спостерігалась, навпаки, зниження трьох показників.

Про вплив стрес-факторів на кількість цинку та магнію в інсулінпродукуючих клітинах β тварин можна роботи висновки на підставі даних табл.3.18.

Таблиця 3.18

Вміст цинку та магнію (*M* ± *m*) і їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β мишей і щурів при ОФН, ОІ, ОА, ОО, ОП та БФН, БІ, БА, БО, БП

Група тварин	Миші		Щури		$r_{2,3}$	$r_{4,5}$
	Метод 8-ТСХ, мкг/мл	Метод ЛМ, ум.од.	Метод 8-ТСХ, мкг/мл	Метод ЛМ, ум.од.		
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	67 ± 5,3 (n=14)	92 ± 6,7 (n=14)	17±0,9 (n=16)	108±7,5 (n=16)	0,60*	0,42*
ОФН	90±4,7*** (n=10)	125±9,2** (n=10)	27±2,3*** (n=10)	133±8,3* (n=10)	0,46*	0,54*
ОІ	94±6,0** (n=10)	125±10,8** (n=10)	23±2,0* (n=10)	142±9,2** (n=10)	0,47*	0,46*
ОА	87±4,3** (n=10)	117±7,5* (n=10)	27±1,7*** (n=10)	158±10,8*** (n=10)	0,48*	0,45*
ОО	87±5,0* (n=10)	125±8,3*** (n=10)	23±1,7*** (n=10)	133±10,0* (n=10)	0,46*	0,44*
ОП	83±4,3* (n=10)	117±9,2* (n=10)	20±0,9* (n=10)	142±8,3** (n=10)	0,48*	0,45*
БФН	47±3,3** (n=10)	67±5,8** (n=10)	7±0,9*** (n=10)	50±3,3*** (n=10)	0,57*	0,62*
БІ	53±2,7* (n=10)	75±3,3* (n=10)	7±0,7*** (n=10)	58±4,2*** (n=10)	0,64**	0,46*
БА	47±3,0** (n=10)	58±5,0*** (n=10)	10±0,7*** (n=10)	67±5,0*** (n=10)	0,72***	0,49*
БП	47±3,7** (n=10)	67±8,3* (n=10)	10±1,3*** (n=10)	75±5,8** (n=10)	0,61*	0,47*
БО	50±3,3* (n=10)	75±4,2* (n=10)	7±0,7*** (n=10)	58±6,7*** (n=10)	0,58*	0,46*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

У мишей з ОФН в панкреатичних острівцях збільшувався рівень цинку на 34 % (P < 0,001), магнію – на 36 % (P < 0,01). При ОІ (P < 0,001) вміст металів у панкреатичних β-клітинах збільшувався на 40 % (P < 0,01) і 36 % (P < 0,01). Під впливом ОА у мишей отримані цифри, що відповідно на 30 % (P < 0,01) і 27 % (P < 0,05) вище контрольних величин. У тварин, які зазнали дії ОО, підвищення кількості цинку та магнію в острівцях становило 30 % (P < 0,05) і 36 % (P < 0,001) відповідно. Після ОП у мишей збільшувався вміст цинку та магнію в острівцевих клітинах В на 24 % (P < 0,05) і 27 % (P < 0,05) [40, 55, 77, 152, 186].

Зниження вмісту цинку в клітинах β панкреатичних острівців складало 30 % (P < 0,01) при БФН, БА та БП, 25 %(P < 0,05) при БО, 21 % (P < 0,05) – при БІ. Кількість магнію в β-інсулоцитах мишей знижувалась після дії БФН (P < 0,01), і БП (P < 0,05) на 27 % , БІ та БО – на 18 % (P < 0,05), БА – на 37 % (P < 0,001).

Отже, у всіх випадках спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку та магнію в панкреатичних клітинах β мишей.

З цієї ж таблиці видно, що при ОФН у щурів спостерігалось збільшення вмісту цинку та магнію в острівцях підшлункової залози на 59 % (P < 0,001) і 23 % (P < 0,05) відповідно. Після ОІ отримані цифри відповідно 35 % (P < 0,05) і 31 % (P < 0,01). ОА викликала у щурів збільшення в β-інсулоцитах вмісту цинку на 59 % (P < 0,001), магнію – на 46 % (P < 0,001). У тварин, які зазнали впливу ОО, встановлено зростання рівня металу в панкреатичних клітинах β – на 35 % (P < 0,001) і 23 % (P < 0,05) відповідно. При ОП отримані показники мали наступні значення: 18 % (P < 0,05) і 31 % (P < 0,01).

Зниження вмісту цинку в клітинах β панкреатичних острівців складало 59 % (P < 0,001) при БФН, БІ та БО, 41 % (P < 0,001) при БА та БП. Кількість магнію в β-інсулоцитах щурів знижувалась після дії БФН на 54 % (P < 0,001), БІ та БО – на 46 % (P < 0,001), БА – на 38 % (P < 0,001), БП – на 31 % (P < 0,01) [56, 87].

Таким чином, підсилення інкреторної функції наднирників при гострому стресі (одноразовій дії екстремальних факторів) викликало підвищення вмісту цинку та магнію в панкреатичних клітинах β мишей і щурів. Протилежні зміни встановлені у випадку хронічного стресованих тварин. У всіх випадках спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цих внутрішньоклітиних компонентів.

У ряді дослідів вивчався вплив адреналіну та преднізолону на вміст цукру в крові, вміст цинку та інсуліну в острівцевих клітинах β у тварин, які зазнали багаторазової дії екстремальних факторів. У таблиці 3.19 представлені результати таких досліджень у мишей з багаторазовим фізичним навантаженням та іммобілізацією.

Таблиця 3.19

Глікемія, вміст цинку та інсуліну β-інсулоцитах (*M*±*m*) та їх взаємозв'язок (r) при введенні адреналіну та преднізолону мишам з БФН і БІ

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{2,3}$
			Метод альдегідфуксину,ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{2,4}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=14)	5,9 ± 0,21	67±5,3	1,5 ± 0,12	108±8,3	0,52*
					0,50*
БФН (n=10)	5,1 ± 0,20*	47±3,3**	1,0 ± 0,08**	67±4,2***	0,51*
					0,50*
БФН+адреналін (n=10)	6,0 ± 0,25$_{\#}$	60±5,0$_{\#}$	1,3 ± 0,10$_{\#}$	92±7,5$_{\#\#}$	0,48*
					0,55*
БФН+ преднізолон (n=10)	5,8 ± 0,19$_{\#}$	57±6,0	1,2 ± 0,09*	83±6,7$^{*}_{\#}$	0,47*
					0,51*
БІ (n=10)	4,9± 0,17***	53±2,7*	1,1 ± 0,06***	75±5,0**	0,45*
					0,61*
БІ+адреналін (n=10)	5,8 ± 0,20$_{\#\#\#}$	63±5,7$_{\#}$	1,3 ± 0,08$_{\#}$	92±8,3	0,46*
					0,51*
БІ+преднізолон (n=10)	5,7 ± 0,18$_{\#\#\#}$	60±5,3	1,2 ± 0,10*	83±7,5*	0,50*
					0,52*

Примітка: * - P < 0,05; ** - P < 0,01 порівняно з контролем;

$_{\#}$ - P < 0,05 порівняно з тваринами з БФН і БІ.

Як видно з даних цієї таблиці, у мишей з БФН, яким уводили адреналін, глікемія була на 2 % вище норми (P > 0,05), а рівень цинку та інсуліну в клітинах був нижче контрольних величин відповідно на 10 % (P > 0,05) і 13–15 % (P > 0,05). Порівняно з тваринами, що зазнали дії БФН, у піддослідних мишей рівень цукру в крові збільшувався на 18 % (P < 0,05), а вміст внутрішньоклітинних компонентів зростав відповідно на 28 % (P < 0,05), 30 % (P < 0,05) – 37 % (P< 0,01).

У порівнянні з мишами контрольної групи після уведення преднізолону тваринам з БФН рівень цинку в клітинах β острівців був знижений на 15 % (P > 0,05), а вміст інсуліну в цих клітинах – на 20 – 23 % (P > 0,05) При цьому глікемія була лише на 2 % нижче норми (P > 0,05). Відносно тварин з БФН у піддослідних мишей підвищення цих показників складало відповідно 14 % (P < 0,05), 21 % (P > 0,05), 20 % (P > 0,05) – 24 % (P < 0,05).

Після БІ у поєданні з адреналіном порівняно з контролем були нижче: в крові рівень цукру на 2 % (P > 0,05), а в панкреатичних клітинах β вміст цинку – на 6 % (P > 0,05), кількість інсуліну – на 13-15 % (P > 0,05). У порівнянні із мишами з БІ у піддослідних тварин встановлено підвищення глікемії на 18 % (P < 0,001), вмісту цинку та інсуліну в острівцевих клітинах β відповідно на 19 % (P < 0,05) і 13 % (P > 0,05) -18 % (P < 0,05). Уведення преднізолону мишам з БІ викликало аналогічні зміни досліджених показників: порівняно з контролем був нижче вміст цукру в крові на 3 % (P > 0,05), цинку та інсуліну в β-клітинах острівців відповідно на 13 % (P > 0,05) і 13-20 % (P < 0,05). Відносно тварин з БІ ці показники зростали відповідно на 16 % (P < 0,001), 13 % (P > 0,05) і 9-11 % (P > 0,05) [133].

Таким чином, припущення про послаблення інкреторної функції надниркиків при БФН і БІ підтвержувалося корекцією дефіциту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β при введенні адреналіну та преднізолону. Спостерігалася позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β піддослідних тварин.

Про зміни рівня цукру в крові, цинку та інсуліну в острівцевих клітинах β щурів з БФН, яким уводили адреналін та преднізолон, можна судити на підставі даних таблиці 3.20.

Таблиця 3.20

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в β-інсулоцитах (*M±m*) та їх взаємозв'язок (r) при введенні адреналіну та преднізолону щурам з БФН і БІ

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{2,3}$
			Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{2,4}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=16)	5,7 ± 0,21	17±0,9	1,6 ± 0,12	117±9,2	0,64*
					0,42*
БФН (n=10)	4,7 ± 0,20*	7±0,9***	1,1 ± 0,08**	75±5,8**	0,64*
					0,62*
БФН+ адреналін (n=10)	5,8 ± 0,16###	13±1,3 *###	1,5 ± 0,13##	108±8,3##	0,60**
					0,50*
БФН+ преднізолон (n=10)	5,6 ± 0,17###	13±1,0 **###	1,4 ± 0,09#	100±7,5#	0,58*
					0,51*
БІ (n=10)	4,8±0,19***	7±0,7***	1,2±0,08***	83±5,8**	0,65**
					0,63**
БІ+адреналін (n=10)	5,2±0,13	13±0,7 **###	1,5±0,10#	108±7,5##	0,64**
					0,50*
БІ+преднізолон (n=10)	5,0±0,12**	13±2,7###	1,4±0,13	100±9,2	0,60**
					0,51*

Примітка: * - P < 0,05; ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем; # - P < 0,05, ## - P < 0,01, ### - P < 0,001 порівняно з тваринами з БФН і ФІ.

Із таблиці видно, що сполучена дія БФН та адреналіну викликала у щурів наступні зміни показників: глікемія була на вище норми на 2 % (P > 0,05), вміст цинку та інсуліну в острівцях був нижче норми відповідно на 24% (P < 0,05) і 6-8 % (P > 0,05). У порівнянні з тваринами, що зазнали впливу БФН, концентрація глюкози в крові зростала на 23 % (P < 0,001), а вміст цинку та інсуліну збільшувався відповідно на 86 % (P < 0,001) і 36-44 % (P < 0,01).

У щурів з БФН, які отримали ін'єкцію преднізолону, порівняно з тваринами контрольної групи був ниже рівень цукру в крові на 2 % (P > 0,05), вміст цинку та інсуліну в β-клітинах острівців відповідно на 14 % (P < 0,05) і 12-14 % (P > 0,05). У порівнянні зі щурами, які зазнали впливу БФН, у цих тварин глікемія підвищувалася на 19 % (P < 0,001), у клітинах β острівців вміст цинку на 86 % (P < 0,001), вміст інсуліну – на 27-33 % (P < 0,05) [133].

Отже, адреналін та преднізолон викликали корекцію вмісту цинку та інсуліну у щурів з БФН. Спостерігалася позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β.

Щоб підтвердити участь наднирникових залоз у регуляції функції панкреатичних клітин β, ряд експериментів був присвячений дослідженню стану інсулярного апарату адреналектомованих (АЕ) щурів. У табл. 3.20 представлені результати досліджень впливу гормону надниркових залоз та гострих стресових факторів на вміст цукру в крові, цинку та інсуліну в клітинах β панкреатичних острівців АЕ щурів.

Таблиця 3.20

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в β-інсулоцитах (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у адреналектомованих (АЕ) щурів при введенні адреналіну, одноразових фізичному навантаженні (ОФН) та іммобілізації (ОІ)

Група тварин	Глюкоза в крові,ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=16)	5,7 ± 0,18	17±0,9	1,6±0,12	0,40*
АЕ (n=12)	3,8±0,20***	10±0,9***	0,9±0,08***	0,53*
АЕ+адреналін (n=14)	5,8±0,22###	17±2,0###	1,4±0,12###	0,48*
АЕ+ОФН (n=17)	4,3±0,22***	* 13±1,3 #	* 1,2±0,09 #	0,50*
АЕ+ОІ (n=13)	4,0± 0,21***	* 13±1,0 #	* 1,2±1,0 #	0,47*

Примітка: * – P < 0,05; ** - P < 0,01; *** – P < 0,001 відносно контролю; ### – P < 0,001 порівняно з АЕ тваринами.

Як видно з даних цієї таблиці, у адреналектомованих щурів у порівнянні з контролем були знижені глікемія на 33 % ($P < 0,001$), вміст цинку на 41 % ($P < 0,001$) та інсуліну на 44 % ($P < 0,001$) в інсулінпродукуючих клітинах β.

Після уведення адреналіну АЕ щурам вміст цукру в крові був вище норми на 2 % ($P > 0,05$), а в β-інсулоцитах вміст гормону був нижче на12 % ($P > 0,05$), вміст металу не змінювався ($P > 0,05$). Порівняно з АЕ тваринами ці показники збільшувалися відповідно на 53 % ($P < 0,001$), 70 % ($P < 0,001$), 56 % ($P < 0,001$).

В АЕ щурів після ОФН у порівнянні з контролем вміст цукру в крові був нижче на 25 % ($P < 0,001$), вміст цинку та інсуліну в клітинах β – на 24 % ($P < 0,05$) і 25 % ($P < 0,05$) відповідно. Відносно тварин з адреналектомією ці показники зростали на 13 % ($P > 0,05$), 30 % ($P < 0,05$) і 25 % ($P < 0,05$).

У АЕ щурів з ОІ були нижче норми: глікемія – на 30 % ($P < 0,001$), вміст цинку та інсуліну в острівцевих β-клітинах – на 24 % ($P < 0,01$) і 25 % ($P < 0,05$) відповідно. Відносно АЕ тварин ці показники були вище відповідно на 5 % ($P > 0,05$), 20 % ($P < 0,05$), 33 % ($P < 0,05$) [31, 41].

Таким чином, АЕ викликала зниження глікемії та дефіциту цинку та інсуліну в клітинах β. Призначення адреналіну АЕ щурам викликало значне підвищення усіх показників, а також гостре стресування АЕ тварин ОФН і ОІ, однак не вище контрольних величин. Спостерігається позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β.

Представляли інтерес дослідження впливу солей цинку, магнію та міді на вміст цинку, магнію та інсуліну в панкреатичних острівцях тварин, враховуючи біологічне значення цих металів для вуглеводного обміну та діяльності інсулярного апарату [100, 120, 140, 184, 209, 291, 374, 160, 243].

Відомо, що цинк необхідний для функції понад ста білків, але металотіонеїн (МТ) – головний цинкзвязуючий білок, а цинк - фізіологічний індуктор металотіонеїнів. Цинк стабілізує молекулу МТ і підвищує функціональні можливості їх як пастки іонів металів, активних форм кисню, токсинів і ксенобіотиків. МТ сприяють утилізації глюкози; у МТ – нокаут мишей секреція інсуліну у

відповідь на глюкозу суттєво знижена [100, 140, 160, 184, 209, 235, 291, 335, 374]. При діабеті в печінці вагітних жінок підвищується синтез МТ, що є причиною розвитку тератогенних ефектів у ембріона внаслідок зменшення доставки до нього цинку [98, 100, 140, 184, 209, 374].

Подібно до цинку, мідь збільшує антиоксидантну та антитоксичну активність МТ. Дія міді на вуглеводний обмін полягає в пришвидшенні процесів окислення глюкози, гальмуванні розпаду глікогену в печінці, інактивації інсулінази-ферменту, який руйнує інсулін [100, 120, 140, 160, 184, 209, 291]. Не виключений вплив міді через ЦНС, так як, згідно експериментальних спостережень, при перерізі спинного мозку гіпоглікемічна дія міді не проявляється [291]. Усі ці дані стали підґрунтям для використання біотичних доз міді в комплексному лікуванні цукрового діабету. Після введення мікроконцентрацій сульфату міді (по 2 мг у перерахунку на метал) тричі на день у більшості випадків повністю нормалізувався вуглеводний обмін при середній важкості діабету, а при важкій формі ставало можливим скоротити дозу вводимого інсуліну в 3-4 рази. Особливо ефективно застосування біотичних доз міді для лікування діабету, що поєднувався з атеросклерозом, тому що при цьому можна зменшити дозу, або взагалі виключити застосування інсуліну, що, як відомо, підвищує тонус коронарних судин і може спровокувати приступи стенокардії [100, 140, 160, 209, 235].

Присутність іонів Mg^{2+} активує пряме окислення вуглеводів і утилізацію глюкозо-6-фосфату через пентозо-фосфатний шунт [184, 209, 212, 243, 291, 325, 356].

Практично у всіх хворих на діабет відмічається гіпомагнезіємія [184, 191, 212, 256, 290, 373]. Осмотичний діурез і ацидоз сприяють посиленню екскреції магнію [373]. У групі хворих дітей з вперше виявленим цукровим діабетом екскреція магнію з сечею була постійно підвищеною попри нормальний вміст магнію в периферичній крові [191, 309]. Падіння вмісту магнію в крові хворих на цукровий діабет пов’язано з його перерозподілом між плазмою та еритроцитами [184, 191, 209, 212, 256, 289, 309, 356, 373]. Розвиток експериментального

діабету у тварин супроводжується порушенням метаболізму магнію [277].Уведення глюкози (75 г всередину) здоровим обстежуваним супроводжується зниженням рівня Mg^{2+} у плазмі крові та підвищенням його в еритроцитах [212, 256, 373]. Подібні зміни спостерігались при гіперінсулінемії, викликаній інфузією інсуліну. Таким чином, інсулін сприяє переходу Mg^{2+} із плазми в еритроцити. Призначення сульфату магнію дорослим хворим на діабет, викликає покращення показників вуглеводного обміну та зниження потреби в інсуліні. Сприятлива дія взаємопов'язана з нормалізацією обміну магнію, а отже, з активацією ферментів гліколізу [212, 256, 270, 356, 373]. Відновлення рівня внутрішньоклітинного магнію у хворих дітей супроводжується також зниженням рівня глікемії і відновленням чутливості периферичних тканин до інсуліну [191]. Аналогічна картина відмічалась після призначення магнію діабетичним тваринам [292]. Магній, з'єднуючись з інсуліном, переводить гормон в активний стан. Баланс магнію модулює трансмембранний потік глюкози в м'язи, гепатоцити, нейрони, клітини плаценти та інші енергоємні, насичені мітохондріями клітини організму, перешкоджаючи тим самим формуванню інсулінорезистентності [191, 209, 212, 256, 289, 325, 356, 373].

Про вплив солей металів на стан інсулярного апарату мишей і щурів можна робити висновки на підставі даних табл. 3.21.

Із таблиці видно, що під впливом сульфату цинку в мишей зростали рівень цукру в крові на 63 % ($P < 0,001$) і кількість інсуліну в клітинах β острівців на 31 - 33 % ($P < 0,01$). Після дії сульфату магнію підвищення глікемії становило 44 % ($P < 0,001$), а рівня гормону в β-інсулоцитах – 23 - 27 % ($P < 0,05$). У тварин, які отримали сульфат міді, спостерігалось зниження рівня цукру в крові на 24 % ($P < 0,001$) і вмісту інсуліну в острівцевих β клітинах на 38 – 47 % ($P < 0,001$).

Таблиця 3.21

Глікемія, вміст інсуліну (*M±m*) і їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β мишей і щурів при введенні солей цинку, магнію та міді

Група тварин	Миші			Щури			$r_{2,3}$
	Глюкоза в крові, ммоль/л	Інсулін β-клітин		Глюкоза в крові, ммоль/л	Інсулін β-клітин		
		Метод альде-гідфук-сину, ум.од.	Метод псевдо-ізоціа-ніну, ум.од.		Метод альде-гідфук-сину, ум.од.	Метод псевдо-ізоціа-ніну, ум.од.	$r_{5,6}$
1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль	5,9 ± 0,21 (n=14)	1,5±0,12 (n=14)	108±8,3 (n=14)	5,7±0,18 (n=16)	1,6±0,12 (n=16)	117±9,2 (n=16)	0,42* 0,43*
Тварини, які отримали сульфат цинку	9,6± 0,34*** (n=10)	2,0± 0,14** (n=10)	142± 11,7** (n=10)	8,9± 0,13** (n=10)	2,1± 0,13** (n=10)	158± 13,3* (n=10)	0,43* 0,42*
Тварини,які отримали сульфат магнію	8,5 ± 0,27*** (n=12)	1,9 ± 0,15* (n=12)	133±7,5* (n=12)	8,2± 0,24*** (n=12)	2,1 ± 0,15*** (n=12)	150± 12,5* (n=12)	0,42* 0,43*
Тварини, які отримали сульфат міді	4,5 ± 0,19*** (n=11)	0,8 ± 0,07*** (n=11)	67± 5,0*** (n=11)	4,8± 0,17*** (n=11)	0,7± 0,07*** (n=11)	58± 4,2*** (n=11)	0,45* 0,44*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Аналогічна картина спостерігалась у щурів. Дані цієї ж таблиці свідчать про збільшення концентрації глюкози в крові на 56 % ($P < 0,001$) та рівня інсуліну в клітинах β панкреатичних острівців на 31 % ($P < 0,01$) – 35 % ($P < 0,05$) у тварин, яким уводили сіль цинку. Дія сульфату магнію викликала підвищення рівня цукру в крові на 44 % ($P < 0,001$) і кількості гормону в β-інсулоцитах на 28 % ($P < 0,05$) – 31 % ($P < 0,01$). Після призначення сульфату міді встановлено зменшення глікемії на 16 % ($P< 0,001$) і вмісту інсуліну в клітинах β на 50 – 56 % ($P < 0,001$) [14, 60,85].

Серія дослідів була присвячена дослідженню впливу солей міді, цинку та магнію на вміст цих металів у клітинах тварин (табл. 3.22).

Таблиця 3.22

Вміст цинку та магнію (*M* ± *m*) і їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β мишей і щурів при введенні солей міді, цинку та магнію

Група тварин	Миші		Щури		$r_{2,3}$	$r_{4,5}$
	Метод 8-ТСХ, мкг/мл	Метод ЛМ, ум.од.	Метод 8-ТСХ, мкг/мл	Метод ЛМ, ум.од.		
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	67 ± 5,3 (n=14)	92 ± 6,7 (n=14)	17 ± 0,9 (n=16)	108±7,5 (n=16)	0,60*	0,42*
Тварини, які отримали сульфат цинку	87±4,0*** (n=10)	117±5,8** (n=10)	27±2,0*** (n=10)	133±8,3* (n=10)	0,46*	0,52*
Тварини, які отримали сульфат магнію	77 ± 3,3** (n=12)	117±6,7** (n=12)	20±1,3* (n=11)	133±5,0** (n=12)	0,48*	0,49*
Тварини, які отримали сульфат міді	37±2,7*** (n=11)	67±5,0*** (n=11)	10±0,7*** (n=11)	83±4,2*** (n=11)	0,49*	0,50*

Примітка: позначення, як у табл.3.2.

Із таблиці видно, що в мишей, які отримали сульфат цинку, вміст цинку та магнію в панкреатичних клітинах В на 30 % ($P < 0,001$) і 27 % ($P < 0,01$) більше норми. Під впливом сульфату магнію спостерігалось збільшення в панкреатичних острівцях вмісту цинку на 15 % ($P < 0,01$), магнію – на 27 % ($P < 0,01$). Призначення сульфату міді, навпаки, призводило до зниження рівня цинку та магнію в острівцевих β-клітинах – на 45 % ($P < 0,001$) і 27 % ($P < 0,01$).

Призначення щурам сульфату цинку підвищувало вміст цинку на 59 % ($P < 0,001$), магнію – на 23 % ($P < 0,05$) у панкреатичних острівцях. У тварин, які отримали сульфат магнію, кількість цинку та магнію в панкреатичних клітинах β 18 % ($P < 0,05$) і 23 % ($P < 0,01$) вище контрольних величин. Під впливом сульфату міді встановлено падіння рівня цинку та магнію в клітинах β на 41 % ($P < 0,001$) і 23 % ($P < 0,01$) відповідно [14, 91, 181].

Таким чином, сульфат цинку та магнію діють як синергісти по відношенню до концентрації цинку та магнію в інсулінпродукуючих клітинах

β, вони підвищували ці показники. Сульфат міді є антагоністом солей цинку та магнію, він викликав дефіцит вмісту внутрішньоклітинних компонентів. Спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку та магнію в клітинах β острівців.

Дані, наведені в таблицях 3.21 і 3.22, свідчать про те, що сполуки цинку та магнію викликали в мишей і щурів підвищення рівня цукру в крові та вмісту інсуліну в β-клітинах, що вказує на гальмування секреторної активності β-клітин. Активізація процесів секреції у β-інсулоцитах зумовлена впливом солі міді, про що свідчить протилежний характер змін досліджених компонентів. Уведення сульфатів цинку та магнію викликало накопичення цинку й магнію в панкреатичних клітинах β, що можна пояснити здатністю двох металів стабілізувати мембрани клітин, гальмувати секрецію інсуліну. накопичення гормону в клітинах, очевидно, стимулює біосинтез у клітинах металотіонеїну, який транспортує всередину гранул цинк. У результаті утворюється комплекс металу з інсуліном („депо-форма" інсуліну). Призначення тваринам сильфату міді призводило до зниження внутрішньоклітинного вмісту обох металів, що вказує на наявність мембранлабілізуючого ефекту у міді, внаслідок чого, на наш погляд, активується секреторна активність β-клітин.

Вивчення вмісту та локалізації цинку в підшлунковій залозі людини й тварин показало, що він накопичується переважно в β-клітинах острівців Лангерганса та його концентрація в них знаходиться в прямій пропорційній залежності від стану їх функціональної активності [16, 24, 25, 32, 33, 92, 95, 170, 172, 248, 287, 367, 386]. Отже, застосування методик для гістохімічного виявлення цинку й альдегідфуксинової зернистості в ембріогенезі підшлункової залози може виявитися корисним для встановлення часу початку диференційовки ендокринних клітин. З цією метою було проведено вивчення 70 підшлункових залоз ембріонів і плодів людини. Альдегідфуксинову зернистість, яка є показником наявності в β-клітинах проінсуліну, визначали по Гоморі, а вміст цинку дитизоновим і сульфідсрібним методами.

Дослідження показали, що підшлункова залоза 4-тижневого ембріону являє собою слабкорозгалужені трубки, розташовані в мезенхімі брижі. стінки трубок вистелені одношаровим, однорідним, кубічним епітелієм. У препаратах оброблених дитизоном і сульфідсрібним методами, цинковмісних клітин не виявлено. Клітини, що містять альдегідфуксинову зернистість, також не виявляються. Основу зачатка утворює клітинна сполучна тканина, на частку якої припадає 70 % маси залози. Відмічаються окремі осередки мієлоїдного кровотворення [175, 216].

По мірі подальшого розвитку епітеліальні трубки все більш розгалужуються. Підшлункова залоза 6-тижневого ембріона вже представлена більш розгалуженою системою трубок з невеликими альвеолоподібними випинами бічних стінок. При забарвленні азаном у цих випинах відмічається неоднакова забарвлюваність клітин, що, вірогідно, пов'язано з початком їх диференційовки. Об'єм епітеліальної тканини досягає 50 %. При обробці препаратів дитизоновим і сульфідсрібним методами в альвеолоподібних випинах визначаються окремі клітини, в цитоплазмі яких відмічається наявність гранул цинку. При забарвленні альдегідфуксином у цитоплазмі цих клітин у невеликій кількості виявляється також альдегідфуксинова зернистість. Наявність окремих одиничних клітин у підшлунковій залозі 6-тижневого ембріона, що містять цинк і альдегідфуксинову зернистість, дає можливість припустити, що ці клітини є інсулінпродукуючими клітинами типу β [175, 216].

На 7 тижні ембріонального розвитку система трубок підшлункової залози є ще більш розгалуженою, кількість клітин, які містять альдегідфуксинову зернистість і цинк, збільшується. Описані клітини зустрічаються не тільки поодинці, але й невеликими групами, що складаються з 2-3 клітин.

На 8-9 тижні ембріонального розвитку людини відбувається інтенсивне розгалуження трубок підшлункової залози. Кількість альвеолоподібних випинів зростає. Збільшується число маленьких груп клітин, які містять цинк і альдегідфуксинову зернистість.

У підшлунковій залозі 10-тижневого ембріона кількість клітин, які містять у своїй цитоплазмі цинк і альдегідфуксинову зернистість, стає ще більше та вони утворюють групи клітин, які можна назвати юними острівцями Лангерганса.

До кінця одинадцятого тижня ембріонального розвитку острівці підшлункової залози людини настільки оформлюються, що наявність їх визначається і при звичайному забарвленні гематоксиліном і еозином. Одночасно відбувається формування ацинусів, у клітинах яких зимогенна зона не виявляється [175, 216].

У 3-місячного плода острівці вже оформлені. У цьому періоді відбувається інтенсивне новоутворення острівців і збільшення розміру тих, що раніш виникли. Першими клітинами острівців є інсулінутворюючі клітини типу β. Але функціональна активність β-клітин знаходиться в стадії становлення та є в різних клітинах неоднаковою. Це накладає свій морфологічний відбиток на ці клітини. Вони в цьому періоді відрізняються своєрідним поліморфізмом, містять неоднакову кількість цинку й альдегідфуксинової зернистості.

На даній стадії ембріонального розвитку людини відбувається інтенсивний розвиток острівців. Він здійснюється, в основному, за рахунок виросту бруньок вивідних протоків, клітини яких відпочковуючись, втрачають зв'язок з протоками й вступають у тісний зв'язок з кровоносними судинами. Інша частина острівців утворюється за рахунок перетворення в острівцеві клітини клітин ацинозних, центроацинозних і вставних протоків [175, 216].

Завдяки інтенсивним процесам новоутворення підшлункова залоза плодів характеризується наявністю великої кількості острівців невеликого розміру, які в сукупності 3-4 % загальної маси залози. Але, в острівцях плодів не всі клітини насичені цинком, а лише ті, що утворюють центральну зону острівців [175, 216].

Кількість острівцевих клітин з високим вмістом цинку й альдегідфуксинофільної зернистості в підшлунковій залозі плодів з віком зростає, але практично до народження клітини периферічної зони острівців цинку містить мало

[216, 228, 246, 261, 300, 341]. У кінцевих відділах екзокринної частини відмічається багато перехідних ацино-інсулярних клітин [216].

Наші дослідження стосувалися визначення стану підшлункової залози у тварин постнатального періоду. Встановлено, що у дорослих (контрольних) щурів (n=16) рівень цукру в крові складав 5,7 ± 0,18 ммоль/л, інтенсивність у β-клітинах цитохімічної реакції 8-ТСХ – 17 ± 0,9 мкг/мл, альдегідфуксину - 1,6 ± 0,12 ум.од. У молодих щурів (n = 10) глікемія дорівнювала 4,3 ± 0,15 ммоль/л (на 25 % нижче контролю; P < 0,001), вміст у клітинах β цинку – 13 ± 0,3 мкг/мл (на 20 % нижче контролю; P < 0,05), інсуліну - 1,1 ± 0,08 ум.од. (на 31 % нижче; P < 0,001). У старих щурів (n = 10) рівень цукру в крові складав 6,0 ± 0,21 ммоль/л (на 5 % вище контролю; P < 0,05), концентрація в клітинах β цинку – 10 ± 0,9 мкг/мл (на 40 % менше контролю; P < 0,001), інсуліну - 1,0 ± 0,06 ум.од. (на 37 % менше; P < 0,001) [17, 34].

У дорослих (контрольних) хом'ячків (n = 14) вміст цинку в крові дорівнював 6,4 ± 0,21 ммоль/л, кількість у β-клітинах цинку – 53 ± 3,0 мкг/мл, інсуліну - 1,4 ± 0,07 ум.од. У молодих тварин (n = 10) глікемія дорівнювала 5,5 ± 0,13 ммоль/л (на 14 % нижче контролю; P < 0,001), інтенсивність в клітинах 8-ТСХ-реакції – 33 ± 2,3 мкг/мл (на 38 % нижче контролю; P < 0,001), альдегідфуксинової реакції – 11 ± 0,08 ум.од. (на 29 % нижче; P < 0,05). У старих хом’ячків (n = 10) цукру в крові було 6,8 ± 0,24 ммоль/л (на 6 % вище контролю), цинку в клітинах – 23 ± 3,7 мкг/мл (на 43 % менше контролю; P < 0,001), інсуліну -0,8 ± 0,05 ум.од. (на 43 % нижче; P < 0,001) [34, 39].

У дорослих (контрольних) мишей (n = 14) глікемія складала 5,9 ± 0,21 ммоль/л, вміст в клітинах β цинку складав 67 ± 5,3 мкг/мл, інсуліну - 1,5 ± 0,12 ум.од. У молодих тварин (n = 10) рівень цукру в крові був нижче, ніж у контролі, на 14 % (5,1 ± 0,14 ммоль/л; P < 0,01), вміст в клітинах цинку - нижче на 40 % (40 ± 2,7 мкг/мл; P < 0,001), інсуліну - на 27 % (1,1 ± 0,06 ум.од.; P < 0,001). У старих мишей (n = 10) концентрація цукру в крові складала 6,1 ± 0,19 ммоль/л (на 3 % вище контролю; P < 0,05). Кількість цинку в β-інсулоцитах дорівнювала 37 ± 2,3 мкг/мл (на 45 % нижче контролю; P < 0,001), реакції

альдегідфуксину - 1,0 ± 0,07 ум.од. (на 23 % нижче; P < 0,001) [17, 34, 93].

Результати досліджень вказують на те, що у молодих і старих тварин у порівнянні з дорослими був знижений вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β, мабуть, внаслідок недостатності механізмів регуляції метаболізму цього металу в організмі.

Наші дані узгоджуються з існуючими в науковій літературі [341].

Враховуючи, що в будь-якому віці організм зазнає впливу стресових факторів, нами проводились дослідження впливу екстремальних факторів. На стан інсулярного апарату тварин різного виду та віку.

При одноразовому фізичному навантаженні (ОФН) рівень цукру в крові дорослих мишей (n = 10) був підвищений на 43 % (8,4 ± 0,42 ммоль/л; P < 0,001). Вміст цинку в острівцях був підвищений на 24 % (P < 0,05), а інсуліну - на 27 % (P < 0,05). При одноразовому фізичному навантаженні у старих мишей (n = 10) були отримані наступні дані: рівень цукру в крові був підвищений на 60 % (9,4 ± 0,53 ммоль/л; P < 0,001), вміст цинку в острівцях був підвищений на 9 % (P > 0,05), а вміст інсуліну був підвищений на 13 % (P > 0,05) [142].

При багаторазовому фізичному навантаженні рівень цукру в крові дорослих мишей був знижений на 14 % (5,1 ± 0,21 ммоль/л; P < 0,01), вміст цинку в β-інсулоцитах був знижений на 24 % (P < 0,01), а інсуліну - на 27 % (P < 0,01). При багаторазовому фізичному навантаженні рівень цукру в крові старих мишей був знижений на 21 % (4,6 ± 0,16 ммоль/л; P < 0,001), вміст цинку в β-інсулоцитах був знижений на 38 % (P < 0,001), а вміст інсуліну був знижений на 47 % (P < 0,001) [142]. Подібні зміни глікемії, вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях мишей різного віку спостерігалися при іммобілізаційному стресі та алкоголізації [20, 50].

У контрольних (дорослих інтактних) щурів концентрація в крові кортизолу складала 649 ± 50,1 нмоль/л, тоді як в молодих тварин - 436 ± 46,7 нмоль/л (76 %; P < 0,05). У старих щурів отримані результати відповідали 486 ± 41,2 нмоль/л (74 %; P < 0,05). У молодих тварин, які піддавалися одноразовому

фізичному навантаженню, результати досліджень були такими: 6,4 ± 0,25 ммоль/л (112 %; P > 0,05), 705 ± 63,2 нмоль/л (109 %; P > 0,05), 17 ± 0,9 мкг/мл (100 %; P > 0,05), 1,7 ± 0,16 ум.од. (106 %; P > 0,05). Аналогічні дані відмічалися у випадку одноразової іммобілізації молодих щурів: 6,5 ± 0,21 ммоль/л (114 %; P < 0,05), 582 ± 48,3 нмоль/л (90 %; P > 0,05), 17 ± 2,0 мкг/мл (100 %; P > 0,05), 1,5 + 0,12 ум.од. (94 %; P > 0,05).

Фізичне навантаження впливало на показники старих тварин таким же чином, як молодих щурів: 9,3 ± 0,50 ммоль/л (163 %; P < 0,001), 683 ± 59,4 нмоль/л (105 %; P > 0,05), 17 ± 1,3 мкг/мл (100 %; P > 0,05), 1,7 ± 0,13 ум.од. (106 %; P > 0,05). Аналогічні результати отримані у старих щурів, що піддавалися іммобілізації: 8,8 ± 0,32 ммоль/л (154 %; P > 0,05), 591 ± 47,2 нмоль/л (91 %; P > 0,05), 17 ± 1,7 мкг/мл (100 %; P > 0,05), 1,7 ± 0,13 ум.од. (106 %; P > 0,05) [45].

Таким чином, гострий стрес викликає підвищення всіх показників у молодих і старих щурів, проте в більшості випадків дані не перевищували середні показники норми.

Не тільки іммобілізація та фізичне навантаження, але й інші стресори (алкоголізація, охолодження і т.д.) як у гострому, так і хронічному експериментах змінюють стан панкреатичних острівців щурів різного віку подібно до стресованих молодих, дорослих і старих мишей [18, 20, 54, 62, 194].

Підсумовуючи викладене в цій главі, можно зробити наступні висновки:

1. У панкреатичних острівцях кількість цинку та інсуліну в мишей, кролів, золотистих і китайських хом’ячків досягає рівня цього металу в людей, а у щурів, навпаки, знижений. Вміст магнію в інсулінпродукуючих клітинах β порівняно з людьми підвищений у мишей і щурів, понижений – у кролів, дуже низький – в обох видів хом’ячків.

2. Пригнічення інкреторної функції підшлункової залози мишей, щурів, кролів, золотистих і китайських хомячків при голодуванні, введенні адреналіну та преднізолону, гострому стресуванні, викликало накопичення цинку, інсуліну та магнію в β-інсулоцитах. При активації функції інсулярного апарату тварин,

обумовлене навантаження глюкозою, введенням пілокарпіну, впливом хронічного стресу, спостерігається зниження кількості трьох компонентів у панкреатичних клітинах β. Виключення інкреторної функції β-клітин при введенні алоксану призводило до розвитку внутрішньоклітинних дефіциту металів і гормону.

3. Адреналектомія призводить у щурів до розвитку цинкової та інсулінової недостатності в панкреатичних острівцях, яка корегується введенням адреналіну, а також гострим стресуванням організму.

4. На прикладі мишей, щурів і золотистих хом'ячків був досліджений стан панкреатичних острівців у віковому аспекті та було з'ясовано, що в молодих та старих тварин спостерігається цинкова та інсулінова недостатність, яка при гострому стресуванні організму стає несуттєвою, а при хронічному – ще більш вираженою.

5. Призначення тваринам солей цинку та магнію викликає накопичення цих металів та гормону інсуліну в β-інсулоцитах, а введення сульфату міді, навпаки, - їх втрату, що підтверджує роль досліджених металів у регуляції вуглеводного обміну та діяльності інсулярного апарату. Позитивна кореляція змін вмісту цинку та магнію в клітинах β панкреатичних острівців піддослідних тварин підтверджує синергічний характер взаємин металів у клітинах.

ГЛАВА 4. НЕТРАДІЦІЙНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ТА ВІДНОВЛЕННЯ ЗДОРОВ'Я ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

4.1. Застосування стандартних методів і металохромних індикаторів у діагностиці цукрового діабету

У діагностиці цукрового діабету важливу роль відіграють лабораторні методи дослідження та правильна їх інтерпретація. При появі класичних симптомів або ускладнень діабету виникає підозра, яка зазвичай легко підтверджується. У деяких випадках латентний діабет виявляється при звичайному аналізі сечі або при визначенні вмісту цукру в крові натщесерце [6, 7, 72, 101, 102, 114, 124, 126, 156, 168, 205, 211, 234, 358]. Своєчасна постановка діагнозу діабету має життєво важливе значення. Для встановлення повноти картини перебігу захворювання необхідно застосовувати не тільки стандартні біохімічні й гематологічні, але й цитохімічні методи дослідження, що ґрунтуються на використанні високоселективних металохромних індикаторів.

У таблиці 4.1 містяться результати досліджень рівня цукру в крові, цинку та інсуліну в клітинах β острівців осіб, хворих на цукровий діабет.

Таблиця 4.1

Глікемія, вміст цинку та магнію (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у панкреатичних клітинах β осіб здорових (контрольних) і хворих на цукровий діабет

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Магній β-клітин, мкг/мл	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=24)	5,8 ± 0,17	63±4,7	58 ± 4,2	0,92***
Діабет (n=14)	20,5±0,46***	13±2,3***	17±2,5***	0,96***

Примітка: ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

Отримані дані свідчать про те, що в осіб з цукровою хворобою гіперглікемія зростала на 253 % (P < 0,001), а в панкреатичних β-клітинах знижувався вміст цинку відповідно на 79 % (P < 0,001), магнію – на 74 % (P < 0,001) [16].

Отже, при цукровому діабеті у людей спостерігався високий рівень цукру в крові, а також дефіцит вмісту цинку та магнію в острівцевих клітинах β. Висока достовірність коєфіцієнту кореляції при високій його щільності вказує на існування певного зв'язку між змінами цих металів у панкреатичних острівцях хворих осіб.

Про характер змін інсуліну в крові та β-клітинах панкреатичних острівців людей з діабетом свідчать дані таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Вміст інсуліну в крові та панкреатичних клітинах β (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у осіб здорових (контрольних) і хворих на цукровий діабет

Група тварин	Інсулін крові, мкО/мл	Інсулін β-клітин		$r_{2,3}$
		Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{2,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=24)	14,8 ± 1,32	1,2 ± 0,13	83±10,0	0,77**
				0,46*
Діабет (n=14)	1,7 ± 0,24***	0,4±0,03***	25±1,7***	0,51*
				0,43*

Примітка: *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

При діабеті встановлено виражений дефіцит інсуліну в крові та панкреатичних острівцях: зниження вмісту цих компонентів дорівнювало відповідно 89 % (P < 0,001) і 79 % (P < 0,001). Односпрямований характер змін гормону в крові та клітинах підтверджується проведеним кореляційним аналізом [16].

Показано, що при діабед порушується обмін цинку в організмі, призводячи до недостатності цього мікроелементу [228, 365, 375]. Тому слід очікувати

покращення стану здоров'я хворих на діабет у випадку призначення їм цинковмісних препаратів.

На підставі біохімічних досліджень Prasad A.S. зробив висновок про те, що вміст цинку в гранулоцитах крові може бути показником стану обміну цього металу в клітинах організму [16]. Але біохімічні методи не дозволяють проводити масові тестування через їх з трудомісткість. На одне визначення потрібно взяття з ліктьової вени великої кількості крові (20 мл і більше). В цьому відношенні явні переваги мають цитохімічні методи, які потребують узяття з пальця на одне визначення 2-3 крапель крові. Завдяки простоті та швидкості таких методів можливе широке обстеження різних груп населення, проведення постійних тестувань у однієї і тієї самої особи та спостереження за динамікою розвитку захворювання.

У зв'язку з цим нами було розроблено методи цитохімічного визначення цинку з використанням металохромних індикаторів дитизону і 8-ТСХ. Дитизон утворює з цинком забарвлений у червоний колір комплекс, що виявляється в клітинах під світловим мікроскопом. 8-ТСХ утворює з цинком комплекс, який люмінесціює жовто-зеленим світлом.

Паралельно з вмістом внутрішньоклітинного цинку проводили дослідження кількості секреторного матеріалу, що, як відомо, є показником функціональної активності гранулоцитів. Для цього застосовували цитохімічну реакцію МЗЕ.

Про зміни вмісту цинку та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові осіб, хворих на цукровий діабет, можна робити висновки на підставі даних таблиці 4.3.

Як видно з таблиці, при цукровому діабеті в зернистих лейкоцитах осіб інтенсивність цитохімічної реакції дитизону, сульфарсазену та МЗЕ на 46 % ($P < 0,001$), 42 % ($P < 0,001$) і 45 % ($P < 0,001$) відповідно нижче контрольних величин [66, 133, 148]. Спостерігалась позитивна кореляція змін внутрішньоклітинних цинку та секреторного матеріалу.

Таблиця 4.3

Вміст цинку та секреторного матеріалу (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у гранулоцитах крові осіб здорових (контрольних) і хворих на цукровий діабет

Група обстежених осіб	Інтенсивність реакції, ум.од.			$r_{3,4}$
	Дитизон	Сульфарсазен	МЗЕ	
1	2	3	4	5
Контроль (n=24)	1,3 ± 0,10	1,2 ± 0,09	1,1 ± 0,08	0,81***
Діабет (n=14)	0,7 ± 0,06***	0,7 ± 0,06***	0,6 ± 0,04***	0,82***

Примітка: позначення, як у табл.4.2.

Отож, у людей при діабеті встановлений дефіцит цинку та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові.

З метою визначення діагностичних критеріїв на ІЗЦД та ІНЦД проводилися порівняльні дослідження крові. Нами встановлено, що рівень цукру в крові здорових осіб (n = 20), які складали контрольну групу, дорівнював 5,1 ± 0,27 ммоль/л. У хворих на ІЗЦД (n = 20) концентрація глюкози в крові зростала на 178 % і в середньому дорівнювала 14,2 ± 1,18 ммоль/л (P < 0,001). При ІНЦД (n = 20) підвищення цукру в крові становило 102 %, що в середньому складало 10,3 ± 0,76 ммоль/л (P < 0,001).

Таким чином, у хворих на цукровий діабет спостерігається розвиток гіперглікемії, вираженої у більшому ступені при ІЗЦД.

Загальна кількість еритроцитів у крові осіб контрольної групи дорівнювала в середньому 4,2 ± 0,19·10^{12}/л, рівень гемоглобіну в крові відповідав 126,1 ± 3,75г/л, а ШОЕ – 7,6 ± 0,54 мм/год.

Загальна кількість еритроцитів у крові хворих на ІЗЦД зростала на 19 % (5,0 ± 0,26·10^{12}/л; P < 0,01) при ІЗЦД, 14 % (4,8 ± 0,22·10^{12}/л; P < 0,05) – при ІНЦД. У хворих на ІНЦД рівень гемоглобіну збільшувався на 13 % (142,4 ± 3,87 г/л; P < 0,01), а при ІЗЦД – на 18 % (148,9 ± 4,13·10^{12}/л; P < 0,01).

ШОЕ знижувалась на 24 % (5,8 ± 0,41 мм/год; P < 0,01) в осіб, хворих на ІЗЦД, на 20 % (6,1 ± 0,48 мм/год; P < 0,02) – в осіб, хворих на ІНЦД.

Таким чином, у хворих на цукровий діабет спостерігається зростання в крові загальної кількості еритроцитів і рівня гемоглобіну та зниження ШОЕ. Ці зміни були дещо вираженішими при ІЗЦД.

Загальна кількість лейкоцитів у осіб конрольної групи становить 6,4 ± $0,35 \cdot 10^9$/л, а лейкоцитарная формула мала наступний вигляд: еозинофіли - 2,9 ± 0,24 %, нейтрофіли паличкоядерні - 3,1 ± 0,28 %, сегментоядерні - 56,7 ±4,61 %, лімфоцити - 32,6 ± 2,29 %, моноцити - 4,7 ± 0,43 %.

При ІЗЦД загальна кількість лейкоцитів суттєво не відрізнялась від значень контролю (P>0,05) та дорівнювала $7,1 \pm 0,43 \cdot 10^9$/л. У лейкограмі спостерігалось зниження відносної кількості нейтрофілів: паличкоядерних – на 42 % (1,8 ± 0,15%; P < 0,01), сегментоядерних – на 38 % (40,6 ± 2,35%; P < 0,01) і підвищення відсотка лімфоцитів на 51 % (49,1 ± 3,37 %; P < 0,001). Стосовно еозинофілів і моноцитів достовірних відмінностей з контролем не встановлено (P > 0,05), причому середні їх показники відповідали 2,6 ± 0,13 % і 5,9 ± 0,48 %.

У хворих на ІНЦД загальна кількість лейкоцитів у крові складала 6,8 ± $0,39 \cdot 10^9$/л, що лише на 6 % вище норми (P > 0,05). При підрахунку лейкоцитарної формули відмічалось збільшення відсотка лімфоцитів на 36 % (44,3 ± 3,05 %; P < 0,01) і зменшення відносної кількості нейтрофілів паличкоядерних на 26 % (2,3 ± 0,19%; P < 0,05), сегментоядерних – на 19% (46,1 ± 2,43 %; P < 0,05). Відсоток еозинофілів і моноцитів достовірно не відрізнявся від контролю (P > 0,05) і складав відповідно 3,1 ± 0,27 % і 4,2 ± 0,36 %.

Таким чином, загальна кількість лейкоцитів у периферічній крові суттєво не змінювалась при обох типах цукрового діабету, а в лейкоцитарній формулі встановлено зростання відносної кількості лімфоцитів і зниження відсотка паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів. Ступінь вираженості цих змін був дещо вищий при ІЗЦД.

В окремій серії дослідів визначався вміст цинку в зернистих лейкоцитах крові хворих осіб отримані результати свідчать про те, що в осіб контрольної

групи в гранулоцитах крові інтенсивність цитохімічної реакції дитизону дорівнювала в середньому 1,3 ± 0,09% ум.од., а кількість гранул дитизону – 141,2 ± 5,36.

При ІЗЦД встановлено зниження інтенсивності досліджуваної реакції на 38 %, що в середньому складало 0,8 ± 0,05 ум.од. (P < 0,001). При цьому кількість дитизонофільних гранул скорочувалась на 27 % і становила в середньому 103,1 ± 4,89 (P < 0,001).

У зернистих лейкоцитах хворих на ІНЦД інтенсивність дитизонової реакції відповідала 1,0 ± 0,07, що на 23 % менше контролю (P < 0,01). Зменшення кількості гранул дитизону дорівнювало 16 %, при цьому її середнє значення складало 118,6 ± 5,04 (P < 0,01).

Зниження інтенсивності цитохімічної реакції дитизону в гранулоцитах крові, хворих на цукровий діабет, вказує на виснаження депо цинку в досліджених клітинах. Зменшення кількості гранул дитизону в зернистих лейкоцитах свідчить про втрату клітинами здібності акумулювати цинк.

У хворих на ІЗЦД порівняно з ІНЦД встановлено більш виражений дефіцит цинку в гранулоцитах крові, що можна розглядати в якості діагностичного критерію на ці типи діабету.

Сучасні уявлення про етіологію та патогенез цукрового діабету в певній мірі можуть сприяти попередженню реалізації цього тяжкого захворювання та його ускладнень. Знання клінічної симптоматики, методів діагностики дозволить надати своєчасну і кваліфіковану допомогу, попередити розвиток невідкладного стану та визначити його прогноз [4, 6,7, 72, 101, 102, 114, 123, 124, 128, 139, 168, 205, 211, 234, 372, 382, 383]. Нами проводилось дослідження основних показників крові при одному з найважчих наслідків цукрової хвороби – діабетичній комі.

Діабетична (кетонемічна, кетоацидотична) кома – це гостре ускладнення ІЗЦД, обумовлене: а) впливом кетонових тіл і тканинної гіпоксії на клітини ЦНС; б) зневодненням; в) зсувом pH у бік ацидозу. Підвищення катаболізму білків і їх підсилене перетворення у вуглеводи викликає підвищене утворення

аміаку та сечовини, як результат – виникає гіперазотемія і гіперазотурія, наслідком яких є посилення інтоксикації і гіпоксії тканин мозку. Нейтралізація аміаку в мозку при ЦД утруднюється через дефіцит кетокислот, які використовуються для глюконеогенезу. Тому інтоксикація аміаку ускладнюється перебігом тканинної гіпоксії ЦНС. Гіпоксія нейронів безпосередньо призводить до: а) порушення дихання; б) судинного колапсу; в) зниження м'язового тонусу; г) порушення вищої нервової діяльності [6, 7, 101, 102, 114, 126, 168].

Клінічні аспекти діабетичної коми характеризуються наступним. Кома розвивається поступово (від 12-24 год до декількох діб). У розвитку коми виділяють чотири стадії:

1 – легкий кетоацидотичний стан;

2 – виражений кетоацидотичний стан;

3 – важкий кетоацидотичний стан;

4 – власне кома:

а) поверхнева;

б) виражена;

в) глибока;

г) термінальна.

Власне кома характеризується:

- повною втратою свідомості;
- диханням Куссмауля (шумне, глибоке, рідке, з видовженням вдихом і коротким видихом; кожному вдиху передує тривала пауза);
- запах ацетону у видихуваному повітрі (запах квашених яблук);
- шкіра хворого суха, холодна; тонус очних яблук різко знижений; зіниці звужені; мускулатура в'яла та розслаблена;
- температура тіла знижена; пульс малий, частий; є гіпотензія; виникає олігурія аж до анурії; присутні атонія кишечника та синдром переповнення атонічного шлунка; відмічаються ознаки гіпокаліємії (на ЕКГ: зниження ST і зубця Т, загострених Р, а також патологічного зубца U) [6, 7, 101, 102, 114, 126, 168].

Для з'ясування важкості стану хворих при діабетичній комі рівень цукру визначали одночасно в крові та сечі. Особливої уваги заслуговує досліджєння вмісту цинку при діабеті.

У осіб, які складали контрольну групу (n = 23), вміст лейкоцитів у крові дорівнював у середньому 6,2 ± 0,34·10^9/л, а лейкоцитарна формула виглядала так: відносна кількість паличкоядерних нейтрофілів - 5,1 ± 0,13%, сегментоядерних нейтрофілів - 57,1 ± 4,90 %, еозинофілів - 3,9 ± 0,14 %, базофілів - 0,9 ± 0,05 %, лімфоцитів - 25,7 ± 1,40 %, моноцитів - 7,3 ± 0,52 %.

У осіб з діабетичною комою (n = 20) кількість лейкоцитів у середньому дорівнювала 12,9 ± 0,86·10^9/л, що на 108 % більше за норму (P < 0,001). У лейкоцитарній формулі встановлено зниження відносного вмісту еозинофілів на 69 % (1,2 ± 0,60 %; P < 0,001), підвищення відносної кількості базофілів на 33 % (1,2 ± 0,09 %; P < 0,01), паличкоядерних нейтрофілів – на 31 % (6,7 ± 0,09 %; P < 0,001). Відносно сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів і моноцитів суттєвих відмінностей від контролю не встановлено, причому їх середнє значення дорівнювали відповідно 59,2 ± 3,07 %, 24,9 ± 1,60 % і 6,8 ± 0,84 %.

Отже, у хворих на цукровий діабет з комою спостерігалося збільшення загальної кількості лейкоцитів. У лейкоцитарній формулі встановлено підвищення відносної кількості паличкоядерних нейтрофілів, базофілів та зниження відсотка еозинофілів. По відношенню до інших показників закономірних змін не виявлено.

У контрольних осіб вміст еритроцитів у крові в середньому складав вміст гемоглобіну- 126,0 ± 2,60 г/л, кольоровий показник - 0,88 ± 0,04 ум.од., ШОЕ - 7,9 ± 0,90 мм/год.

В осіб з діабетичною комою кількість еритроцитів дорівнювала 4,4 ± 0,08·10^{12}/л, що лише на 5 % більше норми (P > 0,05). Рівень гемоглобіну був вище норми лише на 8 % (136,0 ± 6,40 г/л; P > 0,05), а кольоровий показник – на 6 % (0,93 ± 0,07 ум.од.; P > 0,05). ШОЕ була менше норми на 51 % (3,9 ± 0,14 мм/год; P < 0,001) [86].

Отже, у осіб з діабетичною комою спостерігається тенденція до зростання

загальної кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну в них та кольорового показника на тлі зниження ШОЕ.

У осіб контрольної групи вміст цукру в крові складав 5,4 ± 0,38 ммоль/л, вміст кетонових тіл у сироватці крові - 1,3 ± 0,09 ммоль/л, глюкоза в сечі не виявлялася. В осіб з діабетичною комою вміст цукру в крові дорівнював 23,9 ± 2,05 ммоль/л, що на 343 % більше за норму (P < 0,001). Вміст кетонових тіл у сироватці крові -7,1 ±1,40 ммоль/л, що на 446 % вище контрольних величин (P < 0,001). Тільки в осіб при діабетичній комі на відміну від здорових людей, що складали контрольну групу, виявлялась глюкоза в сечі, рівень якої досягав 12,2 ± 1,40 ммоль/л. Це відповідно в 12,2 рази вище норми (P < 0,001) [86].

Отже, у хворих на цукровий діабет з комою зростав рівень цукру в крові, кетонових тіл у сироватці крові та з'являлася глюкоза в сечі.

У осіб контрольної групи вміст креатиніну в крові в середньому складав 76,0 ± 5,20 ммоль/л, вміст сечовини - 6,1 ± 0,14 ммоль/л, осмолярність сироватки крові дорівнювала 303,0 ± 2,0 ммоль/л, pH крові - 7,1 ± 0,06. В осіб з діабетичною комою вміст креатиніну зростав на 39 % (105,3 ± 1,60 ммоль/л; P < 0,001), вміст сечовини - на 21 % (7,4 ± 0,40 ммоль/л; P < 0,001). Осмолярність сироватки крові дорівнювала 300,1 ± 3,80 ммоль/л, а pH - 7,2 ± 0,05. Достовірних відмінностей від контролю не встановлено (P > 0,05) [86].

Отже, у хворих на цукровий діабет з комою зростає рівень креатиніну та сечовини в плазмі крові. По відношенню до інших показників закономірних змін не виявлено.

У осіб контрольної групи інтенсивність цитохімічної реакції дитизону дорівнювала в середньому 1,3 ± 0,08 ум.од., а кількість дитизонофільних гранул - дорівнювала 141,0 ± 5,1. При діабетичній комі інтенсивність реакції знижувалась на 54 % (0,6 ± 0,06 ум.од.; P < 0,001), а кількість гранул дитизону на 37 % (89,0 ± 3,6; P < 0,001) [86].

Отже, у хворих на цукровий діабет з комою спостерігається зменшення інтенсивності реакції і числа дитизонофільних гранул у зернистих лейкоцитах, що говорить про розвиток цинкової недостатності.

У контрольних осіб інтенсивність цитохімічної реакції МЗЕ дорівнювала в середньому 1,1 ± 0,07 ум.од., а кількість гранул МЗЕ - 129,0 ± 4,3. При діабетичній комі інтенсивність реакції знижувалась на 45 % (0,6 ± 0,05 ум.од.; P < 0,001), а кількість гранул МЗЕ – на 34 % (85,0 ± 6,1; P < 0,001) [86].

Отже, у хворих на цукровий діабет з комою спостерігається зменшення інтенсивності реакцій і числа гранул дитизону та МЗЕ у зернистих лейкоцитах, що вказує на розвиток цинкової та секреторної недостатності. Ця обставина свідчить про пригнічення захисних властивостей клітин.

Вітчизняні дослідники вважають, що за рахунок самовільних викиднів, мертвонароджень, неонатальної смертності держава щорічно втрачає 2 млн 700 тис. років потенційного життя, що за існуючої середньої тривалості дорівнює життю близько 40 тис. жителів [205]. У багатьох випадках зазначені проблеми обумовлені екстрагенітальною патологією вагітних, а саме цукровим діабетом [72, 101, 102, 114, 205, 372, 383].

Діабет частіше зустрічається в жінок з вагітністю в анамнезі. Більш висока частота діабету в жінок, безсумнівно, пов’язана з вагітностями й частота діабету прямо пропорційна числу вагітностей. Частота діабету в жінок, які не народжували, близька до частоти діабету в чоловіків у відповідній віковій групі. Діабет зустрічається в одній вагітній на 500. Ця цифра наближається до частоти діабету в жінок у репродуктивному віці [102, 114, 124, 205].

У здорових вагітних жінок, які складали контрольну групу (n = 20), загальна кількість еритроцитів дорівнювала 3,9 ± 0,04·10^{12}/л, рівень гемоглобіну - 120,7 ± 1,41 г/л, ШОЕ - 10,6 ± 1,40 мм/год, рівень цукру в крові – 4,2 ± 0,11 ммоль/л, загальна кількість лейкоцитів - 7,0 ± 0,35·10^{9}/л. Показники лейкоцитарної формули мали такий вигляд: еозинофіли - 1,6 ± 0,11%, паличкоядерні нейтрофіли - 3,6 ± 0,23 %, сегментоядерні нейтрофіли - 62,7 ± 0,98 %, лімфоцити – 27,6 ± 0,99 %, моноцити - 4,5 ± 0,20 %.

Загальна кількість еритроцитів і рівень гемоглобіну в крові знижувались у вагітних з цукровим діабетом (n=10) на 5% (3,7 ± 0,07·10^{12}/л; P < 0,02 і 114,2 ± 2,32 г/л; P < 0,02). Величина ШОЕ при цьому зростала на 61 % (17,1 ±

2,34 мм/год; P < 0,02). При цукровому діабету спостерігалась тенденція до зростання глікемії. У лейкограмі вагітних, хворих на цукровий діабет, встановлено збільшення відносної кількості сегментоядерних нейтрофілів на 7 % (66,9 ± 2,53 %; P < 0,02) і зниження відносної кількості лімфоцитів на 15 % (23,5 ± 1,70 %; P < 0,05) [68].

У гранулоцитах крові контрольних осіб інтенсивність цитохімічної реакції дитизону в середньому складала 1,5 ± 0,07 ум.од., а реакції сульфарсазену – 1,4 ± 0,09 ум.од. При вагітності з діабетом зниження цих показників становило відповідно 33 % (1,0 ± 0,09 ум.од.; P < 0,001) і 36 % (0,9 ± 0,05 ум.од.; P < 0,001) [68].

Таким чином, у вагітних жінок з цукровим діабетом розвивається дефіцит цинку в гранулоцитах крові. Враховуючи літературні дані про роль цинку в регуляції функціональної активності клітин, можна припускати, що зменшення вмісту цього металу в гранулоцитах крові осіб з патологічним перебігом вагітності змінює активність цинковмісних ферментів, викликає підвищення проникності клітинних мембран, а отже знижує захисні властивості клітин.

Інтенсивність реакції МЗЕ в гранулоцитах крові контрольних осіб складала в середньому 1,2 ± 0,06 ум.од. При вагітності з анемією інтенсивність дослідженої реакції у клітинах знижувалась на 17 % (1,0 ± 0,07 ум.од.; P < 0,05), а при цукровому діабеті – на 33 % (0,8 ± 0,06 ум.од; P < 0,001) [68].

Зниження інтенсивності цитохімічної реакції МЗЕ в гранулоцитах крові обстежених осіб свідчить про розвиток у них секретної недостатності.

Відомо, що особи, молодші 15 років, складають 5 % загального числа хворих на діабет. Частота такого діабету серед дітей складає 1 на 2500. Розподіл за статтю на відміну від діабету в більш старших вікових групах майже однаковий. У дівчаток діабет частіше починається в віці 10 років, що звичайно супроводжується передчасним статевим дозріванням. У хлопчаків діабет починається частіше всього у віці 13 років. Для всіх випадків юнацького діабету із відмінності статті вік найбільш частого розвитку діабету – 11 років. Цукровий діабет в дітей часто вперше діагностується при розвиненому гострому не-

відкладному стані [6, 7, 72, 101, 102, 114, 168, 372]. Використання сучасних методів лікування цукрового діабету в дітей сприяє покращенню здоров'я та якості життя хворих [205, 234, 382, 383].

Нами вивчалась картина крові в дітей шкільного віку при цукровому діабеті різного ступеня важкості. У таблиці 4.4. наведені дані показників гемоглобіну, гематокриту, загального білка в крові хворих дітей.

При діабеті середнього ступеня важкості рівень гемоглобіну в крові підвищувався на 10 % ($P < 0,01$). Величина гематокриту в обстежених осіб цієї групи на 14 % більше від контролю ($P < 0,01$). Концентрація загального білка зросла на 16 % ($P < 0,05$). При важкому діабеті в дітей концентрація гемоглобіну на 10 % більша від контролю ($P < 0,05$). Величина гематокриту підвищилася на 12 % ($P < 0,01$), а концентрація загального білка - на 20 % ($P < 0,01$) [88].

Таблиця 4.4

Вміст гемоглобіну, гематокриту, загального білка в крові дітей шкільного віку при цукровому діабеті різного ступеня важкості (*M±m*)

Група обстежених осіб	Кількість обстежених осіб	Рівень гемоглобіну в крові, г/л	Величина гематокриту, %	Концентрація загального білка в крові, г/л
Контроль (здорові особи)	10	133,4 ±4,35	40,7 ±1,27	61 ±2,61
Легкий діабет	10	137,5 ±4,94	41,3 ± 1,41	67,9 ± 2,53
Діабет середнього ступеня важкості	10	151,8 ±5,67**	46,5 ± 1,82**	70,8 ± 3,27*
Важкий діабет	10	147,6 ± 3,78*	45,9 ± 1,00**	73,2 ± 2,22**

Примітка: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$ порівняно з контролем.

Таким чином, при цукровому діабеті середнього ступеня важкості і важкому діабеті встановлено зростання рівня гемоглобіну в крові, величини гематокриту та концентрації загального білка.

У таблиці 4.5 наведені дані глікемії у дітей шкільного віку при цукровому діабеті.

Таблиця 4.5

Рівень глюкози в крові дітей шкільного віку при цукровому діабеті різного ступеня важкості (*M* ± *m*)

Група обстежених осіб	Кількість обстежених осіб	Концентрація глюкози в крові, ммоль/л
Контроль (здорові особи)	10	4,7 ± 0,23
Легкий діабет	10	7,6 ±1,30*
Діабет середнього ступеня важкості	10	14,1 ±2,64***
Важкий діабет	10	23,4 ± 2,02***

Примітка: * - P < 0,05; *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

При легкому діабеті рівень глюкози в крові на 61 % більше від контролю (P < 0,05). При діабеті середнього ступеня важкості цей показник підвищувався на 200 % (P < 0,001). При важкому діабеті концентрація глюкози в крові на 397 % більша від норми (P < 0,001) [88].

Отже, рівень глюкози в крові дітей при цукровому діабеті різних ступенів важкості значно підвищувався і відповідав ступеню важкості хвороби.

У таблиці 4.6 наведені дані показників сечовини та креатиніну в крові хворих дітей.

При легкому діабеті рівень сечовини в крові на 16 % (P > 0,05), а креатиніну - на 149 % (P < 0,001) більше від контролю. При діабеті середнього ступеня важкості рівень креатиніну зростав на 196 % (P < 0,001). При важкому діабеті в крові збільшувалась порівняно з нормою концентрація сечовини на 52 % (P < 0,05), а креатиніну - на 264 % (P < 0,001) [88].

Таблиця 4.6

Показники сечовини та креатиніну в крові дітей шкільного віку при цукровому діабеті різного ступеня важкості ($M \pm m$)

Група обстежених осіб	Кількість обстежених осіб	Концентрація сечовини в крові, ммоль/л	Концентрація креатиніну в крові, мкмоль/л
Контроль (здорові особи)	10	5,0 ± 0,25	88,2 ±7,55
Легкий діабет	10	5,8 ± 0,53	220,0 ±27,17***
Діабет середнього ступеня важкості	10	5,7 ± 0,57	261,8 ±22,35***
Важкий діабет	10	7,6 ± 1,02*	321,3 ±66,35***

Примітка: позначення, як у табл.4.5.

Отже, важкий діабет характеризувався підвищенням концентрація сечовини в крові дітей шкільного віку. Рівень креатиніну значно підвищувався у всіх трьох випадках, особливо при важкому діабеті.

У таблиці 4.7 наведені показники печінкових проб у крові обстежених дітей.

Таблиця 4.7

Показники печінкових проб у крові дітей шкільного віку при цукровому діабеті різного ступеня важкості ($M \pm m$)

Група обстежених осіб	Кількість обстежених осіб	Рівень білірубіну в крові, мкмоль/л	АСТ, мкмоль/ год• мл	АЛТ, мкмоль/ год•мл
Контроль (здорові особи)	10	12,4 ±0,87	0,36 ± 0,03	0,35 ± 0,02
Легкий діабет	10	13,4 ±0,94	0,33 ± 0,05	0,41 ± 0,08
Діабет середнього ступеня важкості	10	11,6 ±0,52	0,69 ±0,10**	0,81 ±0,20*
Важкий діабет	10	16,2 ±3,14	0,52 ±0,10	0,51 ±0,10*

Примітка: позначення, як у табл.4.4.

При діабеті середнього ступеня важкості концентрація АСТ збільшилась на 91% (P < 0,01), а АЛТ - на 131% (P < 0,05) [88].

Отже, при легкому і важкому діабеті показники білірубіну, АСТ та АЛТ майже не змінювалися, а при діабеті середнього ступеня важкості - підвищувались концентрації АСТ і АЛТ.

У таблиці 4.8 наведені показники водно-сольового балансу у дітей, хворих на діабет.

Таблиця 4.8

Показники водно-сольового балансу в крові дітей шкільного віку при цукровому діабеті різного ступеня важкості (*M* ± *m*)

Група обстежених осіб	Кількість обстежених осіб	Концентрація K^+, ммоль/л	Концентрація Na^+, ммоль/л	Концентрація Cl^-, ммоль/л	Концентрація Ca^{++}, ммоль/л
Контроль (здорові особи)	10	3,6 ±0,29	141,67±1,86	103,1 ±2,21	2,2 ± 0,07
Діабет легкого ступеня важкості	10	4,3 ± 0,29	135,4 ±2,27*	111,9±2,94*	2,0 ±0,15
Діабет середнього ступеня важкості	10	3,5 ±0,15	136,0 ±1,31*	114,9±3,21**	2,0 ± 0,09
Важкий діабет	10	4,6 ±0,26*	136,6±1,08*	104,0±5,65	2,0 ±0,14

Примітка: позначення, як у табл.4.4.

При легкому діабеті концентрація Na^+ зменшувалась на 4 %; (P < 0,05): а концентрація Cl – збільшилась на 8 % (P < 0,05) [88]. При діабеті середньої важкості концентрація Na^+ зменшувалась на 4 % (P < 0,05), а концентрація хлору на 11% вище від контрольної величини (P < 0,01). При важкому діабеті концентрація калію збільшувалась від норми на 27 % (P < 0,05), рівень натрію зменшувався на 4 % (P < 0,05) [88].

Отже, при легкому діабеті та діабеті середньої важкості знижувалась концентрація натрію, збільшувалась концентрація хлору в крові. При важкому

діабеті концентрація калію в крові збільшувалась, а концентрація натрію знижувалась.

У таблиці 4.9 наведені дані вмісту цинку та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові дітей шкільного віку, хворих на цукровий діабет різного ступеня важкості.

Таблиця 4.9

Інтенсивність цитохімічних реакцій дитизону, сульфарсазену та МЗЕ в гранулоцитах крові дітей шкільного віку при цукровому діабеті різного ступеня важкості ($M \pm m$)

Група обстежених осіб	Кількість обстежених осіб	Інтенсивність цитохімічної реакції, ум.од.		
		дитизону	сульфарсазену	МЗЕ
Контроль (здорові особи)	10	1,2 ±0,10	1,1 ±0,08	1,0±0,07
Легкий діабет	10	0,9±0,06*	0,8±0,05**	0,7±0,05**
Діабет середнього ступеня важкості	10	0,8±0,07**	0,7±0,06***	0,6±0,03***
Важкий діабет	10	0,6±0,04***	0,5±0,03***	0,5±0,02***

Примітка: * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 порівняно з контролем.

При легкому діабеті вміст цинку в досліджених клітинах осіб зменшувався на 25 % (P < 0,05) – 27 % (P < 0,01), а секреторного матеріалу – на 30 % (P < 0,01). У хворих на цукровий діабет середньої важкості вміст внутрішньоклітинного цинку, визначеного за допомогою дитизонової та сульфарсазенової реакцій, на 33 % (P < 0,01) і 36 % (P < 0,001) нижче контрольних величин. Рівень секрету в зернистих лейкоцитах цієї групи хворих осіб зменшувався на 40 % (P < 0,001). При важкому діабеті в гранулоцитах осіб вміст цинку знижувався на 50 % (P < 0,001) – 55 % (P < 0,001), а секреторного матеріалу – на 50 % (P < 0,001) [88].

Таким чином, при цукровому діабеті розвивається дефіцит цинку та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові, що стає більш вираженим при зрос-

танні ступеня важкості хвороби. Аналогічні зміни стану гранулоцитів крові спостерігались у тварин з діабетом різного ступеня важкості [193].

Результати досліджень свідчать про те, що гранулоцити крові у людей і тварин можна використовувати для тестування ступеня важкості цукрового діабету.

У тварин з важким діабетом у зернистих лейкоцитах зменшувалась інтенсивність реакції дитизону на 82 % ($P < 0,001$), сульфарсазену – на 67 % ($P < 0,001$), МЗЕ – на 78 % ($P < 0,001$).

При діабеті середньої важкості показники знижувались відповідно на 64 % ($P < 0,001$), 44 % ($P < 0,001$) і 44 % ($P < 0,001$).

Таблиця 4.10

Вміст цинку та секреторного матеріалу (*M*± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у гранулоцитах крові мишей при різному ступені важкості алоксанового діабету

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум.од.			$r_{3,4}$
	Дитизон	Сульфарсазен	МЗЕ	
1	2	3	4	5
Контроль (n=14)	1,1 ± 0,07	0,9 ± 0,07	0,9 ± 0,06	0,92***
Важкий діабет (n=18)	0,2 ± 0,01***	0,3 ± 0,02***	0,2 ± 0,02***	0,82***
Діабет середньої важкості (n=21)	0,4 ± 0,03***	0,5 ± 0,03***	0,5 ± 0,04***	0,92***
Легкий діабет (n=13)	0,7 ± 0,06***	0,6 ± 0,04***	0,7 ± 0,05***	0,88***
Діабет не розвивався (n=11)	0,9 ± 0,06*	0,8 ± 0,07	0,8 ± 0,05	0,95***
Середнє (n=63)	0,5 ± 0,03***	0,3 ± 0,02***	0,5 ± 0,04***	0,72***

Примітка: позначення, як у табл.4.5.

При легкому діабеті у гранулоцитах крові мишей інтенсивність цитохімічних реакцій дитизону, сульфарсазену та МЗЕ на 36 % ($P < 0,001$), 33 % ($P < 0,001$) і 22 % ($P < 0,001$) відповідно менше контрольних величин.

У випадках, коли діабет не розвивався, у досліджених клітинах мишей інтенсивність реакції дитизону, сульфарсазену, МЗЕ на 18 % ($P < 0,05$), 11 % ($P > 0,05$) і 11 % ($P > 0,05$) нижче норми.

У середньому при алоксановому діабеті в гранулоцитах крові мишей знижувалась інтенсивність реакції дитизону на 55 % ($P < 0,001$), сульфарсазену – на 67 % ($P < 0,001$), МЗЕ – на 44 % ($P < 0,001$). Встановлено високої щільності і вірогідності позитивні коефіцієнти кореляції змін вмісту двох компонентів у досліджених клітинах.

Таким чином, дефіцит цинку та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові мишей знаходиться в залежності від ступеню важкості діабету. Аналогічна картина змін вмісту цинку та секрету в гранулоцитах крові спостерігалась у щурів при різному ступені важкості алоксанового діабету (табл.4.11).

Таблиця 4.11

Вміст цинку та секреторного матеріалу *(M± m)* та їх взаємозв'язок (r) у гранулоцитах крові щурів при різному ступені важкості алоксанового діабету

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум.од.			$r_{3,4}$
	Дитизон	Сульфарсазен	МЗЕ	
1	2	3	4	5
Контроль (n=16)	1,2 ± 0,08	1,0 ± 0,06	0,9 ± 0,07	0,81***
Важкий діабет (n=16)	0,3 ± 0,02***	0,2 ± 0,03***	0,2 ± 0,01***	0,91***
Діабет середньої важкості (n=14)	0,5 ± 0,03***	0,4 ± 0,05***	0,4 ± 0,03***	0,92***
Легкий діабет (n=13)	0,7 ± 0,05***	0,5 ± 0,03***	0,6 ± 0,05***	0,82***
Діабет не розвивався (n=10)	1,0 ± 0,07	0,9 ± 0,08	0,8 ± 0,06	0,81***
Середнє (n=53)	0,6 ± 0,05***	0,5 ± 0,04***	0,5 ± 0,05***	0,91***

Примітка: позначення, як у табл.4.2.

При важкому діабеті у зернистих лейкоцитах тварин знижувалась інтенсивність реакції дитизону на 75 % (P < 0,001), сульфарсазену – на 80 % (P < 0,001) , МЗЕ – на 78 % (P < 0,001).

У гранулоцитах крові щурів з діабетом середньої важкості зменшення інтенсивності реакції складало 58 % у випадку із забарвленням дитизоном (P < 0,001), 60 % - сульфарсазеном (P < 0,001), 56 % - МЗЕ (P < 0,001).

При легкому діабеті в гранулоцитах крові щурів інтенсивність досліджених реакцій відповідно на 42 % (P < 0,001), 50 % (P < 0,001) і 33 % (P < 0,001).

У випадках, коли у тварин діабет не розвивався, в зернистих лейкоцитах зниження інтенсивності реакції дитизону відповідало 17 % (P > 0,05), сульфарсазену – 10 % (P > 0,05), МЗЕ – 11 % (P > 0,05).

У середньому при алоксановому діабеті в гранулоцитах крові щурів інтенсивність цитохімічної реакції дитизону зменшувалась на 50 % (P < 0,001), реакції сульфарсазену – на 50 % (P < 0,001), МЗЕ-реакції – на 44 % (P < 0,001). Спостерігалась високопозитивна кореляція змін вмісту цих компонентів у досліджених клітинах.

Отже, чим важче цукровий діабет, тим більше знижується вміст цинку та секреторного матеріалу в зернистих лейкоцитах щурів.

В окремій серії дослідів визначався характер розподілу цинку, магнію та міді в гранулоцитах і сироватці крові при цукровому діабеті.

У табл.4.12 містяться дані вмісту цинку в крові осіб, хворих на цукровий діабет.

При діабеті вміст цинку був знижений на 46 % у гранулоцитах крові (P < 0,001), на 29 % - у сироватці крові (P < 0,001). У хворих на цукровий діабет знижується вміст магнію в зернистих лейкоцитах на 56 % (P < 0,001) і сироватці крові – на 58 % (P < 0,001). Спостерігалася висока вірогідна кореляція змін рівня металу в клітинах і сироватці крові. При цукровому діабеті спостерігається підвищення концентрації міді в гранулоцитах крові на 60 %

(P < 0,001) і сироватці – на 28 % (P < 0,05). Такі односпрямовані зміни підтверджувалися позитивним кореляційним зв'язком вмісту міді в клітинах і сироватці крові.

Таблиця 4.12

Вміст цинку, магнію та міді *(M ± m)* і їх взаємозв'язок (r) у гранулоцитах і сироватці крові людей здорових (контрольних) і хворих на цукровий діабет

Група тварин	Цинк		Магній		Мідь		$r_{2,3}$
	Грану-лоцити крові, ум.од.	Сироватка крові, мкмоль/л	Грану-лоцити крові, ум.од.	Сироват-ка крові, ммоль/л	Грану-лоцити крові, ум.од	Сироват-ка крові, мкмоль/л	$r_{4,5}$
							$r_{6,7}$
1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль (n=24)	1,3±0,10	14±0,25	0,9± 0,08	1,2± 0,08	0,5± 0,04	18± 1,1	0,42*
							0,65**
							0,42*
Діабет (n=14)	0,7± 0,06***	10± 0,3***	0,4± 0,07***	0,5± 0,03***	0,8± 0,06***	23± 2,3*	0,41*
							0,85***
							0,43*

Примітка: позначення, як у табл.4.5.

Таким чином, розвиток цукрової хвороби супроводжувався дефіцитом цинку і магнію та надлишком міді в крові. У всіх випадках спостерігалася позитивна кореляція змін концентрації цих металів у клітинах і сироватці людей.

Розподіл металів у клітинах і плазмі крові діабетичних тварин має такий самий характер, як у хворих осіб [28, 171, 252, 301].

4.2. Застосування нейтрадиційних методів відновлення здоров'я людей, хворих на діабет

Цукровий діабет є одним із найпоширеніших захворювань ендокринної системи та за медико-соціальною значущістю він посідає 3 місце серед усіх хвороб після серцево- судинних та онкологічних захворювань [1, 4-7, 10]. Зараз

в усьому світі нараховується понад 30 мільйонів хворих осіб і приблизно стільки ж людей з недіагностованою хворобою [1, 6, 7, 11, 16]. Цукровий діабет сприяє розвитку атеросклерозу з важкими наслідками - інфарктом міокарда, інсультом, гангреною нижніх кінцівок тощо. Такі ускладнення як ангіопатії, невропатії і нефропатії можуть викликатися вже на ранніх стадіях розвитку цукрового діабету [1, 3-7, 11, 13-15]. Враховуючи вище викладене, можна стверджувати, що не тільки вивчення клітинно-молекулярних механізмів розвитку діабету, але й пошук патогенетичних засобів його лікування відносяться до актуальних проблем сучасної біології і медицини.

Враховуючи встановлені порушення метаболізму металів у крові, в тому числі цинку, слід очікувати покращення стану здоров'я хворих на діабет у випадку призначення їм цинковмістних препаратів. З цією метою особам, хворим на діабет, призначали препарат „Цинктерал" у дозі 250 мг двічі на добу протягом місяця, після чого вивчали стан гранулоцитів крові.

У таблиці 4.13 наведені дані визначення цитохімічних реакцій дитизону, 8-ТСХ і МЗЕ в зернистих лейкоцитах крові осіб, хворих на цукровий діабет, до та після застосування ними препарату «Цинктерал».

Таблиця 4.13

Інтенсивність цитохімічних реакцій дитизону, 8-ТСХ і МЗЕ в гранулоцитах крові хворих на цукровий діабет, які отримували цинктерал *(M± m)*

Група осіб	Інтенсивність реакції, ум. од.		
	дитизону	8-ТСХ	МЗЕ
Контрольні особи (n = 20)	1,2+0,10	1,3+0,11	1,1 ±0,08
Хворі на цукровий діабет (n = 20)	0,5+0,05***	0,4+0,04***	0,4+0,02***
Хворі на цукровий діабет, які отримували цинктерал (n = 20)	1,0+0,07###	1,1+0,09###	0,9±0,06##

Примітка: *** - P<0,001 порівняно з контролем; ## -P<0,01; ### - P<0,001 порівняно з хворими на цукровий діабет.

У контрольних (практично здорових) осіб середня інтенсивність цитохімічної реакції дитизону в гранулоцитах складала 1,2 ± 0,10 ум. од., 8-ТСХ – 1,3 ± 0,11 ум. од., МЗЕ - 1,1 ± 0,08 ум.од.

При діабеті спостерігалось зниження в клітинах інтенсивності цитохімічної реакції дитизону на 58 % (P < 0,001), 8-ТСХ – на 69 % (P < 0,001), МЗЕ – на 64 % (P < 0,001).

У випадку призначення хворим особам цинктералу в зернистих лейкоцитах зниження інтенсивності цитохімічної реакції дитизону дорівнювало 17 %, 8-ТСХ - 15%, МЗЕ - 18%. У всіх випадках зміни в порівнянні з контролем носили несуттєвий характер (P > 0,05). У хворих на цукровий діабет, які приймали препарат порівняно з хворими особами, що не приймали цинктералу, величини досліджених показників зростали відповідно на 100 % (P < 0,001), 175 % (P < 0,001) і 125 % (P < 0,001) [66, 148].

Подібна картина спостерігалась при підрахунку кількості гранул дитизону, 8-ТСХ і МЗЕ в зернистих лейкоцитах обстежуваних осіб.

Таблиця 4.14

Кількість гранул дитизону, 8-ТСХ і МЗЕ в гранулоцитах крові хворих на цукровий діабет, які отримували цинктерал *(M ± m)*

Група осіб	Кількість гранул		
	дитизону	8-ТСХ	МЗЕ
Контрольні особи (n=20)	140±5,4	141±5,2	129±4,3
Хворі на цукровий діабет (n=20)	91±+4,8***	90±4,6***	88±3,7***
Хворі на цукровий діабет, які отримували цинктерал (n=20)	127±5,0$_{\#}$	126±4,9$_{\#\#\#}$	119±4,1$_{\#\#\#}$

Примітка: *** - P<0,001 порівняно з контролем; $_{\#\#\#}$P<0,001 порівняно з хворими на цукровий діабет

У осіб контрольної групи в зернистих лейкоцитах середня кількість гранул дитизону становила 140 ± 5,4, 8-ТСХ – 141 ± 5,2, МЗЕ – 129 ± 4,3. При цукровому діабеті спостерігалось зменшення в порівнянні з контролем кількості гранул дитизону на 35 % (P < 0,001), 8-ТСХ – на 36 % (P < 0,001),

МЗЕ – на 32 % (P < 0,001).

Призначення цинковмісного препарату хворим людям нормалізувало ці показники, причому кількість гранул дитизону була на 9 % (P < 0,05), 8-ТСХ - на 10 % (P > 0,05), МЗЕ - на 8 % (P > 0,05) нижче контролю та на 40 % (P < 0,001), 40 % (P < 0,001) і 35 % (P < 0,001) відповідно вище значень кількості гранул у діабетиків, що не вживали цинктерал [66, 148].

Таким чином, призначення діабетикам препаратам „Цинктерал" корегувало дефіцит цинку та секреторного матеріалу в зернистих лейкоцитах, а отже покращувало функціональний стан цих клітин.

З'ясувалось також питання про можливість корекції фізичним навантаженням дефіциту цинку в гранулоцитах крові осіб з діабетом. Раніше нами було встановлено, що у здорових дорослих осіб фізичне навантаження викликає підвищення вмісту цього металу в клітинах [116]. Проведені дослідження довели, що при фізичному навантаженні інтенсивність дитизонової реакції у хворих на діабет (n=12) була на 15 % (P > 0,05), 8-ТСХ-реакції на 14 % (P > 0,05), МЗЕ-реакції – на 11 % (P > 0,05) менше контролю [133]. Ці дані вказують на те, що фізичне навантаження корегує дефіцит цинку та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові в осіб, хворих на діабет.

Підсумовуючи викладене в цьому розділі, можна зробити наступні висновки:

1. У хворих на цукровий діабет розвивається недостатність цинку, магнію та інсуліну в панкреатичних клітинах В на тлі низького рівня цього гормону в крові та гіперглікемії.

2. При цукровому діабеті встановлений дефіцит цинку та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові, який більш виражений при ІЗЦД та корелює зі ступенем важкості хвороби.

3. Розвиток цукрового діабету супроводжується дефіцитом не тільки цинку, але й магнію, а також надлишок міді як у гранулоцитах, так і сироватці крові.

4. Результати досліджень дозволяють рекомендувати розроблені цитохімічні методи на цинк, магній і мідь, в якості допоміжних, у діагностиці цукрового діабету, для масового обстеження осіб, а також для раннього виявлення хвороби.

5. Фізичне навантаження, а також вживання препарату „Цинктерал” можна розглядати в якості нетрадиційних методів відновлення здоров’я людей, хворих на діабет.

ГЛАВА 5. ДІАБЕТОГЕННІ СПОЛУКИ І МОЖЛИВА РОЛЬ ПРОЦЕСІВ КОМПЛЕКСОУТВОРЮВАННЯ З ЦИНКОМ У ПАТОГЕНЕЗІ ДІАБЕТУ

5.1. Про здатність комплексоутворюючих хімічних сполук викликати діабет

5.1.1.Алоксан

Алоксан – уреїд мезоксалевої кислоти $C_4H_2O_4N_2$, молекулярна вага якого становить 160,09 являє собою білу кристалічну речовину, що легко окислюється на повітрі, приймаючи рожеве забарвлення. Він може існувати в двох формах: водній і безводній. Кристали алоксану розчинюються у воді, спирті й ефірі, його водні розчини в умовах нейтрального середовища й при температурі тіла швидко розкладаються з утворенням алоксанової кислоти. При введенні в організм тварини алоксан вже через 5 хв після ін'єкції не виявляється в крові внаслідок його реакції з лугами й функціональними групами амінокислот [72, 219].

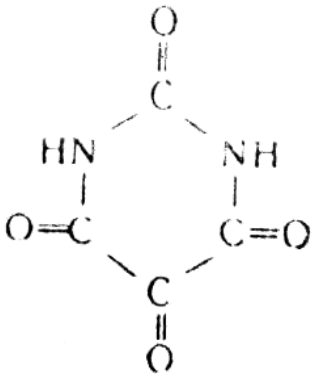

Рисунок 5.1. Хімічна формула алоксану.

Алоксан присутній у тканинах людини й тварин, його концентрація в крові підвищена у людини й при різних формах експериментального діабету. Перше повідомлення про вплив алоксану на вуглеводний обмін було зроблено Jackobs у 1937, а через 6 років стало відомо, що ця речовина при його введенні в організм тварини здатна викликати ушкодження інсулінпродукуючих клітин,

а у виражених випадках - перманентний діабет, що характеризується високою й стійкою гіперглікемією [72]. З тих пір алоксан застосовують для моделювання шляхом його парентерального (внутрішньом'язового, внутршньочеревинного й підшкірного) введення лабораторній тварині [72, 76, 103, 219, 240, 267, 295, 328, 349].

Глікемічна реакція в тварин на введення алоксану проявляється її трифазним розвитком: спочатку спостерігається первинна гіперглікемія з максимумом через 2-4 год, потім настає фаза гіпоглікемії (найбільше падіння концентрації цукру в крові - через 8 год після ін'єкції), а через 24-48 год відзначається вторинна гіперглікемія, що у виражених випадках переходить у перманентний діабет [72]. Коливання глікемії супроводжуються трифазними змінами вмісту інсуліну в крові й глікогену в печінці: спочатку їхній вміст зменшується, потім підвищується, після чого знову знижується. Вважають, що первинна гіперглікемія - результат підвищеного виділення в кров адреналіну й глюкагону, фаза гіпоглікемії - наслідок виходу значних кількостей інсуліну зі зруйнованих β-клітин, а розвиток вторинної гіперглікемії й діабету обумовлено різким скороченням інсуліногенних резервів у підшлунковій залозі [72, 76, 103, 219, 328].

Діабетогенна доза алоксану при його підшкірному введенні в 2-5 разів вище, ніж у випадках внутрішньовенних ін'єкцій; можна одержати діабет повторними призначеннями алоксану в малих (субдіабетогенних) дозах або його введенні безпосередньо в судини, що живлять підшлункову залозу. Існують видові розходження діабетогенної активності алоксану, що у морських свинок не викликає, а в риб, жаб, ящірок, змій, черепах, деяких птахів викликає гіперглікемію або минущий діабет, перманентний ЦД, вдається одержати введенням алоксану качці, курці, сові, голубові, миші, хом'ячку, щуру, кролю, кішці, собаці, мавпі [72, 76, 103, 219, 240, 295, 328, 349].

Підшкірні ін'єкції алоксану в дозі 150 - 200 мг/кг і внутрішньовенні - 50-75 мг/кг викликали розвиток у щурів стійкого діабету. Приблизно таку ж дозу цього агента призначаються собакам, у той час як мишам підшкірно, а кролям внутрішньовенно доводиться вводити вдвічі більше алоксану, ніж щурам;

існують також вікові й індивідуальні розходження чутливості тварин до диабетогенної дії алоксану [72, 76, 103, 219, 295].

Морфологічні зміни в підшлунковій залозі у тварин з алоксановим діабетом описані на світло-оптичному й ультраструктурному рівнях. Ці зміни характеризуються некрозом β-клітин острівців, що призводять до різкого скорочення інсуліногенних резервів підшлункової залози, падіння функціонального індексу. В уцілілих від первинного ушкодження β-клітинах спостерігається дегрануляція цитоплазми і її гідропічна дегенерація. Відзначаються також гіпертрофія й гіперплазія клітин α; описані ознаки регенерації β-клітин, їхнього утворення із клітин ацинусів і вивідних проток підшлункової залози [72, 76, 103, 219].

При алоксановому діабеті знижений вміст інсуліну в крові й підшлунковій залозі, підвищена чутливість тканин до екзогенного інсуліну, спостерігаються також зниження вмісту глікогену в печінці, виснаження жирової тканини, порушення процесів біосинтезу білка в тканинах. Описані при алоксановому діабеті зміни в підшлунковій залозі й інших органах можуть бути віднесені почасти до ускладнень [72, 219, 240, 295, 328, 349].

Однак у тварин, які одержали алоксан, спостерігаються також зміни, що не характерні для ЦД людини: діабетогенні дози алоксану викликають некроз печінки й нирок, що пов'язане з його побічною цитотоксичною дією. Ця обставина знижує цінність одержуваної з його допомогою моделі недостатності інсулярного апарату підшлункової залози. Описані також зміни в органах у нащадків від щурів-самок з алоксановим діабетом [72, 219, 267, 328].

Отже, алоксановий діабет характеризується первинною абсолютною недостатністю інсуліну, а у тварин відмічаються відповідні специфічні зміни метаболізму. Дефіцит інсуліну здійснює як безпосередній, так і опосередкований вплив на ряд сторін обміну речовин, які знаходяться під контролем інсуліну, а також гормонів гіпофіза, наднирників, щитоподібної залози та статевих гормонів [72, 76, 109, 219, 240, 295, 328, 349].

Відома значна кількість факторів, які послабляють або пригнічують діабетогенний ефект алоксану. Чутливість до алоксану підвищена при голодуванні

та при утриманні тварин на бідній на білки або багатій на жири дієті. Навпаки, дієта з великою кількістю білків або вуглеводів, а також уведення глюкози до ін'єкції алоксану підвищують резистентність до його діабетогенної дії, хлорипропамид, застосований до введення алоксану, потенціює його діабетогенну дію, збільшуючи частоту та важкість діабету. Аналогічний ефект спостерігається при попередньому введенні тиреотропного гормону, тиреоїдину та метилурацила. У ряді робіт показано, що розвиток діабету можна попередити, якщо до та після введення алоксану пережати на 5 хв судини, що живлять підшлункову залозу. Адреналін, вірогідно, буде здійснювати аналогічний ефект за рахунок звуження судин. Пригнічення діабетогенної дії алоксану отримано за допомогою ортофенілендіаміну n-амінопропіофенону, натрієвої солі 2-тетраоксибутил-5-метил-4-карбеток-сифурану. Захисний ефект перелічених речовин пов'язаний з інактивацією алоксану внаслідок утворення алоксанової кислоти й алоксантину [219, 240, 295, 328, 349].

Відомо, що іони деяких металів (кобальту, заліза), введені безпосередньо перед ін'єкцією алоксану, можуть рослабити на 50 % і більше діабетогенний агент алоксану. Цією властивістю володіє також сірка. Можливо, що зазначений захисний ефект обумовлений взаємодією іонів металів з алоксаном [132, 219, 328]. Трансплантація підшлункової залози, а також гіпофізектомія зменшують прояви діабету [219].

Симптоми цукрового діабету після введення алоксану різноманітні: гіперглікемія, глюкозурія, поліфагія, полідипсія та поліурія. Вже на наступний день реакція на цукор у сечі позитивна, діурез підвищений. гіперглікемія досягає різного ступеня: від незначного підвищення до 27,7 – 55,4 ммоль/л і вище, глюкозурія досягає 7 - 10 %, підвищується питома вага сечі [72, 76, 103, 219, 240, 295, 328, 349]. У неускладненних випадках вміст залишкового азоту не виходить за межі норми; важкі форми захворювання викликають різко виражену азотемію, азотурію, підвищення в м'язах азоту амінокислот, що свідчить про підсилений їх розпад. У мавп, собак, кролів, щурів і мишей з алоксановим діабетом гіперкетонемія та кетонурія виявляються лише тоді, коли відбувається ураження пе-

чинки, що супроводжується жировою інфільтрацією, а також за декілька діб до гибелі тварин. Початкова гіперкетонемія нерідко спостерігається в кролів, печінка яких більш чутлива до дії, різних хімічних речовин, ніж у щурів, собак і мавп; у останніх токсичний вплив алоксану більше проявляється відносно нирок. Якщо компенсаторні можливості організму достані, то наслідки токсичної дії алоксану на печінки ліквідуються та рівень кетонових тіл повертається до норми [219, 240, 295, 328, 349].

Індивідуальна чутливість до алоксану тварин одного й того самого виду варіює в дуже широких межах, що обумовлено віком, статтю, станом нервової та ендокринної систем, таких органів, як печінка, нирки та деяких інших, а також характером обміну речовин, харчування, вмістом у тканинах SH-груп та ін. Встановлено, що статевонезрілі щури резистентні до доз алоксану, які діабетогенні для дорослих тварин. Статевозрілі самці більш чутливі до дії алоксану, ніж самиці того ж віку [219, 240, 295, 328, 349].

Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених вивченню механізму діабетогенної дії алоксану, це питання залишається дотепер остаточно нез'ясованим. Встановлено, що ця дія пов'язана з ушкодженням інсулінпродукуючих клітин. Попереднє введення тварині цистеїну або глутатіону запобігало розвитку в них діабету при наступному призначенні алоксану. Інші експериментальні впливи, що сприяють збільшенню концентрації в крові глутатіону, також послабляли чутливість тварин до діабетогенної дії алоксану; ця чутливість, навпаки, підвищувалася в умовах досліду, коли кількість даного пептиду в крові була зменшена [72, 219, 240, 328]. При інсуліновій недостатності в людини й тварин кількість у крові речовин, що містять сульфгідрильні групи, знижена. Наведені дані можуть бути підтвердженням глутатіонової концепції механізму розвитку алоксанового діабету. Відповідно до цієї концепції інсулінпродукуючі клітини містять низькі концентрації глутатіону, тому що велика кількість сульфгідрильних груп витрачається в процесі біосинтезу гормону, що й обумовлює підвищену чутливість даних клітин до цитотоксичної дії алоксану: глутатіон є одним із клітинних факторів, що виконують протекторну роль стосовно токсичних ре-

човин [72, 177, 219, 267, 328]. Однак є ряд серйозних заперечень проти зазначеної концепції. Спеціальними дослідженнями не виявлено більше низького вмісту глутатіону в β-інсулоцитах у порівнянні з іншими клітинами, які не ушкоджуються алоксаном. Ряд речовин, що викликають зменщення кількості глутатіону в панкреатичних клітинах β, не мають діабетогенної дії [219].

Підкуповує переконливістю інша точка зору, відповідно до якої алоксан взаємодіє із цинком в інсулінпродукуючих клітинах і викликає тим самим їхнє ушкодження. Виявлена залежність ступеня вираженості пошкоджуючої дії алоксану на острівцеві клітини β у кролів від вмісту в них цинку: чим більше в даних клітинах цього металу, тим вони чутливіші до альтеруючої дії агента. Можливо, що резистентність морських свинок до діабетогенної дії алоксану пов'язана з відсутністю в їхніх панкреатичних острівцях цинку [72, 107, 365, 375].

Методом гістоавторадіографії була продемонстрована здатність алоксану вибірково накопичуватися в панкреатичних острівцях. Використовуючи речовини, що утворять з цинком забарвлені комплекси, було показано, що вони мають здатність при введенні їх в організм тварин селективно акумулюватися в лізосомносегрегаційному апараті β-інсулоцитів і викликати їхнє ушкодження, на підставі чого була висунута точка зору про зв'язок діабетогенної й ацидотропної дії речовин [72, 107, 110, 285]. Можна припустити, що алоксан вибірково накопичується в інсулінпродукуючих клітинах внаслідок його взаємодії з цинком і викликає їхнє ушкодження. Однак необхідні подальші дослідження для підтвердження цинкової концепції діабетогенної дії алоксану.

У 1953 р. з'явився ряд повідомлень про те, що в щурів, які одержували триптофан на тлі недостатності вітаміну B_6 або надлишкового надходження з їжею жирів і жирних кислот, у тварин спостерігали підвищене виведення із сечею ксантуренової кислоти – одного з метаболітів кінуренинового шляху обміну триптофану. Досить спрощено цей шлях можна представити в такий спосіб: під впливом триптофаноксигенази триптофан перетворюється в кінуренин, а останній під впливом кінуренин-3-гідроксилази переходить в 3-оксикінуренін. Обої ці продукти перетворюються за участю кінуренинамінотрансферази в кі-

нуренову, хінальдинову, ксантуренову й оксихінальдинову кислоти. Усі ці чотири кислоти підвищують рівень цукру в крові, що пояснюють їх комплексоутворенням з інсуліном через пов'язані з ним іони цинку [72, 219].

Дефіцит П-5-Ф спостерігається при підвищеному споживанні жирної їжі, недостатньому вмісті білків у ній, токсикозі вагінності, підвищеному виділенні в кров контрінсулярних гормонів, у людей літнього віку. Біосинтез П-5-Ф пригнічується під впливом деяких харчових продуктів рослинного походження, що містять, зокрема, ціаногенні глікозиди. Все це дозволяє припустити роль порушень обміну П-5-Ф в організмі в механізмі дії основних етіологічних факторів [6, 72, 114].

У ряді робіт показане підвищене утворення в літньому віці діабетогенних метаболітів триптофану. Це ж спостерігається й при деяких інфекційних захворюваннях, зокрема при ураженнях вірусом Коксаки В-4, енцефаломіокардиту та ін. [6, 72, 114, 224].

Як вже відзначалось вище, діабетогенні метаболіти триптофану мають здатність утворювати хелати. Спостерігалась залежність між кількістю цих метаболітів і цинку в сечі [72, 219, 375, 387]. Оскільки зниження вмісту цинку в панкреатичних острівцях супроводжується підвищеним його виведенням із сечею, можна припустити, що однієї із причин діабету, викликаного метаболітами триптофану, є зв'язування й виведення цинку з інсулінпродукуючих клітин.

5.1.2. Стрептозотоцин

Стрептозотоцин – це безбарвна речовина, яка на відміну від дитизону добре розчинна у воді і значно гірше - в органічних розчинниках. Стрептозотоцин, що не належить до групи типових комплексоутворюючих агентів, представляє інтерес в іншому плані - він є антибіотиком [72, 132, 219].

У 1963 році був виділений стрептозотоцин із бродильного бульйону. Стрептозотоцин має молекулярну масу 265 та емпіричну формулу $C_8H_5N_2O_7$. Він є N – нітрозопохідним глюкозаміну, зв’язаним у позиції C_2 с Д-глюкозою:

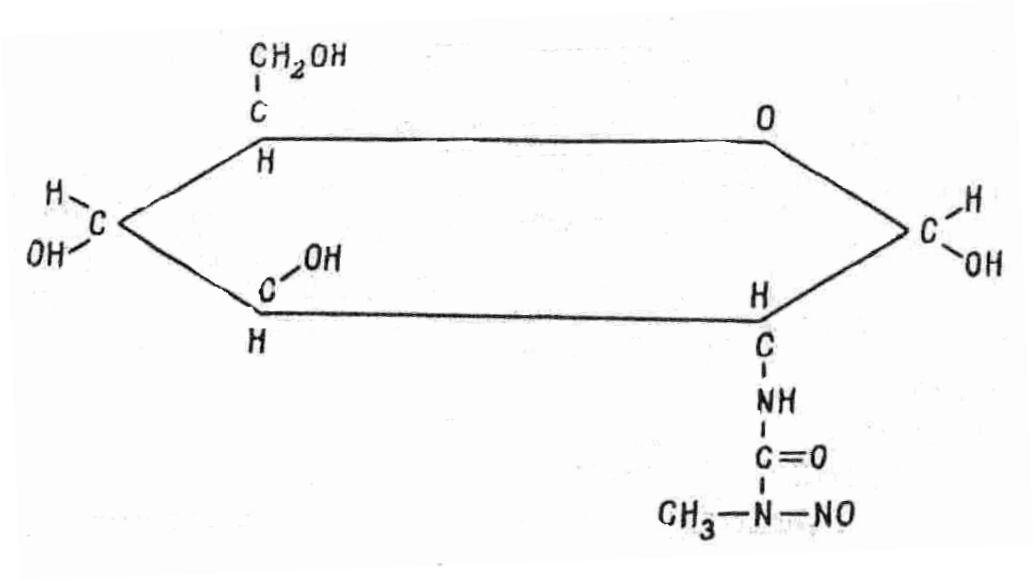

Рисунок 5.2. Хімічна формула стрептозотоцину.

У фізіологічному розчині або дистильованій воді при кімнатній температурі стрептозотоцин зберігає свою активність протягом 30 днів, а при температурі 4 °С 6 місяців. У 1968 році Kerup C. і Lundquist I. повідомили про отримання експериментального діабету за допомогою стрептозотоцину [219]. Існує декілька способів введення стрептозотоцину для отримання експериментального діабету: внутрішньовенний, внутрішньочеревинний, метод уведення в судини підшлункової залози. Діабетогенні дози стрептозотоцину неоднакові у різних видів тварин [72, 219, 240, 295, 349].

Після внутрішньовенного введення стрептозотоцину спостерігається, як і при введенні алоксану, трифазні зміни глікемії: первинна гіперглікемія (2 год.); гіперглікемія (8 год.); вторинна гіперглікемія (24 год.), яка переходила у діабет [72, 76, 219]; при цьому відмічаються також глюкозурія, гіперфагія, полідипсія, поліурія, зниження ваги тіла. Самці більш резистентні до стрептозотоцину; гіперглікемія, що в них розвивається менш виражена, ніж у самців. Застосування тестостерону та оваріоектомію збільшує гіперглікемію у самиць, а кастрація самців зменшує її. L – адренергічний блокатор фентоламін знижує резистентність КК мишей до стрептозотоцину, а пропранолол підвищує її у C57 BL мишей [219, 295, 328, 348, 349].

При дослідженні морфології острівцевого апарату в різні періоди після

внутрішньовенного введення стрептозотоцину було показано, що перші зміни в β-клітинах з'являються через 1 год. Протягом перших 2 год дегенеративні зміни відсутні або виявляються лише в окремих β-клітинах. У клітинних ядрах спостерігається агломерація хроматину; деякі ядра стають гомогенними, розміри їх збільшуються. Потім (впродовж 18-24 год) настає пікноз ядер з наступним каріорексисом. Ультраструктурні зміни β-клітин через 2-4 год після введення стрептозотоцину полягають у проліферації ергастоплазми, розширенні цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулума, появі інтрамітохондріальних агрегатів. Але після цього починається розпад мембранних структур і загибель клітин. Поширений некроз β-клітин чітко прослідковується вже через 7 год після введення стрептозотоцину. Дегенерації зазнають і α-клітини. Через 10 діб зменшується кількість і розміри острівців, кількість секреторних гранул у β-клітинах. Протягом 1-4 тижнів з'являються ознаки регенерації острівцевої тканини. Зміни, що виявляються в підшлунковій залозі через 6 міс після введення стрептозотоцину, подібні до змін при алоксановому діабеті. До ускладнень стрептозотоцинового діабету належать ураження очей, нирок і нервової системи [72, 219, 271, 348].

Механізм дії стрептозотоцину на клітини β острівців не повністю з'ясований. Відомо, що період напіврозпаду стрептозотоцину в сироватці крові після його внутрішньовенного введення дорівнюється 5 хв. Через 2 год його рівень зазвичай не визначається. Зміни в підшлунковій залозі, що викликані внутрішньовенним введенням стрептозотоцину, протягом перших 2 год зворотні. Пряма дія стрептозотоцину здійснюється швидко. Пусковим ефектом при цьому може бути тимчасова інактивація або деструкція мембрани клітин β. Стрептозотоцин проявляє свій цитотоксичний ефект через порушення обміну піридинових нуклеотидів. Так, стрептозотоцин знижає вміст НАД у печінці мишей і в ізольованих острівцях підшлункової залози. Дані ефекти стрептозотоцину пов'язані з наявністю в його молекулі 1-метил-1-нітрозосечовини. Є відомості про те, що глюкозна частина стрептозотоцину відіграє роль носія для проникнення через мембрану клітин β. Отримані також відомості про те, що че-

рез 90 хв після застосування стрептозотоцину або його структурного фрагмента – метилніт-розосечовини - у сегментах підшлункової залози настає деполяризація (перші гістологічні зміни в клітинах β з'являються не раніше, ніж через 2 год) і що нікотинамід усуває цей ефект. Далі під дією стрептозотоцину спостерігаються зміни ультраструктури клітинної мембрани β-клітини з наступним їх некрозом. Є дані про те, що стрептозотоцин пригнічує вмикання H-лейцину в проінсулін та інсулін, знижує енергетичний обмін в клітинах β, секрецію інсуліну і викликає в підсумку деструкцію клітин β. Крім того, є підстави вважати, що стрептозотоцин проявляє свій цитотоксичний ефект, діючи як оксидант, викликаючи утворення вільних радикалів у панкреатичних мікросомах [72, 219, 240, 267, 271, 295, 328, 348, 349, 365, 379].

5.1.3. Дитизон

Дитизон (дифенілтиокарбазон) є одним з найбільш сильних комплексоутворюючих сполук. Молекулярна маса дитизону – 256. Це порошок бузково-чорного кольору, що добре розчиняється в органічних розчинниках, але практично нерозчинний у воді. Для підвищення розчинності дитизону в воді в неї додають луги. Розчини дитизону в органічних розчинниках мають зелений колір, а його лужні розчини – оранжеве забарвлення [72, 202, 219].

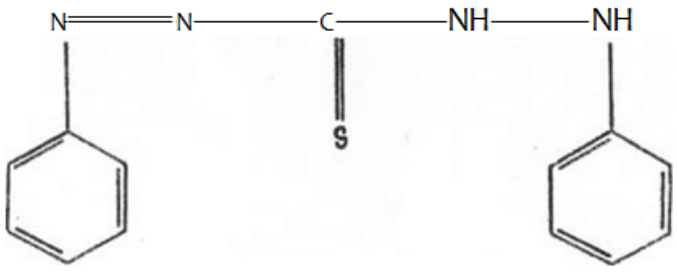

Рисунок 5.3. Хімічна формула дитизону.

Він здатний утворювати забарвлені в різні відтінки червоного кольору сполуки з 18 металами. Особливу тропність дитизон проявляє стосовно іонів цинку, з яким швидко зв'язується, утворюючи комплекс складу 2:1. Дитизон в організмі

не утворюється й можливості надходження його ззовні досить обмежені, оскільки реально з ним можуть зіштовхуватися в окремих випадках лише хіміки-аналітики [72, 201, 202].

У 1949 р. К. Окамото вперше одержав експериментальний діабет шляхом введення дитизону кролям [343]. Пізніше H. Maske запропонував прижиттєвий метод виявлення іонів цинку в β-клітинах, заснований на здатності дитизону утворювати пурпурні гранули дитизонату цинку після ін'єкції розчину дитизону. Було відзначено, що діабет, викликаний дитизоном, супроводжується утворенням у цитоплазмі β-клітин гранул дитизонату цинку. У випадку, якщо гранули за якимись причинами не утворювалися, діабет у тварин ніколи не розвивався [72, 201, 202]. За допомогою цієї методики цинк був виявлений в острівцях кролів, людини, щурів, свиней, мишей, собак, коней, голубів, жаб і деяких видів риб, крім морських свинок, β-клітини яких не містять цинку. Як було встановлено пізніше, дитизон не здатний викликати формування в β-клітинах підшлункової залози морських свинок гранул дитизонату цинку й відповідно діабет у них не розвивається [72, 109, 201, 202, 219, 240, 285, 295, 349, 379]. За допомогою методів спектрального аналізу було доведено, що спектр поглинання пурпурних гранул, що утворяться в β-клітинах після введення дитизону, ідентичний спектру поглинання синтетичного дитизонату цинку. К. Окамото припустив, що механізми диабетогенної дії дитизону полягають у його здатності утворювати в β-клітинах комплексні солі з іонами цинку [343]. Це припущення одержало надалі численні підтвердження. У першу чергу було підтверджено, що після введення дитизону діабет розвивається тільки в тому випадку, якщо в β-клітинах утворяться яскраво-червоні гранули дитизонату цинку, які щільно заповнюють цитоплазму клітини. Дослідження в динаміці процесів взаємодії острівцевого цинку з дитизоном показало, що через 30 хв кількість гранул у β-клітинах починає поступово знижуватися. Через 1 год у мишей і через 1,5 – 2 год у кролів та інших тварин зернистість із острівців повністю зникає. Між тим при вимиканні кровообігу процес зникнення комплексу цинк-дитизону із цитоплазми β-клітин значно уповільнюється й через 3 роки в острівцях ще збе-

рігається 50 – 60 % комплексу цинк-дитизон, який створився після введення дитизону [72, 109, 201, 202, 219]. Принципово важливим представляється відповідь на питання, чи вимивається зв’язаний з дитизоном цинк із острівців або цей комплекс протягом 1,5 – 2 год, розпадається й цинк, вивільняючись від зв'язку з дитизоном, залишається в острівцях, будучи здатним знову вступати в реакцію з дитизоном з повторним утворенням комплексу цинк-дитизон?

Було встановлено, що при одноразовому введенні діабетогенної дози дитизону зв'язується практично вся кількість здібного до реакції цинку, що міститься в β-клітинах. У досвідах на заморожених зрізах інтактних тварин це було підтверджено в такий спосіб: відразу після утворення в β-клітинах комплексу цинк-дитизону останній екстрагувався за допомогою хлороформу або чотирихлористого вуглецю, після чого виявлялася негативна гистохімічна люмінесцентна реакція на цинк у β-клітинах. Це свідчило про відсутність у цитоплазмі β-клітин іонів вільного, непрореагувавшого з дитизоном цинку, оскільки у зв'язаному виді він був екстрагований із клітин. У випадку, якщо даний комплекс після його формування був би елімінований з β-клітин, здатний до реакцій цинк у їхній цитоплазмі також не виявлявся б. Тим часом забарвлений у яскраво-червоний колір комплекс цинк-дитизон з β-клітин поступово зникав, а вміст вільних іонів цинку в β-клітинах при цьому також поступово зростав, досягаючи максимуму через 1,5 - 2 год, тобто до моменту повного зникнення із цитоплазми β-клітин комплексу цинк-дитизон. Це підтверджувалося за допомогою високоспецифічної люмінесцентної реакції на цинк, що виявляла до моменту повного зникнення комплексу цинку з дитизоном звичайні кількості іонів цього металу в β-клітинах, що знову вступав у реакцію з дитизоном. Таким чином, було підтверджено, що острівцевий цинк, який зв'язується з дитизоном до кінця 2-ї години та в результаті розщеплення хелату повністю вивільняється, готовии знову взаємодіяти з ним і взаємодіє повторно як мінімум 3-4 рази [72, 109, 201, 202].

Дослідження результатів впливу на клітину комплексу цинк-дитизон дозволило встановити, що перші зміни у вигляді невеликих вогнищ, що з'явля-

ються, спустошення цитоплазми β-клітин починають розвиватися вже через 5 хв после утворення комплексу в клітин [72, 201, 202, 285]. Більш детальне виявлення початкових змін за допомогою методу електронної мікроскопії дозволило встановити, що в першу чергу ушкоджуються оболонки β-гранул, які слідом за цим руйнуються, даючи початок формуванню невеликих вогнищ спустошення цитоплазми. Спочатку формуються одиничні вогнища, кожне з них виникає на місці 2 - 4 зруйнованих гранул. Через 15-20 хв розміри цих зон істотно збільшуються, досягаючи 30 – 40 % від загальної поверхні зрізу β-клітин. Нарешті, через 1 - 2 год, практично весь клітинний матрикс руйнується, а зона спустошення, в якій збереглися невеликі обривки цитоплазми з ушкодженими органоїдами займає більшу частину клітин [240, 295, 349, 379].

Зміни глікемії після введення цього агенту нагадували спостерігаємі при введенні алоксану і стрептозотоцину: фази первинної гіперглікемії, гіпоглікемії, вторинної гіперглікемії. Остання переходила в перманентний діабет, який характеризується високою і стійкою гіперглікемією [72, 201, 202, 240, 285, 295, 349, 379].

При морфологічному дослідженні підшлункової залози кролів, що отримали дитизон, в острівцях виявлялися незворотні (деструктивні) зміни. Найранніші зміни виявлялися в мікросомно-сегрегаційному апараті (секреторних гранулах і лізосомах β-інсулоцитів) забарвленням альдегідфуксином, а також методом електронної мікроскопії. При цьому спостерігається укрупнення і розпилення деяких цитоплазматичних гранул, що супроводжувалось посиленням базофілії, піронінофілії, метохроматичної реакції цитоплазми. У результаті декомпартменталізації лізосомносегрегаційного апарату та виходу речовин із клітини на препаратах, що забарвлені альдегідфуксином, спостерігалися розмита картина в цитоплазмі клітин β, зниження вмісту в них специфічної зернистості, а в виражених випадках відмічалась повна дегрануляція β-інсулоцитів [72, 110, 201, 202, 285]. Електронно-мікроскопічно це проявлялося поліморфізмом секреторних гранул і лізосом, зниженням їх електронної щільності [240, 295, 349, 379].

Крім того спостерігалися зменшення кількості рибосом, набухання і розширення цистерн шорсткого ендоплазматичного ретикулума, вакуолізація цистерн пластинчатого комплексу Гольджі та сліди деструкції крипт у мітохондріях. При введенні тваринам водно-аміачного розчину, на якому готується розчин дитизону для ін'єкцій, а також фізіологічного розчину помітних морфологічних і гістохімічних змін в панкреатичних острівцях не спостерігалося [72, 110, 201, 202, 285].

Ознаки незворотних (деструктивних) змін виявилися через 1 год і в наступні строки після ін'єкції дитизону. Спостерігалось зморщення цитоплазми β-інсулоцитів, стирання клітинних границь в острівцях. Некроз клітин β досягав найвищого ступеня вираженості через 8-24 год після введення хеланту. Найбільш характерною ознакою його були зміни з боку ядер (пінкоз, рексис, лізис). При цьому виражені деструктивні процеси виявлення в ендоплазматичному ретикулумі, комплексі Гольджі, криптах мітохондрій. Кількість цитоплазматичних гранул різко скорочувалась, їх електронна щільність знижувалась, вони піддавались лізису. Через 8 год після введення дитизону багато β-клітин були дегранульовані. З боку клітин α значних ознак ушкодження не спостерігалось або вони не виявлялись зовсім [72, 110, 201, 202, 285].

Через 24-72 год після ін'єкції діабетогенного агента, тобто в фазу вторинної гіперглікемії, завершувався процес некрозу β-інсулоцитів, потім відбувалося розсмоктування клітинного детриту, острівці зменшувались в розмірах, ставали деформованими, кількість у них клітин β була різко зниженою, спостерігалась значна дегрануляція цих клітин. У той же час відмічалась гіпертрофія клітин α [72, 110, 201, 202, 285].

Через 5 діб після введення дитизону в підшлунковій залозі вже знаходили характерні для діабету зміни. Була скорочена кількість острівців в залозі, зменшені їх розміри, вони були деформовані. β-інсулоцити, що збереглися в невеликій кількості, були повністю або майже повністю дегранульовані. Деякі з цих клітин мали вакуолізовану цитоплазму. Відмічалась гіпертрофія клітин α з посиленням тинкториальних властивостей, іноді виявлялась гіперплазія цих

клітин [72, 201, 202, 285].

Цинк утримується також у сітківці ока, і введення дитизону кролям веде до утворення гранул комплексу цинк-дитизон у сітчастій оболонці, що часто супроводжується розвитком сліпоти у тварин, причому остання виникає практично одночасно з виникненням діабету, не будучи, імовірно, його наслідком [219].

Таким чином, у принциповому плані була підтверджена цинкова теорія патогенезу експериментального діабету, викликаного хімічними комплексоутворюючими сполуками, запропонована в 1959 р. К. Окамото. Тим часом ця теорія не пояснює конкретних механізмів розвитку діабету в результаті утворення комплексів діабетогенних речовини із цинком. Пізніше були висунуті припущення, згідно з якими диабетогенна речовина зв'язує в В- клітинах цинк активних центрів, які містять ферменти цинку, призводячи до їхньої інактивації, що надалі в остаточному підсумку могло б слугувати однією із причин розвитку діабету.

5.1.4. Похідні 8-оксихіноліну

В 1947р. A. Alben повідомив, що 8-оксихінолін, що в звичайних умовах є нетоксичною речовиною, у присутності іонів металів і в першу чергу цинку стає токсичним для клітин тканин. Було встановлено, шо це явище обумовлене тим, що в присутності іонів металів 8-оксихінолін формує з ними комплексні сполуки, які впливають [72].

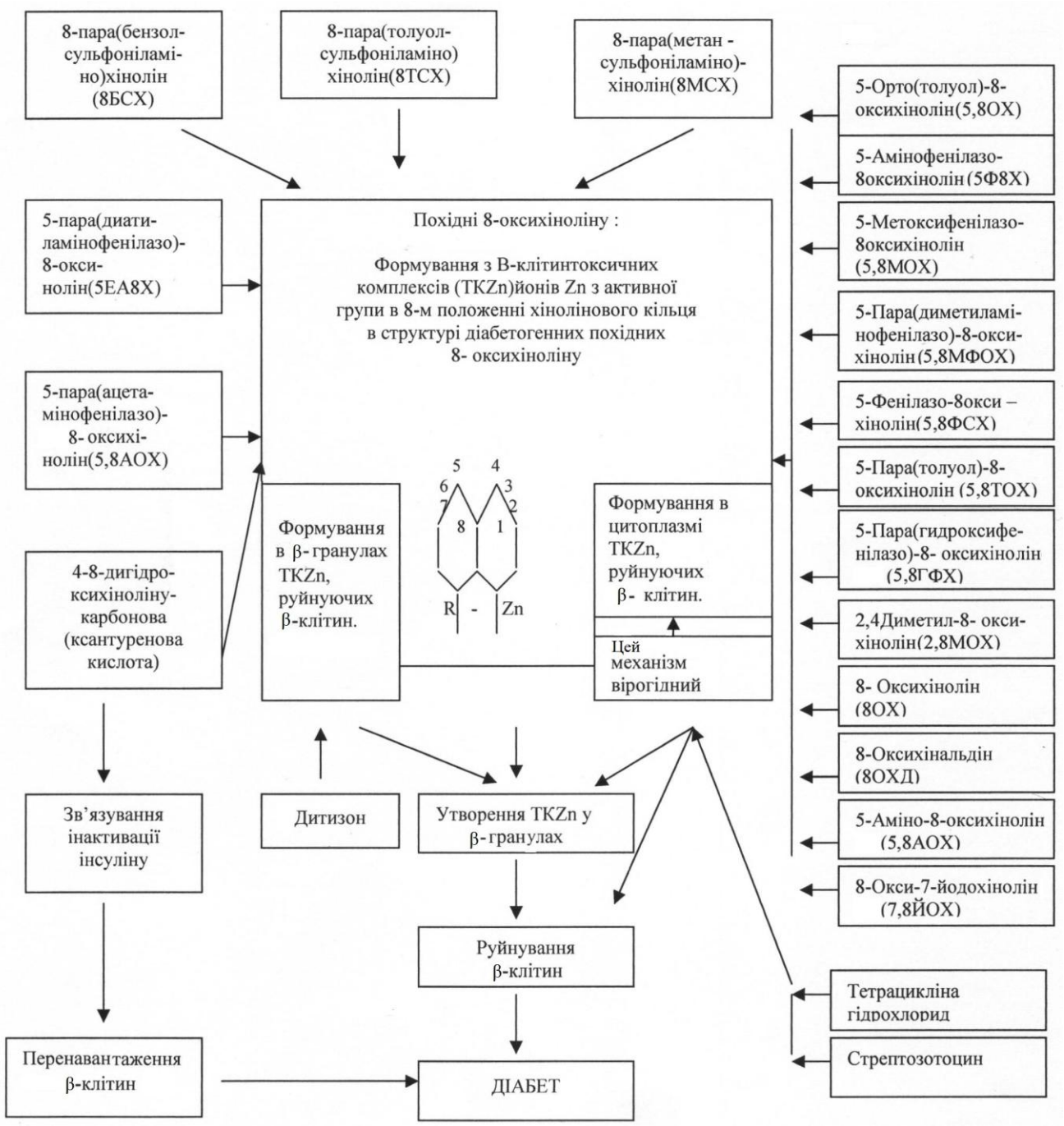

Рисунок 5.4 - Похідні 8-оксихіноліну, що викликають експериментальний діабет.

Вивчаючи токсичність 8-оксихіноліну по відношенню до β-клітин, К.Окамото встановив, що введення його тваринам супроводжується розвитком у них експериментального діабету. Розвиваючи дослідження в цьому напрямку, К.Окамото виявив, що 18 похідних цієї сполуки й 8-оксихінальдину здатні при

одноразовій ін’єкції викликати швидкий розвиток важкого діабету в експериментальних тварин. Було відзначено, що всі ці речовини мають у положенні 8 хінолінового кільця активну групу ОН - або інші, утримуючі атоми сірки або кисню [343]. Шість ізомерів 8-оксихіноліну, що не мали в цьому положенні такої групи, не були здатні утворювати комплексні солі із цинком і діабетогенних властивостей не мали. Експериментальний оксихіноліновий діабет здатні викликати наступні похідні 8-оксихіноліну: 8 пара - (толуолсульфоніламіно) - хінолін, 8 пара - (бензолсульфоніламіно) - хінолін, 8-пара - (метансульфоніламіно)-хінолін, 5-пара(ацетамінофенілалазо)-8-оксихінолін, 8-гидроксихінальдин, 8-гидроксихінолін та ін. (рис.5.4) [72, 107, 109, 121, 200, 202, 219, 228, 240, 285, 295, 317, 349]. Уведення цих речовин у дозах 30 - 100 мг/кг супроводжується протягом 1-3 днів розвитком важкого діабету з вибірковим руйнуванням β-клітин, підвищенням рівня глюкози крові до 15-30 ммоль/л і розвитком яскраво виражених дегенеративних змін в острівцях, типових для картини експериментального діабету. Характерна динаміка рівня глюкози крові. Через якийсь час після ін'єкції спостерігається підвищення її рівня в крові, що потім змінюється гіпоглікемією, що зв'язується зі швидким руйнуванням β-клітин і звільненням з них депонованого інсуліну. Нарешті, приблизно через 1 добу встановлюється гіперглікемія, що має остаточний характер [72, 219, 285].

Відомо, що найбільш стійкі комплексні сполуки формуються у випадку, якщо атом металу закріплюється між двома атомами азоту, сірки або кисню, що входять до складу молекули комплексоутворюючої речовини [132]. Подальше вивчення механізмів дії діабетогенних дериватів 8-оксихіноліну показало, що тільки його похідні, що мають у положенні 8 хінолінового кільця гідроксильну або інше хімічну групу, 4-членне кільце, що містить атоми S, N або O, здатні викликати діабет. Атом цинку при цьому фіксується між атомами S або O в положенні 8 і атомами N або O в положеннях 1 або 2. Більше того, було показано, що екстракція цих груп з положенням 8 супроводжувалася повною втратою діабетогенних властивостей діабетогенною речовиною. Утворення хелатних сполук атомами кисню й азоту комплексоутворючих сполук з металами

відбувається звичайно в тих випадках, коли виходять 5 або 6-членні кільця; 5-членні кільця є набагато більш стійкими [72, 219, 285].

Якщо в утворенні хелатів беруть участь і атоми сірки, то найбільш міцними є 4-членні кільця. Відомо, що похідні 8-оксихіноліну утворюють 4-членні кільця, в формуванні яких у ряді випадків беруть участь атоми сірки. Електрони неподіленої пари зміщаються від донора – атома азоту в положенні 1 до атома цинку (рис.5.5) [72, 132].

Ґрунтуючись на даних, отриманих A.Albert, C.Zentmyer припустив, що токсичний ефект 8-оксихіноліну обумовлений його здатністю зв'язувати й виводити з β-клітин іони металів. Пізніше, однак, було показано, що тривала мобілізація цинк-інсулінового комплексу з β-клітин викликана сульфаніламідними цукрознижуючими препаратами, що не впливають негативно на стан і функцію β-клітин, яка в повному обсязі відновлювалася після припинення дії препарату. S. Rubbo і A.Albert встановили, що токсичний ефект 8-оксихіноліну пов'язаний з його здатністю формувати в клітині токсичні комплексні солі з металами, що згодом одержало переконливі підтвердження. Було показано, що присутність цього комплексу в цитоплазмі β-клітин протягом нетривалого часу супроводжується їхнім ушкодженням [219]. У дослідах з різними ізомерами азаоксихіноліну (азаоксину)-похідного 8-оксихіноліну – була виявлена залежність, відповідно до якої найбільшою токсичністю володіють ізомери, що утворять хелати складу 1:1 з металом і константи, що мають логарифм стійкості, рівний 7,6 і вище, до 9,4, тоді як токсичність комплексів інших ізомерів азаоксину з меншою величиною константи стійкості, що дорівнює 5,8 – 6,7 була значно нижче [72, 202, 285, 317].

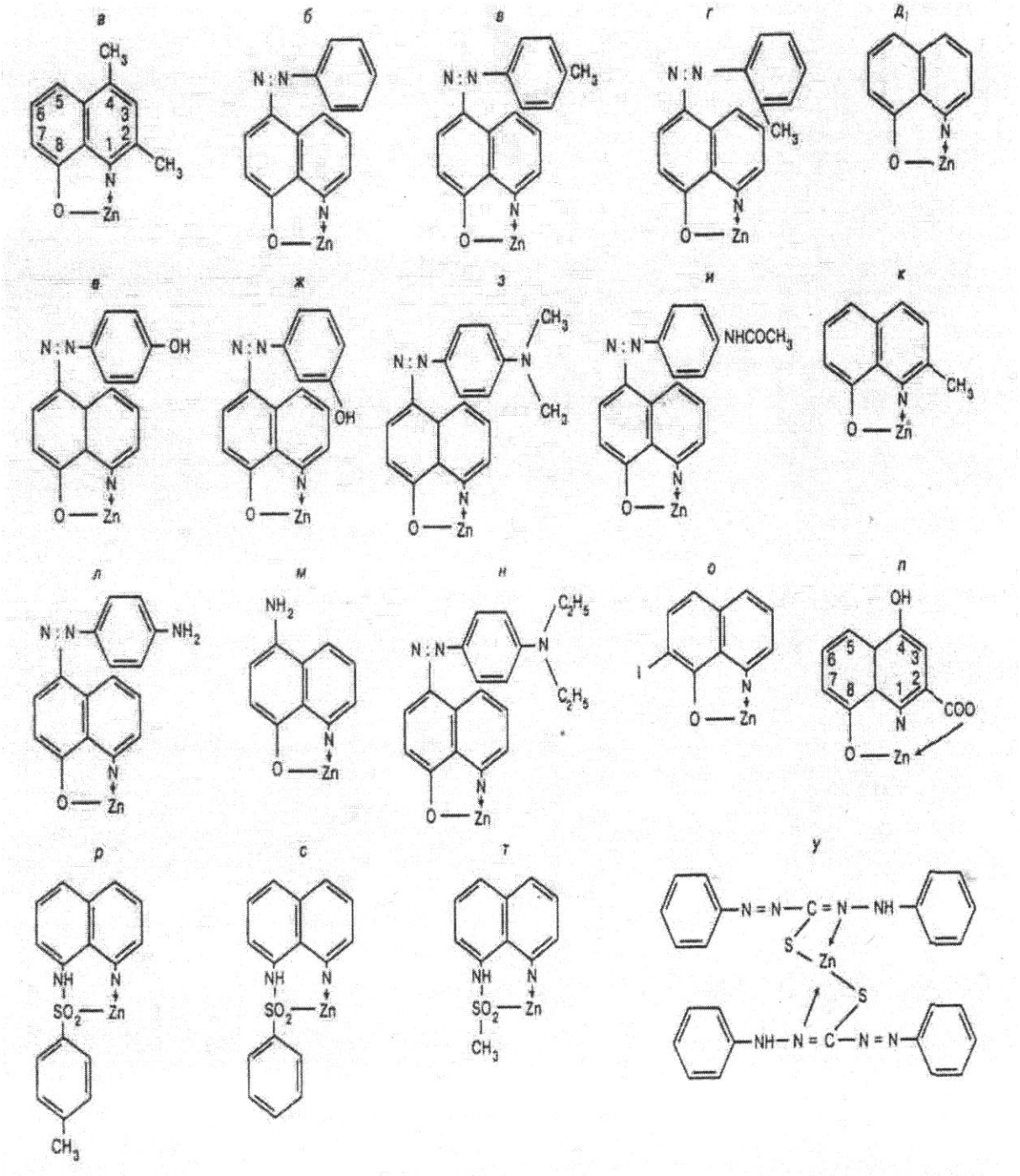

Рисунок 5.5 – Комплексні солі діабетогенних β-цитотоксичних комплексоутворюючих речовин з іонами цинку:

а – 2,4 диметил-8-оксихінолін; б – 5-феніл-азо-8-оксихінолін; в – 5-пара (толуол)-8-оксихінолін; г – 5-орто(толуол)-8-оксихінолін; д – 8-окси-хінолін; е – 5-пара (гидроксифенілазо)-8-оксихінолін; ж – 5-мета (гидроксифенілазо)-8-оксихінолін; з – 5-пара (диметил-амінофенілазо)-8-оксихіно-лін; і – 5 – пара (ацетамінофенілазо) – 8-оксихінолін; к – 8-оксихінальдин; л – 5-пара (амінофе-

нілазо)–8-оксихінолін; м–5-аміно-8-оксихінолін; н–5-пара (диетиламінофенілазо)–8-оксихінолін; о – 8-окси-7-йодхінолін; п – 4,8-дигідроксихінолін–2-карбонова кислота; р – 8-пара (толуолсульфоніламіно)-хінолін; с – 8-пара (бензолсульфоніламіно)–хінолін; т – 8-пара (метансульфоніламіно) – хінолін; у – дифенілтиокарбазон.

Показано також, що комплекси, що володіють високою токсичністю, похідних 8-оксихіноліну з іонами цинку теж мають високий показник логарифма константи стійкості, що дорівнює 8,5. Пізніше G.Weitzel і співавторами було підтверджено, що комплекс складу 1:1, що містить 1 молекулу 8- оксихіноліну й 1 атом цинку, є найбільш токсичним для клітин [240, 295, 349].

При утворенні комплексів складу 2:1 показник константи стійкості останніх залежить від 2 характеристик комплексоутворювача й металу. Наявність додаткових радикалів у параположеннях молекули комплексоутворювача, особливо в ділянках, близьких до тих, які взаємодіють із іоном металу, сприяє виникненню стеричного ефекту, у результаті чого 2 його молекули не можуть зблизитися настільки, щоб стало можливим укласти в міцне кільце атом металу. Якщо катіон останнього має до того ж малий діаметр, то кільце взагалі може не утворитися. Атом цинку має радіус, рівний 0,74 нм, і займає серединне положення між берилієм (0,31 нм) і рубідієм (1,49 нм), практично не відрізняючись від нікелю (0,72 нм) і кобальту (0,74 нм). Висока міцність комплексу цинк-дитизон складу 2:1 обумовлена просторовою витягністю молекули дитизону й розташуванням 2 фенольних кілець на кінцях молекули, що не заважає атомам сірки й азоту, розташованим у центрі молекули дитизону, впритул зближатися з атомом цинку. Крім того, атом цинку розташовується між двома атомами азоту й сірки, стосовно якої афинність цинку дуже висока й трохи перевищує афинність іонів цього металу до кисню. Нарешті, у сполуці беруть участь 2 молекули дитизону, що мають сумарно велику кількість подвійних зв'язків [132]. Що стосується комплексів складу 1:1 з похідними 8-оксихіноліну, то їхня міцність обумовлена як більшою кількістю подвійних зв'язків у молекулі комплексо-

утворювача, так і формуванням 4-членного кільця. Крім того, у похідних 8-(аренсульфоніламіно)-хінолінів у сполуці бере участь атом сірки [109, 200]. Додаткову міцність комплексу цинк- ксантуренова кислота надає розташування атома цинку між двома атомами кисню [132].

Дослідженнями інтравітальної реакції дитизону та 8-ТСХ у клітинах, які містять цинк, що визначається цитохімічно, було доведено, що хелатори – хромофори можуть бути віднесені до ацидотропних (лізосомотропних) речовин. Лізосомотропізмом володіють деякі речовини, що вибірково ушкоджують клітини. Ці речовини відрізняються здібністю вибірково акумулюватися в лізосомах деяких клітин у концентраціях на декілька порядків вище, ніж у таких самих структурах інших клітин. Така здібність речовин і обумовлює їх вибіркову дію на клітини. Взаємодіючи з цинком, хелатори легко акумулюються у вигляді комплексу з ним всередині лізосом. Це призводить до вибіркового пошкодження клітин, які містять цитохімічно визначаємий цинк [72, 110, 285].

Як з'ясувалося пізніше, один з діабетогенних похідних 8-оксихіноліну, а саме 8-пара - (толуолсульфоніламіно) - хінолін, утворює із іонами цинку комплекси, що дають яскраву жовто-зелену флюоресценцію, що було використано для розробки високоспецифічного й чутливого гистохімічного методу виявлення іонів цинку в тканинах і рідинах при дуже низьких концентраціях [72, 108, 110, 285].

Механізми діабетогенного дії похідних 8-оксихіноліну, як і дитизону, вивчали в 1967-1976 рр. У першу чергу було виявлено, що введення діабетогенних доз цих речовин супроводжується через 1-2 хв практично повним зв'язуванням іонів цинку, що міститься в β-клітинах. Про це свідчив і той факт, що екстракція комплексів з β-клітин за допомогою хлороформу й чотирихлористого вуглецю супроводжувалася потім появою негативної, високо специфічної відносно іонів цинку гістохімічної люмінесцентної реакції на цинк у β-клітинах, що вказувало у свою чергу на відсутність іонів цього металу, здатних реагувати з діабетогенною речовиною. Через 1-2 год, цей комплекс розпадався в β-клітинах, причому цинк знову був здатний реагувати з діабетогенною комплек-

соутворюючою речовиною [72, 110, 202, 285].

При дослідженні рівня цукру в крові кролів через 2, 8, 24, 48 і 72 год після ін'єкції 8-ТСХ у ряді випадків вдалося спостерігати трифазний характер глікемічної кривої: фаза первинної гіперглікемії (пік – через 2 год після введення агента), фаза нормо-гіпоглікемії (найбільш виражена через 8 год після ін'єкції) і фаза вторинної гіперглікемії (через 24-72 год після призначення хеланту). Іноді друга фаза не прослідковувалась, тому що вона припадала на проміжок часу між 8 і 24 год після ін'єкції 8-ТСХ. Вторинна гіперглікемія звичайно переходила в перманентний діабет з високою концентрацією глюкози в крові [72, 285].

При морфологічному дослідженні підшлункової залози виявлялись ознаки вибіркового ушкодження β-інсулоцитів. Внаслідок різкого скорочення кількості цих клітин острівці зменшувались в розмірах, ставали деформованими, зменшувалась їх кількість у залозі. Клітини β, які збереглися, були цілком або майже цілком дегранульовані, спостерігалась вакуолізація їх цитоплазми, в останній виявлялось відкладення глікогену. Спостерігалась також гіпертрофія і гіперплазія клітин α. Ступінь вираженості морфологічних змін у панкреатичних острівцях відповідала тяжкості діабету. У кролів, які одужали від діабету, частіше виявлялися збільшені ядра клітин β, новоутворені β-клітини серед епітелію вивідних протоків залози. У кролів, яких уведення 8-ТСХ не викликало розвитку діабету в панкреатичних острівцях нерідко виявлялися зміни (зниження вмісту специфічної зернистості β-інсулоцитів) [72].

При дослідженні клітинного складу панкреатичних острівців було встановлено, що кількість клітин β в острівцях прогресивно знижувалась і через 3 доби після ін'єкції 8-ТСХ було майже в 3 рази нижче, ніж у контрольних (інтактних) тварин. У зв'язку з цим скорочувалась загальна кількість клітин в острівцях, знижувався функціональний індекс. Вміст специфічної (альдегід-фуксинової) зернистості знижувалося вже протягом перших декількох хвилин після ін'єкції. При цьому спострегігалось також укрупнення та розпилення гранул, границі клітин ставали нечіткими, спостерігалось зморщування цитоплазми. Зміни з боку ядер, характерні для некрозу (пікноз, рексис, лізис), з'являлись

іноді в нерізко вираженій формі через 2 год після введення агента, найбільшого ступеня некроз клітин досягав через 8-24 год. потім відбувалось розсмоктування клітинного детриту [72, 110, 285].

Методом електронної мікроскопії було встановлено, що через 2 роки після їхнього введення більша частина цитоплазми β-клітин була позбавлена клітинного матриксу, що у вигляді невеликих обривків зберігається на периферії клітин. У збереженій частині матриксу виявлені грубі ушкодження ендоплазматичного ретикулума й β-гранул. Аналогічні результати були виявлені через 1 рік посля введення діабетогенної речовини. Подальше скорочення часу дії на клітин хелату показало, що через 15-20 хв руйнуванню піддається частина клітин, складова біля 30 – 50 % від загальної площі поверхні зрізу β-клітин. Мінімальні зміни виявляються через 5 хв після введення: ушкоджується дуже невелика площа клітинного матриксу, складова біля 3 – 5 % поверхні клітини, причому ушкодження виявлялися лише з боку β-гранул. Детальний аналіз показав, що процес руйнування β-клітин після введення діабетогенних речовин починається з ушкодження оболонок β-гранул, їх наступного руйнування й формування на місці 2 - 3 ушкоджених гранул невеликих вогнищ спустошення цитоплазми. Зіставляючи ці результати з даними про локалізацію іонів цинку в β-клітинах, не можна не звернути увагу на наступний збіг: руйнування починається з β-гранул, з руйнування ультраструктур, у яких концентрується острівцевий цинк [72, 110, 285].

Сьогодні вважається підтвердженим, що в механізмі діабетогенної дії 8-(аренсульфоніламіно)-хінолінів і 5-арилазопохідних 8-оксихіноліну головне значення має утворення комплексів із цинком складу 1:1 у β-гранулах з наступним їхнім руйнуванням і незворотними деструктивними змінами з боку цитоплазматичних структур β-клітин, що розвиваються потім протягом перших 15-20 хв. Що стосується інших діабетогенних похідних оксихіноліну, очевидним є те, що вибіркове ушкодження β-клітин ними також пов'язане з формуванням у цитоплазмі β-клітин токсичних комплексів з іонами цинку, однак питання про те, з яких структур починається руйнування β-клітин стосовно даної

групи хелаторів, поки ніким не вивчався [72, 110, 202, 285].

Одним з похідних 8-оксихіноліну є 4, 2-карбонова (ксантуренова) кислота, уперше виділена в 1935 р. Відомо, що вона є продуктом порушеного обміну триптофану й посилено утвориться в організмі в умовах дефіциту вітаміну B_6 і викликаного їм пригнічення синтезу піридоксаль-5-фосфату, нестача якого пригнічує нормальний обмін триптофану по серотоніновому й кінурениновому шляхах, перемикаючи його на утворення кінуренової і ксантуренової кислот, які починають виявлятися в сечі. Посиленню їхнього утворення сприяє утримання тварин на дієті, збагаченої насиченими жирними кислотами, казеїном і триптофаном. Уперше ксантуренурія була виявлена в щурів, що втримувалися на дієті, збагаченої триптофаном в умовах дефіциту вітаміну B_6. Вона зникала при додаванні до їжі вітаміну B_6. Пізніше вона була виявлена в сечі собак, людини й морських свинок. У хворих на діабет середнього й літнього віку в сечі виявляється як ксантуренова, так і кінуренова кислоти. Додаткове введення в організм піридоксину супроводжується зниженням рівня ксантуренурії, однак повної нормалізації не відбувається. В експериментальних умовах ін'єкція вітаміну В супроводжується зниженням рівня ксантуренурії до 2,03 мг/добу у порівнянні з 8,42 мг/добу в контролі. Підвищена ксантуренурія виявляється у вагітних жінок. Введення 100 мг/кг а- триптофану вагітним жінкам приводить до різко вираженої ксантуренурії протягом усього періоду вагітності, а введення піридоксину супроводжується швидким її зниженням [72]. Є вказівки на те, що стрес стимулює прискорення обміну триптофану по кінурениновому шляхи обміну, що супроводжується нагромадженням ксантуренової кислоти [180, 225, 316, 344]. Вперше розвиток ксантуренового діабету в мишей було викликано ін'єкцією 200 мг/кг ендогенно синтезованої ксантуренової кислоти [219, 240, 295, 349]. Дієта, збагачена жирами, призводить до розвитку ожиріння в сполученні з підвищеною ксантуренурією, що досягає у тварин 2-3 мг/добу. Гістологічно виявляються дегрануляція β-клітин, вакуолізація цитоплазми, деструкція β-клітин і розвиток гідропічної дегенерації. Як і інші діабетогенні похідні 8-оксихіноліну, ксантуренова кислота здатна утворювати токсичні комплекси

складу 1:1 з іонами цинку. Тим часом механізми її дії представляються сьогодні більше складними. Відомо, що вона, зв'язуючись із інсуліном, веде до його інактивації й наступної перенапруги β-клітин, що може послужити поштовхом до розвитку діабету. Не можна виключати несприятливого впливу кінуренової і 8-оксихінальдинової кислот, які утворюються в організмі паралельно (хоча й у значно менших кількостях) із ксантуреновою кислотою при порушеннях обміну триптофану і які прямо діабетогенне діють, можуть збільшувати виниклий діабет завдяки здатності зв'язувати інсулін [6, 11, 202, 219].

Разом з тим сьогодні основною причиною розвитку діабету, викликаного ксантуреновою кислотою, вважається її здатність, так само як і здатність дитизону й похідних 8-оксихіноліну, утворювати токсичні для β-клітин комплекси ксантуренова кислота-цинк складу 1:1. Останнім часом отримані додаткові підтвердження на користь цього: у дослідах із тривалою мобілізацією цинк-інсулінового комплексу з β-клітин за допомогою гліклазиду й глібенкламіду, що запобігає взаємодії ксантуренової кислоти з іонами цинку, розвитку експериментального діабету у тварин не спостерігали, незважаючи на те, що ушкодження окремих β-клітин мали місце [240, 295, 349].

5.2. Про здатність попередження діабету, викликаного комплексоутворюючими сполуками

При вивченні питання про те, протягом якого мінімального проміжку часу необхідна присутність у цитоплазмі β-клітин токсичних комплексів для того, щоб викликати розвиток у них необоротних змін, були проведені досліди з більше сильним хелатоутворювачем, похідним тіокарбамінової кислоти - діетилдитіокарбаматом натрію (ДЕТКН), що має більше високу афинність відносно цинку й здатний витискувати як дитизон, так і діабетогенні похідні 8-оксихіноліну з їхніх комплексів із цинком, утворюючи з ним хелати через групу NCS_2, що не володіють діабетогенною дією. Аналогічні властивості мають діметилдитіокарбамінова кислота і її похідні. Завдяки цим властивостям

похідні карбамінової кислоти з кінця 50-х років використовували при лікуванні отруєнь важкими металами. Відомо також, що й деякі інші добре вивчені хелатори мають високу афинність відносно іонів цинку й константа стійкості утворившихся з ним хелатів становить 13,1, тоді як константа стабільності з іонами магнію, кальцію й заліза становить 5,4, 7,3 і 10,9 відповідно. У дослідах на культурі ізольованих острівців ДЕТКН, зв'язуючись із цинком, запобігав ушкоджуючій дії стрептозотоцину [72, 219].

Детальне вивчення процесів взаємодії острівцевого цинку із ДЕТКН дозволило виявити, що введення його в дозі 250 мг/кг викликає значне ослаблення позитивної люмінесцентної реакції на цинк у β-клітинах, однак частково іони цинку залишаються незв'язаними. Уведення його в дозах, рівних 500 і 1000 мг/кг, супроводжується відсутністю флюоресценції β-клітин, що свідчить про повне зв'язування острівцевого цинку. На відміну від дитизону й похідних 8-оксихіноліну розщеплення комплексу цинк-ДЕТКН відбувається більш повільно: через 10-12 год після ін'єкції з'являється лише слабке світіння β-клітин, через 24 год вивільняється більша частина цинку й через 48 год інтенсивність флюоресценції β-клітин не відрізняється від контролю. Таким чином, ДЕДТКН здатний у дозах 500 мг/кг і вище як мінімум на декілька годин блокувати острівцевий цинк. Уведення ДЕДТКН у дозі 500 мг/кг за 0,1-6 год до ін'єкції вищезгаданих диабетогенних речовин в 100 % випадків запобігає зв'язування острівцевого цинку, що підтверджується гістохімічно, і розвиток діабету в тварин після введення діабетогенних хелаторів протягом 10 – 12 год. Флюоресціюючий яскраво-зеленим світлом комплекс цинку з 8-ТСХ, а також пурпурні гранули дитизонату цинку в цьому випадку не утворяються й у β-клітинах не виявляються. Ін'єкція ДЕДТКН через 15 хв після введення дитизону супроводжується повним витисненням дитизону й похідних 8-оксихіноліну з їхнього зв'язку із цинком з формуванням недіабетогенного комплексу металу із ДЕДТКН, однак виникнення діабету попереджується в цьому випадку лише в 5 % тварин, тоді як в 95 % він розвивається. Якщо ж ДЕДТКН уводили через 5 хв після ін'єкції дитизону, останній повністю витискувався з його комплексу із цинком і діабет

при цьому попереджується в 95 – 97 %) тварин. Уведення ж його через 2 год після ін'єкції дитизону у всіх тварин не запобігає розвитку діабету [72, 202].

Таким чином, 15-хвилинної присутності токсичного хелату в цитоплазмі β-клітин досить для виникнення експериментального діабету в тварин. Потім гістологічні зміни, що формуються та характерні для картини діабету, є наслідком ушкоджень, що розвилися в перші хвилини дії діабетогенних хелатоутворюючих речовин [72].

Здатність утворювати нетоксичні сполуки з важкими металами, попереджаючи розвиток діабету, викликаного комплексоутворюючими речовинами, властива амінокислотам цистеїну й глутатіону, які мають у структурі сульфгідрильні групи, що володіють високою тропністю стосовно іонів цинку, свинцю, кадмію й ртуті. Вважається, що за допомогою цих груп здійснюється формування цими амінокислотами комплексних солей із цинком. Константа стабільності комплексу цинк - цистеїн дуже висока і становить 17,1 – 18,2. Ще одна амінокислота - гістидин - формує із цинком комплекси складу 2:1, що мають незвичайно високу константу стійкості, логарифм якої дорівнює 12, уступаючи при цьому тільки цистеїну. Здатність формувати з металами, в тому числі із цинком комплекси, пов'язана на відміну від інших амінокислот з наявністю в структурі гістидину імідазольного кільця [72, 76, 219, 240, 295, 349].

Уведення цистеїну в дозі 1000 мг/кг попереджає появу в β-клітинах гранул цинк-дитизон і розвиток діабету у всіх тварин протягом 6 років; через 12 років діабет не розвився в 6 з 8 тварин і в половини тварин, яким дитизон уводили через 24 год після цистеїну. Аналогічну попереджуючу дію цистеїн робить і відносно діабету, викликаного похідними 8-оксихіноліну, зокрема діабету, одержуваного при введенні 5-5-(діетиламінофенілазо)- оксихіноліну. Амінокислота серін, що має таку ж будову, як і цистеїн, але містить замість сульфгідрильної групи гідроксильну, діабетогенної дії не має [72, 219].

Попереджає розвиток діабету й інша амінокислота-відновлений глутатіон. Попереднє її введення в дозі 1000 мг/кг попереджає розвиток дитизонового діабету у всіх піддослідних тварин: рівень глікемії залишається в межах норма-

льних значень і відсутні які-небудь зміни з боку гістоструктури острівцевих клітин. При окислюванні відновленого глутатіону 2 його молекули з'єднуються в і з утворенням дисульфідного зв'язку, тобто сульфгідрильні групи в процесі окислювання перетворюються в дисульфідний зв'язок. Уведення тварині окисленого глутатіону в тій же дозі не попереджало розвиток діабету у всіх піддослідних тварин. Таким чином, інактивація або заміна сульфгідрильних груп у молекулах цистеїну й глутатіону супроводжуються повною втратою ними діабетогенних властивостей. Очевидно превентивну дію відносно розвитку дитизонового діабету робить гістидин. Уведення 1000 мг/кг солянокислого гістидину тварині за кілька хвилин до дитизону попереджало розвиток діабету в більшості тварин, а в половини з них діабет не розвивався, якщо дитизон уводили через 0, 5 - 1 год [72, 202].

Запобігання зв'язування острівцевого цинку діабетогенними цинкзв'язуючими сполуками може бути здійснено й іншим способом - попереднім досить повним виведенням з β-клітин острівцевого цинку у вигляді цинк-інсулінового комплексу за допомогою цукрознижуючих сульфаніламідних препаратів. Після максимально повного виведення цинку, для чого потрібно як мінімум від 1 до 3 діб, введення дитизону або похідних 8-оксихіноліну не супроводжується утворенням в острівцях хелатів із цинком і діабет у тварин не розвивається. Такий спосіб попередження розвитку діабету, викликаного комплексоутворюючими речовинами, є цілком прийнятним у випадках очікуваного однократного надходження в організм діабетогенної речовини, що дозволяє вчасно мобілізувати іони цинку з β-клітин. Разом з тим в інших випадках, що вимагають тривалої мобілізації цинк-інсулінового комплексу з β-клітин, даний підхід не може вважатися доцільним, тому що тривала мобілізація з β-клітин цинк-інсулінового комплексу є досить серйозним втручанням у процеси нормальної регуляції діяльності β-клітин [219, 240, 295, 349].

Останнім часом отримані дані про те, що стептозотоцин, найбільше часто використуєма сполука для одержання експериментального діабету, володіє комплексоутворюючими властивостями й має особливу тропність стосовно ци-

нку. Перші результати свідчать про те, що ушкоджувальна дія стрептозотоцину може бути відвернена або ослаблена в умовах попереднього впливу на острівцеві β-клітини або при конкурентній взаємодії з іонами цинку, доданими в живильне середовище для отримання ізольованих панкреатичних острівців [328].

Дослідження механізмів діабетогенної дії комплексоутворюючих речовин дитизону й вивчених похідних 8-оксихіноліну має теоретичне значення, оскільки допомагає більш детально зрозуміти один з можливих механізмів розвитку цукрового діабету. Більшість цих речовин не здатно утворюватися в організмі людини. Можливості надходження в організм дитизону досить невеликі у зв'язку з тим, що контактувати з ним можуть лише обмежене число хіміків-аналітиків, оскільки він використовується в аналітичній хімії при виявленні слідів металів. Крім того, і дитизон, і діабетогенні деривати 8-оксихіноліну можуть здійснювати свій вплив тільки при парентеральному введенні в досить великих дозах, причому їхні розчини є дуже нестійкими й повинні бути приготовлені й використані перед уведенням. Можливості надходження в організм діабетогенних похідних 8-оксихіноліну також досить обмежені. Окремі фармакологічні препарати для перорального застосування містять його деривати, однак можливість їхнього проникнення в кров через кишечник представляється проблематичної. Проте не можна повністю виключити ймовірність усмоктування похідних 8-оксихіноліну в кишечнику, у зв'язку із чим існують рекомендації, що стосуються заходів безпеки при використанні їх у видах діяльності, пов'язаних з їхнім застосуванням, рекомендації із застосування препаратів, що містять деривати 8-оксихіноліну, а також рекомендації з обмеження їхнього виробництва, особливо тих, які здатні утворювати 4- і 5-членні комплекси із цинком, що є найбільш токсичними для клітин. З 18 діабетогенних похідних 8-оксихіноліну реально здатна утворюватися в організмі людини при обмінних порушеннях лише ксантуренова кислота [72, 202, 240, 295, 328, 349].

В останні десятиліття можливості надходження в організм людини комплексоутворюючих речовин, серед яких є й що володіють діабетогенною активністю, значно розширилися. Необхідно згадати в першу чергу антибіотик тет-

рациклін, що є сильнодіючим комплексоутворюючою сполукою, що утворює з іонами цинку комплекси складу 1:1 і 2:1, і має високу константу стійкості, що дорівнює 9. У високих дозах він, впливаючи безпосередньо на β-клітини, викликає гіперплазію й розвиток дегенеративних змін у них. Протитуберкульозний препарат ніазид здатний утворювати міцні 5-членні хелати з іонами цинку. Можливо, існує якийсь паралелізм між цією обставиною й тим, що у хворих на туберкульоз, які тривалий час лікувалися ізоніазидом, цукровий діабет розвивається значно частіше. Це викликає ще більший інтерес, якщо взяти до уваги той факт, що в таких хворих рівень ксантуренурії часто буває підвищеним. Це відбувається, імовірно, внаслідок того, що ізоніазид є антагоністом піридоксаль-5-фосфату [72, 240, 295, 349].

Комплексоутворюючими властивостями володіє дегідроаскорбінова кислота, що утворилася в організмі в результаті окислювання аскорбінової кислоти. Вона викликає експериментальний діабет у тварин в наслідок прямого ушкоджувального впливу на β-клітини [72, 240, 295, 349]. У хворих на цукровий діабет нагромадження її в організмі зростає на тлі зниження кількості аскорбінової кислоти. Є вказівки про перехід прихованого діабету в явний в умовах лікування гіпотіазидом. У здорових осіб на тлі лікування тіазидами нерідко розвиваються ознаки діабету, а хлортіазид здатний викликати стійку гіперглікемію й у деяких випадках глюкозурію в багатьох видів тварин [6, 72, 101, 102, 114, 234].

Відзначено, що діабетогенною активністю володіють ті комплексоутворюючі речовини, які здатні утворювати в процесі хелації із цинком 4- або 5-членні кільця. Крім того, діабетогенною активністю володіють сполуки, що мають не менш 4 подвійних зв'язків, що беруть участь у з’єданні. Навпаки, діабетогенної активності позбавлені речовини, що не мають подвійних зв'язків або що мають 1-2 зв'язки, здатні до з’єдання [132].

Такими властивостями володіють похідні діетілдитиокарбамінової кислот, цистеїн, глутатіон і гістидин. Утворені ними хелатні комплекси із цинком не містять у своїй структурі 4- або 5-членні кільця й або взагалі не мають

у структурі подвійних зв'язків, що беруть участь у з’єданні, або мають не більше 1-2 таких зв'язків. Вони не руйнують дії β-клітин, а навпаки, протективно діють відносно розвитку діабету при введенні діабетогенних комплексоутворюючих сполук [72, 240, 295, 349]. Тим часом остаточно відповістити на запитання, чому комплекси цинк-похідні дитіокарбамінової кислоти не ушкоджують клітини, сьогодні не представляється можливим. Відсутність здатності в них утворювати 4- або 5-членні кільця із цинком при наявності декількох подвійних зв'язків, що беруть участь у сполуці, є встановленою закономірністю, але ще не доказом того, що саме ця особливість хелаторів обумовлює відсутність токсичності таких комплексів для клітин.

Наведені вище дані, а також та обставина, що можливості надходження в організм людини діабетогенних комплексоутворюючих речовин у вигляді лікарських препаратів і інших шляхів в останні десятиліття значно розширилися, змушують звернути увагу на цю групу речовин як на одну з можливих причин розвитку цукрового діабету в людини. Значення такої можливості ще більше зростає, якщо врахувати, що панкреатичні β-клітин людини відрізняються високим вмістом іонів цинку, здатного реагувати з діабетогенними комплексоутворюючими сполуками.

ГЛАВА 6. СТАН ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ ПРИ РІЗНИХ ВИДАХ ДІАБЕТУ

Численні літературні дані та отримані власні результати свідчать про те, що цукровий діабет характеризується інсуліновою недостатністю [6, 7, 72, 101, 102, 114, 126, 128, 156, 168, 234, 372]. Понижена секреторна функція панкреатичних клітин В є головною причиною діабету. У зв'язку з цим вивченню стану інсулярного апарату при діабеті нами присвячена значна кількість робіт [16, 72, 76, 77, 139, 201, 202, 207, 219, 358]. Проводили такі дослідження в експериментах на мишах, щурах, кролях, золотистих і китайських хом'ячках з уведенням діабетогенних речовин, що, як було показано раніше, вибірково ушкоджують інсулінпродукуючі клітини підшлункової залози. Вибір в якості об'єкту дослідження саме цих видів лабораторних тварин невипадковий, оскільки за морфологічними характеристиками їх острівцеві тканини наближаються до людської.

Вивчення функціонального стану інсулярного апарату тварин з діабетом проводили в експериментах з моделюванням цієї хвороби. Про вплив діабетогенних речовин на стан острівців у мишей можна робити висновок на підставі даних табл.6.1.

Отримані дані свідчать про те, що після введення алоксану у мишей рівень цукру в крові підвищувався на 158 % ($P < 0,001$), а в панкреатичних клітинах В знижувався вміст цинку на 65 % ($P < 0,001$), інсуліну – на 80 – 84 % ($P < 0,001$). Після ін'єкції стрептозотоцину концентрація глюкози в крові зростала на 136 % ($P < 0,001$), а в острівцевих В-клітинах зменшення кількості металу та гормону становило відповідно 60 % ($P < 0,001$) і 67 – 69 % ($P < 0,001$). Призначення тваринам дитизону викликало збільшення рівня цукру в крові на 76 % ($P < 0,001$), зниження в панкреатичних острівцях вмісту цинку на 30 % ($P < 0,01$) та вмісту інсуліну – на 27 – 31 % ($P < 0,01$).

У мишей, які отримали 8-ТСХ, значення глікемії суттєво не відрізнялось від контрольних величин ($P > 0,05$), а вміст досліджених компонентів у β-

інсулоцитах був нижче норми на 20 – 23 % (P < 0,05) [8, 9, 35, 47, 57, 59, 63, 64, 92, 95, 104, 111, 112, 144, 174, 196, 287].

Таблиця 6.1

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M*± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах мишей при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=14)	5,9 ± 0,21	67±5,3	1,5 ± 0,12	108±8,3	0,52*
					0,70**
Алоксан (n=43)	15,2±0,39***	23±1,7***	0,3±0,05***	17±2,5***	0,61*
					0,68**
Стрептозотоцин (n=12)	13,9±0,28***	27±2,3***	0,5±0,04***	33±1,7***	0,64*
					0,91***
Дитизон (n=13)	10,3±0,41***	47±3,0**	1,1 ± 0,06**	75±4,2**	0,62*
					0,79***
8-ТСХ (n=11)	6,4±0,25	53±4,0*	1,2 ± 0,08*	83±5,8*	0,61*
					0,78***

Примітка: * - P < 0,05; ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

Таким чином, у мишей виражений діабет виникав після ін'єкції алоксану, стрептозотоцин викликав діабет середньої важкості, дитизон – відносно легкий діабет. При введенні 8-ТСХ розвивалася прихована форма цукрової хвороби. Високо вірогідний позитивний коефіцієнти кореляції змін вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях діабетичних тварин вказує на наявність зв'язку між цими показниками.

Про характер змін рівня цукру в крові, вмісту цинку та інсуліну в інсулінпродукуючих клітинах β щурів при введенні алоксану, стрептозотоцину, дитизону та 8-ТСХ можна роботи висновки на підставі даних табл.6.2.

Таблиця 6.2

Глікемія, вміст цинку та інсуліну *(M ± m)* та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах щурів при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфук-сину,ум.од.	Метод псевдоізо-ціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=16)	5,7±0,18	17±0,9	1,6 ± 0,12	117±9,2	0,53*
					0,44*
Алоксан (n=49)	14,3±0,50***	7± 0,7***	0,2±0,04***	17±0,8***	0,58*
					0,75**
Стрепто-зотоцин (n=14)	14,1±0,56***	7± 1,0***	0,3±0,01***	25±1,7***	0,51*
					0,70**
Дитизон (n=15)	6,1±0,27	10±2,0*	1,2 ± 0,10*	83±7,5**	0,52*
					0,53*
8-ТСХ (n=12)	5,9 ± 0,22	13±0,7*	1,3 ± 0,08*	92±5,8*	0,52*
					0,43*

Примітка: позначення, як у табл.6.1.

З таблиці видно, що алоксан у щурів викликав зростання рівня цукру в крові на 151 % ($P < 0,001$) та падіння вміст цинку та інсуліну в клітинах β панкреатичних острівців на 60 % ($P < 0,001$) і 84 - 87 % ($P < 0,001$) відповідно. Після введення стрептозотоцину концентрація глюкози в крові підвищувалася на 147 % ($P < 0,001$), а вміст внутрішньоклітинних компонентів знижувався відповідно 60 % ($P < 0,001$) і 79 - 81 % ($P < 0,001$). У дитизонових щурів показники глікемії суттєво не відрізнялись від контрольних величин, в інсулінпродукуючих β-клітинах вміст цинку зменшувався на 40 % ($P < 0,05$), а вміст інсуліну – на 25 - 29 % ($P < 0,05$). У тварин, яким призначали 8-ТСХ, не спостерігалось достовірних змін глікемії, але відмічалось вірогідне зниження вмісту цинку та інсуліну в β-інсулоцитах відповідно на 20 % і 19 – 21 % ($P < 0,05$) [9, 15, 31, 32, 35, 55, 57, 58, 64, 83, 89, 90, 92, 104, 111, 144, 174, 196, 287, 288].

Таким чином, ін'єкції алоксану та стрептозотоцину викликали в щурів розвиток вираженої форми цукрової хвороби, а після введення дитизону та 8-ТСХ у тварин спостерігався латентний діабет. У всіх випадках встановлена позитивна кореляції змін вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β.

У таблиці 6.3 містяться результати досліджень впливу різних діабетогенних речовин на функціональний стан панкреатичних острівців у золотистих хом'ячків.

Таблиця 6.3

Глікемія, вміст цинку та інсуліну *(M ± m)* та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах золотистих хом'ячків при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфуксину,ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=15)	6,4 ± 0,21	53±3,0	1,4 ± 0,07	100±5,0	0,54*
					0,61*
Алоксан (n=12)	17,1±0,41***	10± 0,7***	0,1±0,01***	8±2,5***	0,46*
					0,87***
Стрепто-зотоцин (n=10)	14,0±0,36***	27± 1,3***	0,5±0,02***	33±1,7***	0,52*
					0,88***
Дитизон (n=12)	9,2±0,27***	37± 2,3***	1,0 ± 0,05*	75±4,2**	0,52*
					0,81***
8-ТСХ (n=11)	6,8±0,23	43±2,7*	1,1 ± 0,11*	83±5,8*	0,77**
					0,82***

Примітка: позначення, як у табл.6.1.

Як видно з таблиці, що призначення алоксану золотистим хом'ячкам викликало зростання рівня цукру в крові на 167 % ($P < 0,001$). У панкреатичних клітинах β дефіцит цинку та інсуліну досягав 81 % ($P < 0,001$) і 92 – 93 % ($P < 0,001$) відповідно. Після введення тваринам стрептозотоцину також розвивалась гіперглікемія, причому підвищення показника складало 119 %

(P < 0,001). Зниження вмісту металу та гормону в острівцевих клітинах β становило 50 % (P < 0,001) і 64 – 67 % (P < 0,001). Після ін'єкції дитизону у золотистих хом'ячків спостерігалось збільшення концентрації глюкози в крові на 44 % (P < 0,001), зменшення в β-інсулоцитах рівня цинку на 31 % (P < 0,001), інсуліну – на 25 % (P < 0,01) – 29 % (P < 0,001). У тварин, які отримали 8-ТСХ, показники глікемії суттєво не відрізнялись від контрольних величин, а в панкреатичних острівцях зниження кількості внутрішньоклітинних компонентів складало відповідно 19 % (P < 0,05) і 17– 21 % (P < 0,05) [16, 35, 95, 104, 144, 190, 286, 287, 367].

Аналогічна картина спостерігалась у дослідах на китайських хом'ячках (табл.6.4).

Таблиця 6.4

Глікемія, вміст цинку та інсуліну *(M ± m)* та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах китайських хом'ячків при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=12)	6,3 ± 0,18	50±3,7	1,3 ± 0,09	92±5,8	0,53*
					0,68**
Алоксан (n=12)	16,6±0,39***	10± 0,9***	0,2±0,01***	17±2,5***	0,65**
					0,74**
Стрептозотоцин (n=10)	13,7±0,26***	27± 2,0***	0,6±0,04***	42±4,2***	0,54*
					0,68**
Дитизон (n=11)	9,0±0,21***	33± 2,3**	1,0 ± 0,06*	67±5,8**	0,54*
					0,65**
8-ТСХ (n=10)	6,7±0,15	40±3,0*	1,1 ± 0,05*	75±5,8*	0,54*
					0,70**

Примітка: позначення, як у табл.6.1.

Отримані дані вказують на те, що в алоксанових тварин гіперглікемія досягала 163 % ($P < 0,001$), а в панкреатичних клітинах β недостатність цинку та інсуліну відповідала 80 % ($P < 0,001$) і 82 – 85 % ($P < 0,001$). У випадку стрептозотоцинової ін'єкції вміст в крові цукру збільшувався на 117 % ($P < 0,001$), а в острівцях цинку та інсуліну зменшувався відповідно на 47 % ($P < 0,001$) і 54 – 55 % ($P < 0,001$). У китайських хом'ячків, яким уводили дитизон, зміни досліджених показників складали відповідно 43 % ($P < 0,01$) і 23 – 27 % ($P < 0,01$). Після призначення 8-ТСХ концентрація глюкози в крові суттєво не змінювалась порівняно з контролем, а в β-інсулоцитах спостерігалось достовірне ($P < 0,05$) зменшення кількості цинку на 20 %, інсуліну – на 15 -18 % [35, 104, 144, 190].

Таким чином, у золотистих і китайських хом'ячків алоксан викликав розвиток вираженого діабету, стрептозотоцин – діабету середньої важкості, дитизон – легкого діабету, а 8-ТСХ – прихованої хвороби. Висока позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в острівцях β-клітинах вказує на наявність певного зв'язку між цими показниками.

Про зміни вмісту цукру в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β у кролів, яким уводили діабетогенні речовини, можна роботи висновки на підставі даних табл.6.5.

Як видно з даних цієї таблиці, ін'єкція алоксану викликала в кролів підвищення концентрації глюкози в крові на 306 % ($P < 0,001$), зниження в острівцях рівня цинку на 89 % ($P < 0,001$), інсуліну – на 91 - 92 % ($P < 0,001$). Під впливом стрептозотоцину глікемія зростала на 219 % ($P < 0,001$), а вміст металу та гормону в інсулінпродукуючих β-клітинах зменшувався на 68 % ($P < 0,001$) і 62 – 64 % ($P < 0,001$) відповідно. У випадку введення тваринам дитизону ці зміни становили відповідно 261 % ($P < 0,001$), 84 % ($P < 0,001$) і 82 – 85 % ($P < 0,001$). У кролів, що отримували 8-ТСХ, рівень цукру в крові зростав на 24 % ($P < 0,001$), а кількість досліджених внутрішньоклітинних компонентів

була нижче контролю відповідно на 63 % (P < 0,001) і 54 -55 % (P < 0,001) [25, 35, 89, 104, 144, 170, 172, 251].

Таблиця 6.5

Глікемія, вміст цинку та інсуліну *(M ± m)* та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах кролів при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфук-сину, ум.од.	Метод псевдоізо-ціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=15)	5,7 ± 0,24	63±5,0	1,3 ± 0,10	92±6,7	0,56*
					0,73**
Алоксан (n=14)	23,1±0,46***	7±0,9***	0,1±0,02***	8±0,08***	0,58*
					0,90***
Стрептозо-тоцин (n=10)	18,2±0,29***	20±1,3***	0,5±0,03***	33±1,7***	0,56*
					0,79***
Дитизон (n=11)	20,6±0,57***	10±0,6***	0,2±0,01***	17±2,5***	0,52*
					0,84***
8-ТСХ (n=10)	17,9±0,32***	23±1,7***	0,6±0,04***	42±4,2***	0,57*
					0,78***

Примітка: *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

Отже, алоксан і дитизон викликали в кролів розвиток важкого діабету, а стрептозотоцин і 8-ТСХ – діабету середньої тяжкості. У всіх випадках спостерігається позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β.

Серія дослідів була присвячена вивченню залежності вмісту цинку та інсуліну в β-клітинах панкреатичних острівців тварин від ступеню тяжкості на прикладі діабету алоксанового. У таблиці 6.6 представлені результати таких досліджень у мишей.

У тварин з тяжким цукровим діабетом, викликаним уведенням алоксану, встановлено зростання рівня цукру в крові на 349 % (P < 0,001) та падіння в β-інсулоцитах вмісту цинку на 90 % (P < 0,001), інсуліну – на 93 % (P < 0,001).

Таблиця 6.6

Глікемія, вміст цинку та інсуліну *(M ± m)* та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах мишей при різному ступені тяжкості алоксанового діабету

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегідфуксину, ум.од.	Метод псевдоізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=14)	5,9 ± 0,21	67±5,3	1,5 ± 0,12	108±8,3	0,52* 0,70**
Важкий діабет (n=12)	26,5±0,51***	7±0,9***	0,1±0,02***	8±0,8***	0,47* 0,89***
Діабет середньої важкості (n=10)	14,2±0,46***	10±2,3***	0,1±0,03***	17±1,7***	0,44* 0,82***
Легкий діабет (n=11)	9,6±0,06***	40±6,3***	0,4±0,08***	42±3,3***	0,45* 0,85***
Діабет не розвився (n=10)	5,2±0,32	47±3,7**	0,9± 0,10**	67±5,0***	0,52* 0,69**
Середнє (n=43)	15,2±0,39***	23±3,0***	0,3±0,05***	25±2,5***	0,48* 0,93***

Примітка: ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

У мишей з діабетом середньої важкості глікемія підвищувалася на 141 % (P < 0,001), а вміст цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях знижувався відповідно на 75 % (P < 0,001) і 84 – 93 % (P < 0,001). Позитивні високі коефіцієнти кореляції вказують на те, що зменшення вмісту цинку супроводжувалося відповідним зниженням вмісту інсуліну в панкреатичних β-клітинах мишей з тяжким діабетом і діабетом середньої важкості.

У мишей з легкою формою алоксанового діабету рівень цукру в крові на 6 3% вище контрольних величин (P<0,001). У β-інсулоцитах цих тварин цинку було на 40 % менше норми (P < 0,001), а інсуліну – на 61 – 73 % (P < 0,001).

У тварин, яких діабет не розвився, глікемія суттєво не змінювалась порівняно з контролем (P > 0,05), а в інсулінпродукуючих β-клітинах знижував-

ся вміст металу та гормону на 30 % (P < 0,01) і 38 – 40 % (P < 0,01) відповідно. Встановлена позитивна вірогідна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β острівців Лангерганса мишей з діабетом середньої важкості та легким діабетом [38, 80, 94].

У середньому в алоксанових мишей вміст цукру в крові на 151 % більше норми (P < 0,001). У β-інсулоцитах вміст цинку знижувався на 75 % (P < 0,001), а інсуліну – на 77 - 80 % (P < 0,001). При цьому визначався позитивний високовирогідний коефіцієнт кореляції помірної щільності.

Отже, дефіцит цинку та інсуліну в острівцях знаходиться в залежності від ступеня важкості діабету. Спостерігалася позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в β-клітинах алоксанових мишей.

Дані, наведені в таблиці 6.7, свідчать про характер змін рівня цукру в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях щурів у залежності від ступеня важкості алоксанового діабету.

Як видно з таблиці, у щурів з алоксановим діабетом вираженого ступеня тяжкості глікемія зростала на 356 % (P < 0,001), а вміст цинку та інсуліну в β-інсулоцитах острівців знижувався відповідно на 80 % (P < 0,001) і 93 – 94 % (P < 0,001). При алоксановому діабеті середньої важкості рівень цукру в крові підвищувався на 168 % (P < 0,001). У панкреатичних клітинах β спостерігалось зниження вмісту цинку на 60 % (P < 0,001) і вмісту інсуліну – на 85 – 87 % (P < 0,001). Висока достовірність коефіцієнтів кореляції при значній їх щільності вказує на існування певного зв’язку між змінами вмісту внутрішньоклітинних металу та гормону при тяжкому діабеті та діабеті середньої тяжкості.

У щурів з легким діабетом глікемія порівняно з контролем підвищувалася на 74 % (P < 0,001). У цих тварин в інсулінпродукуючих клітинах рівень цинку та інсуліну був зменшений відповідно на 40 % (P < 0,001) і 69 – 72 % (P < 0,001). У тих випадках, коли діабет не розвився, рівень цукру в крові збільшувався лише на 9 % (P > 0,05). Дещо інша картина спостерігалася в

панкреатичних острівцях: дефіцит цинку в клітинах β становив 20 % (P < 0,01), а інсуліну – 25 – 29 % (P < 0,05). Односпрямованість змін вмісту досліджених компонентів при легкому діабеті та в тих випадках, коли діабет не розвився, підтверджується наявністю позитивного вірогідного коефіцієнту кореляції [32, 38, 80, 92].

Таблиця 6.7

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах щурів при різному ступені тяжкості алоксанового діабету

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-клітин, мкг/мл	Інсулін β-клітин		$r_{3,4}$
			Метод альдегід-фуксину, ум.од.	Метод псевдо-ізоціаніну, ум.од.	$r_{3,5}$
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=16)	5,7 ± 0,18	17±0,9	1,6 ± 0,12	117±9,2	0,53*
					0,44*
Важкий діабет (n=14	26,0±0,82***	3± 0,3***	0,1±0,02***	8±0,8***	0,51*
					0,58*
Діабет середньої важкості (n=12)	15,3±0,51***	7± 0,9***	0,2±0,03***	17±1,7***	0,52*
					0,76**
Легкий діабет (n=13)	9,9± 0,45***	10±0,6***	0,5±0,03***	33±2,5***	0,68**
					0,77***
Діабет не розвився (n=10)	6,2±0,28	13± 0,7**	1,2± 0,09*	83±5,0**	0,51*
					0,55*
Середнє (n=49)	14,3±0,50***	7± 0,6***	0,2±0,04***	17±2,5***	0,53*
					0,59*

Примітка: позначення, як у табл.6.6.

У середньому алоксан викликав у щурів підвищення глікемії на 151 % (P < 0,001), зниження вмісту цинку та інсуліну в β-клітинах на 60 % (P < 0,001) та 84 – 87 % (P < 0,001) відповідно.

Отже, дефіцит цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β залежить від ступеню тяжкості цукрового діабету. У всіх випадках встановлена позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в острівцевих клітинах β.

Ряд експериментів був присвячений вивченню дії адреналіну, преднізолону, інсуліну на стан панкреатичних острівців у тварин, які отримали ін'єкції алоксану. У таблиці 6.8 представлені результати таких досліджень у мишей.

Таблиця 6.8

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах мишей при введенні алоксану, адреналіну, преднізолону, інсуліну

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=14)	5,9 ± 0,21	67 ± 5,3	1,5 ± 0,12	0,42*
Алоксан (n=43)	15,2 ± 0,39***	23 ± 1,7***	0,3 ± 0,05***	0,61*
Інсулін (n=10)	3,2 ± 0,18***	83 ± 4,7*	2,0 ± 0,15*	0,51*
Алоксан+інсулін (n=10)	6,3 ± 0,28###	*** 40 ± 3,7 ###	*** 0,9±0,08 ###	0,54*
Алоксан+ адреналін (n=10)	16,1 ± 0,42***	** 33 ± 2,7 #	*** 0,8±0,09 ###	0,56*
Алоксан+ преднізолон (n=10)	15,6 ± 0,32***	*** 33 ± 3,0 #	*** 0,9±0,06 ###	0,56*
Алоксан+інсулін+ адреналін (n=10)	*** 9,9 ± 0,26 ###	** 47 ± 3,3 ###	** 1,1±0,09 ###	0,59*
Алоксан+інсулін+ преднізолон (n=10)	*** 10,1 ± 0,33 ###	*** 43 ± 2,3 ###	*** 1,0±0,07 ###	0,57*

Примітка: * - P < 0,05; ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем; # - P < 0,05; ### - P < 0,001 порівняно з алоксаном.

Дані таблиці свідчать про те, що алоксан у мишей викликав розвиток цукрового діабету, який проявлявся підвищенням рівня цукру в крові на 158 % ($P < 0,001$) та зниженням вмісту цинку на 66 % ($P < 0,001$), інсуліну на 80 % ($P < 0,001$) у панкреатичних острівцях.

У мишей, які отримали інсулін, глікемія зменшувалася на 46 % ($P < 0,001$), а вміст цинку та інсуліну в клітинах β острівців достовірно ($P < 0,05$) збільшувався: відповідно на 23 % і 33 %.

Призначення інсуліну мишам з алоксановим діабетом нівелювало гіперглікемію. У порівнянні із мишами з алоксановим діабетом у піддослідних тварин глікемія знижувалася на 59 % ($P < 0,001$). Вміст цинку в клітинах β острівців був знижений на 40 % у порівнянні з контролем ($P < 0,001$) і підвищений на 74 % порівняно з алоксановими тваринами ($P < 0,001$). Кількість інсуліну в цих клітинах знижувалася на 40 % у порівнянні з контролем ($P < 0,001$) і збільшувалася на 200 % порівняно з тваринами з алоксановим діабетом ($P < 0,001$).

Уведення адреналіну алоксановим мишам викликало зростання концентрації глюкози в крові на 173 % ($P < 0,001$) та падіння в панкреатичних острівцях рівня цинку та інсуліну відповідно на 51 % ($P < 0,001$) і 47 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем. У порівнянні з діабетичними тваринами глікемія суттєво не змінювалась ($P > 0,05$), кількість цинку в β-клітинах була більше на 43 % ($P < 0,01$), а інсуліну – на 167 % ($P < 0,001$).

Ін'єкція преднізолону мишам з алоксановим діабетом призводила до підвищення вмісту цукру в крові на 164 % ($P < 0,001$) та до зниження в острівцевих β-клітинах вмісту цинку та інсуліну відповідно на 51% ($P < 0,001$) і 40 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем. Ці показники у порівнянні з тваринами, що отримували алоксан, збільшувалися відповідно на 3 % ($P > 0,05$), 43 % ($P < 0,01$) і 200 % ($P < 0,001$). Сполучена дія алоксану, інсуліну та адреналіну викликала збільшення глікемії на 68 % ($P < 0,001$) та зменшення в β-клітинах острівців вмісту цинку на 30 % ($P < 0,01$), інсуліну – на 27 % ($P < 0,01$)

порівняно з контролем. У порівнянні з алоксановими тваринами вміст цукру в крові знижувався на 37 % ($P < 0,001$), а кількість металу та гормону збільшувалася на 104 % ($P < 0,001$) і 267 % ($P < 0,001$) відповідно. Поєднанний вплив інсуліну та преднізолону викликав у алоксанових тварин зростання концентрації глюкози в крові на 56 % ($P < 0,001$) і падіння в панкреатичних острівцях вмісту цинку на 36 % ($P < 0,001$), інсуліну – на 33 % ($P < 0,001$) у порівнянні з контрольними мишами. Порівняно з діабетичними тваринами глікемія зменшувалася на 36 % ($P < 0,001$), а вміст металу та гормону в клітинах β острівців збільшувався на 87 % ($P < 0,001$) і 233 % ($P < 0,001$) відповідно [51, 65, 74].

Отже, адаптивні гормони (адреналін, преднізолон та інсулін) викликали часткову корекцію дефіциту цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях у тварин, які отримали алоксан. Висока достовірність коефіцієнтів кореляції при помірній і високій їх щільності вказує на існування певного зв'язку між рівнями досліджених компонентів.

У таблицю 6.9 зведені дані рівня цукру в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β щурів, які отримали ін'єкції алоксану, преднізолону та інсуліну. Із таблиці видно, що ін'єкція інсуліну викликала у щурів зниження глікемія на 47 % ($P < 0,001$) та підвищення вмісту цинку та інсуліну в β-клітинах панкреатичних острівців відповідно на 18 % ($P < 0,05$) і 33 % ($P < 0,05$).

У щурів, які отримали алоксан, глікемія була на 151 % вище норми ($P < 0,001$). У панкреатичних острівцях знижувався вміст цинку в β-клітинах на 59 % ($P < 0,001$), а інсуліну – на 87 % ($P < 0,001$).

Після ін'єкції інсуліну у діабетичних щурів була підвищена концентрація глюкози в крові на 61 % порівняно з контролем ($P < 0,001$) та знижена на 36 % у порівнянні з алоксановими тваринами ($P < 0,001$). У β-інсулоцитах вміст металу знижувався на 24 % у порівнянні з контролем ($P < 0,01$) і збільшувався на 86 % у порівнянні з тваринами, які отримали діабетогенний агент ($P < 0,001$).

Кількість інсуліну в досліджених клітинах цих тварин зменшувалась на 69 % порівняно з тваринами контрольної групи (P < 0,001) і збільшувалася на 150 % порівняно з щурами, які отримали алоксан (P < 0,001).

Таблиця 6.9

Глікемія, вміст цинку та інсуліну в β-інсулоцитах (*M* ± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у щурів при введенні алоксану, адреналіну, преднізолону, інсуліну

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=16)	5,7 ± 0,18	17 ± 0,9	1,6 ± 0,12	0,43*
Алоксан (n=49)	14,3±0,51***	7±0,7***	0,2 ± 0,04**	0,78**
Інсулін (n=10)	3,0±0,16***	20±1,0*	2,0 ± 0,14*	0,51*
Алоксан+ інсулін (n=10)	9,2±0,24 ***###	13±0,7 **###	0,5±0,14 ***###	0,74**
Алоксан+ адреналін (n=10)	15,9±0,52 ***#	10±0,7 ***##	0,3 ± 0,01 ***#	0,78**
Алоксан+ преднізолон (n=10)	14,5±0,49***	10±0,9 ***#	0,4 ± 0,03 ***###	0,77**
Алоксан+ адреналін+ інсулін (n=10)	10,1±0,22 ***###	13±0,9 **###	0,6 ± 0,05 ***###	0,75**
Алоксан+ преднізолон+ інсулін (n=10)	10,0±0,25 ***###	13±0,7 **###	0,7 ± 0,04 ***###	0,76**

Примітка: * - P < 0,05; ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем; # - P < 0,05; ## - P < 0,01; ### - P < 0,001 порівняно з алоксаном.

У щурів, які зазнали сполученого впливу алоксану та адреналіну, порівняно з контролем концентрація глюкози в крові підвищувалась на 179 %

(P < 0,001), а рівень цинку та інсуліну в інсулінпродукуючих клітинах β знижувався відповідно на 41 % (P < 0,001) і 81 % (P < 0,001). У порівнянні з діабетичними тваринами глікемія була вище на 11 % (P < 0,05), а вміст металу та гормону в β-клітинах на 43 % (P < 0,01) і 50 % (P < 0,05).

Подібні зміни глікемії, вмісту досліджених компонентів у клітинах відзначались у випадку поєднаної дії алоксану та преднізолону. У порівнянні зі щурами контрольної групи рівень цукру в крові зростав на 154 % (P < 0,001), а вміст цинку та інсуліну в острівцевих клітинах β зменшувався на 41 % (P < 0,001) і 75 % (P < 0,001). Порівняно з тваринами, яким уводили алоксан, ці показники були вище відповідно на 1 % (P > 0,05), 43 % (P < 0,01) і 100 % (P < 0,001) [33, 65, 74, 288].

У порівнянні з тваринами контрольної групи сполучена дія алоксану, адреналіну та інсуліну викликала у щурів зростання в крові концентрації глюкози на 77 % (P < 0,001), зниження в клітинах β острівців вмісту цинку на 24 % (P < 0,05) та рівня інсуліну на 62 % (P < 0,001). Відносно щурів з алоксановим діабетом глікемія у цих тварин знижувалася на 29 % (P < 0,001), а вміст металу та гормону підвищувався на 86 % (P < 0,001) і 200 % (P < 0,001) відповідно.

Призначення тваринам преднізолону та інсуліну на фоні алоксанового діабету призводило до збільшення вмісту цукру в крові на 75 % (P < 0,001) і зниження на 24 % (P < 0,01) і 56 % (P < 0,001) відповідно вмісту цинку та інсуліну в клітинах β відносно контрольних величин. Порівняно з діабетичними тваринами глікемія зменшувалася на 30 % (P < 0,001), а рівень компонентів у досліджених клітинах зростав на 86 % (P < 0,001) і 250 % (P < 0,001).

Таким чином, у щурів, як і у мишей, з алоксановим діабетом спостерігалась часткова корекція цинкової та інсулінової недостатності в β-клітинах панкреатичних острівців при введенні адаптивних гормонів (адреналіну, преднізолону та інсуліну). Встановлена позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах В піддослідних тварин.

У таблиці 6.10 представлені результати досліджень концентрації глюкози

в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях у мишей при ОФН після введення алоксану та інсуліну.

Таблиця 6.10

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M±m*) та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах мишей при ОФН та ОІ після введення алоксану та інсуліну

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, ум.од.	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=14)	5,9 ± 0,21	67 ± 5,3	1,5 ± 0,12	0,42*
Алоксан (n=43)	15,2 ± 0,39***	23 ± 1,7***	0,3 ± 0,05***	0,56*
Інсулін (n=10)	3,2 ± 0,18***	83 ± 4,7*	2,0 ± 0,15*	0,51*
Алоксан+ інсулін (n=10)	6,3 ± 0,28###	*** 40 ± 3,7 ###	*** 0,9±0,08 ###	0,54*
Алоксан+ ОФН (n=10)	*** 12,9 ± 0,36 ###	*** 37 ± 2,3 ###	*** 0,8±0,06 ###	0,60*
Алоксан+ інсулін+ОФН (n=10)	*** 10,6 ± 0,32 ###	** 47 ± 2,7 ###	*** 1,0±0,07 ###	0,51*
Алоксан+ОІ (n=10)	*** 13,1 ± 0,49 ###	*** 33 ± 2,3 ##	*** 0,7±0,08 ###	0,65**
Алоксан+ інсулін+ОІ (n=10)	*** 12,0 ± 0,53 ###	*** 43 ± 3,0 ###	*** 1,0±0,09 ###	0,48*

Примітка: * - P < 0,05; *** - P < 0,001 порівняно з контролем; # - P < 0,05; ## - P < 0,01; ### - P < 0,001 порівняно з алоксаном.

У мишей, з алоксановим діабетом, які зазнали впливу ОФН, глікемія на 119 % вище норми (P < 0,001) і на 15 % нижче у порівнянні з діабетичними тваринами (P < 0,001). В інсулінпродукуючих клітинах β вміст цинку на 45 % (P < 0,001) менше порівняно з контрольними (інтактними) тваринами і 61 % (P < 0,001) більше у порівнянні з тваринами, що отримали алоксан (P< 0,001).

Рівень інсуліну в досліджених клітинах цих мишей знижувався на 47 % порівняно з контролем ($P < 0,001$) і підвищувався на 167 % порівняно з тваринами з алоксановим діабетом ($P < 0,001$).

Сполучена дія інсуліну та ОФН викликала у мишей з алоксановим діабетом підвищення концентрації глюкози в крові на 80 % ($P < 0,001$) у порівнянні з контрольними тваринами та зниження на 30 % порівняно з діабетичними тваринами. Панкреатичні клітини β піддослідних мишей характеризувалися зниженою кількістю цинку на 30 % ($P < 0,01$) порівняно з контролем і підвищеною на 104 % ($P < 0,001$) у порівнянні з тваринами після введення алоксану. Вміст інсуліну в клітинах β острівців на 33 % ($P < 0,001$) менше у порівнянні з мишами контрольної групи та на 233 % ($P < 0,001$) більше у порівнянні з тваринами, яким уводили алоксан.

ОІ у алоксанових тварин викликала збільшення концентрації глюкози в крові на 122 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем і зменшення на 14 % ($P < 0,001$) у порівнянні з діабетичними мишами. В інсулінпродукуючих клітинах β кількість цинку та інсуліну на 51 % ($P < 0,001$) і 53 % ($P < 0,001$) менше порівняно з контрольними тваринами та на 44 % ($P < 0,01$) і 133 % ($P < 0,001$) більше відносно мишей з алоксановим діабетом.

Сполучена дія інсуліну та ОІ призводила до підвищення на 103 % ($P < 0,001$) вмісту цукру в крові, падіння в панкреатичних острівцях мишей з алоксановим діабетом рівня цинку на 36 % ($P < 0,001$) та інсуліну на 33 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем. У порівнянні з діабетичними тваринами глікемія знижувалася на 21 % ($P < 0,001$), а кількість цинку та інсуліну збільшувалась на 87 % ($P < 0,001$) і 233 % ($P < 0,001$).

Отже, інсулін, ОФН та ОІ викликають часткову корекцію дефіциту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β у мишей, які отримали алоксан. Спостерігається позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β піддослідних тварин.

Про зміни рівня цукру в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β щурів з алоксановим діабетом, які отримали інсулін, ОФН та ОІ, свідчать дані таблиці 6.11.

Таблиця 6.11

Глікемія, вміст цинку та інсуліну (*M*± *m*) та їх взаємозв'язок (r) у β-інсулоцитах щурів, які зазнали впливу інсуліну, ОФН та ОІ

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Інсулін β-інсулоцитів, мкг/мл	$r_{3,4}$
1	2	3	4	5
Контроль (n=16)	5,7 ± 0,18	17 ± 0,9	1,6 ± 0,12	0,43*
Алоксан (n=49)	14,3±0,51***	7±0,7***	0,2 ± 0,04**	0,78**
Інсулін (n=10)	3,0±0,16***	20±1,0*	2,0 ± 0,14*	0,51*
Алоксан+ інсулін (n=10)	$9,2\pm0,24^{***}_{\#\#\#}$	$13\pm0,7^{**}_{\#\#\#}$	$0,5\pm0,14^{***}_{\#\#\#}$	0,74**
Алоксан+ ОФН (n=10)	$10,1\pm0,30^{***}_{\#\#\#}$	$10\pm0,7^{***}_{\#\#}$	$0,4\pm0,03^{***}_{\#\#\#}$	0,58*
Алоксан+ інсулін+ОФН (n=10)	$9,0\pm0,31^{***}_{\#\#\#}$	$13\pm0,9^{**}_{\#\#\#}$	$0,6\pm0,05^{***}_{\#\#\#}$	0,62*
Алоксан+ОІ (n=10)	$11,3\pm0,28^{***}_{\#\#\#}$	$10\pm0,9^{***}_{\#}$	$0,3\pm0,03^{***}_{\#}$	0,63*
Алоксан+ інсулін+ОІ (n=10)	$10,1\pm0,26^{***}_{\#\#\#}$	$13\pm0,7^{**}_{\#\#\#}$	$0,5\pm0,05^{***}_{\#\#\#}$	0,67**

Примітка: позначення, як у табл.6.10.

ОФН у щурів, які отримали алоксан, призводило до підвищення рівня цукру в крові на 77 % порівняно з контролем (P < 0,001) та зниження на 29 % порівняно з діабетичними тваринами (P < 0,001). Порівняно з контролем у панкреатичних клітинах β вміст цинку знижувався на 41 % (P < 0,001), а інсуліну – на 75 % (P < 0,001). Відносно тварин, які отримали алоксан, ці показники, навпаки, зростали на 43 % (P < 0,01), 100 % (P < 0,001).

Поєднана дія інсуліну та ОФН на щурів з алоксановим діабетом збільшувала глікемію на 58 % ($P < 0,001$), зменшувала рівень цинку в інсулінпродукуючих клітинах β на 24 % ($P < 0,01$), вміст у цих клітинах інсуліну 62 % ($P < 0,001$). У порівнянні з діабетичними тваринами величина рівня цукру в крові зменшувалася на 37 % ($P < 0,001$), вміст цинку та інсуліну в клітинах β збільшувався відповідно на 86 % ($P < 0,001$), 200 % ($P < 0,001$).

У алоксанових тварин, які зазнали впливу ОІ, порівняно з контрольними величинами концентрація глюкози в крові підвищувалася на 198 % ($P < 0,001$), у панкреатичних клітинах β знижувався вміст цинку на 41 % ($P < 0,001$) та інсуліну на 81 % ($P < 0,001$). У порівнянні з тваринами, які отримали діабетогенний агент, були підвищені рівень цукру в крові на 19 % ($P < 0,001$) та вміст металу й гормону в острівцевих β-клітинах відповідно на 43 % ($P < 0,05$), 50 % ($P < 0,05$).

Сполучена дія алоксану, інсуліну та ОІ призводила до зростання глікемії на 77 % ($P < 0,001$), зниження в β-інсулоцитах кількості цинку на 24 % ($P < 0,01$), рівня інсуліну на 69 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем. У порівнянні з тваринами, яким уводили алоксан, вміст цукру в крові знижувався на 29 % ($P < 0,001$), рівень цинку та інсуліну в досліджених клітинах підвищувався на 86 % ($P < 0,001$) і 150 % ($P < 0,001$) відповідно [83].

Таким чином, спостерігається позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в клітинах β. ОФН, ОІ та інсулін викликають у щурів з алоксановим діабетом зниження глікемії, підвищення вмісту цинку та інсуліну в панкретичних клітинах β.

Узагальнені висновки по змісту цієї глави можна представити наступним чином:

1. У мишей виражений діабет виникав після ін’єкції алоксану, а стрептозотоцин викликав діабет середньої важкості, дитизон - відносно легкий діабет. При введенні 8-ТСХ розвивається прихована форма цукрової хвороби. Ін’єкції алоксану та стрептозотоцину викликали у щурів розвиток вираженої форми цу-

крової хвороби, а після введення дитизону та 8-ТСХ у тварин спостерігався латентний діабет. У золотистих і китайських хом’ячків алоксан викликав розвиток вираженого діабету, стрептозотоцин - діабету середньої важкості, дитизон – легкого діабету, а 8-ТСХ – прихованої хвороби діабету. У кролів алоксан і дитизон викликали розвиток важкого діабету, а стрептозоцин і 8-ТСХ – діабету середньої важкості.

2. Дефіцит цинку та інсуліну в острівцях знаходиться в залежності від ступеня важкості діабету.

3. Адаптивні гормони (адреналін, преднізолон та інсулін), а також гостре стресування фізичним навантаженням та іммобілізацією викликали часткову корекцію дефіциту цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях у мишей і щурів, які отримали алоксан.

4. У всіх досліджених видів тварин після введення діабетогенних речовин спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах β, що вказує на зв'язок двох компонентів у клітинах і підтверджує наше припущення про роль металу в депонуванні гормону.

ГЛАВА 7. ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИНКУ В ГІПОКАМПІ ТА ШИШКОПОДІБНІЙ, ВИЛОЧКОВІЙ, ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗАХ ДІАБЕТИЧНИХ ТВАРИН

В останні роки стало відомо, що одним з основних патогенетичних факторів розвитку ЦД є порушення формування центральної толерантності до панкреатичних антигенів, причиною яких можуть бути зміни морфофункціонального стану, антигенпрезентуючих клітин (АПК) тимуса (їх кількості, експресії костимуляторних молекул СД80 і СД86 тощо), або без належної наявності β-клітинних антигенів у тимусі. У нормальних умовах на АПК тимуса відбувається випадкова експресія тканинноспецифічних антигенів, рівень якої контролюється аутоімунним регулятором транскрипцій. Накопичено багато фактичного матеріалу, що свідчить про важливу роль порушення функціонування центрального органа імуногенезу – тимуса в механізмах розвитку ЦД. Безперечним доказом участі тимуса в імунопатогенетичних механізмах розвитку ЦД є той факт, що використання цілої низки заходів може запобігти або сприяти ремісії захворювання за допомогою відновлення толерантності до β-клітинних антигенів: блокада діабетогенних цитокінів, внутрішньотимічна пересадка β-клітин або введення глутаматдекарбоксилази, застосування моноклональних антитіл проти СД3+ і СД8+ - антигенів, введення популяцій дендритних і Т-регуляторних клітин тощо [21, 122, 113, 130, 131, 166, 276, 300, 369].

Встановлено, що розвиток цукрового діабету супроводжується структурно-функціональними порушеннями головного мозку, зокрема гіпокампа [155, 203, 213, 351, 360]. Проведені дослідження свідчать, що експериментальний діабет асоційований з нейродегенерацією гіпокампа, а розвиток клінічно значущих когнітивних розладів можливо починається вже на ранніх стадіях захворювання [155, 351].

У літературі є дані про вплив шишкоподібної залози на перебіг цукрового діабету. Встановлено протекторний ефект витяжок епіфіза та зокрема мелатоніну відносно пошкоджень β-клітин у діабетичних тварин [345].

Усі ці вже відомі наукові дані та наявність розроблених у нашій лабораторії цитохімічних реакцій на цинк не тільки в панкреатичних острівцях, але й гіпокампі, шишкоподібній і вилочківій залозах спонукали провести порівняльні дослідження вмісту металлу в нейронах гіпокампа, тимусних епітеліальних клітинах (ТЕК), клітинах епіфіза та β-інсулоцитах тварин при експериментальному діабеті.

Серія експериментів була присвячена вивченню вмісту цинку в тимусі діабетичних тварин. Результати таких досліджень у мишей і щурів представлені в таблиці 7.1.

Таблиця 7.1

Вміст цинку (*M*± *m*) в панкреатичних клітинах β і ТЕК та їх взаємозв'язок (r) у мишей і щурів при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Миші			Щури		
	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Цинк ТЕК, мкг/мл	$r_{2,3}$	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Цинк ТЕК, мкг/мл	$r_{5,6}$
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	67 ± 5,3 (n=14)	33 ± 2,7 (n=14)	0,50*	17 ± 0,9 (n=16)	40 ± 3,0 (n=16)	0,52*
Алоксан	23±1,7*** (n=43)	13±0,7*** (n=43)	0,62*	7±0,7*** (n=49)	17±1,3*** (n=49)	0,64*
Стрептозотоцин	27±2,3*** (n=12)	17±1,3*** (n=12)	0,64**	7±1,0*** (n=14)	20±2,0*** (n=14)	0,60*
Дитизон	47±3,0** (n=13)	23±2,0** (n=13)	0,51*	10±2,0* (n=15)	27±2,3** (n=15)	0,53*
8-ТСХ	53±4,0* (n=11)	27±1,7* (n=11)	0,50*	13±0,7* (n=12)	30±2,7* (n=12)	0,52*

Примітка: * - P < 0,05; ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

Як видно з даних таблиці, ін'єкція алоксану призводила до падіння рівня цинку в панкреатичних острівцях і вилочковій залозі відповідно на 65 % (P < 0,001) і 60% (P < 0,001) мишей, 60 % (P < 0,001) і 58 % (P < 0,001) – у щурів. Після введення стрептозотоцину зниження цих показників у піддослідних тварин становило відповідно 60 % (P < 0,001) і 50 % (P < 0,001). Призначення дитизону викликало у мишей зменшення кількості цинку в клітинах β острівців і ТЕК на 30 % (P < 0,001), а в щурів – на 40 % (P < 0,05) і 33 % (P < 0,01). У випадку з введенням 8-ТСХ вміст цинку в досліджених клітинах був нижче норми на 20 % (P < 0,05) у мишей, на 20 % (P < 0,05) і 25 % (P < 0,05) відповідно – у щурів [79, 82, 89, 92, 288]. У всіх випадках встановлена позитивна кореляція змін вмісту цинку в β-інсулоцитах і ТЕК діабетичних мишей і щурів.

Про вміст цинку в клітинах вилочкової залози діабетичних хом'ячків можна робити висновки на підставі даних таблиці 7.2.

Таблиця 7.2

Вміст цинку (*M*± *m*) в панкреатичних клітинах β і ТЕК та їх взаємозв'язок (r) у золотистих і китайських хом'ячків при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Золотисті хом'ячки			Китайські хом'ячки		
	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Цинк ТЕК, мкг/мл	$r_{2,3}$	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Цинк ТЕК, мкг/мл	$r_{5,6}$
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	53 ± 3,0 (n=15)	27 ± 2,0 (n=15)	0,50*	50 ± 3,7 (n=12)	23 ± 1,7 (n=12)	0,51*
Алоксан	10±0,7*** (n=12)	7±0,3*** (n=12)	0,62*	10±0,9*** (n=12)	7±0,9*** (n=12)	0,64*
Стрептозотоцин	27±1,3*** (n=10)	13±1,0*** (n=10)	0,55*	27±2,0*** (n=10)	10±0,7*** (n=10)	0,52*
Дитизон	37±2,3*** (n=12)	17±1,3** (n=12)	0,51*	33±2,3** (n=11)	13±1,0*** (n=11)	0,50*
8-ТСХ	43±2,7* (n=11)	20±1,7* (n=11)	0,46*	40±3,0* (n=10)	17±1,3* (n=10)	0,45*

Примітка: позначення, як у табл.7.1.

Із таблиці видно, що призначення алоксану викликало у золотистих і китайських хом'ячків розвиток дефіциту цинку, який в острівцевих клітинах β досягав відповідно 81 % (P < 0,001) і 80 % (P < 0,001), а в клітинах вилочкової залози – 76 % (P < 0,001) і 70 % (P < 0,001). Стрептозотоцинова ін'єкція обумовлювала зниження рівня металу в досліджених клітинах хом'ячків, на 49 % (P < 0,001), 52 % (P < 0,001), 46 % (P < 0,001) і 57 % (P < 0,001). У дитизонових тварин зміни досліджених показників становили відповідно 30 % (P < 0,001), 38 % (P < 0,01), 34 % (P < 0,01) і 43 % (P < 0,001). У випадку з введенням 8-ТСХ вміст цинку в клітинах підшлункової і вилочкової залоз був нижче норми на 19 % (P < 0,05) і 26 % (P < 0,05) у золотистих, 20 % (P < 0,05) і 26 % (P < 0,05) – у китайських хом'ячків. Позитивні достовірні коефіциенти кореляції вказують на те, що зміни вмісту цинку в панкреатичних клітинах β супроводжували відповідними змінами вмісту цього металу в ТЕК золотистих і китайських хом'ячків при введенні різних діабетогенних речовин.

Таким чином, у мишей, золотистих і китайських хом'ячків розвиток важкої форми цукрової хвороби, викликаної уведенням алоксану, супроводжується значним дефіцитом цинку в панкреатичних клітинах β і ТЕК. Менш виражені зміни вмісту цього металу в клітинах спостерігались при стрептозотоциновому діабеті, що має середній ступінь важкості. Ще менша недостатність цинку в панкреатичних острівцях і вилочковій залозі мишей і хом'ячків встановлена при відносно легкому дитизоновому діабеті, й, особливо, при діабеті, викликаному 8-ТСХ, який має прихований характер перебігу хвороби. У щурів при алоксановому та стрептоциновому діабеті з вираженим перебігом хвороби відмічається досить суттєве падіння рівня металу в досліджених клітинах. Набагато менші втрати кількості внутрішньоклітинного цинку розвивались у тварин після введення дитизону та 8-ТСХ, які викликають латентний діабет. Позитивні коефіцієнти кореляції змін вмісту цинку в β-інсулоцитах і ТЕК мишей, щурів і хом'ячків з різними видами експериментального цукрового діабету вказують на наявність функціонального зв'язку між цими клітинами.

Аналогічні закономірності змін рівня цинку в інсулінпродукуючих клітинах β і клітинах вилочкової залози прослідковувались у дослідах з діабетичними кролями (табл.7.3).

Таблиця 7.3

Вміст цинку (*M* ± *m*) в панкреатичних клітинах β і ТЕК та їх взаємозв'язок (r) у кролів при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Цинк ТЕК, мкг/мл	$r_{2,3}$
1	2	3	4
Контроль (n=15)	63 ± 5,0	37 ± 3,3	0,50*
Алоксан (n=14)	7 ± 0,9***	10 ± 1,3***	0,61*
Стрептозотоцин (n=10)	20 ± 1,3***	17 ± 1,0***	0,54*
Дитизон (n=11)	10 ± 0,6***	13 ± 0,9***	0,68**
8-ТСХ (n=10)	23 ± 1,7***	20 ± 2,3***	0,87***

Примітка: *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

Ін'єкція алоксану викликала у кролів зниження рівня цинку в острівцях на 89 % (P < 0,001), у вилочковій залозі – на 73 % (P < 0,001). Під впливом стрептозотоцину вміст металу в інсулінпродукуючих β-клітинах і ТЕК зменшувався відповідно на 68 % (P < 0,001) і 54 % (P < 0,001). У випадку введення дитизону ці зміни становили відповідно 84 % (P < 0,001) і 65 % (P < 0,001). У кролів, що отримували 8-ТСХ, кількість досліджених компонентів була нижче контролю відповідно на 63 % (P < 0,001) і 54 % (P < 0,001) [89].

Таким чином, у β-інсулоцитах і ТЕК кролів з важким діабетом, який викликався введенням алоксану та дитизону, встановлений значний дефіцит цинку. Після ін'єкцій стрептозотоцину на 8-ТСХ, що обумовлюють розвиток діабету середньої важкості, спостерігається менш виражена цинкова недостатність у клітинах. Висока достовірність коефіцієнтів кореляції при високій їх щільності

вказує на існування певного зв'язку між змінами рівня металу в панкреатичних острівцях і вилочковій залозі піддослідних кролів.

Порівняння даних табл.7.1-7.3 свідчить про те, що чим більш виражена діабетогенна дія речовини, тим менше цинку виявляється не тільки в інсулінпродукуючих клітинах β, але й ТЕК мишей, щурів, кролів, золотистих і китайських хом'ячків.

Представляло інтерес дослідження залежності вмісту цинку в клітинах тимуса тварин від ступеню важкості діабету на прикладі алоксанового. У таблицю 7.4 зведені результати таких досліджень у мишей і щурів.

Таблиця 7.4

Вміст цинку (*M* ± *m*) в панкреатичних клітинах β і ТЕК та їх взаємозв'язок (r) у мишей і щурів при різному ступені тяжкості алоксанового діабету

Група тварин	Миші			Щури		
	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Цинк ТЕК, мкг/мл	$r_{2,3}$	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Цинк ТЕК, мкг/мл	$r_{5,6}$
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	67 ± 5,3 (n=14)	33 ± 2,7 (n=14)	0,50*	17 ± 0,9 (n=16)	40 ± 3,0 (n=16)	0,52*
Важкий діабет	7 ± 0,9*** (n=12)	3 ± 0,3*** (n=12)	0,59*	3±0,3*** (n=14)	7 ± 0,7 (n=14)	0,56*
Діабет середньої важкості	10± 2,3*** (n=10)	7±0,3*** (n=10)	0,67*	7 ± 0,9*** (n=12)	17±1,3*** (n=12)	0,59*
Легкий діабет	40±6,3*** (n=11)	20±1,7*** (n=11)	0,56*	10±0,6*** (n=13)	23±3,0*** (n=13)	0,55*
Діабет не розвився	47±3,7** (n=10)	23±2,0** (n=10)	0,48*	13±0,7** (n=10)	30±2,3* (n=10)	0,54*
Середнє	23±3,0*** (n=43)	10±0,7*** (n=43)	0,57*	7±0,6*** (n=49)	17±0,9*** (n=49)	0,52*

Примітка: позначення, як у табл.7.1.

При важкій формі алоксанового діабету встановлено падіння рівня цинку в клітинах β панкреатичних острівців і ТЕК на 90 % ($P < 0,001$) і 91% ($P < 0,001$) у мишей, 82 % ($P < 0,001$) – у щурів. При діабеті середньої важкості

вміст металу в досліджених клітинах знижувався на 85 % (P < 0,001) і 79 % (P < 0,001) у мишей, 59 % (P < 0,001) і 57 % (P < 0,001) – у щурів. У випадку з легкою формою алоксанового діабету кількість цинку в підшлунковій і вилочковій залозі зменшувалась на 41 % (P < 0,001) і 39 % (P < 0,001) у мишей, 41% (P < 0,001) і 42 % (P < 0,001) – у щурів [80, 92].

У тварин, яких діабет не розвивався, також спостерігалась цинкова недостатність у β-інсулоцитах і клітинах тимуса, яка в мишей становила 30 % (P < 0,01), а в щурів – 24 % (P < 0,01) і 25 % (P < 0,05). У середньому при алоксановому діабеті кількість внутрішньоклітинного компоненту зменшувалася на 66 % (P < 0,001) і 70 % (P < 0,001) у мишей, 59 % (P < 0,001) і 57 % (P < 0,001) – у щурів.

Отже, дефіцит цинку в β-інсулоцитах і ТЕК знаходиться в залежності від ступеню важкості діабету. Спостерігалася позитивна кореляція змін вмісту мікроелементу в досліджених клітинах алоксанових тварин. У всіх випадках встановлені позитивні кореляції змін кількості металу в клітинах підшлункової і вилочкової залоз діабетичних тварин, що вказує на наявність певного зв'язку між цими клітинами.

Серія експериментів була присвячена вивченню вмісту цинку в епіфізі діабетичних тварин. Результати таких досліджень у щурів і кролів представлені в таблиці 7.5.

Із таблиці видно, що ін'єкція алоксану призводила до падіння рівня цинку в панкреатичних острівцях і шишкоподібній залозі відповідно на 59 % (P < 0,001) і 54 % (P < 0,001) у щурів, 89 % (P < 0,001) і 67 % (P < 0,001) – у кролів. Після введення стрептозотоцину зниження цих показників у піддослідних тварин становило відповідно 59 % (P < 0,001),46 % (P < 0,001), 68 % (P < 0,001) і 57 % (P < 0,001). Призначення дитизону викликало в щурів зменшення кількості цинку в клітинах β острівців і пінеалоцитах на 41 % (P < 0,05) і 38 % (P < 0,001), а у кролів – на 84 % (P < 0,001) і 67 % (P < 0,001).

Таблиця 7.5

Вміст цинку (*M* ± *m*) у панкреатичних клітинах β і пінеалоцитах та їх взаємозв'язок (r) у щурів і кролів при введенні діабетогенних речовин

Група тварин	Щури			Кролі		
	Цинк β-інсуло-цитів, мкг/мл	Цинк пінеало-цитів, мкг/мл	$r_{2,3}$	Цинк β-інсуло-цитів, мкг/мл	Цинк пінеало-цитів, мкг/мл	$r_{5,6}$
1	2	3	4	5	6	7
Контроль	17 ± 0,9 (n=16)	37 ± 2,7 (n=16)	0,56*	63 ± 5,0 (n=15)	40 ± 3,3 (n=15)	0,58*
Алоксан	7 ± 0,7*** (n=49)	17 ± 0,9*** (n=49)	0,52*	7±0,9*** (n=14)	13±0,7*** (n=14)	0,61*
Стрепто-зотоцин	7 ± 1,0*** (n=14)	20 ± 1,3*** (n=14)	0,63*	20±1,3*** (n=10)	17±0,9*** (n=10)	0,87***
Дитизон	10±2,0* (n=15)	23±1,7*** (n=15)	0,60*	10±0,6*** (n=11)	13±1,7*** (n=11)	0,85***
8-ТСХ	13±0,7* (n=12)	27±2,0** (n=12)	0,61*	23±1,7*** (n=10)	20±1,3*** (n=10)	0,88***

Примітка: позначення, як у табл.7.1.

У випадку з введенням 8-ТСХ вміст цинку в досліджених клітинах був нижче норми на 24 % ($P < 0,05$) і 27 % ($P < 0,01$) у щурів, 63 % ($P < 0,001$) і 50 % ($P < 0,001$) – відповідно у кролів [89, 92, 288].

Висока достовірність коефіцієнтів кореляції при помірній і високій їх щільності вказує на існування певного зв'язку між змінами рівня цинку в панкреатичних острівцях і епіфізі піддослідних тварин.

Таким чином, у щурів і кролів під впливом діабетогенних речовин розвився відповідний за ступенем вираженості хвороби дефіцит цинку в β-інсулоцитах і пінеалоцитах.

Представляло також інтерес порівняльні дослідження вмісту цинку в інсулінпродукуючих клітинах β і ТЕК тварин при діабеті різного ступеню важкості. У табл.7.6 зведені результати таких досліджень у щурів.

Таблиця 7.6

Вміст цинку (*M* ± *m*) в панкреатичних клітинах β і пінеалоцитах та їх взаємозв'язок (r) у щурів при різному ступені важкості алоксанового діабету

Група тварин	Цинк β-інсулоцитів, мкг/мл	Цинк пінеалоцитів, мкг/мл	$r_{2,3}$
1	2	3	4
Контроль (n=16)	17 ± 0,9	37 ± 2,7	0,56*
Важкий діабет (n=14)	3 ± 0,3***	10 ± 0,7***	0,48*
Діабет середньої важкості (n=12)	7 ± 0,9***	17 ± 1,3***	0,54*
Легкий діабет (n=13)	10 ± 0,6***	23 ± 1,7***	0,61*
Діабет не розвивався (n=10)	13 ± 0,7**	27 ± 2,0**	0,63*
Середнє (n=49)	7 ± 0,7***	17 ± 2,0***	0,56*

Примітка: ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем.

З таблиці видно, що при тяжкій формі діабету в щурів встановлено падіння рівня цинку в клітинах β панкреатичних острівців і пінеалоцитах на 82 % (P < 0,001) і 73 % (P < 0,001). При діабеті середньої важкості вміст металу в досліджених клітинах знижувався на 59 % (P < 0,001) і 54 % (P < 0,001). У випадку з легкою формою алоксановго діабету кількість цинку зменшувалась у підшлунковій залозі на 41 % (P < 0,001), шишкоподібній залозі на 38 % (P < 0,001). У щурів, яких діабет не розвився, також спостерігалась цинкова недостатність, яка в β-інсулоцитах становила 24 % (P < 0,01), пінеалоцитах – 27 % (P < 0,01). У середньому при алоксановому діабеті кількість дослідженого внутрішньоклітинного компоненту зменшувалась на 59 % (P < 0,001) у клітинах β підшлункової залози, 54 % (P < 0,001) – у клітинах епіфіза [92, 288].

Отримані дані свідчать про залежність вмісту цинку як в інсулінпродукуючих клітинах β, так і пінеалоцитах щурів від ступеню вираженості діабетогенної дії уводимої речовини. Це підтверджується позитивними коефіцієнтами кореляції змін рівня металу в досліджуваних клітинах.

Таким чином, ТЕК та пінеалоцити беруть участь у регуляції функції інсулярного апарату підшлункової залози.

У таблиці 7.7 наведені результати досліджень залежності змін вмісту цинку в гіпокампі та панкреатичних острівцях і тимуса від ступеню важкості алоксанового діабету в мишей.

Таблиця 7.7

Вміст цинку (*M* ± *m*) в нейронах гіпокампа, β-інсулоцитах і ТЕК та їх взаємозв'язок (r) у мишей при різному ступені важкості алоксанового діабету

Група тварин	Вміст цинку, мкг/мл			$r_{2,3}$	$r_{2,4}$
	Гіпокамп	β-інсулоцити	ТЕК		
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=14)	60±5,0	67±5,3	33±2,7	0,85***	0,48*
Важкий діабет (n=12)	13±0,9***	7±0,9***	3±0,3***	0,74**	0,59*
Діабет середньої тяжкості (n=10)	27±1,7***	10±2,3***	7±0,3***	0,58*	0,55*
Легкий діабет (n=11)	40±2,7**	40±6,3***	20±1,7***	0,92***	0,57*
Діабет не розвивався (n=10)	47±3,0*	47±3,7**	23±2,0**	0,91***	0,52*
Середнє (n=43)	40±4,0*	10±0,7***	10±0,7***	0,45*	0,99***

Примітка: позначення, як у табл.7.1.

Із таблиці видно, що у мишей при важкому діабеті вміст цинку знижувався на 78 % ($P < 0,001$) у нейронах гіпокампальної формації, 90 % ($P < 0,001$) – в острівцевих клітинах β, 81 % ($P < 0,001$) – клітинах вилочкової залози.

При алоксановому діабеті середньої важкості вміст цього металу зменшувався на 55 % ($P < 0,001$) у гіпокампі, 85 % ($P < 0,001$) - у панкреатичних β-клітинах, 79 % ($P < 0,001$) - ТЕК.

У тварин з легким алоксановим діабетом вміст цинку був нижче норми на 33 % ($P < 0,001$) у нейронах гіпокампа, 40 % ($P < 0,001$) – у клітинах β острівців, 39 % ($P < 0,001$) - ТЕК.

У випадках, коли діабет не розвивався, у мишей вміст цинку в нейронах гіпокампа в клітинах β і ТЕК відповідно на 22 % ($P < 0,05$), 30 % ($P < 0,01$), 30 % ($P < 0,05$) нижче норми.

У середньому вміст металу в нейронах гіпокампа, β-інсулоцитах і ТЕК мишей з алоксановим діабетом на 50 % ($P < 0,001$), 65 % ($P < 0,001$) і 70 % ($P < 0,001$) менше контрольних величин [26, 27, 127, 173].

У всіх випадках спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку в нейронах гіпокампа, острівцевих β-клітинах і ТЕК піддослідних тварин.

Таким чином, з підвищенням ступеню важкості алоксанового діабету в мишей спостерігалося поступове зниження рівня цинку в нейронах гіпокампа, інсулінпродукуючих клітинах β і клітинах вилочкової залози.

У таблиці 7.8 містяться результати досліджень впливу голодування, введення глюкози та алоксану на вміст цинку в гіпокампі, шишкоподібній, вилочковій і підшлунковій залозах.

Із таблиці видно, що після голодування у тварин вміст цинку в гіпокампі, у клітинах β острівців, пінеалоцитів і ТЕК відповідно на 38 % ($P < 0,001$), 35 % ($P < 0,001$), 27 % ($P < 0,05$) і 33 % ($P < 0,05$) вище норми.

Протилежні зміни рівня цього металу в досліджених клітинах щурів встановлені після навантаження глюкозою. Дефіцит цього металу в нейронах гіпокампа становив 21 % ($P < 0,05$), в острівцевих β-клітинах – 24 % ($P < 0,05$), пінеалоцитах – 19 % ($P < 0,05$), ТЕК – 25 % ($P < 0,05$).

Таблиця 7.8

Вміст цинку (*M* ± *m*) у нейронах гіпокампа, пінеалоцитах, ТЕК і β-інсулоцитах та їх взаємозв'язок (r) у щурів при голодуванні, введенні глюкози та алоксану

Група тварин	Вміст цинку, мкг/мл				$r_{2,3}$ / $r_{2,4}$	$r_{2,5}$
	Гіпокамп	Пінеалоцити	ТЕК	β-інсуло-цити		
1	2	3	4	5	6	7
Контроль (n=16)	63±5,3	37±2,7	40±3,0	17±0,9	0,54* 0,55*	0,44*
Тварини, які голодували (n=14)	87±5,7**	47±4,0*	53±4,0*	23±1,3***	0,51* 0,50*	0,50*
Тварини, які отримали глюкозу (n=13)	50±2,7*	30±1,7*	30±2,3*	13±0,9*	0,58* 0,57*	0,34*
Тварини, які отримали алоксан (n=69)	33±2,7***	17±0,9***	17±1,3***	7±0,6***	0,59* 0,58*	0,33*

Примітка: позначення, як у табл.4.2.

У тварин, які отримали ін'єкцію алоксану, спостерігалось подальше падіння вмісту цинку в досліджених клітинах: зниження цього показника складало відповідно 48 % ($P < 0,001$), 60 % ($P < 0,001$), 54 % ($P < 0,001$) і 57 % ($P < 0,001$) [32, 33, 46, 55, 92, 288].

Вірогідний середньої щільності коефіцієнт кореляції змін вмісту металу в нейронах гіпокампа та клітинах шишкоподібної залоз вказує на наявність між ними функціонального зв'язку.

Таким чином, голодування у щурів викликало підвищення вмісту цинку в нейронах гіпокампа, пінеалоцитах, ТЕК, β-інсулоцитах, що свідчить про пригнічення функції досліджених видів клітин. Уведення глюкози, навпаки, викликало зниження вмісту цього металу в гіпокампі, епіфізі, тимусі та панкреатичних острівцях, що вказує на активацію функції цих органів.

У випадку призначення діабетогенного агенту алоксану, який викликає виключення функції інсулярного апарату, спостерігалося підвищення активності стану гіпокампа, шишкоподібної, вилочкової і підшлункової залоз. На це вказує низький рівень цинку в них. Аналогічні зміни вмісту цинку в нейронах гіпокампа, пінеалоцитах, ТЕК і β-інсулоцитах встановлені у кролів при голодуванні, введенні глюкози та алоксану [207].

У таблиці 7.9 наведені результати досліджень залежності змін вмісту цинку в гіпокампі, епіфізі, тимусі та панкреатичних острівцях від ступеню важкості алоксанового діабету у щурів.

Із таблиці видно, що у щурів при важкому діабеті вміст цинку знижувався на 73 % (P < 0,001) у нейронах гіпокампа, 82 % (P < 0,001) – ТЕК і в острівцевих клітинах β, 73 % (P < 0,001) - пінеалоцитах.

Таблиця 7.9

Вміст цинку (*M* ± *m*) у нейронах гіпокампа, пінеалоцитах, ТЕК і β-інсулоцитах та їх взаємозв'язок (r) у щурів при різному ступені важкості алоксанового діабету

Група тварин	Вміст цинку, мкг/мл				$r_{2,3}$	$r_{2,5}$
	Гіпокамп	Пінеалоцити	ТЕК	β-інсулоцити	$r_{2,4}$	
1	2	3	4	5	6	7
Контроль (n=16)	63±5,3	37±2,7	40±3,0	17±0,9	0,54* 0,55*	0,52*
Важкий діабет (n=14)	17±1,3**	10±0,7***	7±0,7***	3±0,3***	0,52* 0,58*	0,45*
Діабет середньої важкості (n=12)	30±2,0***	17±1,3***	17±1,3***	7±0,9***	0,57* 0,50*	0,43*
Легкий діабет (n=13)	43±3,3***	23±1,7***	23±3,0***	10±0,6***	0,52* 0,52*	0,43*
Діабет не розвивався (n=10)	50±2,7*	27±2,0**	30±2,3*	13±0,7**	0,52* 0,54*	0,44*
Середнє (n=49)	33±2,7***	17±2,0***	17±0,7***	7±0,6***	0,54* 0,55*	0,43*

Примітка: позначення, як у табл.7.1.

При алоксановому діабеті середньої важкості вміст цього металу зменшувався на 52 % ($P < 0,001$) у гіпокампі, 59 % ($P < 0,001$) – у панкреатичних β-клітинах, 54 % ($P < 0,001$) – клітинах епіфіза, 57 % ($P < 0,001$) – клітинах тимуса.

У тварин з легким алоксановим діабетом вміст цинку був нижче норми на 32 % ($P < 0,001$) у нейронах гіпокампальної формації, 41 % ($P < 0,001$) – у клітинах β острівців, 38 % ($P < 0,001$) – у пінеалоцитах, 42 % ($P < 0,001$) - ТЕК.

У випадках, коли діабет не розвився, у щурів вміст цинку в нейронах гіпокампа, в клітинах β, епіфіза, тимуса відповідно на 21 % ($P < 0,05$), 24 % ($P < 0,01$), 27 % ($P < 0,01$) і 25 % ($P < 0,05$) нижче норми.

У середньому вміст металу в гіпокампальних нейронах, β-інсулоцитах, пінеалоцитах і ТЕК щурів з алоксановим діабетом на 48 % ($P < 0,001$), 59 % ($P < 0,001$), 54 % ($P < 0,001$) і 57 % ($P < 0,001$) менше контрольних величин [32, 49, 92].

У всіх випадках встановлена позитивна кореляція змін вмісту металу в клітинах гіпокампа та шишкоподібної, вилочкової і підшлункової залоз.

Таким чином, чим вище ступінь тяжкості алоксанового діабету у щурів, тим нижче рівень цинку в нейронах гіпокампа, пінеалоцитах, ТЕК та інсулінпродукуючих клітинах β.

Серія експериментів присвячена дослідженню впливу адаптивних гормонів на вміст цинку в гіпокампі, епіфізі, тимусі та панкреатичних острівцях тварин. Результати таких експериментів у мишей представлені в таблиці 7.10.

Із таблиці видно, що у мишей з алоксановим діабетом вміст цинку знижувався на 50 % ($P < 0,001$) у нейронах гіпокампа, 61 % ($P < 0,001$) – у клітинах тимуса, на 66 % ($P < 0,001$) – у клітинах β острівців.

Після введення інсуліну вміст цинку в гіпокампі зростав на 33 % ($P < 0,01$), 30 % ($P < 0,05$) – ТЕК, в інсулінпродукуючих клітинах β – на 25 % ($P < 0,05$).

Таблиця 7.10

Вміст цинку (*M* ± *m*) у нейронах гіпокампа, ТЕК і β-інсулоцитах та їх взаємозв'язок (r) у алоксанових мишей при введенні адреналіну, преднізолону, інсуліну

Група тварин	Вміст цинку, мкг/мл			$r_{2,3}$	$r_{2,4}$
	Гіпокамп	ТЕК	β-інсулоцити		
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=14)	60±5,0	33±2,7	67±5,3	0,48*	0,85***
Алоксан (n=43)	30±1,3***	13±0,7***	23±1,7***	0,51*	0,82***
Інсулін (n=10)	80±4,3**	43±3,7*	83±4,7*	0,46*	0,87***
Алоксан+ інсулін (n=10)	53±4,7###	23±1,3** ###	40±3,7*** ###	0,51*	0,79**
Алоксан+ адреналін (n=10)	50±4,3###	20±0,7*** ###	33±2,7*** ##	0,49*	0,65**
Алоксан+ преднізолон (n=10	47±4,0###	20±1,0*** ###	33±3,0*** ##	0,43*	0,54*
Алоксан+ інсулін+ адреналін (n=10)	57±3,3 ###	27±1,0 ###	47±3,3** ###	0,47*	0,73**
Алоксан+ інсулін+ преднізолон (n=10)	53±5,0 ###	27±0,7* ###	43±2,3*** ###	0,42*	0,65**

Примітка: * - P<0,05; ** - P<0,01; *** - P<0,001 порівняно з контролем; # - P< 0,05; ### - P< 0,001 порівняно з алоксаном.

У випадку призначення інсуліну мишам з алоксановим діабетом вміст цинку був нижче норми на 12 % (P > 0,05) у нейронах гіпокампа, 30 % (P < 0,01) – у ТЕК, 40 % (P < 0,001) – у β-інсулоцитах. Порівняно з діабетичними тваринами ці показники зростали відповідно на 77 % (P < 0,001), 77 % (P < 0,001) і 71 % (P < 0,001).

Порівняно з контролем вміст цинку був нижче на 17 % (P > 0,05) у нейронах гіпокампа, 39 % (P < 0,001) – у клітинах тимуса, 51 % (P < 0,001) – у β-інсулоцитах у випадку призначення адреналіну тваринам з алоксановим діабетом. Відносно діабетичних мишей ці цифри підвищувались відповідно на 67 % (P < 0,001), 54 % (P < 0,001) і 43 % (P < 0,001) порівняно мишами з алоксановим діабетом.

Рівень цинку був нижче норми на 12 % (P > 0,05) у гіпокампальних нейронах, 39 % (P < 0,01) – ТЕК, на 30 % (P < 0,01) – у β-клітинах острівців мишей з алоксановим діабетом, які отримали преднізолон. У порівнянні з діабетичними тваринами ці показники підвищувалися на 77 % (P < 0,001), 54 % (P < 0,001) і 87 % (P < 0,001) відповідно.

У діабетичних тварин в присутності інсуліну та адреналіну рівень цинку порівняно з контролем був нижче норми на 5 % (P > 0,05) у гіпокампі, 18 % (P < 0,05) – у ТЕК, 30 % (P < 0,01) – у панкреатичних острівцях. У порівнянні з діабетичними мишами ці цифри були вище відповідно на 90 % (P < 0,001), 108 % (P < 0,001) і 104 % (P < 0,001).

Після ведення інсуліну та преднізолону мишам з алоксановим діабетом спостерігалось зниження вмісту цинку в гіпокампі на 12 % (P < 0,01), клітинах тимуса – на 18 % (P < 0,05), клітинах β острівців на 36 % (P < 0,001) у порівнянні з контрольними тваринами, а відносно діабетичних мишей величини цих показників були вище на 77 % (P < 0,001), 108 % (P < 0,001) і 87 % (P < 0,001) [207].

Таким чином, у мишей з алоксановим діабетом розвивався дефіцит цинку в нейронах гіпокампа, клітинах вилочкової залози та панкреатичних клітинах β. Призначення адаптивних гормонів корегувало ці зміни. У всіх випадках спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку в гіпокампальних нейронах, ТЕК і острівцевих β-клітинах.

Про вплив адаптивних гормонів на вміст цинку в гіпокампі, епіфізі, тимусі та панкреатичних острівцях у щурів з алоксановим діабетом можна робити висновки на підставі даних таблиці 7.11.

Таблиця 7.11

Вміст цинку (*M* ± *m*) у нейронах гіпокампа, пінеалоцитах, ТЕК і β-інсулоцитах та їх взаємозв'язок (r) в алоксанових щурів при введенні алоксану, адреналіну, преднізолону, інсуліну

Група тварин	Вміст цинку, мкг/мл				$r_{2,3}$	$r_{2,5}$
	Гіпокамп	Пінеалоцити	ТЕК	β-інсулоцити	$r_{2,4}$	
1	2	3	4	5	6	7
Контроль (n=16)	63±5,3	37±2,7	40±3,0	17±0,9	0,54* 0,55*	0,44*
Інсулін (n=10)	83±4,7**	47±3,3*	50±3,7*	20±1,0*	0,51* 0,52*	0,41*
Алоксан (n=49)	33±2,7***	17±0,9***	17±1,3***	7±0,7***	0,58* 0,59*	0,40*
Алоксан+ інсулін (n=10)	53±4,3###	*** 23±1,7 ##	** 27±2,3 ##	** 13±0,7 ###	0,52* 0,53*	0,45*
Алоксан+ адреналін (n=10)	* 50±2,7 ###	** 27±2,3 ###	*** 23±1,3 ##	*** 10±0,7 ##	0,54* 0,52*	0,36*
Алоксан+ преднізолон (n=10)	* 47±3,7 ###	** 27±2,0 ###	*** 23±1,7 ##	*** 10±0,9 #	0,56* 0,55*	0,36*
Алоксан+ інсулін+ адреналін (n=10)	60±5,0 ###	* 30±1,7 ###	* 30±2,0 ###	** 13±1,0 ###	0,50* 0,49*	0,40*
Алоксан+ інсулін+ преднізолон (n=10)	57±4,3 ###	* 30±2,0 ###	** 30±1,7 ###	** 13±0,7 ###	0,51* 0,50*	0,41*

Примітка: * - P < 0,05; ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 порівняно з контролем; # - P < 0,05; ## - P < 0,01; ### - P < 0,001 порівняно з алоксаном.

Як видно з даних цієї таблиці, у щурів, які отримали ін'єкції інсуліну, вміст цинку підвищувався на 32 % ($P < 0,01$) в нейронах гіпокампа, пінеалоцитах – на 27 % ($P < 0,05$), ТЕК – на 25 % ($P < 0,05$) та на 18 % ($P < 0,05$) – у клітинах β острівців.

У діабетичних щурів вміст цинку в гіпокампі знижувався на 48 % ($P < 0,001$), шишкоподібній залозі – на 54 % ($P < 0,001$), вилочковій залозі – 57 % ($P < 0,001$), а в панкреатичних острівцях – на 59 % ($P < 0,001$).

Після ін'єкції інсуліну щурам з алоксановим діабетом вміст цинку порівняно з контролем був нижче на 16 % ($P > 0,05$) у гіпокампальних нейронах, 38 % ($P < 0,01$) – у пінеалоцитах, 32 % ($P < 0,01$) – у ТЕК, 24 % ($P < 0,01$) – у клітинах β острівців, а в порівнянні з діабетичними тваринами ці показники зростали відповідно на 61 % ($P < 0,001$), 36 % ($P < 0,001$), 59 % ($P < 0,001$) і 86 % ($P < 0,001$).

У тварин з алоксановим діабетом, які отримали адреналін, вміст цинку у порівнянні з контролем був нижче норми на 21 % ($P < 0,05$) у гіпокампі, 27 % ($P < 0,01$) – в епіфізі, 42 % ($P < 0,001$) – в тимусі, на 41 % ($P < 0,001$) – у β-інсулоцитах. Відносно діабетичних тварин ці показники були вище на 52% ($P < 0,001$), 59 % ($P < 0,001$), 35 % ($P < 0,01$) і 43 % ($P < 0,01$) відповідно.

Уведення преднізолону діабетичним щурам призводило до зростання вмісту металу в гіпокампальних нейронах на 42 % ($P < 0,05$), у пінеалоцитах – на 59 % ($P < 0,001$), у ТЕК – на 35 % ($P < 0,01$), в інсулінпродукуючих клітинах β – на 43 % ($P < 0,05$) у порівнянні з тваринами із експериментальним цукровим діабетом. Відносно контрольних величин вміст цинку в цих клітинах був менше на 25 % ($P < 0,05$), 27 % ($P < 0,01$), 42 % ($P < 0,001$) і 41 % ($P < 0,001$) відповідно.

У випадку сполученої дії інсуліну та адреналіну у тварин з алоксановим діабетом порівняно з контролем рівень цинку в гіпокампі був на 10 % ($P > 0,05$) вище, а в епіфізі – на 19 % ($P < 0,05$), тимусі – на 25 % ($P < 0,05$), у панкреатичних клітинах β – на 24% ($P < 0,01$) нижче. У порівнянні з діабетичними щурами

вміст цинку в досліджених об’єктах збільшувався відповідно на 72 % (P < 0,001), 76 % (P < 0,001), 76 % (P < 0,001) і 86 % (P < 0,001).

Поєднаний вплив інсуліну та преднізолону викликав у діабетичних тварин зростання рівня цинку в нейронах гіпокампальної формації на 72 % (P < 0,001), пінеалоцитах – на 76 % (P < 0,001), ТЕК – на 76 % (P < 0,001), в острівцевих клітинах β – на 86 % (P < 0,001) у порівнянні з діабетичними щурами. Відносно норми ці показники були відповідно на 10 % (P > 0,05), 19 % (P < 0,05), 25 % (P < 0,01) і 24 % (P < 0,01) нижче [33, 92, 288].

Отже, адаптивні гормони (адреналін, преднізолон та інсулін) викликали часткову корекцію дефіциту цинку в пінеалоцитах, ТЕК і панкреатичних клітинах β у щурів, які отримали алоксан. Корегуючий вплив цих гормонів був більш виражений у нейронах гіпокампа піддослідних тварин. У всіх випадках спостерігалася позитивна кореляція змін вмісту цинку в досліджених клітинах.

У табл.7.12 наведені дані визначень цинку в гіпокампі, вилочковій залозі та інсулярному апараті мишей при ОФН та ОІ після введення алоксану та інсуліну.

Отримані дані, свідчать про підвищення вмісту цинку на 57 % (P < 0,001) у нейронах гіпокампа, 54 % (P < 0,001) – у ТЕК, на 61 % (P < 0,001) – у панкреатичних клітинах β мишей з алоксановим діабетом, які зазнали впливу ОФН, порівняно з діабетичними тваринами. Ці цифри були нижче норми на 22 % (P < 0,05), 39 % (P < 0,001) і 45 % (P < 0,001) відповідно.

У випадку сполученої дії інсуліну та ОФН у мишей з алоксановим діабетом порівняно з контролем вміст цинку в гіпокампі був нижче на 5 % (P > 0,05), а в ТЕК та інсулінпродукуючих клітинах β – на 18 % (P > 0,05) і 30 % (P < 0,01). Відносно діабетичних тварин рівень цього металу в досліджених клітинах зростав на 90 % (P < 0,001), 108 % (P < 0,001) і 104 % (P < 0,001) відповідно.

Таблиця 7.12

Вміст цинку (*M*± *m*) в нейронах гіпокампа, ТЕК, β-інсулоцитах та їх взаємозв'язок (r) у мишей при ОФН після введення алоксану та інсуліну

Група тварин	Вміст цинку, мкг/мл			$r_{2,3}$	$r_{2,4}$
	Гіпокамп	ТЕК	β-інсулоцити		
1	2	3	4	5	6
Контроль (n=14)	60±5,0	33±2,7	67±5,3	0,48*	0,85***
Алоксан (n=43)	30±1,3***	13±0,7***	23±1,7***	0,36*	0,82***
Інсулін (n=10)	80±4,3**	43±3,7*	83±4,7*	0,42*	0,91***
Алоксан+ інсулін (n=10)	53±4,7###	** 23±1,3 ###	*** 40±3,7 ###	0,51*	0,79***
Алоксан+ ОФН (n=10)	* 47±3,3 ###	*** 20±1,7 ###	*** 37±2,3 ###	0,43*	0,77***
Алоксан+ інсулін+ОФН (n=10)	57±3,3 ###	27±1,3 ###	** 47±2,7 ###	0,48*	0,51*
Алоксан+ОІ (n=10)	* 43±4,0 ##	*** 17±1,7 #	*** 33±2,3 ##	0,42*	0,78***
Алоксан+ інсулін+ОІ (n=10)	53±4,3 ###	27±1,7 ###	*** 43±3,0 ###	0,49*	0,81***

Примітка: позначення, як у табл.7.11.

В діабетичних мишей з ОІ вміст цинку був нижче норми на 28 % ($P < 0,05$) у нейронах гіпокампальної формації, на 48 % ($P < 0,001$) – ТЕК, на 51 % ($P < 0,001$) – у β-інсулоцитах. У порівнянні тварин з діабетом ці показники були вище відповідно на 43 % ($P < 0,001$), 31 % ($P < 0,05$) і 43 % ($P < 0,01$).

Сполучена дія інсуліну та ОІ викликала у мишей з алоксановим діабетом зростання вмісту цинку в гіпокампі, тимусі та панкреатичних острівцях порівняно з діабетичними тваринами на 77 % ($P < 0,001$), 108 % ($P < 0,001$) і

87 % (P < 0,001) відповідно. Порівняно з нормою рівень цього металу в досліджених органах був нижче на 12 % (P > 0,05), на 18 % (P > 0,05) і 36 % (P < 0,001) відповідно [89].

Таким чином, інсулін, ОФН та ОІ викликають часткову корекцію дефіциту цинку в нейронах гіпокампа, ТЕК і панкреатичних клітинах β у мишей, які отримали алоксан. У всіх випадках спостерігалась позитивна кореляція змін цинку в досліджених клітинах.

Про вплив уведення інсуліну, ОФН та ОІ на вміст цинку в нейронах гіпокампа, клітинах шишкоподібної і вилочкової залоз і β-клітинах панкреатичних острівців у щурів з алоксановим діабетом свідчать дані табл.7.13.

Таблиця 7.13

Вміст цинку (*M* ± *m*) у нейронах гіпокампа, пінеалоцитах, ТЕК, β-інсулоцитах та їх взаємозв'язок (r) у щурів при ОФН та ОІ після введення алоксану та інсуліну

Група тварин	Вміст цинку, мкг/мл				$r_{2,3}$	$r_{2,5}$
	Гіпокамп	Пінеалоцити	ТЕК	β-інсулоцити	$r_{2,4}$	
1	2	3	4	5	6	7
Контроль (n=16)	63±5,3	37±2,7	40±3,0	17±0,9	0,54* 0,55*	0,44*
Алоксан (n=49)	33±2,7***	17±0,9***	17±1,3***	7±0,7***	0,58* 0,59*	0,40*
Інсулін (n=10)	** 83±4,7 #	47±3,3*	50±3,7*	20±1,0*	0,51* 0,52*	0,41*
Алоксан+ інсулін (n=10)	53±4,3###	*** 23±1,7 ##	** 27±2,3 ##	** 13±0,7 ###	0,52* 0,53*	0,45*
Алоксан+ОФН (n=10)	* 47±3,7 ##	** 27±2,0 ###	*** 23±2,0 #	*** 10±0,7 ##	0,54* 0,52*	0,36*
Алоксан+ інсулін+ОФН (n=10)	53±4,0###	* 30±1,7 ###	*** 27±2,0 ###	** 13±0,9 ###	0,50* 0,49*	0,38*
Алоксан+ОІ (n=10)	* 50±3,3 ###	** 27±2,3 ###	*** 23±1,7 ##	*** 10±0,9 #	0,54* 0,51*	0,41*
Алоксан+ інсулін+ОІ (n=10)	57±4,7 ###	* 30±2,0 ###	** 27±2,7 ##	** 13±0,7 ###	0,63* 0,60*	0,47*

Примітка: позначення, як у табл.7.11.

Із таблиці видно, що порівняно з контролем рівень цинку у щурів з алоксановим діабетом при ОФН був нижче на 21 % ($P > 0,05$) у нейронах гіпокампа, 27 % ($P < 0,01$) – у пінеалоцитах, 42 % ($P < 0,001$) – у ТЕК, 41 % ($P < 0,001$) – у панкреатичних клітинах β. У порівнянні з діабетичними тваринами ці показники зростали на 52 % ($P < 0,001$), 59 % ($P < 0,001$), 35 % ($P < 0,05$) і 43 % ($P < 0,001$).

У випадку поєднаної дії інсуліну та ОФН у щурів з алоксановим діабетом вміст цинку порівняно з контролем був нижче на 16 % ($P > 0,05$) у гіпокампі, 19 % ($P < 0,05$) – в епіфізі, 32 % ($P < 0,001$) – у тимусі, 24 % ($P > 0,05$) – у панкреатичних острівцях, а в порівнянні з діабетичними тваринами ці цифри були вище на 61 % ($P < 0,001$), 76 % ($P < 0,001$), 59 % ($P < 0,001$) і 86 % ($P < 0,001$) відповідно.

Після ОІ у щурів з діабетом порівняно з контролем вміст цинку був нижче на 21 % ($P < 0,05$) у гіпокампі, 27 % ($P < 0,01$) – в епіфізі, 42 % ($P < 0,001$) – у тимусі, 41 % ($P < 0,001$) – у панкреатичних острівцях. У порівнянні з діабетичними тваринами величини цих показників були вище на 52 % ($P < 0,001$), 59 % ($P < 0,001$), 42 % ($P < 0,01$) і 43 % ($P < 0,05$).

У випадку сполученої дії інсуліну та ОІ у тварин з експериментальним цукровим діабетом вміст металу порівняно з нормою був нижче на 10 % ($P > 0,05$) у нейронах гіпокампа, 19 % ($P < 0,05$) – у пінеалоцитах, 32 % ($P < 0,01$) – у ТЕК, 24 % ($P < 0,01$) у панкреатичних клітинах β. У порівнянні з діабетичними щурами ці цифри зростали відповідно на 72 % ($P < 0,001$), 76 % ($P < 0,001$), 59 % ($P < 0,01$) і на 86 % ($P < 0,001$) [92, 288].

Отже, ОФН, ОІ та інсулін викликають у щурів з алоксановим діабетом підвищення рівня цинку в гіпокампальних нейронах, пінеалоцитах, ТЕК і β-інсулоцитах. Спостерігалася позитивна кореляція змін вмісту цинку в досліджених клітинах цих тварин.

Підсумовуючи викладене в цій главі, слід відзначити, що:

1. Дефіцит цинку в гіпокампі, шишкоподібній і вилочковій залозі мишей, щурів, кролів, золотистих і китайських хом'ячків корегує з видом діабету, а у щурів – зі ступенем важкості хвороби: чим вище ступінь важкості алоксанового діабету, тим нижче рівень металу в клітинах. У цього ж виду тварин, а також кролів спостерігалась кореляція змін рівня цинку в нейронах гіпокампа, пінеалоцитах, ТЕК і β-інсулоцитах при голодуванні та навантаженні глюкозою.

2. Цинкова недостатність у клітинах гіпокампа, епіфіза та тимуса діабетичних тварин корегувалась уведенням адаптивних гормонів і гострим стресуванням організму.

3. Позитивні коефіцієнти кореляції змін вмісту цинку в гіпокампальних нейронах, пінеалоцитах, ТЕК і В-інсулоцитах у піддослідних тварин можуть вказувати на існування гіпокампо-епіфізарно-тимічної системи регуляції функції інсулярного апарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамов А.В. Стимуляція синтезу інсуліну в бета-клітинах підшлункової залози у інтактних щурів з діабетом при хронічному введенні аргінін-вазопресину / А.В. Абрамов // Фізіол.журнал. – 2000. – Т.46, № 6. – С.79-84.
2. Аденилатциклазные сигнальные механизмы действия пептидов инсулинового суперсемейства и их функциональные нарушения в миометрии беременных женщин при сахарном диабете второго типа / С.А.Плеснева, Л.А.Кузнецова, А.О.Шпаков [и др.] // Рос.физиол.журнал им. И.М.Сеченова. – 2008. – Т.94, №10. – С.1126-1136.
3. Александровская О. В. Цитология, гистология и эмбриология / Александровская О. В., Радостина Т. Н., Козлов Н. А. – М.: Агропромиздат, 1987. – 448 с.
4. Аметов А. С. Инсулиносекреция и инсулинорезистентность: две стороны одной медали /А.С. Аметов // Пробл.эндокринологии. – 2002. – Т.48, № 3. – С.31-37.
5. Анисимов В. Н. Роль системы гормон роста – инсулиноподобный фактор роста-1-инсулин в старении и долголетии: эволюционный аспект / В.Н. Анисимов // Рос. физиол. журнал им. И.М.Сеченова. – 2008. – Т. 94, № 9. – С.1092-1109.
6. Балаболкин М. И. Диабетология / М. И. Балаболкин. – М.: Медицина, 2000. – 671 с.
7. Балаболкин М. И. Эндокринология / М. И. Балаболкин. – М.: Универсум паблишинг, 1998. – 581 с.
8. Бовт В. Д. Вивчення функціональних зв’язків між гранулоцитами крові і панкреатичних острівців / В. Д. Бовт, Ю. В. Єщенко, Н. В. Григорова // Вісн. Зап. держ. ун-ту: Зб. наук. статей. Фізико-мат. науки. Біол. науки.– Запоріжжя: ЗДУ, 2002. – №2. – С. 107-109.
9. Бовт В.Д. Вплив гіперглікемізуючих факторів на вміст цинку в клітинах/ В.Д.Бовт, Ю.В. Єщенко, Н.В. Григорова // Вісн. Зап. держ. ун-ту: Зб. наук.

статей. Фізико-мат. науки. Біол. науки.– Запоріжжя: ЗДУ, 2002. – №2. – С.107-109.

10. Бомбезин стимулирует функцию бета-клеток поджелудочной железы при хроническом введении диабетическим крысам / А.В. Абрамов, Ю.М. Колесник, С.Д. Тржецинский [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1998. – Т.126, №7. – С. 33-35.
11. Бондарева В.М. Выделение инсулина из ткани мозга крыс и его биологическая характеристика / В.М. Бондарева, Б.Н. Лейбуш // Нейрохимия. – 1988. – Т.7, №2. – С. 268-273.
12. Бродяк И.В. Апоптоз иммунокомпетентных клеток крови при сахарном диабете II типа / И.В. Бродяк, М.Л. Барская, Н.А. Сибирная // Лаб. диагностика. – 2005. – Т.32, №2. – С. 22-25.
13. Вариабельность действия инсулина на респираторный взрыв в нейтрофилах. Роль тирозиновых киназ и фосфатаз / В.Г. Сафронова, А.Г. Забрулханова, А.В. Миллер [и др.] // Биохимия. – 2001. – Т.66, №8. – С.1036-1047.
14. Вивчення взаємовідносин цинку та магнію в інсулінпродукуючих клітинах / Н.В.Григорова // Материали за IV Межд. науч. практ. конференция «Научно пространство на Европа–2008». Т.21. Биология. - София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2008. – С. 77-79.
15. Вивчення функціональних зв’язків панкреатичних острівців і передміхурової залози / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, В.Д.Бовт [та ін.] // Матеріали IV Міжн.наук.-практ.конф.„Динаміка наукових досліджень’2005”. Т.1. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2005. – С.41-42.
16. Визначення вмісту цинку та інсуліну в острівцевих клітинах при різному функціональному стані інсулярного апарату / Берегова Т.В., Григорова Н.В., Єщенко Ю.В. [та ін.] // Фізіол.журнал. – 2007. – Т.53, №4. – С.100-104.
17. Вікові відмінності вмісту цинку в клітинах різних органів у мишей і щурів / К.П.Миргородська, Н.В.Григорова, О.В.Важненко [та ін.] // Тези доп. мол. учених II Міжн. конф. „Біологія: від молекули до біосфери”. – Харків: ХНУ ім. В.Н.Каразіна, 2007. – С.183-184.

18. Влияние алкоголя на содержание цинка в клетках у крыс разного возраста / Н.В. Григорова, В.Ю. Задорожня, К.П. Миргородська // Материалы I Межд.науч.-практ.конф.«Научная индустрия европейского континента - 2006». Т.4. – Днепропетровск: Наука и образование, 2006. – С.88-89.
19. Влияние введения адреналина, пилокарпина и кортизола на содержание цинка в клетках / В.Д. Бовт, Н.В. Григорова, Ю.В. Ещенко [и др.] // Арх. клин. и эксперим. медицины. – 2003. – Т.12, №1. – С.31.
20. Влияние иммобилизационного стресса на содержание цинка в клетках у животных разного вида и возраста / Н.В. Григорова, К.П. Миргородська, Ю.В.Єщенко // Материалы II Межд. науч.-практ. конф. «Образование и наука без границ – 2006». – Т.9. – Днепропетровск: Наука и образование, 2006. – С.25-26.
21. Влияние пептидного экстракта поджелудочной железы на ультраструктуру вилочковой железы у NOD мышей / Т.Е. Загоруйко, И.П. Кайдашев, И.Г.Скидан [и др.] // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2004. – Вип.2. – С.77-82.
22. Влияние хронического введения нейропептида Y на состояние β- и α-клеток островков Лангерганса у интактных и диабетических крыс / Ю.М.Колесник, А.В.Абрамов, А.В.Тромлин [и др.] // Пробл. эндокрин. – 1999. – Т.45, №2. – С.42-45.
23. Вміст магнію в гранулоцитах крові при різному функціональному стані інсулярного апарату / Н.В. Григорова // Сборник науч. труд. по матер. межд. науч.-практ. конф. «Перспективные инновации в науке, образовании, производстве и транспорте’2008». Т.15. Биология. – Одесса: Черноморье, 2008. – С.4-6.
24. Вміст металів у панкреатичних клітинах В при різному функціональному стані інсулярного апарату / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт // Матеріали I Міжн. наук.-практ. конф. „Європейська наука XXI століття: стратегія і перспективи розвитку - 2006”. Т.1. - Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. – С.26-28.
25. Вміст цинку в В-інсулоцитах у тварин різних видів при голодуванні, навантаженні глюкозою та введенні алоксану / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко,

В.Д.Бовт [та ін.] // Materialy V Miedz. Nauk.-prakt. konf. “Aktualni problemy nowoczesnych nauk – 2009”. V.18. – Przemysl: Nauka i studia, 2009. – S.59-60.

26. Вміст цинку в гіпокампі мишей при різному функціональному стані інсулярного апарата та введенні конвульсанта / Н.В. Григорова, О.М. Кучковський, Ю.В. Єщенко [та ін.] // Материалы II Межд. науч.-практ. конф. «Научный прогресс на рубеже тысячелетий–2007».Т.11. Биологические науки. – Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – С.89-91.
27. Вміст цинку в гіпокампі, панкреатичних острівцях і клітинах Панета мишей і щурів при стресі / Н.В. Григорова // Материали за III Межд. науч. практ. конф. «Умение и нововъведения – 2007». Т.10. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2007. – С.71-74.
28. Вміст цинку в гранулоцитах і плазмі крові при різному функціональному стані інсулярного апарату / Н.В.Григорова // Materialy IV Miedz. nauk.-prakt. konf. “Naukowym progres na rubiezy tysiacleci – 2008”. T.16.–Przemysl: Nauka i studia, 2008. – S.47-49.
29. Вміст цинку в гранулоцитах крові та В-інсулоцитах людей і тварин різних видів при введенні адреналіну, преднізолону, пілокарпіну / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, А.К. Карпов // Вісн. зап. нац. ун-ту: Зб. наук. праць. Біол. науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2009. – С.89-92.
30. Вміст цинку в клітинах мишей і щурів при стресі / Н.В.Григорова // Науковий часопис НПУ імені М.П.Драгоманова. Серія № 20. Біологія. - 2005. – Вип.1, №1. – С.134-143.
31. Вміст цинку в клітинах при гіпофункції інсулярного апарата та надниркових залоз / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] // Материалы II Межд. науч.-практ. конф. «Европейская наука XXI века – 2007». Т.9. – Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – С.47-48.
32. Вміст цинку в клітинах при різному функціональному стані інсулярного апарату у щурів / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] // Фальцфейн. читання: Зб. наук. праць. – Херсон: ПП Вишемирський, 2007. – С.76-80.

33. Вміст цинку в клітинах щурів при різному функціональному стані інсулярного апарату / Н.В.Григорова // Materialy II Mezin. ved.-prakt. konf. “Nastoleni moderrni vedy – 2007”. D.6. - Praha: Publishing House “Education and science”, 2007. – S.14-15.
34. Вміст цинку та інсуліну в В-клітинах острівців щурів, хом’яків та мишей різного віку / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, К.П.Миргородська [та ін.] // Materialy Miedz. konf. “Dynamika naykowych badan – 2007.” T.7. Nauk biologicznych. – Przemysl: Nauka i Studia, 2007. – S.49-51.
35. Вміст цинку та інсуліну в інсулінпродукуючих клітинах у тварин при введенні діабетогенних речовин / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, А.К.Карпов // Materialy V Mezin. ved.-prakt. konf. “Aktualni vymozenosti vedy - 2009”. Dil. 11. Lekarstvi, Biologicke vedy, chemil a chemicka technologie, ekologie. - Praha: Publishing House “Education and science”, 2009.– S. 24-26.
36. Вміст цинку та інсуліну в клітинах мишей при введенні токсичних металів / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, О.В.Важненко [та ін.] // Зб. тез ІІ Міжн. наук. конф. студ. та асп. «Молодь та поступ біології». – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2006. – С.415.
37. Вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах В щурів при дії екстремальних факторів / Н.В.Григорова // Materialy IV Mezin. ved.-prakt. konf. “Vedecky potencial sveta”. D.5. - Praha: Publishing House “Education and science”, 2007.– С.9-11.
38. Вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах у мишей та щурів при різному ступені важкості алоксанового діабету / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] // Матеріали ІІ Міжн. наук.-практ. конф. „Сучасні наукові дослідження – 2006”. Т.13. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. – С.98-100.
39. Вміст цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях золотистих хом’ячків різного віку / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, К.П.Миргородська [та ін.] // Материалы ІІІ Межд. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы научных исс-

ледований – 2007». Т.8. Биол. науки. – Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – С.57-58.

40. Вміст цинку та магнію в клітинах різних органів у мишей після фізичного навантаження / Н.В.Григорова // Вісник Запорізького національного університету. Зб. наук.ст. Біологічні науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2006. – С.56-60.
41. Вміст цинку та секреторного матеріалу в клітинах адреналектомованих щурів / Н.В.Григорова // Вісн. Зап. нац. університету: Зб. наук. статей. Біологічні науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2008. – № 2. – С. 33-36.
42. Возрастные изменения гормональной функции поджелудочной железы и регуляции уровня глюкозы в крови обезьян / Н.Д.Гончарова, А.А.Венгерин, Т.Э.Оганян [и др.]// Бюл.экспер.биол. и мед.–2004.–Т.137, № 3. – С.317-320.
43. Вплив адреналіну, преднізолону й пілокарпіну на вміст цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях / Н.В.Григорова // Материалы II Межд. науч.-практ. конф. «Основные научные достижения –’2007». Т.5. Медицина. – Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – С.70-72.
44. Вплив високих і низьких температур на обмін цинку в клітинах мишей/ Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, В.Д.Бовт // Пит. біоінд. та екол. – 2007. – Вип.12, № 1. – С. 170-178.
45. Вплив гострого стресу на концентрації цукру та кортизолу в крові, вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах В у молодих і старих щурів / Н.В.Григорова // Materialy IV Mezin. ved.-prakt. konf. “Klicove aspekty vedeske cinnosti – 2008.” Dil. 8. - Praha: Publishing House “Education and science”, 2008. – S.50-51.
46. Вплив гострого та хронічного стресу на вміст цинку в гіпокампі та ендокринній частині підшлункової залози / В.А.Єщенко, В.Д.Бовт, М.М.Малько [та ін.] // Матеріали міжн. конф., присвяченої пам’яті професора Шостаковської Ірини Василівни. – Львів: ЛНУ, імені Івана Франка, 2002. – С.62.
47. Вплив гострої алкоголізації на стан панкреатичних клітин і клітин Панета мишей з дитизоновим діабетом / Н.В.Григорова, С.М.Андрюхова // Сборник науч. труд. по мат. межд. науч.-практ. конф. «Научные исследования и их

практическое применение. Современное состояние и пути развития–2008». Т.16. Биология. – Одесса: «Черноморье», 2008. – С.20-22.

48. Вплив екстремальних факторів на інсулярний апарат мишей та щурів / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, В.Д.Бовт [та ін.] // Материалы III Межд. науч.-практ. конф. «Научное пространство Европы – 2007». Т.5. – Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – С.27-29.
49. Вплив екстремальних факторів на клітинний метаболізм цинку / Ю.В.Єщенко, Н.В.Григорова, В.Д.Бовт [та ін.] // Вісн. Зап. нац. ун-ту: Зб. наук. статей. Біологічні науки. – 2007. – № 1. – С.78-81.
50. Вплив іммобілізаційного стресу та алкоголізації на вміст цинку в клітинах у мишей різного віку / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Ю. Задорожня [та ін.] // Материалы II Межд. науч.-практ. конф. «Научный прогресс на рубеже тысячелетий – 2007». Биол. науки. – Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – С.87-89.
51. Вплив інсуліну, адреналіну та преднізолону на стан панкреатичних острівців у мишей з алоксановим діабетом / Н. В. Григорова // Материалы II Межд. науч.-практ. конф. «Стратегические вопросы мировой науки – 2007». Т.10. – Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – С.51-52.
52. Вплив катехоламіну та глюкокортикоїду на інсулярний апарат мишей та щурів / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, К.П.Миргородська [та ін.] // Materialy IV Mezin. ved.-prakt. konf. “Veda a technologie: krok do budoucnosti – 2008.” D.15. - Praha: Publishing House “Education and science”, 2008.– S.48-50.
53. Вплив окситоцину на стан бета-клітин острівців Лангерганса і показники вуглеводного обміну в інтактних щурів і щурів з діабетом / Ю.М.Колесник, С.Д.Тржецинский, А.В.Абрамов [та ін.] // Фізіол. журнал. – 2000. – Т.46, №7. – С.37-43.
54. Вплив охолодження на вміст цинку в клітинах щурів різного віку / Н.В.Григорова, К.П.Миргородська, Ю.В.Єщенко // Пит. біоін. та екол. – 2006. – Вип.11, №2. – С.140-148.

55. Вплив охолодження організму на вміст магнію та цинку в клітинах здорових і діабетичних щурів / Н.В.Григорова // Пит. біоінд. та екол. - 2005. – Вип.10, № 1. – С.101-109.
56. Вплив охолодження організму на стан інсулярного апарату та вміст в ньому цинку та магнію / Н.В.Григорова // Збірка тез доповідей VIII Міжн. наук.-практ. конф. студ., асп. та мол. вчен. «Екологія. Людина. Суспільство.» – К.: КПІ, 2005. – С.21.
57. Вплив охолодження та алоксану на вміст цинку та секреторного матеріалу в клітинах / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, В.Д.Бовт [та ін.] // Пит. біоінд. та екол. - 2007. – Вип. 12, № 2. – С.159-166.
58. Вплив попереднього голодування та уведення глюкози на розвиток алоксанового діабету у щурів / Н.В.Григорова // Сборник науч. труд. по матер. межд. науч.-практ. конф. «Современные проблемы и пути решения в науке, транспорте, производстве и образовании ’ 2008». Т.23. Биология. – Одесса: Черноморье, 2008. – С.40-42.
59. Вплив попереднього голодування та уведення глюкози та стан панкреатичних острівців у мишей, отримавших алоксан / В.Д. Бовт, В.А. Єщенко, Н.В.Григорова [та ін.] // Збірник матер. наук. конф. студ., асп. та мол. вчен. – Запоріжжя: ЗДУ, 2004. – С.453-457.
60. Вплив стресових гормонів на вміст цинку в інсулінпродукуючих клітинах / Ю.В.Єщенко, Н.В.Григорова, В.Д.Бовт [та ін.] // Сборник науч. труд. по матер. межд. науч.-практ. конф. «Перспективные инновации в науке, образовании, производстве и транспорте ' 2009. Т.17. Биология. - Одесса: Черноморье, 2009. - С.7-8.
61. Вплив токсичних металів та сірководню на вміст цинку в гранулоцитах крові та В-інсулоцитах / Ю.В.Єщенко, Н.В.Григорова, В.Д.Бовт [та ін.] // Вісн. Зап. нац. ун-ту: Зб. наук. статей. Біол. науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2009. – №1. – С.101-106.
62. Вплив фізичного навантаження на вміст цинку та інсуліну в клітинах у щурів різного віку / Н.В.Григорова, К.П.Миргородська, Ю.В.Єщенко // Наук. часо-

пис НПУ імені М. П. Драгоманова. Серія №20. Біологія. – 2008. –Вип. 2. – С.53-57.

63. Вплив хлориду алюмінію на вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах В мишей з дитизоновим діабетом / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] // Пит. біоінд. та екол. – 2009. – Вип.14, №1. – С.144-150.
64. Вплив хлориду алюмінію на стан гранулоцитів крові тварин з алоксановим діабетом / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, В.Д.Бовт [та ін.] // Сборник науч. труд. по матер. межд. науч.-практ. конф. «Современные направления теоретических и прикладных исследований ’ 2009». Т.27. Биология. – Одесса: Черноморье, 2009. – С.45-47.
65. Вплив холіноміметика на розвиток алоксанового діабету / Н.В.Григорова // Materialy IV Mezin. ved.-prakt. konf. „Vedecky prumysl evropskeho kontinentu – 2008.” D.12. - Praha: Publishing House “Education and science”s.r.o., 2008. – S.74-76.
66. Вплив цинктералу на стан гранулоцитів крові хворих на цукровий діабет / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, А.К.Карпов [та ін.] // Акт. пит. біол., екол. та хім. – 2009. – Т.1, №2. - С.51-55.
67. Ганчева О.В. Ефекти багаторазового введення окситоцину і вазопресину на стан β- і α-клітин панкреатичних острівців і крупноклітинних нейронів гіпоталамуса в нормі і при цукровому діабеті: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук.: 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / О.В. Ганчева. – Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2002. – 18 с.
68. Гематологічні показники при вагітності з анемією та цукровим діабетом / Н.В.Григорова, М.А.Кузьміна, Н.М.Букреєва // Сборник науч. труд. по матер. межд. науч.-практ. конф. «Современные проблемы и пути их решения в науке, транспорте, производстве и образовании, 2010». Т.33. - Одесса: Черноморье, 2010. – С.32-34.
69. Генетические и иммунологические аспекты сахарного диабета 1-го типа / Т.Л. Кураева, Е.В. Титович, Л.И. Зильберман [и др.] // Усп. физиол. наук. – 2003. – Т.34, № 1. – С.45-62.

70. Генно-инженерный инсулин и его фармацевтические аналоги / Д.А. Гусаров, В.Д.Гусарова, Д.И.Баирамашвили [и др.] // Биомед. химия. – 2008. – Т.54, Вып. 6. – С.624-642.
71. Гольдберг Е.Д. Диагностическое значение селективной цитохимической реакции в гранулоцитах периферической крови / Е.Д.Гольдберг, В.Д.Бовт, В.А.Ещенко//Клин. лаб. диагностика. – 1993. – №3. – С.25-27.
72. Гольдберг Е. Д. Сахарный диабет. Этиологические факторы / Е.Д. Гольдберг, В.А. Ещенко, В.Д. Бовт. – Томск: Изд-во Томск.ун-та, 1993. – 136 с.
73. Горбенко Н. І. Молекулярні механізми порушення інсулінової секреції у хворих на цукровий діабет 2 типу та можливість їх корекції за допомогою похідних бурштинової кислоти (огляд літератури та результати власних досліджень) / Н.І. Горбенко, В.В. Полторак // Ендокринологія. – 2002. – Т.7, №2. – С.233-241.
74. Гормональна корекція дефіциту цинку в В-інсулоцитах у алоксанових мишей і щурів / Н.В. Григорова, Ю.В.Єщенко, А.К.Карпов [та ін.] // Материали за V Межд. науч. практ. конф. «Настоящи постижения на европейската наука - 2009». Т. 9. Биологии. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2009. – S. 37-38.
75. Горшунская М.Ю. Функция В-клеток и чувствительность к инсулину у больных сахарным диабетом типа 2 / М. Ю. Горшунская, О. М. Белецкая // Пробл. эндокрин. – 2003. – Т.49, № 3. – С.6-9.
76. Грекова Т.А. Стан ендокриноцитів панкреатичних острівців в експериментальних тварин при гіперглікемії різної етіології та патогенезу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд.мед.наук: спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / Т.А.Грекова. – К., 2011. – 161 с.
77. Григорова Н.В. Визначення цинку, магнію та інсуліну в панкреатичних острівцях різних видів тварин / Н.В. Григорова // Наук. часопис НПУ імені М.П. Драгоманова. Серія №20. Біологія. – 2008. – Вип.2. - С.45-53.
78. Григорова Н.В. Влияние токсических металлов на метаболизм цинка в гранулоцитах крови и панкреатических островков / Н.В. Григорова // Матеріали І міжн. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчен. „Проблеми природоко-

ристування та охорона рослинного і тваринного світу". – Кривий Ріг: Мінерал, 2004. – С. 89-91.

79. Григорова Н.В. Вміст цинку в тимоцитах, В-інсулоцитах, гранулоцитах крові та кісткового мозку тварин при дії стресових факторів / Н.В. Григорова // Вісн. Зап. нац. ун-ту: Зб. наук. праць. Біол. науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2011. – №1. – С.75-78.
80. Григорова Н.В. Вміст цинку в тимоцитах і β-інсулоцитах мишей і щурів при різному ступені тяжкості алоксанового діабету / Н.В. Григорова, М.А. Кузьміна, В.А. Єщенко // Збірка матер. III Міжн. наук.-прак. конф., присв. 25-річчю біол. фак.-ту «Сучасні проблеми біології, екології та хімії». – Запоріжжя: ЗНУ, 2012. – С. 222-223.
81. Григорова Н.В. Вплив адреналіну, преднізолону та пілокарпіну на функціональний стан панкреатичних острівців і тимуса золотистих хом'ячків / Н.В.Григорова, М.А. Кузьміна, А.К. Карпов // Біол. вісник МДПУ. – 2013. - № 1. – С.82-87.
82. Григорова Н.В. Вплив ацетату цинку на вміст цього металу в тимоцитах, В-інсулоцитах, зернистих лейкоцитах крові та кісткового мозку тварин, які зазнали дії сірководню / Пит. біоінд.та екол. – 2010. – Вип.15, № 2. - С. 92-93.
83. Григорова Н.В. Вплив гострого стресу на концентрації цукру та кортизолу в крові, вміст цинку й інсуліну в панкреатичних клітинах В діабетичних щурів / Н.В. Григорова // Materialy IV Miedz. nauk.-prakt. konf. "Stratgiczne pytania swiatowej nauki – 2008."– T. 7. – Przemysl: Nauka i studia, 2008. – S.47-48.
84. Григорова Н.В. Вплив солей цинку, магнію та міді на глікемію, стан інсулінпродукуючих клітин у мишей і щурів / Materialy IV Mezin. ved.-prakt. konf. "Efektivni nastroje modernich ved – 2008". D. 14. - Praha: Publishing House "Education and science", 2008. – S.38-40.
85. Григорова Н.В. Вплив солей цинку, магнію та міді на стан гранулоцитів крові та панкреатичних острівців у щурів / Н.В. Григорова // Вісн. Зап. нац. ун-ту: Зб. наук. статей. Біол. науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2009. - №1. – С.72-77.

86. Григорова Н.В. Гематологічні дослідження при діабетичній комі / Н.В.Григорова, М.А. Кузьміна, Ю.І. Тітаєва // Сборник науч. труд. по матер. межд. науч.-практ. конф. «Перспективные инновации в науке, образовании, производстве и транспорте 2011». Т.24. – Одесса: Черноморье, 2011. – С.49-52.
87. Григорова Н.В. Дослідження цинку та магнію в панкреатичних клітинах В при різному їх функціональному стані / Н.В. Григорова // Материали за IV Межд. науч. практ. конф. «Научни дни – 2008». Т.14. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2008. – С.79-81.
88. Григорова Н.В. Картина крові в дітей шкільного віку при цукровому діабеті різного ступеня тяжкості / Н.В. Григорова, М.А. Кузьміна, О.В.Алієва // Вісн. Зап. нац. ун-ту: Зб. наук. праць. Біол. науки – Запоріжжя: ЗНУ, 2012. – С.71-77.
89. Григорова Н.В. Механізми регуляції вмісту хелатованих металів у клітинах / Н.В. Григорова, В.А. Єщенко, М.А. Кузьміна // Эксперим. та клін. фізіол. і біохім. – 2013. – Т.61, № 4. – С.7-12.
90. Григорова Н.В. Повреждающее действие дитизона на гранулоциты крови и базальные отделы кишечных крипт / Ю.В. Ещенко, В.В. Новицкий, В.Д.Бовт [и др.] // Бюл. сиб. мед. – 2010. - № 5. – С.24-27.
91. Григорова Н.В. Порівняльні дослідження цинку, інсуліну та магнію в панкреатичних В-клітинах мишей і щурів / Н.В. Григорова // Materialy III Miedz. nauk.-prakt. konf. “Wiadomosci naykowej mysli – 2007.” T.10. – Przemysl: Nauka i studia, 2007. – S.43-45.
92. Григорова Н.В. Роль цинку в нейрогуморальних механізмах регуляції функції інсулярного апарату / Н.В. Григорова, В.А. Єщенко // Эксперим. та клін. фізіол. і біохім. – 2013. – Т.61, №1. – С.79-84.
93. Григорова Н.В. Состояние инсулярного аппарата у мышей разного возраста / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, Е.П. Миргородская // Тезисы VI межд. симп. “Биологические механизмы старения”. – Харьков: ХНУ ім.В.Н.Каразіна, 2004. – С.45.

94. Григорова Н.В. Стан В-інсулоцитів і клітин Панета мишей при голодуванні, введенні глюкози та алоксану / Н.В.Григорова // Вісн. Зап.нац.ун-ту: Зб. наук. праць. Біол. науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2009. – №2. - С.81-85.
95. Григорова Н.В. Стан гранулоцитів крові та панкреатичних острівців тварин при голодуванні, введенні глюкози та алоксану / Н.В. Григорова, М.А. Псьол // Вісн. Зап. нац. ун-ту: Зб.наук. праць. Біол. науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2011. – № 2. – С.68-74.
96. Григорова Н.В. Стан панкреатичних острівців тварин при сполученому впливі гіпоксії та хлориду алюмінію / Н.В.Григорова, М.А.Кузьміна, М.В.Осадча // Materialy IX Mezin.ved.-prakt. konf. «Vedecky prumyst evropskeho kontinentu - 2013». D.28. - Praha: Publishing House "Education and science", s.z.o, 2013.– S.55-57.
97. Губергриц Н.Б. Экзо – и эндокринная функции поджелудочной железы: один шаг от дуэта до дуэли / Н.Б.Губергриц, Н.В.Беляева // Суч. гастроентер. – 2006. – Т.30, № 4. – С.18-30.
98. Гуревич К.Г. Нарушение обмена микроэлементов / К.Г.Гуревич // Вопр. биол., мед.и фарм. химии. – 2002. – № 2. – С.7-14.
99. Гуревич Л.Е. Роль стволовых и полипотентных клеток в дифференцировке и неопластической трансформации клеток поджелудочной железы / Л.Е.Гуревич, И.А.Казанцева, Е.В.Бородатая // Серия биол. – 2001. – № 6. – С.753-760.
100. Гутаревич Г.О. Участь мікроелементів у регуляції вуглеводного обміну людини / Г.О.Гутаревич, С.О.Щербак // Ендокринологія. – 2002. – Т.7, №1. – С.133.
101. Дедов М.И. Эндокринология / Дедов М.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. – М.: Медицина, 2000. – 632 с.
102. Диабет / Под ред. Р. Уильямса. – М.: Медицина, 1964. – 602 с.
103. Динамика β- и α-клеточных популяций поджелудочной железы и содержания глюкозы в крови крыс при аллоксановом диабете / Г.Н.Алеева,

А.П.Киясов, М.М. Минебаев [и др.] // Бюл. эксперим.биол. и мед. – 2002. – Т.133, №2. – С.151-153.

104. Діабетогенна активність дитизону у тварин різних видів / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, Є.Ю. Гороховський [та ін.] // Вісн. Зап. нац. ун-ту: Зб. наук. праць. Біол. науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2009. – С.85-89.

105. Епілептиформні судоми і зміни вмісту цинку в гіпокампі та панкреатичних острівцях при введенні конвульсанту стресованим мишам / О.М. Кучковський, Ю.В. Єщенко, Н.В. Григорова [та ін.] // Вісн. Зап. держ. ун-ту: Зб. наук. статей. Фізико-мат. науки. Біол. науки.– Запоріжжя: ЗДУ, 2004. – №2. – С.174-176.

106. Ефимов А.С. Аутоиммунные аспекты инсулинзависимого сахарного диабета. Гуморальный иммунитет / А.С. Ефимов, В.В. Полторак // Пробл. эндокрин. – 1987. – Т.33, № 6. – С.80-83.

107. Ещенко В.А. Блокирование цинка как возможная причина клеточной альтерации / В.А.Ещенко // Арх. патологии.–1977.– Т.39,№9. – С.55-61.

108. Ещенко В.А. Гистохимическое исследование цинка / В.А. Ещенко // Цитология. – 1978. – Т.20, №8. – С.927-933.

109. Ещенко В.А. Гистохимическое определение цинка при помощи дитизона и 8-(аренсульфониламино)-хинолинов (8 АСАХ) / В.А. Ещенко // Материалы к юбилейн.конф., посвящ. 50-летию Советск. здравоохр. – Кемерово, 1968. – С.24-26.

110. Ещенко В.А. Экспериментальное изучения ацидотропного действия хелантов на инсулоциты / В.А. Ещенко // Пат. физиол. – 1990. – № 6. – С.42-44.

111. Єщенко Ю.В. Гіпофункція інсулярного апарату при цитотоксичній дії дитизону та ртуті / Ю.В. Єщенко, Н.В. Григорова, В.Д. Бовт // Пит. біоінд. та екол. – 2002. – Вип.7, №2-3. – С.237-241.

112. Єщенко Ю.В. Зміни глікемії, вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях у мишей при дії екстремальних факторів / Ю.В. Єщенко, В.Д.Бовт, Н.В. Григорова // Фізіол. журнал. – 2002. – Т.48, №2. – С.107.

113. Загоруйко Г.С. Динаміка ультраструктури острівцевого апарату підшлункової залози NOD мишей при аутоімунному цукровому діабеті і введенні тималіна / Г.С. Загоруйко, Г.А. Єрошенко // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2002. – № 9-10. – С.55-59.

114. Зайчик А.Ш. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения) / А.Ш.Зайчик, Л.П.Чурилов. - [3-е изд., доп. и испр.]. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2007. – 768 с.

115. Зефиров А.Л. Чувствительность внутриклеточных кальцийсвязываю-щих сайтов экзо- и эндоцитоза синаптических везикул к ионам Sr, Ba и Mg / А.Л.Зефиров, П.Н. Григорьев // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2009. – Т.95, №3. – С.262-272.

116. Зміни вмісту цинку в крові та клітинах різних органів при стресових впливах / Т.В. Берегова, Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко [та ін.] // Эксперим. та клін. фізіол. і біохім. – 2007. – Т.53, № 6. – С.29-33.

117. Зміни вмісту цинку та інсуліну у панкреатичних клітинах В при дії різних факторів / Ю.В. Єщенко, Н.В. Григорова, В.Д. Бовт [та ін.] // Тези доп. Всеукр. наук. конф., присв. 160-річчю кафедри фізіології людини і тварин Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. – К.: Український фітосоціологічний центр, 2002. – С. 45.

118. Зміни вмісту цинку та секреторного матеріалу в клітинах Панета й панкреатичних острівців під впливом різних факторів / Н.В.Григорова, Ю.В.Єщенко, В.Д.Бовт [та ін.] // Матеріали VIII Міжн. наук.-практ. конф. „Наука і освіта’ 2005”. Т.11. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2005. – С.15-18.

119. Зміни глікемії, вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних острівцях у мишей при дії екстремальних факторів / Ю.В.Ещенко, В.Д.Бовт, Н.В.Григорова // Фізіол. журнал. – 2002. – Т.48, № 2. – С.107.

120. Зорин С.Н. Экспериментальная характеристика органических комплексов эссенциальных микроэлементов (цинка и селена) / С.Н. Зорин // Микроэлем. в мед. – 2008. – Т.9, № 1-2. – С.16-17.

121. Исследование ряда 8-(аренсульфониламино)-хинолинов как реагентов для люминесцентного определения цинка и кадмия / Г.В. Серебрякова, И.А.Красавин, Е.А. Божевольнов [и др.] // Хим. реактивы и препараты. – 1964. – Вып.36. – С.97-108.
122. Камышный А.М. Особенности экспрессии белка Р53 в тимусе у крыс с экспериментальным сахарным диабетом / А. М. Камышный // Морфология. – 2009. – Т.3, №1. – С.38-43.
123. Карпачев В.В. Инсулин и инсулинотерапия / В.В. Карпачев. – К.: РИА «Триумф», 2001. – 454 с.
124. Катеренчук В.І. Цукровий діабет типу 2. Діагностика та лікування в стадії прediабету / В.І. Катеренчук // Междун. эндокрин. журнал. – 2007. - №2. – С.52-56.
125. Кендыш И.Н. Роль инсулина в регуляции вуглеводного обмела / И.Н.Кендыш // Усп. физиол. наук. – 1986. – Т.17, №1. – С.36-54.
126. Клінічна ендокринологія в схемах та таблицях / [Швед М.І., Пасечко Н.В., Мартинюк Л.П. та ін.]. – Тернопіль: ТДМУ, 2006. – 344 с.
127. Клітинний метаболізм цинку у гостро та хронічно стресованих мишей / Н.В.Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] // Матеріали ІІ Міжн. наук.-практ. конф. „Науковий потенціал світу – 2005”. Т.1. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2005. – С.24-26.
128. Колесник Ю.М. Нейроэндокринные и иммунные механизмы развития сахарного диабета / Ю.М.Колесник, А.В.Абрамов // Патологія. – 2005. – Т.2, №3. – С.20-23.
129. Колесник Ю.М. Панкреатические островки: некоторые аспекты морфологии, физиологии и процессов деструкции при сахарном диабете типа 1 / Ю.М. Колесник, М.А. Орловский // Пробл. эндокрин. – 2004. – Т.50, №2. – С.3-10.
130. Колесник Ю.М. Пошук шляхів корекції дисфункції тимуса у щурів з експериментальним цукровим діабетом / Ю.М. Колесник, О.М. Камишний, А.В. Абрамов // Фізіол. журнал. – 2008. – Т.54,№3 – С.28-35.

131. Колесник Ю.М. Характеристика процесів диференціювання лімфоцитів у тимусі в щурів з експериментальним цукровим діабетом // Ю.М.Колесник, А.В. Абрамов, О.М. Камишний // Матеріали VII асоц. ендокрин. України. – К., 2007. – С.115.

132. Координационные соединения металлов в медицине / [Е.Е. Крисс, И.И.Волченскова, А.С. Григорьева и др.]. – Киев: Наук.думка, 1986. – 216 с.

133. Корекція дефіциту цинку в клітинах при фізичному навантаженні / Єщенко Ю.В., Н.В. Григорова, Бовт В.Д. [та ін.] // Збірник наук. праць Всеукр. наук.-практ. конф. «Інноваційні технології оздоровчої спрямованості в процесі фізичного виховання студентської молоді». – Бердянськ: БДПУ, 2007. – С.73-82.

134. Коротько Г.Ф. Секреция поджелудочной железы / Г.Ф. Коротько. – Краснодар: Изд-во Куб. мед.ун-та, 2005. – 312 с.

135. Косышна А.В. Новое в патогенезе ожирения: адипокины – гормоны жировой ткани / А.В. Косышна, О.В. Васюкова // Пробл. эндокрин. – 2009. – Т.55, №1. – С.44-49.

136. Левитская З.И. Регуляторные механизмы секреции инсулина из В-клетки / З.И. Левитская, М.И. Балаболкин // Вопр. мед. хим. – 1983. – Т.29. – С.2-7.

137. Логинова З.В. Роль нервного фактора в механизме действия соматотропина и окситоцина на секреторную функцию печени, поджелудочной и кишечных желез / З.В. Логинова // Сб. науч. трудов Моск. гос. откр. пед. ун-та. – 2003. – №3. – С.116-119.

138. Малиновская Т.Н. Особенности иммунофенотипа лимфоцитов крови у детей, больных сахарным диабетом 1 типа, в зависимости от длительности заболевания и уровня С-пептида / Т.Н. Малиновская, К.П. Зак // Доп. НАН України. – 2002. – № 2. – С.192-195.

139. Мельникова О.В. Молекулярные основы сахарного диабета / О.В. Мельникова // Вест. пробл. и мед. – 1999. - № 7. – С. 68-73.

140. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология) / [Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С.] – М.: Медицина, 1991. – 496 с.

141. Минченко А.Г. Молекулярные механизмы действия инсулина на клетки: множественность пострецепторных путей / А.Г. Минченко // Усп. совр. биол. – 1988. – Т.106, Вып.3, № 6. – С. 426-439.

142. Миргородська К.П. Вплив фізичного навантаження на вміст цинку та секреторного матеріалу в клітинах Панета та В-інсулоцитах старих мишей / К.П.Миргородська, Н.В. Григорова // Наук. вісн. Ужг. ун-ту. Серія: Біологія. – 2008. – Вип. 22. – С.114-117.

143. Моделі імунної форми цукрового діабету різної тяжкості / С.Ф. Гараган, Я.І. Томашевский, В.К. Гусак [та ін.] // Експер. та клін.фізіол. і біохім. – 2002. – №3. – С.72-74.

144. Моделювання дитизоном недостатності інсулярного апарату / Н.В. Григорова, Є.Ю. Гороховський, А.К. Карпов [та ін.] // Збірка матеріалів ІІ Міжн. конф.“Сучасні проблеми біології, екології та хімії”. - Запоріжжя: ЗНУ, 2009. - С.117.

145. Молекулярные и генетические исследования роли гормонов, рецепторов и ферментов в регуляции физиологических функцій человека / Ю.А. Панков, М.К. Чехрапова, С.К. Карпова [и др.] // Вест. Рос. АМН. – 2005. – № 9. – С.6-13.

146. Мохарт Т.В. Апоптоз – роль в развитии сахарного диабета типа 1 / Т.В.Мохарт, С.Б. Мельнов, В.А. Горанов // Пробл. эндокрин. – 2000. – № 2. – С. 8-14.

147. Нейро-иммунноендокринные механизмы регуляции эндокринной функции панкреатических островков / Ю.М. Колесник, А.В. Абрамов, О.В. Ганчева [и др] // Загал.патол. і клін. патофізіол. – 2010. – Т.5, №3. – С.16-20.

148. Нетрадиційні методи діагностики і відновлення здоров'я людей, хворих на діабет / В.Ю. Задорожня, Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко [та ін.] // Збірка матер.

ІІ Міжн. конф. “Сучасні проблеми біології, екології та хімії”. – Запоріжжя: ЗНУ, 2009. – С.120.

149. Нещерет О.П. Інсулін і ендотелійзалежні механізми регуляції коронарного кровообігу / О.П. Нещерет // Фізіологічний журнал. – 2003. – Т.49, № 4. – С.48-55.

150. Нещерет О.П. Модуляція інсуліном адренергічних і холінергічних механізмів регуляції кровопостачання та функції серця / О.П. Нещерет, І.В. Шепеленко, А.І. Хомазюк // Журн. АМН України. – 2002. – Т.8, №4. – С.770-780.

151. Носиков В.В. Молекулярная генетика сахарного диабета типа 1: достижения и перспективы / В.В. Носиков, Ю.А. Серегин // Ліки України. – 2010. – Т.137, №1. – С.42-51.

152. Определение цинка и магния в клетках у мышей, получивших конвульсант после физической нагрузки и иммобилизации / Н.В. Григорова, О.М. Кучковський, Ю.В. Єщенко [и др.] // Materialy II Miedz. nauk.-prakt. konf. “Wyksztafcenie i nayka bez granic’2005” T.2.– Przemysl – Praha: Nauka i Studia – Publishing house Education and Science, 2005. – S.41-43.

153. Определение цинка и меди в клетках поджелудочной железы стрессированных мышей / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [и др.] // Природ. альманах. Серія: Біол. науки. – 2006. – Вип.8. – С.27-34.

154. Орловский М.А. Влияние многократных введений холецистокинина 26-33 на состояние α- и β-клеток островков Лангерганса в норме и при экспериментальном сахарном диабете 1 типа / М.А. Орловский, Ю.М.Колесник, А.В. Абрамов // Пробл.эндокрин.–2004. – Т.50, №3. – С.37-41.

155. Орловский О.М. Загибель нейронів гіпокампу при стрептозоциновому цукровому діабеті / О.М. Орловский, Г.Г. Скибо // Вісн. наук. досліджень. – 2006. – Т.44, № 3. – С.57-62.

156. Пальцев М.А. Руководство по нейроиммуноэндокринологии / М.А.Пальцев, И.М. Кветной. – М.: Триада М, 2006. – 382 с.

157. Панков Ю.А. «Переплетение» молекулярных механизмов действия различных гормонов и их роль в патогенезе ожирения, инсулинрезистентности

и сахарного диабета / Ю.А. Панков, М.К. Чехранова, С.К.Карпова // Вест. Рос. АМН. – 2008. – № 3. – С.28-42.

158. Панков Ю.А. Белковые гормоны, рецепторы и другие белки в механизмах гормональной регуляции / Ю.А. Панков // Биомед. химия. – 2004. – Т.50, №2. – С.122-135.

159. Панков Ю.А. Новый гормон адипонектин. Его роль в патогенезе сахарного диабета / Ю.А. Панков // Вест. Рос. АМН. – 2006. – № 9-10. – С.99-104.

160. Панченко Л.Ф. Клиническая биохимия микроэлементов / Панченко Л.Ф., Маев И.В., Гуревич К.Г. – М.:ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2004. – 363 с.

161. Пат. 23158 Україна, МПК G01№1/28. Спосіб визначення міді в гранулоцитах крові / Григорова Н.В., Єщенко Ю.В., Бовт В.Д., Єщенко В.А.; заявник і патентоволодар Державний вищий навчальний заклад „Запорізький національний університет” Міністерства освіти і науки України. - №u200613382; заявл.18.12.2006; опубл.10.05.2007, Бюл. № 6.

162. Пат. 27576 Україна, МПК G 01 №33/48. Спосіб визначення магнію в гранулоцитах крові / Григорова Н.В., Єщенко Ю.В., Бовт В.Д., Єщенко В.А.; заявник і патентоволодар Державний вищий навчальний заклад „Запорізький національний університет” Міністерства освіти і науки України. - №u200706133; заявл.04.06.2006; опубл.12.11.2007, Бюл.№ 11.

163. Пат. 30460 Україна, МПК G 01 №1/28. Спосіб визначення функціонального стану нейтрофілів крові / Григорова Н. В., Єщенко Ю. В., Бовт В.Д., Єщенко В.А.; заявник і патентоволодар Державний вищий навчальний заклад „Запорізький національний університет” Міністерства освіти і науки України. - №u200712546; заявл. 12.11.2007; опубл. 25.02.2008, Бюл.№ 4.

164. Пат. 30461 Україна, МПК G 01 №1/28. Спосіб визначення цинку в гранулоцитах крові / Григорова Н.В., Єщенко Ю.В., Бовт В.Д., Єщенко В.А.; заявник і патентоволодар Державний вищий навчальний заклад „Запорізький національний університет” Міністерства освіти і науки України. - №u200712551; заявл.12.11.2007; опубл. 25.02.2008, Бюл. № 4.

165. Пат. 17837 Україна, МПК G01№13/00. Спосіб визначення інсулінпродукуючих клітин / Григорова Н.В., Єщенко Ю.В., Бовт В.Д., Єщенко В.А.; заявник і патентоволодар Державний вищий навчальний заклад „Запорізький національний університет" Міністерства освіти і науки України. - №u200604222; заявл.17.04.2006; опубл.16.10.2006, Бюл.№10.

166. Персистенция тимуса у детей с сахарным диабетом 1-го типа по данным ультразвукового исследования / О.Б. Сиротина, Е.А. Зубарева, С.Р. Нагорная [и др.] // Ультразвук.и функ. диагностика. – 2011. – № 2. – С.110-114.

167. Писарева С.В. Лептин – нейроиммуноэндокринный регулятор обмена вещества / С.В. Писарева, Ю.И. Строев, Л.П. Чурилов // Акт. пробл. диагн., леч. и профил. заболев. – СПб.: ЭЛБИ, 2004. – С.112-120.

168. Питерс-Хармел Э. Сахарный диабет / Э. Питерс-Хармел, Р. Матур. – Москва, 2008. – 494 с.

169. Попова В.В. Открытие аутоантител к островкам Лангерганса поджелудочной железы – выдающееся достижение в области предсказания возникновения и диагностики типа сахарного диабета в клинике / В.В.Попова, К.П.Зак // Лік. справа. – 2006. – Т.1088, № 7. – С. 3-12.

170. Порівняльні дослідження вмісту цукру та кортизолу в крові, цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах В у кролів при голодуванні, введенні глюкози та алоксану / Н.В. Григорова // Материали за III Межд. научна практ. конф. «Наука и образование без граница – 2007». Т.13. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2007. – С. 26-27.

171. Порівняльні дослідження міді в гранулоцитах крові та цинку в В-інсулоцитах / Н.В. Григорова // Материали за IV Межд. науч. практ. конф. «Динамика исследвания – 2008». Т.22. Биологии. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2008. – С.71-72.

172. Порівняльні дослідження панкреатичних острівців у мишей, щурів і кролів при різному функціональному стані інсулярного апарату / Н.В.Григорова // Materialy czwart. Miedz. nauk.-prakt. konf. "Nauka: teoria i practyka – 2007". T.4. – Przemysl: Nauka i Studia, 2007. – S.59-61.

173. Порівняльні дослідження цинку в гіпокампі, панкреатичних острівцях та простаті при дії екстремальних факторів / Н.В. Григорова // Материали за V Межд. науч. практ. конф. «Ставайки съвременна наука – 2007». Т.8. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2007. – С.49-50.

174. Порівняльні дослідження цинку в гранулоцитах крові, панкреатичних острівців і тонкої кишки / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] // Вісн. Зап. нац. уні-ту: Зб. наук. статей. Фізико-мат. науки. Біол. науки. – Запоріжжя: ЗНУ, 2005. – №1. – С.79-82.

175. Пузырев А.А. Дифференцировка эндокриноцитов поджелудочной железы человека в плодный период развития / А.А. Пузырев, В.Ф. Иванова // Морфология. – 2002. – Т.123, № 1. – С.65-68.

176. Регенерационная клеточная терапия сахарного диабета 1-го типа и его осложнений / А.Р. Закирьянов, Н.А. Онищенко, Е.Д. Клименко [и др.] // Вест. Рос. АМН. – 2008. – № 3. – С.42-51.

177. Роль антиоксидантных ферментов и антиоксиданта пробукола в антирадикальной защите В-клеток поджелудочной железы при аллоксановом диабете / В.З. Ланкин, В.И. Корчин, Г.Г. Коновалова [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – Т.137, №1. – С.27-30.

178. Роль иммунной системы в развитии сахарного диабета / Э.С. Севергина, Т.Г. Дюжева, Л.Е. Разгулина [и др.] // Арх. патол. – 1992. – Т.52, №12. – С.18-23.

179. Роль цитокинов в регуляции иммунного ответа и механизмы гибели β-клеток при различных вариантах течения сахарного диабета типа 1 / И.И.Дедов, Т.В. Никонова, О.М. Смирнова [и др.] // Пробл. эндокрин. – 2005. – Т.51, №3. – С.3-17.

180. Руднєв І.М. Стан ендокринної функції підшлункової залози при дії малих рівнів іонізуючого опромінення та стресу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 03.00.01. / І.М. Руднєв. – К., 2002. – 17 с.

181. Селективні цитохімічні реакції на цинк та магній в панкреатичних клітинах В мишей і щурів / Н.В. Григорова // Materialy IV Mezin. ved.-prakt. konf.

“Evropska veda XXI stoleti - 2008”. D.13.- Praha: Publishing House “Education and science” s.r.o., 2008.– S. 28-30.

182. Сибирная Н.А. Некоторые показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных сахарным диабетом 1 типа / Н.А. Сибирная, М.Л.Барская, Л.Е. Лаповец // Лаб. диагност. – 2003. – №4. – С.47-50.

183. Сибирная Н.А. Функциональное состояние нейтрофилов при сахарном диабете 1 типа / Н.А. Сибирная, М.Л. Барская // Лаб. диагност. – 2003. – №2. – С.33-37.

184. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / Скальный А.В. – М.: Оникс - 21 век: Мир, 2004. – 216 с.

185. Снижение функциональной активности G-белков, компонентов гормоночувствительной аденилатциклазной сигнальной системы при экспериментальном диабете 2-типа / А.О. Шпаков, Л.А. Кузнецова, С.А.Плеснева [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2006. – Т.142, №12. – С.641-645.

186. Содержание цинка, магния, инсулина в панкреатических клетках В у мышей при физической нагрузке и иммобилизации / Н.В. Григорова // Природн. альманах. Серія: Біологічні науки. – 2005. – Вип.6. – С.55-64.

187. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии/ В.В.Соколовский. – Л.: Медицина, 1971. – 172 с.

188. Сорокіна І.В. Вплив цукрового діабету 1 типу матері на морфологічні особливості мікроциркуляторного русла тимуса плодів / І.В. Сорокіна, Л.С. Купріянова // Пробл. ендокрин. патол. – 2002. – №2. – С.54-57.

189. Состояние ендокринного апарата поджелудочной железы у крысы в раннем постнатальном периоде. Влияние кормление и числа плодов в помете / И.С. Комолов, Н.В. Садовникова, В.П. Федотов [и др.] // Пробл. эндокрин. – 1984. – Т.30, № 3. – С.57-60.

190. Состояние панкреатических отровков золотистых и китайских хомячков при экспериментаном сахарном диабете / М.А. Псел, А.К. Карпов, Є.Ю.Гороховский [и др.] // Материалы межд. студ. науч. конф. с уч. мол. учен.

„Клинические и теоретические аспекты современной медицины”. – М.: РУДН, 2010. – С.65-66.

191. Спасов А.А. Магний в медицинской практике / Спасов А.А. – Волгоград, 2000. – 237 с.

192. Спосіб оцінки вмісту цинку в панкреатичних острівцях / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] // Materialy II Miedz. nauk.-prakt. konf. “Perspektywiczne opracowania nayki i techniki – 2007”. Т.12. – Przemysl: Nauka i studia, 2007. – S.82-84.

193. Стан гранулоцитів крові при діабеті різного ступеня тяжкості / Н.В.Григорова // Матеріали Міжн. конф. «Біологія XXI століття: теорія, практика, викладання». – К.: Фітосоціоцентр, 2007. – С.306-307.

194. Стан інсулінпродукуючих клітин у щурів різного віку при одноразовому та багаторазовому фізичному навантаженні/Н.В.Григорова, К.П.Миргородська, Ю.В. Єщенко [та ін.] // Материалы II Межд. науч.-практ. конф. «Ключевые аспекты научной деятельности – 2007». – Т.4. – Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – С.11-13.

195. Стан інсулярного апарату в живих тест-об’єктів при дії шкідливих промислових речовин / Н.В. Григорова, В.Ю. Задорожня, О.В. Важненко [та ін.] // Акт. пробл. дослід. довкілля: Зб. наук. праць - Суми: СумДПУ імені А.С.Макаренка, 2004. – С.153-156.

196. Стан панкреатичних острівців мишей і щурів при введенні сульфату міді тваринам, отримавшим алоксан / Н.В. Григорова // Пит. біоінд. та екол. – 2008. – Вип.13, № 2. – С.163-169.

197. Структурно-функциональные особенности инсулина и механизма его действия / В.Н. Прозоровский, П.Г. Лохов, Д.Л. Маслов [и др.] // Биомед. химия. – 2003. – Т.49, №1. – С.46-62.

198. Титов В.Н. Инсулин – гуморальный фактор обеспечения энергией биологической функции локомоции / В.Н. Титов // Вест. Рос. АМН. – 2005. – №2. – С.3-8.

199. Титов В.Н. Фундаментальная медицина: функциональная роль инсулина как фактора обеспечения энергией биологической функции локомоции (обзор литературы) / В.Н. Титов // Клин. лаб. диагност. – 2005. - №2. – С.3-7.

200. Торопцев И.В. Гистохимическое выявление цинка с помощью люминесцентных веществ ряда 8-(аренсульфониламино)–хинолинов / И.В.Торопцев, В.А. Ещенко // Цитология. – 1970. – Т.12, №11. – С.1481-1484.

201. Торопцев И.В. Инкреторная функция поджелудочной железы / И.В.Торопцев, В.А. Ещенко – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1981. – 137 с.

202. Торопцев И.В. Экспериментальный дитизоновый диабет / И.В. Торопцев, В.А. Ещенко. – Томск: Изд-во Томского университета, 1975. – 126 с.

203. Транскраниальная электростимуляция нормализует уровень сахара крови при аллоксановом диабете у крыс / В.П. Лебедев, С.В. Биличенко, А.В. Малыгин [и др.] // Рос.физиол.журнал. – 2004. – Т.90, №11. – С.1426-1429.

204. Тржецинский С.Д. Влияние курсового введения окситоцина на гормонально-метаболический статус у здоровых и диабетических животных / С.Д.Тржецинский // Патологія. – 2008. – Т.5, №3. – С.98-103.

205. Тронько М.Д. Сучасний стан та перспективи розвитку фундаментальної і клінічної ендокринології в Україні / М.Д. Тронько // Ендокринол. – 2007. – Т.12, №2. – С.174-191.

206. Федотов В.П. Механизмы регуляции секреции инсулина / В.П. Федотов, Н.В. Садовникова // Вест.АМН СССР. – 1989. – №5. – С.28-35.

207. Функціональні взаємозв’язки інсулярного апарату з гіпокампом / Т.В.Берегова, Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко [та ін.] // Доповіді НАНУ: Математика. Природознавство. Технічні науки. – 2008. - № 8. – С.149-152.

208. Хейхоу Ф. Гематологическая цитохимия / Ф.Хейхоу, Д.Кваглино – М.: Медицина, 1983. – 320 с.

209. Хімічні елементи і речовини в організмі людини у нормі та в патології / [Чмиленко Ф.О., Чмиленко Т.С., Сапа Ю.С., Саєвич О.В.]. – Д.: Вив-во Дніпропетр. ун-ту, 2006. – 216 с.

210. Хомазюк А.И. Роль инсулина в регуляции кровообращения и патогенезе болезней сердечно-сосудистой системы / А.И. Хомазюк // Укр. кардіол. журнал. – 1999. – № 5. – С.62-70.

211. Христич Т.М. Роль поджелудочной железы (нейроэндокринной системы) в патогенезе метаболического синдрома / Т.М. Христич, Т.Б.Кендзерская, З.А.Мельничук // Суч. гастроендокрин. – 2004. – Т.15, №1. – С.10-16.

212. Чекман И.С. Магний в медицине / И.С. Чекман, Н.А. Горчакова, С.А.Николай. – Кишинев: Штиинца, 1992. – 100 с.

213. Чимитдоржиев Ж.Ж. Влияние пептидного морфогена гидры и его аналогов на систему «гиппокамп-гипоталамус-тимус»: докательства интегрального ответа / Ж.Ж. Чимитдоржиев, С.Г. Выборов, В.И. Цыганков // Сибир. мед. журн. – 2004. – №2. – С.50-52.

214. Шварц В. Жировая ткань как эндокринный орган / В. Шварц // Пробл. эндокрин. – 2009. – Т.55, №1. – С.38-44.

215. Швыркова Н.А. «Мозговой» инсулин и центральная нервная система / Н.А.Швыркова, Е.А.Александрова, И.Ю.Зарайская // Проблемы эндокринологии. – 1991. – Т.37, №1. – С.55-63.

216. Шевчук И.А. Развитие поджелудочной железы человека в эмбриональном периоде / И.А.Шевчук, А.И.Мардарь // Труды 2 Мед. ун-та. – 1981. – Т.164, Вып.2. – С.157-159.

217. Шкаволяк А.В. Na^+/Li^+ - протитранспорт в еритроцитах та у В-клітинах острівців Лангерганса лабораторного щура / А.В. Шкаволяк // Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №2. – С.20.

218. Шкаволяк А.В. Іонні механізми регуляції деяких функцій бета–клітин підшлункової залози / А.В. Шкаволяк, Л.П. Павлюст // Эксперим. та клініч. фізіол. і біохім. – 2004. – №10. – С.20-27.

219. Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии / [Баранов В.Г., Соколоверова И.М., Гаспарян Э.Г. и др.] – Л.: Наука, 1983. – 240 с.

220. Adiponectin – a key adipokine in the metabolic syndrome / J.P. Whitehead, A.A. Richards, I.J. Hickman [et al.] // Diabetes, Obesity and Metabolism. – 2005. - №3. – P.1-17.

221. Ahren B. Autonomic regulation of islet hormone secretion – Implications for health and disease / B. Ahren // Diabetologia. – 2000. – Vol.43. – P.393-410.

222. Ahren B. Leptin inhibits insulin secretion induced by cellular cAMP in INS-1 / B. Ahren, P.J. Havel // Diabetes. – 1999. – Vol.48. – Suppl.1, №15. – P.A4.

223. Amylin: History and overview / B. Ludvik, A. Kautzky-Willer, R. Prades [et al.] // Diabetic Med. – 1997. – Vol.14. – S.9 – S.13.

224. Anti-hyperglycemic activity of zinc plus cyclo (his-pro) in genetically diabetic Goto-kakizaki and aged rats / M.K. Song, I.K. Hwang, M.J. Rosenthal [et al.] // Exp. Biol. Med. Maywood. – 2003. – Vol.228, №11. – P.1338-1345.

225. Araki E. Impuct of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic beta-cells and diabetes mellitus / E. Araki, S. Oyadomari, M. Mori // Exp. Biol. Med.(Maywood). – 2003. – Vol.228, №10. – P.1213-1217.

226. Association between islets of Langerhans and pancreatic ductal system in adult rat. Were endocrine and exocrine meet together / E. Bertelli, M. Regoli, D. Orazioli [et al.] // Diabetologia. – 2001. – Vol.44, №5. – P.575-584.

227. Aurex J. Leptin: cutting the fat off the bone / J. Aurex, T. Cock // The Lancet. – 2003. – Vol.362. – P.1572-1574.

228. Autometallography allows ultrastructural monitoring of zinc in the endocrine pancreas / L. H. Kristiansen, J. Rungby, L. G. Sondergaard [et al.] // Histochem.Cell Biol. – 2001. – Vol.115. – P.125-129.

229. Ballian N. Islet Vasculature as a Regulator of Endocrine Pancreas Function / N.Ballian, F.Brunicardi // World J. Surg. – 2007. – Vol.31. – P.705-714.

230. Barg S. Mechanisms of exocytosis in insulin – secreting B-cells and glucagon – secreting A-cells / S. Barg // Pharmacol. Toxicol. – 2003. – Vol.92, №1. – P.3-13.

231. Bataille D. Molecular mechanisms of insulin secretion / D. Bataille // Diabetes Metab. – 2002. – Vol.28, 6 suppl. – P.4S7-4S13.

232. Batista F. The who, how and where of antigen presentation to B cells / F.Batista, N. Harwood // Nat. Rev. Immunol. – 2009. – Vol.9. – P.15-27.

233. Best Leonard. Study of glucose-activated anion – selective channel in rat pancreatic β-cell / Leonard Best // – Eur. J. Physiol. – 2002. – Vol.445, №1. – P.97-104.

234. Bluestone J. A. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes / J. A. Bluestone, K. Herold, G. Eisenbarth // Nature. – 2010. – Vol.464, №7293. – P.1293-1300.

235. Bonnefont – Rousselot D. The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications / D. Bonnefont – Rousselot // Treat Endocrinol. – 2004. – Vol.3, №1. – P.41-52.

236. Bonner-Weir S. Are there pancreatic progenitor cells from wich new islets form after birth / S. Bonner-Weir, A. Sharma // Nat. Clin. Prac. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol.2, №5. – P.240-241.

237. Bouwens L. Islet neogenesis in the pancreas / L. Bouwens, G. Kloppel // Virchows Archiv. – 1996. – Vol.427. – P.553-560.

238. Bouwens L. Regulation of pancreatic beta-cell mass / L.Bouwens, I.Rooman // Physiol. Rev. – 2005. – Vol.85, №4. – P.1255-1270.

239. Burris R.E. Pancreatic innervation in mouse development and B-cell regeneration / R. E. Burris, M. Hebrok // Neuroscience. – 2007. – Vol.12, №150. – P.592-602.

240. Buschard K. What causes type 1 diabetes? Lessons from animal models / K.Buschard // APMIS. – 2011. – Vol.119. – P.1-9.

241. Capito K. Mechanism of fat-induced attenuation of glucose-induced insulin secretion from mouse pancreatic islets / K.Capito, R.Reinmark, I.Thams // Acta. Diabetol. – 1999. – Vol.36, №3. – P.119-125.

242. Carpentier A. Effect of increased plasma non-esterified fatty asids (NEFAs) on arginine-stimulated insulin secretion in obese humans / A.Carpentier, A.Giacca, G.F.Lewis // Diabetologia. – 2001. – Vol.44, №11. – P.1989-1997.

243. Cell physiology of magnesium / F.I.Wolf, A.Torsello, S.Fasanella [et al.] // Mol. Aspects Med. – 2003. – Vol. 24, № 1-3. – P.11-26.

244. Cellular Interaction Between Mouse Pancreatic alpha-cell and beta-cell Lines: Possible Contact Dependent Inhibition of insulin secretion / K.Hamaguchi, N.Utsunomiya, R.Takaki [et al.] // Exp. Biol. – 2003. – Vol.228. – P.1227-1233.

245. Chakraborty K. The role of insulin as an antithrombotic humoral factor / K.Chakraborty, A.K.Sinha // Biolssays. – 2004. – Vol.26, №1. – P.91-98.

246. Chen L.B. Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells / L.B.Chen, X.B.Jiang, L.Yang // Wid. J. Gastroenterol. – 2004. – Vol.10, №20. – P.3016-3020.

247. Comparative effect of physiological levels of leptin and insulin on cyclic, AMP-induced stimulation of hepatic glucogen breakdown / M.Vardanega-Plicher, R.Curi, Souza M. Helenir [et al.] // Pol. J. Pharmacol. – 2003. – Vol.455, №4. – P.659-662.

248. Comparative investigations of zinc and cooper contents in mice pancreatic cells under various functional states of insular apparatus / N.V. Grigorova, J.V.Eschenko, V.D. Bovt // Матеріали II Міжн. наук.-практ. конф. „Сучасні наукові дослідження – 2006". Т.20. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. – С.68-69.

249. Comparative zinc investigations in the cells of pancreatic islets and prostata / N.V.Grigorova, J.V.Eschenko, V.D.Bovt [et al.] // Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції «Динаміка наукових досліджень - 2006». Т.6. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. – С.48-50.

250. Csorba T.R. Autoimmunity and the pathogenesis of type 1 diabetes / T.R.Csorba, A.W.Lyon, M.D.Hollenberg // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. – 2010. – Vol.47, №2. – P.51-71.

251. Cytochemical zinc investigation in submaxillary glands pancreas and intestine under various experimental influences / T.V.Beregova, N.V.Grigorova, J.V.Eschenko [et al.] // Abstract book 2nd Intern. conf. "Neural-humoral and cellular regulatory mechanisms of digestion processes".: K: KNU, 2005. – P.38.

252. Cytochemical zinc investigations / N.V. Grigorova, J.V. Eschenko, V.D.Bovt / Матеріали III Міжн. наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми сучасних наук: теорія та практика»–2006.–Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. – С.27-29.

253. Dahl U. Cadherins regulate aggregation of pancreatic beta-cells in vivo / U.Dahl, A. Sjodin, H. Semb // Development. – 1966. – Vol. 122. – P. 2895-2902.

254. Dandona P. The anti-inflammatory and potential anti-atherogenic effect of insulin a new paradigm / P.Dandona, A.Aljada, P.Mohanty // Diabetologia. – 2002. – Vol. 45. – P. 924-930.

255. De Haro-Hernandez R. Regenaration of beta-cells and neogenesis from small ducts or aclinar cells promote recovery of endocrine pancreatic function in alloxan-treated rats / R. De Haro-Hernandez, L. Cabrera-Munor, J.D.Mendez // Arch. Med. Res. – 2004. – Vol.35, № 2. – P.114-120.

256. De Valk H. W. Magnesium in diabetes mellitus / H.W. De Valk // Neth. J. Med. – 1999. – Vol.54. – P.139-146.

257. Deacon C.F. Glucagon-like peptide 1 (9-36) NH_2 niither affects insulin release nor antagonises the insulinotropic effect of GLP-1 (7-36) NH_2 / C.F.Deacon, T.E.Hughes, J.J. Holst // Diabetologia. – 1999. – Vol.42. – Suppl.1, №742. – P.A198.

258. Development of an automated protein-tyrosine phosphatase 1B inhibition assay and the screening of putative insulin-enhancing vanadium (IV) and zinc (II) complexes / A.P. Seale, L.A. de Jesus, S.Y. Kim [et al.] // Biotechnol. Lett. – 2005. – Vol.27, №4. – P.221-225.

259. Diabetes-induced changes in calcium homeostasis and the effects of calcium channel blockers in rat and mice nociceptive neurons / E.Kostyuk, N.Voitenko, J.Kruglikov [et al.] // Diabetologia. – 2001. – Vol.44, №10. – P.1302-1309.

260. Dietary fatty acids modify insulin secretion of rat pancreatic islet cells in vitro / F.J. Tinahones, A. Pareja, F.J. Soriquer [et al.] // J. Endocrinol. Invest. – 2002. – Vol.275, №5. – P.436-441.

261. Differentiation of mesenchymal stem cells to insulin-producing cells and their impact on type 1 diabetic rats / Z.Neshati, M.M.Matin, A.R.Bahrami [et al.] // J.Physiol.Biochem. – 2010. – Vol.66, №2. – P.181-187.

262. Differentiation of PDX1 gene-modified human umbilical cord mesenchymal stem cells into insulin-producing cells in vitro / D.He, J.Wang, Y.Gao [et al.] // Int. J. Mol. Med. – 2011. – Vol.28, №6. – P.1019-1024.

263. Doyle M.E. Pharmacological agents that directly modulate insulin secretion / M.E. Doyle, Y.M. Edan // Pharmacol. Rev. – 2003. – Vol.55, №1. – P.105-131.

264. Drucker D.J. Biologic action and therapeutic potential of the proglucagon-derives / D.J. Drucker // Nature Endocrinol. Metal. – 2005. – №1. – P.22-31.

265. Drucker D.J. Glucagon-like peptide-1 and the islet beta-cell: augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis / D.J. Drucker // Endocrinology. – 2003. - Vol.144, №12. – P.5145-5148.

266. Dual effect of nitric oxide on cytosolic Ca^{2+} concentration and insulin secretion in rat pancreatic beta-cell / S.Amani, Y.Kaneko, T.Ishikawa [et al.] // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2003. – Vol.284, №5. – P.1215-1222.

267. Dysregulation of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in diabetes: response to insulin and antioxidant therapies / R.K. Sindhu, Ja-Ryung Koo, C.K. Roberts // Clin. And Exp. Hypertens. – 2004. – Vol.26, №1. – P.43-53.

268. Edlund H. Factors controlling pancreatic cell differentiation and function / H.Edlund // Diabetologia. – 2001. – Vol.44, №9. – P.1071-1079.

269. Effect of long-term swimming exercise on zinc, magnesium and copper distribution in aged rats / O. Kuru, U.K. Sentilrk, F. Gundilz [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2003. – Vol.93, №1-3. – P.105-112.

270. Effect of oral magnesium supplementation on the lipid profile and blood glucose of patients with type 2 diabetes mellitus / J. Lal, K. Vasudev, A.K. Kela [et al.] // J. Assoc. Physicians India. – 2003. – Vol.51. – P.37-42.

271. Effect of streptozotocin on the ultrastucture of rat pancreatic islets / M.D.Mythili, R.Vyas, G.Akila [et al.] // Microsc. Res.Tech. – 2004. – Vol.63, №5. – P.274-281.

272. Efrat S. Regulation of insulin secretion: insights from engineered beta-cell lines / S. Efrat // Ann. N. J. Asad. Sci. – 2004. – Vol.1014. – P.88-96.

273. Eizirik D.L. Beta-cell apoptosis and defence mechanisms: lesions from type 1 diabetes / D.L.Eizirik, M.J.Darville // Diabetes. – 2001.–Vol.50, Suppl.1. – P.S64-S69.

274. Elemental composition of secretory granules in pancreatic islets of Langerhans / M.C. Foster, R.D. Leapman, M.X. Li [et al.] // Biophys. J. – 1993. – Vol.64. – P.525-532.

275. Expression of stem cell markers and transcription factors during the remodeling of the rat pancreas after duct ligation / K. Peters, R. Panienka, J. Li [et al.] // Virchows Arch. – 2005. – Vol.446, №1. – P.56-63.

276. Expression of the Growth Hormone / Insulin – Like Growth Factor Axis during Balb/c Thymus Ontogeny and Effects of Growth Hormone upon ex vivo T Cell Differentiation / H.Kermani, L.Goffinet, M.Mottet [et al.] // Neuroimmunomodul. – 2012. – Vol.19, №3. – P.137-147.

277. Fagak T.E. Streptozotocin-induced diabetes impairs Mg^{2+} homeostasis and uptake in rat liver cells / T.E. Fagak, C. Cefaratti, A. Romani // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol.286, №2. – E.184-193.

278. Finegood D. Dynamics of beta-cell mass in the growing rat pancreas Estimation with a simple mathematical model / D. Finegood, L. Scaglia, S. Bonner-weir // Diabetes. – 1995. – Vol.44. – P.249-256.

279. Gebre-Medhin S. Islet amyloid polypeptide in the islets of Langerhans: friend or foe? / S. Gebre-Medhin, C. Olofsson, H. Mudler // Diabetologia. – 2000. – Vol.43, №6. – P.687-695.

280. Gedulin B. Amylin inhibition of arginine-induced glucagon secretion: comparison with glucagon-like peptide-1(7-36)-amide (GLP-1) / B. Gedulin, C. Jodka, D.Green // Diabetologia. – 1996. – Vol.39. – №584. – A.154.

281. Georgia S. Beta-cell replication is the primary mechanism for maintaining post-natal beta-cell mass / S. Georgia, A. Bhushan // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol.114, №7. – P.963-968.

282. Ghrelin cells replase insulin-producing B-cells in two muse models of pancreas development / C.L.Prado, A.E.Pugh-Bernard, L.Elghazi [et al.] // PNAS. – 2004. – Vol.101, № 9. – P.2924-2929.

283. Glucagon – like peptide-1 receptor signaling modulates B cell apoptosis / J. Li, T.Hansotia, B.Yusta [et al.] // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol.278, №1. – P.471-478.

284. Glucagon-like peptide-1 promotes islet cell growth and inhibits apoptosis in Zucker diabetic rats / L.Farilla, H.Hui, C.Bertolotto [et al.] // Endocrinology. – 2002. – Vol.143, №11. – P.4397-4408.

285. Goldberg E.D. Diabetogenic activity of chelators in some mammalian species / E.D.Goldberg, V.A.Eshchenko, V.D.Bovt // Endocrinology. – 1990. – Vol.28, №2. – P.51-55.

286. Grigorova N.V. Influence of preliminary starvation and glucose injection on development of alloxan diabetes in golden hamsters / N.V.Grigorova, M.A.Psol // Materialy VI Miedz. nauk.-prakt. konf. «Strategiczne pytania swiatowej nauki - 2010». V.12. – Przemysl: Nauka I studia, 2010.– S.61-62.

287. Grigorova N.V. Investigation of functional connection between blood granulocytes and pancreatic cells B / N.V. Grigorova, M.A. Psol // Nauka I Studia – Przemysl: Nauka i Studia, 2011. – NR 10 (41). – S.9-15.

288. Grigorova N.V. Studies on functional connections between the hippocampus, B-insulocytes, thymus and epiphysis / N.V. Grigorova // Nauka I Studia. – 2012. – Vol. 22 (67). – P.54-58.

289. Grubbs R.D. Intracellular magnesium and magnesium buffering / R.D. Grubbs // Biometals. – 2002. – Vol.15, № 3. – P.251 – 259.

290. Guerrero-Romero F. Low serum magnesium levels and metabolic syndrome / F.Guerrero-Romero, M. Rodriguez-Moran // Acta Diabetol. – 2002. – Vol.39, №4. – P.209 - 213.

291. Haase H. Cellular and molecular Biology of metals / H. Haase, W. Maret // CRC Press. – 2010. – Vol.10, № 5. – P.181-212.

292. Hans C.P. Effect of magnesium supplementation on oxidative stress in alloxanic diabetic rats / C. P. Hans, D. P. Chaundhary, D. D. Bansal // Magnes Res. – 2003. – Vol.16, № 1. – P.13-19.

293. Havel P.J. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin / P. J. Havel // Curr. Opin. Lipidol. – 2002. – Vol. 13. – P. 51-59.

294. Henquin J.C. Cellular mechanism of insulin secretion / J.C. Henquin // Ann. Endocrinol. (Paris). – 2004. – Vol.65, №1. – P.8.

295. Herrath M. Animal models of human type 1 diabetes / M. Herrath, G.T. Nepom // Nat. Immunol. – 2009. – Vol.10. – P.129-132.

296. Histomorphological and guantative immunohistochemical changes in the rat pancreas during aging / F.L. Riccillo, M.J. Bracamonte, G.M. Console [et al.] // Biocell. – 2004. – Vol.28, № 2. – P.127-134.

297. Holst J.J. Potent enterogastrone action of the insulinotropic hormone, glucagon-like peptide-1 (GLP-1): Mechanisms of action / J.J.Holst, M.Wojdemann, W.Andre [et al.] // Diabetes. – 1999. – Vol.48. – Suppl.1, №92. – P.21.

298. Hotamisligi G.S. Inflammatory pathways and insulin action / G.S. Hotamisligi // Int. J. Obesity. – 2003. – Vol. 27, Suppl. 3. – P. 53-55.

299. Identification of insulin-producing cells derived from embryonic stem cells by zinc-chelating dithizone /A.Shiroi, M.Yoshikawa, U. Jokota [et al.] // Stem Cells. – 2002. – Vol.20, № 4. – P.284-292.

300. Importance of a thymus dysfunction in the pathophysiology of type 1 diabetes / V. Geenene, F. Brilot, C. Lonis [et al.] // Kev. Med. Liege. – 2005. – Vol.60, №5-6. – P.291-296.

301. Influence of starvation, glucose and alloxan injection on glycemia, content of zinc and magnesium in blood granulocytes / N.V. Grigorova, M.A. Psol // Materialy V Mezinarodni vedecko-prakticka konf. «Veda a vznik – 2009/2010». D.19. – Praha: Publishing Hause «Education and Science» s.r.o., 2009. – S.65-66.

302. Inhibitory mechanism of store-operated Ca^{2+} channels by zinc / A.Gore, A.Moran, M.Hershfinkel [et al.] // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol.279, №12. – P.11106-11111.

303. Innate immunity in type 1 diabetes / J. Diana, L. Gahzarian, J. Simoni [et al.] // Discov. Med. – 2011. – Vol.61. – P.513-520.

304. Insulin and glucose administration stimulates fos expression in neurons of the paraventricular nucleus that project to autonomic preganglionic structures / M.Carrasco, F.Portillo, P.J.Larsen [et al.]// J. Neuroendocrinol. – 2001. – Vol.13, № 4. – P.339-346.

305. Insulin production:from gene to granule / R.Regazzi, C.B.Verchere, P.A.Halban [et al.] // Diabetologia.–1997.– Vol.40.– Suppl.3. – P.33-B.38.

306. Insulin stimulates expression of the pyruvate kinase M gene in 3T3-L1 adipocytes / I. Asai, K. Tamada, T. Watanabe [et al.] // Biochem. – 2003. – Vol.67, №6. – P. 1272-1277.

307. Insulin suppresses ghrelin-induced calcium signaling in neuropeptide Y neurons of the hypothalamic arcuate nucleus / Y.Maejima, D.Kohno, Y.Iwasaki Bahrami [et al.] // Aging. – 2011. – №8. – P.830-837.

308. Intracellular Ca^{++}/Mg^{++} homeostasis during postnatal growth of experimental rats. Multiple time-point study / M.Bahar, S.Berman, M.Grinshpon [et al.] // Growth Dev. Aging. – 2002. – Vol.66, №2. – P.55-62.

309. Intracellular magnesium of platelets in children with diabetes and obesity / F.Kotera, J.Takaya, H.Higashino [et al.] // Metabolism. – 2003. – Vol. 52, № 4. – P.468-471.

310. Intraction between specific fatty acids, GLP-1 and insulin secretion in humans / C.Beysen, F.Karpe, B.A.Fielding [et al.] // Diabetologia. – 2002. – Vol.45, №11. – P.1533-1541.

311. Intraventricular insulin potentiates the anorexic effect of corticotropin releasing hormone in rats / R.D.Richardson, K.Omachi, R.Kermani [et al.] // Amer.J.Physiol. – 2002. – Vol.283, №6, p.2. – P.1272-1277.

312. Islet amyloid polypeptide inhibits glucagon release and exerts a dual action on insulin release from isolated islets / B.Akesson, G.Panagiotidis, P.Westermark [et al.] // Regul.Pept. – 2003. – Vol.111, №1-3. – P.55-60.

313. Islet beta-cell secretion determines glucagon release from neigh bouring alpha-cell / H.Ishihara, P.Maechler, A.Gjinovci [et al.] // Nat. Cell. Biol. – 2003. – Vol.5, №4. – P.330-335.

314. Islet Formation during the Neonatal development in Mice / K.Miller, A.Kim, G.Kilimnik [et al.] // PLoS ONE.– 2009. – Vol.4, Is.11. – P.e 7739.

315. Isolation, density purification, and in vitro culture main-tenance of functional caprine islets of Langerhans as an alternative islet source for diabetes study / H.Hani, T.A.Ibrahim, A.M.Othman [et al.] // Xenotransplantation. – 2010. – Vol.17, № 6. – P. 469-480.

316. Kajimoto J. Role of oxidative stress in pancreatic beta-cell dysfunction / J.Kajimoto, H. Kaneto // Ann. N.J. Asad. Sci.–2004. – Vol.1011. – P.168-176.

317. Kawakami J. 8-Hydroxyquinoline derivative as a fluorescent chemosensor for zinc ion / J.Kawakami, M.Ohta, J.Tamanchi, K.Ohzeki // Anal. Sci. – 2003. – Vol.19, №10. – P.1353-1354.

318. Kolesnik Ju. M. Quartitative assessment of the processes of insulin synthesis of pancreatic islets / Ju. M. Kolesnik, M.A. Orlovskii, A.V. Abramov // Morfologia. – 2002. – Vol. 122, № 5. – P.70-73.

319. Kowluru A. Identification and characterization of a novel protein histidine kinase in the islet β cell: evidence for its regulation by mastoparan, an activator of G-proteins and insulin secretion / A. Kowluru // Biochem. Pharmacol. – 2002. – Vol. 63, № 12. – P. 2091-2100.

320. Kowluru A. Novel roles for the Rho subfamily of GTP-binding proteins in succinate-induced insulin secretion from βTC3 cell: further evidence in support of the succinate mechanism of insulin release / A. Kowluru, H.-Q. Cher, M. Tannous // Endocr. Res. – 2003. – Vol.29, №3. – P.363-376.

321. Kulkarni R.N. Receptors for insulin and insulin-like growth factor-1 and insulin receptor substrate-1 mediated pathways that regulate islet function / R.N. Kulkarni // Biochem. Soc. Trans. – 2002. – Vol.30, №2. – P.317-322.

322. Kulkarni R. N. The islet beta-cell / R.N.Kulkarni // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 2004. – Vol.36, № 3. – P.365-371.

323. Kvistberg D. Staining of insulin with aldehyde fuchsin / D. Kvistberg, G. Lester, A. Lazarow // Histochem. Cytochem.–1966.–Vol.14.– P.609-611.

324. Lacy P. E. Preliminary studies on the demonstration of insulin in the islets by the fluorescent antibody technigue / P. E. Lacy, J. Davies // Diabetes. – 1957. – Vol.6. – P.354-357.

325. Laires M.J. Role cellular magnesium in health and human disease / M.J. Laires, C.P. Monteiro, M. Bicho // Front. Biosci. – 2004. – Vol.9. –P.262–276.

326. Lally F.J.Apoptosis and disease progression in the spontaneously diabetic BB / S rat / F.J. Lally, H. Ratcliff, A.J. Bone // Diabetologia. – 2001. – Vol.44, №3. – P.320-324.

327. Le Marchand-Brustel G. Molecular mechanism of insulin action in normal and insulin-resistant states / G. Le Marchand-Brustel // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. – 1999. – Vol.107. – P.126-132.

328. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S.Lenzen // Diabetologia. – 2008. – Vol.51, № 2. - P.216-226.

329. Lipsett M. Beta-cell neogenesis during prolonged hyperglycemia in rats / M.Lipsett, D.T. Finegood // Diabetes. – 2002. – Vol.51, №6.– P.1834-1841.

330. Malaisse W.J. On the track to the beta-cell / W.J. Malaisse // Diabetologia. – 2001. – Vol.44, №4. – P.393-406.

331. Mallone R.T cells in the pathogenesis of type 1 diabetes / R.Mallone, P. van Endert // Curr. Diab.Rep. – 2008. – Vol.8, №2. – P.101-116.

332. Mandrup-Poulsen T. Beta cell death and protection / T. Mandrup-Poulsen // Ann. N. J. Acad. Sci. – 2003. – Vol.1005. – P.32-42.

333. Mandrup-Poulsen T. Beta-cell apoptosis: stimuli and signaling / T. Mandrup-Poulsen // Diabetes. – 2002. – Vol.50, Suppl.1 – P.558-563.

334. Molecular basis for the insulinomimetic effects of C-peptide / G. Grunberger, X.Qiang, Z. Li [et al.] // Diabetologia. – 2001. – Vol.44, №10. – P.1247-1257.
335. Molecular characterization of a CDNA encoding copper /zinc superoxide dismutase / S.J. Shin, H.S. Lee, S.T. Kwon [et al.] // Plant. Physiol. Biochem. – 2005. – Vol.43, №1. – P.55-60.
336. Muller D. Immunosuppressive Effects of Streptozotocin-Induced Diabetes Results in Absolute Lymphopenia and a Relative Increase of T Relative Increase of T Regulatory Cells / D. Muller, D. Golshayan, D. Ehirchion // Diabetes. – 2011. – Vol.60. - P.2331-2340.
337. Mutation of active site residues of insulin alters allosteric interactions / E.S.Song, A. Daily, M. G. Fried [et al.] // J.Biol.Chem. – 2005. – № 3. – P.175-179.
338. Mutations in the insulin receptor gene / S.I. Taylor, A. Cama, D. Accili [et al.] // Endocr. Rev. – 1992. – Vol.13. – P.566-595.
339. Nell S. Induced Pluripotent stem (IPS) Cells Inhibit Apoptosis and Fibrosis in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats / S. Nell, D.K. Singla // Mol. Pharmacol. – 2011. – № 4. – P.103-108.
340. Neogenesis and proliferation of beta-cells induced by human betacellulin gene transduction via retrograde pancreatic duct injection of an adenovirus vector / Y.Tokui, J. Kozawa, K. Yamagata [et al.] // Biochem. Biophys. – 2006. – Vol.1, № 350, Suppl. 4. – P.987-993.
341. Nitzan T.B. Histochemical and histofluorescence tracing of chelatable zinc in the development mouse / T.B. Nitzan, I. Sekler, W.F. Silverman // J. Histochem. Cytochem. – 2004. – Vol.52, №4. – P.529-539.
342. Ohlsson H. IPF-1, a homeodomain-containing transactivator of the insulin gene / H. Ohlsson, K. Karlsson, H. Edlund // EMBOY.–1993. – Vol.12.– P.4252-4259.
343. Okamoto K. Submicroscopic histochemical demonstration of intracellular reactive zinc in beta cells of pancreatic islets / K. Okamoto, H. Kawanishi // Endocrinol. Jap. – 1966. – Vol.13. – P.305-318.

344. Panchnadikar A. Can stress provide protection to pancreatic beta-cell and prevent diabetes / A. Panchnadikar, R. Bhonde // Med. Hypotheses. – 2003. – Vol.60, №3. – P.356-359.

345. Protective effect of melatonin on beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetes in rats / O. Javuz, M. Cam, N. Bukan [et al.] // Acta Histochem. – 2003. – Vol.105, №3. – P.261-266.

346. Qian Wei-Jun. Imaging of Zn^{2+} release from pancreatic B-cells at the level of single exocytotic events / Wei-Jun Qian, R.Gee Kyle, T.Robert Kennedy // Anal. Chem. – 2003. – Vol.75, №14. – P.3468-3475.

347. Rapid oscillation in plasma glugacon-like peptide-1 (GLP-1) in humans: cholinergic control of GLP-1 secretion via muscarinic receptors / H.Balks, J.Holst, A.Von zuz Muhlen [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1997. – Vol.82. – P.786-790.

348. Reduction of both beta cell death and alpha cell proliferation by dipeptidyl peptidase-4 inhibition in a streptozotocin-induced model of diabetes in mice / Y.Takeola, Y.Fujita, J. Honjo [et al.] // Diabetologia. – 2011. – P.234-237.

349. Rees D.A. Animal models of diabetes mellitus / D.A. Rees, J.C. Alcolado // Diabet.Med. – 2005. – Vol.4. – P.359-370.

350. Regulation of pancreatic beta-cell regeneration in the normoglycemic 60 % partial-pancreatectomy mouse / M. Peshavaria, B.L. Larmil, J. Lausier [et al.] // Diabetes. – 2006. – Vol.55, №12. – P.3289-3298.

351. Remodeling of ammon's horn during the first two weeks of experimental diabetes development / Y.V. Lebed, M.A. Orlovsky, O.M. Tsupikov [et al.] // Фізіол. журнал. – 2008. – Т.54, №3. – С.52-56.

352. Resistance training and insulin action in humans: effects of de-training / J.L.Andersen, P.Schjerling, L.L.Andersen [et al.] // J. Physiol. – 2003. – Vol.551, №3. – P.1049-1058.

353. Resveratrol prevents Streptozotocin-induced diabetes by inhibiting the apoptosis of pancreatic β-cell and the cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase / C.R. Ku, U. J. Lee, S. K. Kim [et al.] // Endocr. J. – 2011. – № 8. – P.123-126.

354. Richter B. Человеческий инсулин или инсулин животного происхождения для лечения пациентов с сахарным диабетом / B. Richter, G.Neises // Укр. мед. часопис. – 2002. – № 5. – С. 94-96.

355. Role of apoptosis in pancreatic beta-cell death in diabetes/ J. Chandra, B.Zhivotovsky, S.Zaitsev [et al.] // Diabetes.– 2001. – Vol.50, Suppl.1.– P.44-47.

356. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardiometabolic syndrome X / M. Barbagallo, L. J. Dominguez, A. Galioto [et al.] // Mol. Aspects Med. – 2003. – Vol.24, №1-3. – P.39-52.

357. Rorsman P. Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells / P.Rorsman, E.Renstrom // Diabetologia. – 2003. – Vol.46, №8. – P.1029-1045.

358. Scheen A. I. Pathophysiology of insulin secretion / A. I. Scheen // Ann. Endocrinol.(Paris). – 2004. – Vol.65, №1. – P.29-36.

359. Secretory defects induced immunosuppressive agents on human pancreatic beta-cells / L.Polastri, F.Galbiati, F.Bertuzzi [et al.] // Acta Diabetol. – 2002. – Vol.39, №4. – P.229-233.

360. Seto K. Influence of electrical stimulation of the limbic structure on insulin level in rabbits plasma / K.Seto, H.Otsuka, M.Kawakami // Exp. Clin. Endocrinol. – 1983. – Vol.81, №3. – P.347-349.

361. Simultaneous monitoring of Zn^{2+} secretion and intracellular Ca^{2+} from islets and islet cells by fluorescence microscopy / Qian W.J., Peters J.L., Dahlgren G.M. [et al.] // Biotechniques. – 2004. – Vol.37, №6. – P.922-924.

362. Simultaneous observation of endocrine and exocrine functions of the pancreas responding to somatostatin in man / T.Emoto, M.Mijata, M.Izukura [et al.] // Regul. Pept. – 1997. – Vol.68. – P.1-8.

363. Somatostatin inhibits insulin secretion by G-protein-mediated decrease in Ca^{2+} entry through Voltage-dependent Ca^{2+} in beta cell / W.H. Hsu, H.Xiang, A.S. Rajan [et al.]//J. Biol. Chem. – 1991. – Vol.266. – P.837-842.

364. Tamada Jun. Effects of insulin and agrenal-ectomy on elevation of serum leptin levels induced by 5-hydroxytryptophan in mice / Jun Tamada, Yumi Sugimoto, Masanori Ujikawa//Biol. And Pharm. Bull.– 2003. – Vol.26, №10.–P.1491-1493.

365. Tansen J. Zinc and Diabetes – clinical links and molecular mechanisms / J.Tansen, W.Karges, L.Rink // J.Nutr. Biochem.– 2009.–Vol.20.–P.399-417.

366. The influence of stress factors on zinc and insulin content in islands of Langerhans / N.V. Grigorova, J.V. Eschenko, Bovt V.D. [et al] // Nauka I Studia. – Przemysl: Nauka i Studia, 2008. – NR 4 (9). - S.82-87.

367. The state of blood granulocytes and pancreatic islands of golden hamsters under various functional state of insular apparatus / N.V. Grigorova, M.A. Psol // Материали за V межд. науч. практ. конф. «Бъедещето проблемите на световната наука-2009». Т.22. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2009. – С.62-64.

368. The vicious cycle of apoptotic beta-cell death in type 1 diabetes / A. Kaminitz, J.Stein, I. Janiv [et al.] // Immunol. Cell. Biol. – 2007. – Vol. 85. – P.582-589.

369. Thymic microenvironmental alterations in experimentally induced diabetes / P.R. Nagib, J. Gameiro, L.G. Stivanin-Silva [et al.] // Immunobiology. – 2010. – Vol.215, №12. – P.971-979.

370. Tiemann K. Expression of transcription factors and precursor cell morkers during regeneration of betta cells in pancreata of rats treated with streptozotocin / K.Tiemann, R.Panienka, G.Kloppel // Vichows Arch. – 2007. – Vol.407, №3. – P.261-266.

371. Time-dependent stimulation of insulin exocytosis by 3’, 5’ - cyclic adenosine monophosphate in the rat islet beta-cell / S.Yamada, M.Komatsu, Y.Sato [et al.] // Endocrinology. – 2002. – Vol.143, №11. – P.4203-4209.

372. Todd J.A. Etiology of type 1 diabetes / J.A. Todd // Immunity. – 2010. – Vol.32, №4. – P.457-467.

373. Tonyz R.M. Magnesium in clinical medicine / R.M. Tonyz // Front. Biosci. – 2004. - Vol.9. – P.1278 – 1293.

374. Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology / B.L. Vallee // Biofactors. – 1988. – Vol.1, №1. – P.31-36.

375. Van Wouwe J.P. The role of the pancreas in the of zinc status / J.P.Van Wouwe, J.M. Uijlenbroek // Biol. Trace Elem. Res. – 1994. – Vol.42.– P.143-150.

376. Vernin M. Fonction pancreatique: de l'ilot? l'analyse de l'insulinosecreation en Clinique / M.Vernin //Ann.Endocrinol.(Paris).–2003. – Vol.64,№ 6. – P.472-473.
377. Wollheim C.B. The Exocytotic process of insulin secretion process of insulin and its regulation by Ca^{2+} and G-proteins / C. B. Wollheim, J. Lang, R. Regazzi // Diabetes Rev. – 1966. – Vol. 4. – P.276-297.
378. Yu L. Cyclosporin A inhibits insulin release and downregulates gene expressions of mitochondrial oxidative phosphorylation enzymes in NIT-cells / L.Yu, L.S. Lei, S.G. Wn // Di Ji Iun Ji Da Xue Bao. – 2004. – Vol.23, №8. – P.833-836.
379. Yuan D.S. Dithizone staining of Intracellular zinc: An Unexpected and Versatile Counterscreen for Auxotrophic Marker Genes in Saccharomyces cerevisiae / D.S.Yuan // PLoS One. – 2011. – Vol.6, №10. – E.25830.
380. Zaia A. Insulin receptors in the brain cortex of aging mice / A.Zaia, L.Piantanelli // Mech. Ageing and Dev. – 2000. – Vol. 113, № 3. – P. 227-232.
381. Zhang Fang-lin. Экспрессия соматостатина в островках крыс со стероидным сахарным диабетом / Fang-lin Zhang, Chuan-Zhong Ye, Kai-Zhen Zhang // Zhogguo bingli Shengli zazhi – Chin. J. Path. physiol. – 2001. – Vol. 17, № 10. – P.1005-1007.
382. Zhang L. Prediction and prevention on type 1 diabetes mellitus / L.Zhang, G.S.Eisenbarth // J. Diabetes. – 2011. – Vol.1. – P.48-57.
383. Ziegler A. G. Prediction and pathogenesis in type 1 diabetes / A.G. Ziegler, G.T.Nepom // Immunity. – 2010. – Vol.32, № 4. – P.468-478.
384. Zierath J. R. Insulin action and insulin resistance in human skeletal muscle / J.R.Zierath, A.Krook, H.Wallberg – Henriksson // Diabetologia. – 2000. – Vol.43, №7. – P.821-835.
385. Zinc and magnesium ions synergistically inhibit superoxide generation by cultured human neutrophils a promising candidate formulation for amnioinfusion fluid / T. Uchida, H.I toh, Y.Nakamura [et al.] // J. Reprod.Immunol. – 2010. – Vol. 85, № 2. – P. 209-213.
386. Zinc content in hippocampus and pancreatic islets under starvation, glucose and convulsant injection / N.V. Grigorova, J.V. Eschenko, O. N. Kuchkovsky [et al.] //

Матеріали І Міжн. наук.-практ. конф. „Наука и технологии: шаг в будущее - 2006”.Т.2. Биологические науки. – Белгород: Руснаучкнига, 2006. – С.55-57.

387. Zinc deficiency exacerbates diabetic down-regulation of AKt expression and function in the testis: essential roles of PTEN, PTP1B and TRB3 / Y.Zhao, Y.Tan, J.Dai [et al.]//J.Nutr.Biochem. – 2011. – № 12. – P.103-108.

388. Zinc sulphate induces metallothionein in pancreatic islets of mice and protects against diabetes induced by multiple low doses of streptozotocin / P.Ohly, C.Dohle, J. Abel [et al.] // Diabetologia. – 2000. – Vol.43, № 8. – P.1020-1030.

Наукове видання
(українською мовою)

Григорова Наталя Володимирівна

ВНУТРІШНЬОСЕКРЕТОРНА ФУНКЦІЯ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

Монографія

Редактор *В.А.Кізілова*
Технічний редактор *А.І.Юрченко*
Коректор *М.А.Кузьміна*

Підп. до друку 01.07.2014. Формат 60×90/16. Папір офсетний.
Друк цифровий. Гарнітура Таймс. Умовн. друк. арк. 19.
Замовлення № 201. Тираж 300 прим.

Запорізький національний університет

69600, м. Запоріжжя, МСП-41
вул. Жуковського, 66
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготівників
і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 2952 від 30.08.2007