УДК 669.5.61

# ВПЛИВ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ФАКТОРІВ І АНТИОКСИДАНТІВ НА ДЕФІЦИТ ЦИНКУ В ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦЯХ, ЩО ВИКЛИКАЄТЬСЯ ДИТИЗОНОМ

Бовт В. Д., д. б. н., професор, Єщенко Ю. В. , лікар

*Запорізький державний університет*

Попередня дія екстремальних факторів підсилює зниження вмісту цинку, що викликається дитизоном в клітинах панкреатичних острівців у мишей. Подібні ефекти отримуються у випадку призначення тваринам солей токсичних металів після ін'єкції дитизону. Протилежні зміни спостерігаються у випадку призначення антиоксидантів до та після ін'єкції дитизону.

*Ключові слова: антиоксидант, дефіцит, дитизон, екстремальні фактори, панкреатичні острівці, цинк.*

Бовт В. Д., Ещенко Ю. В. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ И АНТИОКСИДАНТОВ НА ВЫЗЫВАЕМЫЙ ДИТИЗОНОМ ДЕФИЦИТ ЦИНКА В ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКАХ / Запорожский государственный университет, Украина

Предварительное воздействие экстремальных факторов усиливает вызываемое дитизоном снижение содержания цинка в клетках панкреатических островков у мышей. Подобные эффекты получаются в случае назначения животным солей токсических металлов после инъекции дитизона. Противоположные изменения наблюдаются в случаях назначения антиоксидантов до и после инъекции дитизона.

*Ключевые слова: антиоксидант, дефицит, дитизон, панкреатические островки, цинк, экстремальные факторы.*

Bovt V. D., Eshchenko J. V. THE INFLUENCE OF EXTREME FACTORS AND ANTIOXIDANTS ON ZINC DEFICIT IN PANCREATIC ISLETS INDUCED WITH DITHIZONE / Zaporizhzhya State University, Ukraine

Preceding extreme factors influence intensifies zinc content decrease in mice pancreatic islets cells induced with dithizone. Similar effects are obtained in the cases of administration to animals of toxic metal salts following to dithizone injection. Opposite changes are noticed in the cases of antioxidants administration before and after dithizone injection.

*Key words: antioxidant, deficit, dithizone, extreme factors, pancreatic islets, zinc.*

## 1. ВСТУП

Цинк необхідний для активності багатьох металоферментів [11], у тому числі супероксиддисмутази (СОД), що знижує концентрацію в клітинах вільних радикалів і таким чином підтримує інтегральну структуру і функцію мембран [2]. Подібними ефектами володіють інші антиоксиданти, зокрема диетилдитіокарбамат натрію (ДЕДТКН) [8, 9].

При одноразовому впливі екстремальних факторів (гострий стрес) відбувається накопичення цинку в клітинах [6]. Після уведення дитизону в них, навпаки, розвивається дефіцит цинку [5]. У зв'язку з викладеним, являють собою інтерес дослідження спільної дії вказаних факторів на обмін цинку в клітинах. Для проведення таких досліджень найбільш зручною є цитохімічна реакція 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ) в панкреатичних острівцях у мишей. Її висока чутливість і селективність дозволяють виявляти навіть самі ранні і легкі зміни вмісту цинку в інсулоцитах [1, 3, 4].

Раніше було показано, що зміни вмісту цинку, що визначається цитохімічно в панкреатичних острівцях, може слугувати чутливим індикатором змін інкреторної функції інсулярного апарату [3]. Результати проведених нами дослідів цинку в інсулоцитах при дії дитизону, екстремальних факторів і антиоксидантів дозволили нам одночасно судити про функціональні порушення в інсулярному апараті, що викликані цими факторами.

## 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В експериментах було використано 184 миші. Для отримання фізичних навантажень миші плавали протягом 1 год в акваріумі з температурою води 32°С. Іммобілізували тварин прив'язуванням на 6 год за допомогою м'яких пов'язок до станка в положенні на спині. Для алкоголізації мишам уводили в шлунок через зонд 10 мл/кг 20%-ного розчину етанолу. Дію низької температури вивчали опусканням мишей у холодну (21°С) ванну на 0,5 год. Голодували тварини протягом 12 год.

Дитизон уводили внутрішньочеревно у вигляді 1%-ного водно-аміачного розчину в дозі 100 мг/кг. Розчин для ін'єкцій готували таким чином. У колбочку з притертою пробкою поміщали 45 мл дистильованої води, 0,9 мл 25%-ного розчину гідроокису амонію, 600 мг дитизону. Суміш перемішували

на водяній бані при 70°С протягом 10 хв, потім фільтрували через беззольний фільтр. За таких умов приготування розчину чверть наважки дитизону залишалася на фільтрі у вигляді нерозчинного осаду, тому отримували 1%-ний водно-аміачний розчин реагенту.

Дитизон уводили інтактним мишам після закінчення строку голодування та іммобілізації тварин, через 2 год після фізичного навантаження, алкоголізації, охолодження мишей. В окремій серії досліджень за 30 хв до ін'єкції дитизону тварини отримували внутрішньочеревно 10%-ний розчин діетилдитиокарбамату натрію (ДЕДТКН) у дозі 1 г/кг.

Протягом 5 днів після ін'єкції дитизону частина мишей отримувала щоденно через зонд в шлунок хлорид ртуті та сульфат міді в дозі 2-5 мг/кг у вигляді 0,02%-ного розчину, хлорид алюмінію в кількості 100 мг/кг у вигляді 0,4%-ного розчину та ацетат цинку у дозі 10 мг/кг у вигляді 0,05%-ного розчину.

Тварин забивали через 5 діб після ін'єкції дитизону. Шматочки підшлункової залози фіксували протягом 12 год у холодному (4°С) ацетоні, потім проводили через два ксилоли (по 15 хвилин у кожнім), суміш 50% ксилолу і 50% парафіну (30 хв при 40° С), два рідкі парафіни (по 1,5 год у кожнім при 56°С) і заливали в парафін.

Парафінні зрізи товщиною 5 мкм проводили послідовно через два ксилоли (по 3 хв у кожнім), два спирти (по 3 хв у кожнім), обробляли протягом 1 хв 0,01%-ним ацетоновим розчином 8-ТСХ, промивали протягом 5 хв у дистильованій воді, замикали в гліцерин і розглядали під люмінесцентним мікроскопом. Для збудження люмінесценції використовували світлофільтр ФС-1, а як замикальний (окулярний) використовували світлофільтр із скла ЖС-18. На препаратах жовто-зелена люмінесценція виявлялась у цитоплазмі панкреатичних клітин В.

Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ оцінювали за бальною системою, що запропонована іншими авторами [7, 10]. За один бал приймали слабопозитивну, два бали – помірну, три бали – виражену за інтенсивністю реакцію. Середню величину інтенсивності реакції (М) виводили на підставі цих визначень у 100 клітинах. Підраховували похибку (m) і показник вірогідності (р).

## 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ в острівцях у контрольних (інтактних) мишей (n = 16) складала 2,0±0,14. У мишей, що отримали дитизон (n = 47), ця величина дорівнювала 1,3±0,09 (на 35% менше норми, $p < 0,001$) (рис. 1).

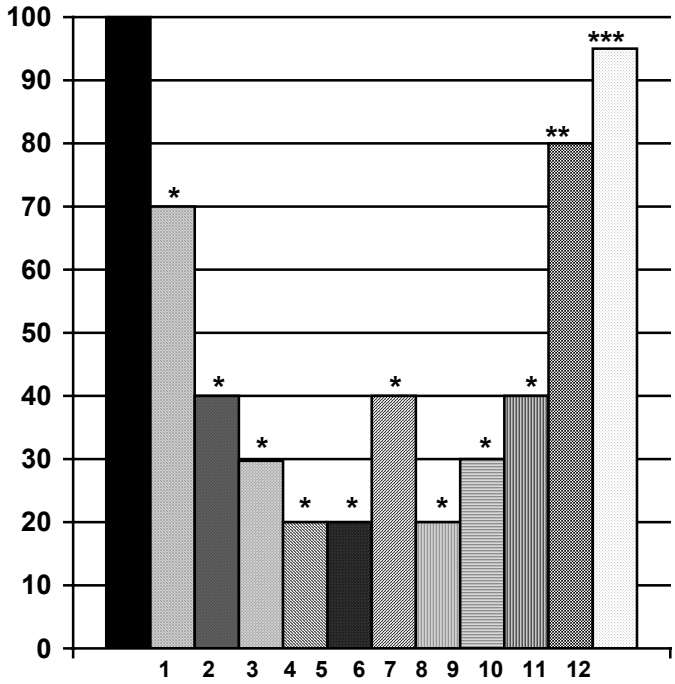



Рис.1. Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ в панкреатичних острівцях у контрольних (1) і, що отримали дитизон (2) мишей, а також у тварин, що отримали дитизон у випадку попередніх фізичного навантаження (3), іммобілізації (4), алкоголізації (5), голодування (6), охолодження (7), наступного уведення хлориду ртуті (8), сульфату міді (9), хлориду алюмінію (10), ацетату цинку (11), попереднього уведення ДЕДТКН (12)

В окремих серіях досліджень вивчався вплив на дефіцит цинку, що викликався дитизоном в панкреатичних острівцях, попередньої дії на організм екстремальних факторів (фізичного навантаження, іммобілізації, алкоголізації, охолодження, голодування) (рис. 1).

Вміст цинку в острівцях у тварин, що отримали дитизон після фізичного навантаження (n = 14), склав 0,8±0,12 (на 60% менше норми, p < 0,001). У цих випадках, коли перед ін'єкцією дитизону мишей піддавали дії іммобілізації (n = 13), цинку визначалось в острівцях у середньому 0,6±0,13 (на 70% менше за норму, p < 0,001). У тварин, яким перед дитизоном уводили етанол (n = 12), цинку в острівцях визначалось 0,5±0,11 (на 75% менше, ніж у контролі, p < 0,001).

У мишей, що голодували і отримали дитизон (n = 14), інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ в ендокринних клітинах підшлункової залози складала 0,5±0,12 (на 75% нижче контролю, p <0,001), а у випадках, коли дитизон уводили після охолодження тварин (n = 11), середній вміст цинку в острівцях складав 0,8±0,17 (на 75% менше за норму, p < 0,001).

Таким чином, екстремальні фактори підсилюють дефіцит цинку, що викликається дитизоном в інсулоцитах. Відбувається це в результаті підвищеного зв'язування хелантом цинку в клітинах.

В окремих серіях досліджень у тварин, що отримали дитизон, досліджувався вплив на вміст цинку в острівцях наступного уведення хлориду ртуті, сульфату міді, хлориду алюмінію, ацетату цинку (рис. 1).

У випадку уведення хлориду ртуті (n = 10), вміст цинку в острівцях складав 0,5±0,11 (на 75% менше, ніж у контролі, p < 0,001). При уведенні сульфату міді (n = 12), кількість цинку в інсулоцитах дорівнювала 0,6±0,17, тобто на 70% нижче норми, p <0,001. Менш виражені зміни спостерігалися при уведенні дитизоновим мишам хлориду алюмінію (n = 13). Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ в цьому випадку складала 0,8±0,15 (на 60% менше за контроль, p < 0,001).

Таким чином, солі ртуті, міді, алюмінію підсилюють дефіцит цинку в острівцях у мишей, що викликається дитизоном. Ці зміни можна пояснити витисненням указаними металами цинку з його комплексів із біолігандами.

Після уведення ацетату цинку мишам, що отримали дитизон (n = 11), вміст цинку в острівцях складав 1,6±0,18 (на 20% менше за норму, p < 0,05). Це значить, що вміст даного металу в інсулоцитах зростає, хоча не доходить до початкового рівня.

Цинк є могутнім антиоксидантом, що послаблює порушення інсулінпродукуючих клітин, що викликаються дитизоном. ДЕДТКН конкурує з дитизоном за іони цинку в панкреатичних острівцях, зв'язуючи в них іони цього металу. ДЕДТКН попереджує взаємодію з ними дитизону, у результаті чого запобігається ушкоджуючій дії останнього на інсулоцити. У випадку попереднього уведення ДЕДТКН мишам (n = 11) інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ в острівцях складала 1,9±0,17 (на 5% нижче норми, p > 0,05) (рис. 1).

Таким чином, дефіцит цинку, що викликається дитизоном в панкреатичних острівцях та вказує на зниження інкреторної функції інсулярного апарату, підсилюється екстремальними факторами, солями токсичних металів і, навпаки послаблюється при уведенні антиоксидантів.

## 4. ВИСНОВКИ

Дефіцит цинку в клітинах панкреатичних острівців, що викликається уведенням мишам дитизону, підсилюється у випадку попередньої дії на організм екстремальних факторів.

У мишей, що отримали дитизон, призначення солей токсичних металів викликало більш виражене зниження вмісту цинку в інсулоцитах.

Уведення в організм антиоксидантів знижує ступінь виразності дефіциту цинку в клітинах панкреатичних острівців, що викликається дитизоном.

## ЛІТЕРАТУРА


1. Бовт В. Д., Єщенко В. А., Малько М. М., Кучковський О. М., Григорова Н. В. Вивчення зв'язку алкогольної мотивації зі змінами вмісту цинку в гіпокампі //Фізіол. журн. – 2001. – № 3. – С. 54 – 57.
2. Браун Ф. Д., Моженок Т. П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. – Л.: Наука, 1987. – 232 с.
3. Ещенко В. А. Гистохимическое исследование цинка // Цитология. – 1978. – № 8. – С. 927-933.
4. Єщенко В. А., Бовт В. Д., Малько М. М., Прохватілова А. В., Кучковський О. М. Вміст цинку в панкреатичних острівцях і гіпокампі при дії фізіологічних і надзвичайних подразників //Фізіол. журн. – 2001. – № 2. – С. 66 – 69.

5. Eshchenko V. A., Tumansky V. A., Prohvatilova A. V., Bovt V. D., Eshchenko J. V. Zinc content in pancreatic islets and blood granulocytes of normal and diabetic rabbits //School Fund. Med. J. – 1999. – V 5. – P. 13 – 14.

6. Малько М. М. Метаболізм цинку в клітинах при фізичних навантаженнях, іммобілізації та алкоголізації //Вісник ЗДУ. Фізико-математичні науки. Біологічні науки. – 1998. - № 1. – С. 123-125.

7. Соколовский В. В. Гистохимические исследования в токсикологии. – Л.: Медицина, 1971. – 172 с.

8. Bettger W. J., O'Dell L. L. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes //Life Sci. – 1981. – V. 28. – P. 1405-1438.

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

10. Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.

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