УДК 612.13:546.41/47.22:599.323.4

ВПЛИВ СОЛЕЙ ЦИНКУ, МАГНІЮ ТА МІДІ НА СТАН ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ ТА ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ У ЩУРІВ

Григорова Н.В., к.б.н., доцент

Запорізький національний університет

Досліджувалися глікемія, вміст цинку, магнію та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові та панкреатичних клітинах В у щурів після введення сульфатів цинку, магнію й міді. Встановлено розвиток гіперглікемії, накопичення внутрішньоклітинних компонентів у випадку призначення тваринам солей цинку та магнію. Протилежні зміни спостерігались під впливом солі міді.

Ключові слова: глікемія, гранулоцити крові, інсулін, магній, мідь, панкреатичні острівці, секреторний матеріал, цинк.

Григорова Н.В. ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ ЦИНКА, МАГНИЯ И МЕДИ НА СОСТОЯНИЕ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ И ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ У КРЫС / Запорожский национальный университет, Украина.

Исследовались гликемия, содержание цинка, магния и секреторного материала в гранулоцитах крови и панкреатических клетках В у крыс после введения сульфатов цинка, магния и меди. Установлено развитие гипергликемии, накопление внутриклеточных компонентов в случае назначения животным солей цинка и магния. Противоположные изменения наблюдались под влиянием соли меди.

Ключевые слова: гликемия, гранулоциты крови, инсулин, магний, медь, панкреатические островки, секреторный материал, цинк.

Grigorova N.V. THE INFLUENCE OF ZINC, MAGNESIUM AND COPPER SALTS ON THE STATE OF RAT BLOOD GRANULOCYTES AND PANCREATIC ISLETS / Zaporizhzhya national university, Ukraine.

Glycemia, zinc, magnesium and secretory material contents were investigated in rat blood granulocytes and pancreatic B-cells after appointment of zinc, magnesium and copper sulfate. The development of hyperglycemia and accomulation of intracellular components were established in the case of zinc and magnesium salts appointment to animals. Copper salts induced contrary changes.

Key words: glycemia, blood granulocytes, insulin, magnesium, copper, pancreatic islets, secretory material, zinc.

ВСТУП

Цинк і магній є дуже важливими металами в організмі людини та тварин [3,4,7-11,13-15]. Вони є необхідними для активності значної кількості ферментів, стабілізують клітинні мембрани [3,4,7-10,15]. Обидва метали відіграють роль у вуглеводному обміні [2-4,7,8,11,15]. У зв'язку з цим представляють значний інтерес дослідження стану інсулінпродукуючих клітин при введенні щурам солей зазначених металів, а також солі міді.

За літературними даними мідь, на відміну від магнію, у клітинах виступає як антагоніст цинку. Для проведення цитохімічних досліджень цинку та магнію нами використовувалися люмінесцентні реакції на ці метали – реакції 8-(п-толуолсульоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ) і люмомагнезону (ЛМ), які розроблені в нашій лабораторії. Доведено, що вміст цинку в панкреатичних клітинах В є індикатором їх функціонального стану [1].

Раніше було показано, що вміст цинку в гранулоцитах крові є показником його обміну у всьому організмі [12]. Тому можна стверджувати, що і вміст магнію в гранулоцитах крові може слугувати показником його вмісту в клітинах різних органів, зокрема в В-інсулоцитах. Функціональний стан останніх може перебувати в залежності від обміну магнію. Для цитохімічного визначення цинку й магнію в гранулоцитах крові використовувалися розроблені нами способи забарвлення мазків крові розчинами

сульфарсазену та магнезону. Враховуючи припущення про роль цинку в депонуванні секреторного матеріалу в клітинах, проводили цитохімічне визначення вмісту інсуліну за допомогою альдегідфуксинової реакції (АФ) у В-клітинах острівців, вмісту секрету в гранулоцитах крові – за допомогою реакції метилового зеленого-еозину (МЗЕ).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріалом досліджень слугували проби периферичної крові та зрізи підшлункової залози 57 щурів, серед яких контрольними (інтактними) були 16 тварин, розчини сульфатів цинку та магнію вводили внутрішньочеревинно в дозі 10 мг/кг ваги тіла, а розчин сульфату міді вводили в такий самий спосіб у дозі 5 мг/кг.

Через 12 годин після введення розчинів солей металів у щурів за життя з хвоста брали кров для визначення глікемії і приготування мазків, а після декапітації вилучали шматочки підшлункової залози. Для цитохімічного визначення металів і секреторного матеріалу в гранулоцитах крові мазки периферичної крові фіксували протягом 5 хвилин у висхідних парах формаліну. У випадку постановки цитохімічної реакції на цинк фіксовані мазки на 3 години при 70°С занурювали в суміш, яка складалася з 1% водного розчину ацетату натрію і 25% водного розчину гідроксиду амонію. Потім мазки промивали в дистильованій воді, замикали в желатин і розглядали під світловим мікроскопом. На препаратах у цитоплазмі гранулоцитів виявлялись оранжеві гранули.

При постановці цитохімічної реакції на магній мазки забарвлювали сумішшю, яка містила 1% водними розчинами ацетату натрію, 0,25% водний розчин гідроксиду амонію та дистильовану воду. Промивали мазки в дистильованій воді та підсушували на повітрі. Визначення інтенсивності цитохімічної реакції проводили у видимому світлі за червоним забарвленням гранул зернистих лейкоцитів.

Для цитохімічного визначення секреторного матеріалу мазки крові послідовно забарвлювали 1% водним розчином метилового зеленого (протягом 1 хвилини) та еозину (30 хвилин), промивали дистильованою водою, підсушували на повітрі. Мазки досліджували під світловим мікроскопом з масляною імерсією. На препаратах виявлялась цитоплазматична зернистіть, яка в базофілах мала синій, еозинофілах – оранжевий, нейтрофілах – фіолетовий колір.

Рівень цукру в крові встановлювали модифікованим методом Хаггедорна-Йенсена [1].

Шматочки підшлункової залози використовували для фіксації і приготування заморожених зрізів 20-60 мкм завтовшки. Шматки залози фіксували в холодному ацетоні (протягом 12 годин) і рідині Буена (впродовж 24 годин).

Шматочки, фіксовані в ацетоні, доводили до парафіну через ксилоли. У випадку з фіксацією в Буені шматочки попередньо витримували в спиртах зростаючої міцності, потім проводили через ксилоли та парафіни.

Для цитохімічного визначення цинку парафінові зрізи залози, фіксованої в ацетоні, витримували в ксилолах, спиртах, обробляли 0,01% ацетоновим розчином 8-(п-толуолсульоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ), промивали дистильованою водою, замикали в гліцерин і розглядали під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1, ЖС-18). На препаратах у цитоплазмі острівцевих клітин В виявлялась зернистість, яка люмінесціювала жовто-зеленим світлом.

Для цитохімічного визначення інсуліну парафінові зрізи залози, фіксованої в рідині Буена, проводили через ксилоли, спирти понижувальної концентрації, дистильовану воду, потім забарвлювали 0,25% спиртовим розчином альдегідфуксину, промивали солянокислим спиртом, водопровідною водою, замикали в гліцерин-желатин і розглядали під світловим мікроскопом. На препаратах у цитоплазмі В-інсулоцитів виявлялась синьо-фіолетова зернистість.

Для цитохімічного визначення магнію заморожені зрізи обробляли 0,01% ацетоновим розчином люмомагнезону, промивали дистильованою водою та розглядали під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1, ЖС-18) з використанням темнопольного мікроскопу. На препаратах у цитоплазмі панкреатичних клітин В виявляли гранули, що люмінесціювали оранжевим світлом.

Інтенсивність цитохімічних реакцій оцінювали за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським [5] та Ф.Хейхоу і Д.Квагліно [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У таблиці 1 наведені дані визначення вмісту цинку, магнію та секреторного матеріалу в зернистих лейкоцитах щурів, яким уводили розчин солей металів.

У гранулоцитах крові контрольних (інтактних) тварин у середньому інтенсивність сульфарсазенової реакції складала 1,0±0,06 ум.од., реакції магнезону 0,8±0,06 ум.од., МЗЕ - реакції – 0,9±0,07 ум. од.

Вміст цинку в зернистих лейкоцитах щурів був підвищений після введення сульфату цинку на 50% ($P < 0,01$), сульфату магнію - на 30% ($P < 0,01$) і знижений після введення сульфату міді на 40% ($P < 0,01$).

Таблиця 1 – Інтенсивність цитохімічних реакцій сульфарсазену, магнезону та МЗЕ в гранулоцитах крові при введенні солей цинку, магнію та міді ($\bar{x}$ + m)

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум.од.		
	сульфарсазену	магнезону	МЗЕ
Контроль (n=16)	1,0±0,06	0,8±0,06	0,9±0,07
Сульфат цинку (n=15)	1,5±0,12***	1,0±0,07*	1,2±0,09**
Сульфат магнію (n=12)	1,3±0,10**	1,1±0,08**	1,2±0,10*
Сульфат міді (n=14)	0,6±0,04***	0,6±0,03**	0,6±0,05**

Примітка: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ у порівнянні з контролем.

Вміст магнію в досліджених клітинах тварин збільшувався після введення солі цинку на 25% ($P < 0,05$), магнієвої солі – на 38% ($P < 0,01$) та зменшувався на 25% ($P < 0,01$) після введення солі міді.

Вміст секреторного матеріалу в гранулоцитах щурів зростав на 33% після введення сульфатів цинку ($P < 0,01$) і магнію ($P < 0,05$) і знижувався на 33% після введення сульфату міді ($P < 0,01$).

Таким чином, сульфати цинку й магнію викликали підвищення вмісту цинку, магнію та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові в щурів. Мідь, навпаки, викликала зниження трьох показників у зернистих лейкоцитах. У цьому відношенні цинк і магній виступають як синергісти, а цинк і мідь – як антагоністи.

Про вплив солей цинку, магнію та міді на рівень цукру в крові, вміст в інсулінпродукуючих клітинах В інсуліну, цинку та магнію, можна робити висновки на підставі даних таблиці 2.

У контрольних щурів концентрація глюкози в крові дорівнювала 5,7±0,18 ммоль/л. Вона була підвищена на 56% ($P < 0,001$) після введення сульфату цинку, на 44%

(P < 0,001) – сульфату магнію та знижена на 16% (P < 0,001) – після призначення сульфату міді.

Таблиця 2 – Глікемія, інтенсивність цитохімічних реакцій 8-ТСХ, люмомагнезону й альдегідфуксину в панкреатичних клітинах В щурів при введенні солей цинку, магнію та міді ($\overline{X}$ + m)

Група тварин	Цукор крові ммоль/л	Інтенсивність реакції, ум.од.		
		8-ТСХ	ЛМ	АФ
Контроль (n=16)	5,7±0,18	0,5±0,03	1,3±0,09	1,6±0,12
Сульфат цинку (n=15)	8,9±0,26***	0,8±0,08***	1,6±0,10*	2,1±0,13**
Сульфат магнію (n=12)	8,2±0,24***	0,6±0,04*	1,6±0,06**	2,1±0,15*
Сульфат міді (n=14)	4,8±0,17***	0,3±0,02***	1,0±0,03**	0,7±0,05***

Примітка: позначення, як у табл.1

Вміст цинку в острівцевих В-клітинах складав у контролі 0,5±0,03 ум.од., а при введенні сульфату цинку був підвищений на 60% (P < 0,001), сульфату магнію – на 20% (P < 0,05). Уведення сульфату міді викликало зниження кількості цинку в клітинах на 40% (P < 0,001).

Вміст магнію в панкреатичних клітинах В у контрольних тварин дорівнював 1,3±0,09 ум.од. Кількість цього металу в клітинах підвищувалась на 23% після введення сульфатів цинку (P < 0,05) й магнію (P < 0,01). Призначення солі міді призводило до зниження рівня магнію в В-інсулоцитах щурів на 23% (P < 0,01).

У В-клітинах панкреатичних острівців щурів контрольної групи вміст інсуліну становив 1,6±0,12 ум.од. Сульфат цинку та сульфат магнію викликали підвищення вмісту гормону в клітинах на 31% (P < 0,05; P < 0,01). При введенні солі міді спостерігалося зниження кількості інсуліну на 56% (P < 0,001).

Отже, сполуки цинку та магнію викликали підвищення рівня цукру в крові та вмісту інсуліну в В-клітинах, що вказує на гальмування секреторної активності В-клітин. Активізація процесів секреції в В-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 В, 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 сульфату міді щурам призводило до зниження внутрішньоклітинного вмісту обох металів, що вказує на наявність мембранлабілізуючого ефекту у міді, внаслідок чого, на наш погляд, активується секреторна активність В-клітин.

При порівнянні даних таблиць 1 і 2 звертає на себе увагу однотипний характер змін вмісту цинку, магнію та секреторного матеріалу в гранулоцитах крові та підшлункової залози, що підтверджує існуюче припущення про наявність між цими клітинами функціонального зв’язку та значення внутрішньоклітинного цинку у формуванні депо секрету за аналогією з острівцевими В-клітинами.

ВИСНОВКИ

1. Уведення сульфатів цинку та магнію викликало у щурів гіперглікемію, накопичення цинку, магнію й секреторного матеріалу в гранулоцитах крові, цинку, магнію й інсуліну – у панкреатичних клітинах В, що свідчить про пригнічення секреторної активності цих клітин.
2. Призначення сульфату міді тваринам цього виду призводило до падіння рівня усіх досліджених показників, що вказує на активацію секреції зернистих лейкоцитів і В-інсулоцитів.
3. Отримані дані свідчать про синергічний характер взаємовідношень внутрішньоклітинних цинку й магнію, антагоністичні взаємини – цинку й міді.
4. Однотипний характер змін вмісту металів і секреторного матеріалу в гранулоцитах крові та підшлункової залози вказує на наявність між цими клітинами функціонального зв'язку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Визначення вмісту цинку та інсуліну в клітинах при різному функціональному стані інсулярного апарату / Т.В. Берегова, Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2007. – Т.53, №4. – С. 100 -104.
2. Гутаревич Г.О. Участь мікроелементів у регуляції вуглеводного обміну людини / Г.О. Гутаревич, С.О. Щербак // Ендокринологія. – 2002. – Т.7, №1. – С.133.
3. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология) / [Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С.] – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
4. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / Скальный А.В. – М.: Оникс 21 век, 2004. – 216 с.
5. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии / Соколовский В.В. – Л.: Медицина, 1971. – 172 с.
6. Хейхоу Ф. Гематологическая цитохимия / Ф. Хейхоу, Д. Кваглино. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.
7. Хімічні елементи і речовини в організмі у нормі та в патології: укр-рос. довідник / Ф.О. Чмиленко, Т.С. Чмиленко, Ю.С. Сапа та ін. – Д.: Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2006. – 216 с.
8. Чекман И.С. Магний в медицине / Чекман И.С., Горчакова Н.А., Николай С.Я. – Кишинев: Штиинца, 1992. –100 с.
9. Berger A. What does zinc do? / A. Berger // BMJ. – 2002. – Vol.325, №7372. – P.1059.
10. Copper-zinc superoxide dismutase activity in healthy and inflamed human dental pulp / G. Varvarra, T. Traini, P. Esposito [at al.] // Int. Endod. J. – 2005. – Vol.38, №3 – P. 195-199.
11. Development of an automated protein – tyrosine phosphatase inhibition assay and the screening of putative inculin – enhancing vanadium (IV) and zinc(II) complexes / A.P. Seale., L.A. de Jesus, C.J. Kim [at al.] // Biotechnol. Lett. – 2005. – Vol.27, №4. – P.221 – 225.
12. Prasad A.S. Neutrophill zinc an indicator of zinc status in man / A.S. Prasad // Trans. Assoc. Amer. Physicians. – 1982. - Vol.95. – P. 165-176.
13. Tonyz R.M. Magnesium in clinical medicine / R.M. Tonyz // Front Biosci. – 2004.- Vol.9. - P. 1278-1293.

14. Tudor R. Zinc in health and chronic disease / R. Tudor, P.D. Yalewski, R.N. Ratnaike // J. Nutr. Health Aging. – 2005. - Vol.9, №1. – P. 45-51.

15. Wolff F.I. Chemistry and biochemistry of magnesium / F.I. Wolff, A. Cittadini. // Mol. Aspects Med. – 2003. – Vol.24. - P. 3-9.

УДК 616.825:546.47

ВМІСТ ЦИНКУ В КЛІТИНАХ ГІПОТАЛАМО-ГІПОФІЗАРНОЇ СИСТЕМИ ПРИ РІЗНОМУ ЇЇ ФУНКЦІОНАЛЬНОМУ СТАНІ

Єщенко Ю.В., к.б.н., доцент

Запорізький національний університет

Досліджували вміст цинку в клітинах гіпофізу та гіпоталамусу щурів при іммобілізації, голодуванні, введенні дексаметазону та аміналону. Показано, що активація гіпоталамо-гіпофізарної системи супроводжується зниженням, а пригнічення – підвищенням концентрації цього металу в клітинах.

Ключові слова: аміналон, гіпоталамус, гіпофіз, голодування, дексаметазон, іммобілізація, цинк

Ещенко Ю.В. СОДЕРЖАНИЕ ЦИНКА В КЛЕТКАХ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РАЗНОМ ЕЁ ФУНКЦИОНАЛЬНОМ СОСТОЯНИИ / Запорожский национальный университет, Украина.

Исследовали содержание цинка в клетках гипофиза и гипоталамуса при иммобилизации, голодании, введении дексаметазона и аминалона. Показано, что активация гипоталамо-гипофизарной системы сопровождается снижением, а угнетение – повышением концентрации этого металла в клетках.

Ключевые слова: аминалон, гипоталамус, гипофиз, голодание, дексаметазон, иммобилизация, цинк.

Eshchenko J.V. ZINC CONTENT IN THE CELLS OF HYPOTHALAMO-PITUITARY SYSTEM UNDER IT'S VARIOUS STATE / Zaporizhzhya national university, Ukraine.

Zinc content was investigated in the cell of rat pituitary and hypothalamus under immobilization, fasting, dexamethazone and aminalone administration. It was shown, that activation of hypothalamo-pituitary system was accompanied by decrease and it's inhibition – by increase of this metal content in the cells.

Key words: aminalone, dexamethazone, fasting, hypothalamus, immobilization, pituitary, zinc

ВСТУП

Цинк є життєво важливим мікроелементом в організмі [1–3]. Він визначається в нейронах гіпоталамусу та клітинах гіпофізу [6]. Однак не було вивчено вплив факторів, що змінюють функціональний стан гіпоталамо-гіпофізарної системи (ГГС) на вміст цинку в цих клітинах. Головною причиною цього є недосконаліть відомих методів виявлення цинку в даних клітинах (низька активність, неможливість отримувати стабільні та порівняльні результати, проводити кількісне визначення цинку). Таких недоліків позбавлений використаний нами метод, заснований на застосуванні цитохімічної реакції 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ).

Мета роботи: вивчення вмісту цинку в клітинах ГГС при стані їх підвищеної активності, а також при пригніченні її функції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідах було використано 57 щурів, серед яких були контрольні (інтактні) тварини, а також тварини, яких піддавали іммобілізації, голодуванню та які отримували дексаметазон і аміналон. Іммобілізували щурів прив'язуванням їх до станка за допомогою м'яких пов'язок. Тривалість іммобілізації – 6 год. Голодували тварини впродовж 1 доби. Дексаметазон уводили в дозі 0,1 мг/кг, аміналон – у кількості