УДК 669.5:61

ВПЛИВ КОНВУЛЬСАНТУ НА ВМІСТ ЦИНКУ В ІНСУЛОЦИТАХ І НЕЙРОНАХ ГІПОКАМПА В МИШЕЙ

Кучковський О. М., асистент, Єщенко Ю.В., лікар

Запорізький державний університет

Для інсулоцитів і нейронів гіпокампа характерне акумулювання цинку, що визначається цитохімічно [1 – 5]. Показано, що два атоми цинку здібні зв'язати шість молекул інсуліну [4]. Можливо, у вигляді такого комплексу знаходиться "депо-форма" інсуліну в зрілих секреторних гранулах панкреатичних клітин В [1, 4].

У нейронах гіпокампа цинк знайшли в синаптичних пухирцях [3]. Припускають, що в цих структурах збуджуючий нейромедіатор накопичується у вигляді комплексу з цинком, подібно до цинкінсулінового комплексу в клітинах В-острівців [2].

Нами був вивчений вплив конвульсанта 8-(бензолсульфоніламіно)-хіноліну (8-БСХ) на вміст цинку в нейронах гіпокампа і клітинах В панкреатичних острівців.

У дослідах було використано 122 миші, серед яких було 16 контрольних (інтактних) і 106 дослідних тварин. Частина піддослідних тварин попередньо піддавалася іммобілізації. 8-БСХ уводили внутрішньочеревно в дозі 200 і 400 мг/кг у вигляді 0,5% розчину на 0,1 н розчині їдкого натру. Для іммобілізації мишей прив'язували за допомогою м'яких пов'язок до дощечки в положенні на спині на 6 год. Забивали тварин декапітацією через 2 год. після іммобілізації і через 30 хв., 1 добу після ін'єкції 8-БСХ. Вилучені головний мозок та підшлункову залозу використовували для приготування заморожених зрізів товщиною 30 – 60 мкм. Шматочки залози також фіксували протягом 12 год. у холодному (+ 4°С) ацетоні.

Інтравітальну реакцію 8-БСХ в органах досліджували через 30 хв. після ін'єкції. При цьому нативні заморожені зрізи головного мозку і підшлункової залози розглядали під люмінесцентним мікроскопом. Для збудження люмінесценції використовували світлофільтр ФС-1, а як захисний (окулярний) використовували світлофільтр із скла ЖС-18. Продукт інтравітальної реакції 8-БСХ виявлявся по жовто-зеленій люмінесценції в гіпокампі і панкреатичних острівцях.

Для отримання цитохімічної реакції 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ) з цинком на заморожених зрізах головного мозку застосовувалась одночасна їх фіксація та флуорохромування обробкою протягом 1 хв. 0,01% ацетоновим розчином цього реагенту. Потім зрізи промивали протягом 5 хв. у дистильованій воді і замикали в гліцерин. Цинк виявляли за жовто-зеленою люмінесценцією нейронів гіпокампа.

Цитохімічне дослідження цинку в підшлунковій залозі проводили на депарафінованих зрізах, які забарвлювали і розглядали під мікроскопом подібно замороженим зрізам гіпокампа. По інтенсивності світіння панкреатичних клітин В судили про вміст у них цинку.

Вміст цинку в гіпокампі і панкреатичних острівцях встановлювали за бальною системою. За один бал приймали слабопозитивну реакцію, два бали – помірну, три бали – виражену за інтенсивністю цитохімічну реакцію 8-ТСХ.

Специфічність інтравітальної реакції 8-БСХ з цинком доказували таким чином. Попереднє уведення тваринам 10% розчину діетилдітіокарбамату натрію (ДЕДТКН) попереджувало розвиток цитохімічної реакції в тканинах. Поява цієї реакції спостерігалася у випадку обробки зрізів указаним розчином ДЕДТКН та 0,1 М розчином етилендіамінтетраацетату. Обидва реагенти утворюють з цинком незабарвлений комплекс. Витискаючи 8-БСХ із комплексу з цинком, вони викликають знебарвлення зрізів. Використаний нами для цитохімічного виявлення цинку 8-ТСХ відомий в аналітичній хімії як високоселективний люмінесцентний реагент на цинк [1].

У контрольних (інтактних) мишей інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ у гіпокампі складала 2,0 ± 0,15, а в панкреатичних острівцях 1,9 ± 0,14. При іммобілізації отримали відповідно: 2,6 ± 0,18 ($p < 0,05$) та 2,5 ± 0,16 ($p < 0,05$). Ці дані вказують на те, що іммобілізація викликає накопичення цинку в гіпокампі і панкреатичних острівцях.

Уведення мишам 8-БСХ у дозі 200 мг/кг викликало помірні судоми та його слабку інтравітальну реакцію у гіпокампі і острівцях. Через 1 добу після ін'єкції інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ у гіпокампі складала 1,5 ± 0,13 ($p < 0,05$), а в острівцях – 1,4 ±0,15 ($p < 0,05$).

При уведенні мишам 8-БСХ у кількості 400 мг/кг у тварин спостерігали виражені судоми та помірну за інтенсивністю інтравітальну реакцію. Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ складала в гіпокампі 1,1 ± 0,09 ($p < 0,001$), а в острівцях – 1,0 ± 0,10 ($p < 0,001$).

При уведенні іммобілізованим мишам 8-БСХ у дозі 200 мг/кг у тварин відмічалися зміни, подібні до випадку при уведенні 400 мг/кг агента неіммобілізованим тваринам.

Результати досліджень вказують на схожість реакцій нейронів гіпокампа і інсулоцитів на уведення в організм 8-БСХ. Останній володіє вираженими хелатуючими властивостями. Зв'язування ним цинку призводить до зменшення концентрації даного металу в клітинах. Це супроводжується розвитком у тварин епілептиформних судом. В іммобілізованих тварин цинку зв'язується в гіпокампі більше, чим і пояснюються більш виражені судоми.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ещенко В. А. Гистохимическое исследование цинка //Цитология. – 1978. - № 8. – С. 927 – 933.
2. Кучковський О. М. Про роль цинку в нейромедіаторній функції гіпокампу //Вісник ЗДУ. – 1999. - № 1. – С. 187 – 189.
3. De Biasi S., Brendotti C. A. Simplified procedure for the physical development of the sulfide silver method to reveal synaptic zinc in combination with immunocytochemistry at light and electron microscopy //J. Neurosci Methods. – 1998. – V. 79. – P. 87 – 79.
4. Chausmer A. B. Zinc, insulin and diabetes //J. Am. Coll. Nutr. – 1998. – V. 17. – P. 109 – 115.
5. Chen Q. X., Perkins K. L., Wong R. K. S. Zn^{2+} block the NMDA – and Ca^{2+} - triggered postexposure current ipe in hippocampal pyramidal cells //J. Neurophysiol. – 1998. – V. 79. – P. 1124 – 1126.