

4. Порівняльні дослідження цинку в гранулоцитах крові, панкреатичних острівців і тонкої кишки / Н.В. Григорова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] // Вісник Запорізького національного університету. Серія: фізико-математичні науки, біологічні науки. Зб. наук. пр. – Запоріжжя: ЗНУ, 2005. – №1. – С. 79-82.
5. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии / В.В. Соколовский –Л.: Медицина, 1971. – 172 с.
6. Хейхоу Ф. Гематологическая цитохимия / Ф. Хейхоу, Д. Кваглино. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.
7. Chausmer A. B. Zinc, insulin and diabetes / A. B. Chausmer // J. Am. Coll. Nutr. – 1998. – Vol.17, N 2. – P. 109-115.
8. Development of an automated protein – tyrosine phosphatase inhibition assay and the screening of putative inulin – 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.
9. Mechanisms of stabilization of the insulin hexamer allosteric ligand interactions / S. Rahuel-Clermont, C. A. French, N. C. Kaarsholm [at al.] // Biochemistry. – 1997. – Vol. 36, N 19. – P.5837-5845.
10. Mutation of active site residues of insulin degrading enzyme alters allosteric interactions / E.S.Song, A.Daily, M.G. Fried [at al.] // J.Biol. Chem. – 2005. – №3. – P. 175-179.
11. Okamoto K. Submicroscopic histochemical demonstration of intracellular reactive zinc in beta cells of pancreatic islets / K. Okamoto, T. Kawanishi // Endocrinol. Jap. – 1966. – Vol.13. – P.305-318.
12. Rosenfeld L. Insulin: discovery and controversy / L. Rosenfeld // Clin. Chem. – 2002. – Vol.48, №12. – P. 2270-2288.

УДК 616.379-008.64:546.47:599.323.4

ДІАБЕТОГЕННА АКТИВНІСТЬ ДИТИЗОНУ У ТВАРИН РІЗНИХ ВИДІВ

Григорова Н.В., к.б.н., доцент, Єщенко Ю.В., к.б.н., доцент, Гороховський Є.Ю., аспірант,
Бовт В.Д., д.б.н., професор, Карпов А.К., аспірант, Єщенко В.А., д.м.н., професор

Запорізький національний університет

При введенні дитизону в кролів розвивається виражений діабет, в мишей, золотистих та китайських хом'яків – легкий діабет, а в щурів відмічається прихований діабет.

Ключові слова: глікемія, діабет, дитизон, інсулін, панкреатичні острівці, цинк.

Григорова Н.В., Єщенко Ю.В., Гороховський Є.Ю., Бовт В.Д., Карпов А.К., Єщенко В.А. ДИАБЕТОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ДИТИЗОНА У ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ ВИДОВ / Запорожский национальный университет, Украина

При введении дитизона у кроликов развивается перманентный диабет, у мышей, золотистых и китайских хомячков – лёгкий диабет, а у крыс отмечается скрытый диабет.

Ключевые слова: гликемия, диабет, дитизон, инсулин, панкреатические островки, цинк

Grigorova N.V., Eshchenko J.V., Gorohovsky E.J., Bovt V.D., Karpov A.K., Eshchenko V.A. DITHIZONE DIABETOGENIC ACTIVITY IN ANIMALS OF VARIOUS SPECIES / Zaporizhzhya national university, Ukraine

Under dithizone injection a permanent diabetes developed in rabbits, light diabetes developed in mice, golden and chinese hamsters, but in rats latent diabetes observed

Key words: diabetes, dithizone, glycemia, insulin, pancreatic islands, zinc

ВСТУП

Цинк виконує дуже важливі функції в організмі [4, 7]. Більш 200 металоензимів є цинковмісними ферментами [11, 15, 16]. Цей метал підтримує інтегральну структуру та функцію біомембран [12, 13]. В інсулінпродукуючих клітинах В акумулюється значна кількість цинку, який виявляється за допомогою цитохімічних реакцій [2-4]. У таких клітинах гормон утворює комплекс з даним металом: два іони цинку здатні зв'язувати шість молекул інсуліну, у результаті чого складається гексамер, що акумулюється всередині секреторних гранул В-клітин [1-4, 7].

Вміст цього металу в клітинах залежить від інкреторної функції підшлункової залози: пригнічення даної функції при голодуванні викликає підвищення концентрації цинку в В-клітинах, і, навпаки, підсилення

секреторної активності останніх супроводжується зниженням концентрації в них даного металу [6, 9, 10].

Можна припустити, що блокування цинку в В-інсулоцитах викликає порушення їх інкреторної функції та розвиток недостатності інсулярного апарата.

Уведення кролям хелатуючого агента дитизону викликало розвиток перманентного діабету, який характеризується вибіркоким пошкодженням панкреатичних клітин В та розвитком гіперглікемії. Цей агент заслуговує особливої уваги, тому що здатний утворювати хелатний комплекс із цинком. Існує припущення, що діабет розвивається внаслідок блокування дитизоном цинку в панкреатичних клітинах В.

Мета цієї роботи – порівняльні дослідження діабетогенної активності дитизону у тварин різного виду. Особливий інтерес заслуговують дослідження в хом'ячків, панкреатичні островці яких найбільш схожі з такими в людини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідах були використані 8 кролів, 12 мишей, 15 щурів, 10 золотистих та 9 китайських хом'ячків. Дитизон вводили внутрішньовенно та внутрішньочеревинно в дозі 50-100 мг/кг. Розчин для ін'єкцій готували таким чином. У колбочку наливали 30 мл дистильованої води, 06 мл 25% розчину гідроксиду амонію, додавали 400 мг дитизону. Суміш перемішували на водяній лазні (70°) впродовж 10 хв, потім фільтрували через беззольний фільтр. Отриманий при цьому 1% водно-аміаковий розчин реагенту вводили тваринам. У тварин до та після ін'єкції визначали рівень цукру в крові. Забивали їх декапітацією через 5 діб після введення дитизону.

Для цитохімічного визначення цинку використовували високоселективну люмінесцентну реакцію 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ). Шматочки підшлункової залози фіксували впродовж 12 годин у холодному (4°C) ацетоні, потім проводили їх через два ксилоли (по 15 хв у кожному), суміші 50% ксилолу та 50% парафіну (30 хв при 40°C), два рідкі парафіни (по 1,5 год у кожному при 56°C) та заливали в парафін. Парафінові зрізи 5-10 мкм завтовшки витримували по 3-6 хв у двох ксилолах та спиртах. Потім на зрізи наносили 0,01% ацетоновий розчин 8-ТСХ, зрізи промивали в дистильованій воді, замикали в желатин та досліджували під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1, ЖС-18). На препаратах у цитоплазмі В-інсулоцитів визначали гранули, які люмінесціювали жовто-зеленим світлом.

Для цитохімічного визначення інсуліну шматочки підшлункової залози фіксували впродовж 24 год у рідині Буена (суміші нейтрального формаліну, пікринової та оцтової кислоти). Потім шматочки проводили через спирти зростаючої міцності (70°, 80°, 90°, 96°, 100° - по 4 год у кожному), через 2 ксилоли, суміш ксилолу та парафіну, рідкі парафіни та заливали в парафін, як вказано вище. Парафінові зрізи 5-10 мкм завтовшки витримували у двох спиртах, дистильованій воді, потім – в окислювачі (суміші розчинів перманганату калію та сірчаної кислоти), відновлювачі (розчині щавлевої кислоти), дистильованій воді, 0,25% спиртовому розчині альдегідфуксину, солянокислому спирті, водопровідній воді. Потім зрізи проводили через спирти та ксилоли до бальзаму. На препаратах у цитоплазмі В-інсулоцитів визначали синьо-фіолетові гранули, кількість яких у клітинах – показник вмісту в них гормону інсуліну.

На препаратах, забарвлених альдегідфуксином, підраховували кількість В-клітин в островцях. Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-ТСХ та альдегідфуксину в панкреатичних клітинах оцінювали за трибальною системою, яка рекомендована В.В. Соколовським [5], Ф. Хейхоу і Д. Квагліно [6]. Підраховували середню арифметичну ($\bar{x}$), похибку (m), показник вірогідності (P).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У таблиці 1 наведені дані глікемії до та після ін'єкції дитизону.

Таблиця 1 — Цукор крові у контрольних та тих, що отримали дитизон кролів, мишей, золотистих, китайських хом'ячків та щурів ($\bar{x} \pm m$)

Група тварин	Цукор крові, ммоль/л		
	до введення дитизону	після введення дитизону	P
Кролі	5,8±0,32	20,1±0,98	<0,001
Миші	6,6±0,41	10,5±0,43	<0,001
Золотисті хом'ячки	7,1±0,54	10,2±1,58	<0,05
Китайські хом'ячки	7,0±0,51	10,0±1,46	<0,05
Щури	5,7±0,25	6,3±0,37	>0,05

У контрольних (інтактних) тварин середня глікемія складала $5,8 \pm 0,32$ ммоль/л (кролі), $6,6 \pm 0,41$ ммоль/л (миші), $7,1 \pm 0,54$ (золотисті хом'ячки), $7,0 \pm 0,5$ ммоль/л (китайські хом'ячки), $6,7 \pm 0,25$ (щурі). Після введення дитизону глікемія була підвищена в кролів на 246% ($P < 0,001$), мишей – 59% ($P < 0,001$), золотистих хом'ячків – на 44% ($P < 0,005$), китайських хом'ячків – на 10% ($P > 0,05$).

У таблиці 2 наведені дані визначень числа В-клітин в острівцях у контрольних та таких, що отримали дитизон, тварин.

Таблиця 2 – Кількість клітин В в острівцях у контрольних кролів, мишей, золотистих, китайських хом'ячків, щурів та таких, що отримали дитизон ($\bar{x} \pm m$)

Група тварин	Кількість клітин в острівцях		
	до введення дитизону	після введення дитизону	P
Кролі	$32 \pm 0,8$	$9 \pm 0,6$	$< 0,001$
Миші	$45 \pm 1,8$	$22 \pm 1,2$	$< 0,001$
Золотисті хом'ячки	$40 \pm 1,6$	$18 \pm 0,8$	$< 0,001$
Китайські хом'ячки	$37 \pm 1,5$	$15 \pm 0,7$	$< 0,001$
Щури	$40 \pm 1,4$	$38 \pm 1,2$	$> 0,05$

У кролів дитизон викликав зменшення кількості В-клітин в острівцях на 72% ($P < 0,001$), у мишей – на 51% ($P < 0,001$), золотистих хом'ячків – на 55% ($P < 0,001$), китайських хом'ячків – на 59% ($P < 0,001$). У щурів кількість клітин суттєво не відрізнялась від контрольних.

Таким чином, у кролів дитизон викликав різке скорочення числа В-інсулоцитів, у мишей та хом'ячків – менш визначене, у щурів число клітин практично не змінювалося.

У таблиці 3 наведені дані досліджень впливу дитизону на вміст інсуліну в острівцях.

Таблиця 3 – Інтенсивність цитохімічної реакції альдегідфуксину в панкреатичних клітинах В контрольних кролів, мишей, золотистих та китайських хом'ячків, щурів та таких, що отримали дитизон ($\bar{x} \pm m$)

Група тварин	Цукор крові, ммоль/л		
	до введення дитизону	після введення дитизону	P
Кролі	$1,3 \pm 0,09$	$0,2 \pm 0,01$	$< 0,001$
Миші	$1,4 \pm 0,11$	$1,0 \pm 0,08$	$< 0,001$
Золотисті хом'ячки	$1,3 \pm 0,08$	$1,0 \pm 0,06$	$< 0,001$
Китайські хом'ячки	$1,4 \pm 0,10$	$1,1 \pm 0,07$	$< 0,001$
Щури	$1,4 \pm 0,12$	$1,1 \pm 0,18$	$< 0,05$

У контрольних (інтактних) кролів інтенсивність реакції альдегідфуксину в В-клітинах острівців складала $1,3 \pm 0,09$ ум. од., у мишей – $1,4 \pm 0,11$ ум. од., золотистих хом'ячків – $1,4 \pm 0,10$ ум. од., щурів – $1,4 \pm 0,12$ ум. од. При введенні дитизону вміст інсуліну в клітинах був знижений на 85% ($P < 0,001$), мишей – на 23% ($P < 0,01$), золотистих хом'ячків – на 23% ($P < 0,001$), китайських хом'ячків – на 21% ($P < 0,01$), щурів – на 21% ($P < 0,05$).

Таким чином, найбільша дегрануляція В-інсулоцитів спостерігалася при введенні дитизону у кролів. У решти видів тварин вона була слабка.

У таблиці 4 наведені дані визначення цинку в В-клітинах панкреатичних острівців у тварин різних видів, які отримали дитизон.

Таблиця 4 – Інтенсивність цитохімічної реакції 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну в панкреатичних клітинах В контрольних кролів, мишей, золотистих та китайських хом'ячків, щурів та таких, що отримали дитизон ($\bar{x} \pm m$)

Група тварин	Цукор крові, ммоль/л		
	до введення дитизону	після введення дитизону	P
Кролі	1,8±0,14	0,4±0,03	<0,001
Миші	1,9±0,13	1,4±0,12	<0,001
Золотисті хом'ячки	1,5±0,09	1,0±0,06	<0,001
Китайські хом'ячки	1,4±0,11	1,0±0,07	<0,001
Щури	0,6±0,05	0,9±0,02	<0,05

У контрольних (інтактних) кролів інтенсивність реакції 8-ТСХ в В-інсулоцитах складала 1,8±0,14 ум. од., у мишей – 1,9±0,13 ум. од., золотистих хом'ячків – 1,5±0,09 ум. од., китайських хом'ячків – 1,4±0,4 ум. од., щурів – 0,6±0,03 ум. од. При введенні дитизону вміст цинку в клітинах був знижений у кролів на 78% (P<0,001), мишей – на 26% (P<0,01), золотистих хом'ячків – на 33% (P<0,01), китайських хом'ячків – на 29% (P<0,01), щурів – на 17% (P<0,05).

Таким чином, дефіцит цинку в В-клітинах при введенні дитизону був найбільшим у кролів та найменшим у щурів.

Отже, діабетогенна дія дитизону виражена в кролів, у мишей та хом'ячків розвивається легкий діабет, а в щурів спостерігається латентний діабет.

Цей агент може бути використаний для моделювання різних за ступенем важкості форм недостатності інсулярного апарату підшлункової залози.

ВИСНОВКИ

1. Введення дитизону викликало розвиток гіперглікемії у кролів, мишей, хом'ячків, а у щурів відмічалася нормоглікемія.
2. Кількість В-інсулоцитів була скорочена у всіх видів тварин, крім щурів.
3. Дитизон викликав зменшення вмісту цинку та інсуліну в клітинах В острівців, причому найбільш виражені зміни спостерігалися у кролів, найменш виражені – у щурів.
4. Діабетогенна активність дитизону найбільш виражена у кролів, менш виражена у мишей та хом'яків, в той час як у щурів розвивався прихований діабет.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И. Диабетология. – М.: Медицина, 2000. – 671 с.
2. Вивчення вмісту цинку та інсуліну в острівцевих 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.
3. Гольдберг Е.Д. Сахарный диабет. Этиологические факторы / Е.Д. Гольдберг, В.А. Ещенко, В.Д. Бовт – Томск: Изд-во ТГУ, 1993. – 136 с.
4. Ещенко В.А. Гистохимические исследования цинка / В.А. Ещенко // Цитология. – 1978. - №8. – С. 927-933.
5. Журова М.В. Цитологические основы образования и секреции инсулина в панкреатических бета-клетках / М.В. Журова, В.В. Полторак // Пробл. эндокринологии. – 1980. – Т. 26, №4. – С. 72-74.
6. Малько М.М. Метаболизм цинку в клітинах при фізичних навантаженнях, іммобілізації та алкоголізації // М.М. Малько / Вісник ЗДУ. – 1998. - №1. – С. 123-125.
7. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология) / А.П. Авцын, Л.А. Жаворонков, М.А. Риш [и др.]. – Москва: Медицина, 1991. – 446 с.
8. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии / В.В. Соколовский – Ленинград: Медицина, 1971. – 172 с.

9. Торопцев И.В. Экспериментальный дитизоновый диабет / И.В. Торопцев, В.А. Ещенко – Томск: ТГУ, 1975. – 135 с.
10. Торопцев И.В. Инкреторная функция поджелудочной железы / И.В. Торопцев, В.А. Ещенко. – Томск: ТГУ, 1981. – 137 с.
11. Хейхоу Ф. Гематологическая цитохимия / Ф. Хейхоу, Д. Кваглино. – Москва: Медицина, 1981. – 320.
12. Bettger W.J. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes / W.J. Bettger, B.L. O'Dell // Life Sci. – 1981. – Vol. 28. – P. 1425-1438.
13. Bray T.M. The physiological role of zinc as an antioxidant / T.M. Bray, W.J. Bettger // Free Radic. Biol. Med. – 1990. – Vol. 8, №3. – P. 282-292.
14. Eason R.A. Beta-granule transport and exocytosis / R.A. Eason // Scien. Cell. Dev. Biol. – 2000. – Vol. 11. – P. 253-266.
15. Parkin G. Syntetic analogs of zinc enzymes / G. Parkin // Med. Ions. Biol. Syst. – 2001. – Vol. 38. – P. 411-460.
16. Vallee B.L. The biochemical basis of zinc physiology / B.L. Vallee, K.N. Falchuk // Physiol. Rev. – 1993. – Vol. 73. – P. 79-118.

УДК 612.43:591.147

ВМІСТ ЦИНКУ В ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВІ ТА В-ІНСУЛОЦИТАХ ЛЮДЕЙ І ТВАРИН РІЗНИХ ВИДІВ ПРИ ВВЕДЕННІ АДРЕНАЛІНУ, ПРЕДНІЗОЛОНУ, ПІЛОКАРПІНУ

Григорова Н.В., к.б.н., доцент, Єщенко Ю.В., к.б.н., доцент, Карпов А.К., аспірант,
Гороховський Є.Ю., аспірант, Бовт В.Д., д.б.н., професор, Єщенко В.А., д.м.н., професор.

Запорізький національний університет

У людей та тварин різного виду визначався вміст цинку в гранулоцитах крові та В-інсулоцитах. При введенні адреналіну та преднізолону концентрація цинку в клітинах і підвищувалась, а введенні пілокарпіну - навпаки, знижувалась. Спостерігалася позитивна кореляція змін вмісту цинку в обох видах клітин.

Ключові слова: адреналін, В-інсулоцити, гранулоцити крові, пілокарпін, преднізолон, цинк

Григорова Н.В., Єщенко Ю.В., Карпов А.К., Гороховський Е.Ю., Бовт В.Д., Єщенко В.А. СОДЕРЖАНИЕ ЦИНКА В ГРАНУЛОЦИТАХ КРОВИ И В-ИНСУЛОЦИТАХ ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ ВИДОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ АДРЕНАЛИНА, ПРЕДНИЗОЛОНА, ПИЛОКАРПИНА / Запорожский национальный университет, Украина

У людей, и животных разных видов определялось содержание цинка в гранулоцитах крови и В-инсулоцитах. При введении адреналина и преднизолон концентрация цинка в клетках повышалась, а введении пилокарпина – наоборот, снижалась. Наблюдалась положительная корреляция изменений содержания цинка в обоих видах клеток.

Ключевые слова: адреналин, В-инсулоциты, гранулоциты крови, пилокарпин, преднизолон, цинк

Grigorova N.V., Eshchenko J.V., Karpov A.K., Gorohovsky E.J., Bovt V.D., Eshchenko V.A. ZINC CONTENT IN BLOOD GRANULOCYTES AND B-INSULOCYTES OF VARIOUS ANIMAL SPECIES UNDER ADRENALINE, PREDNISOLONE, PYLOCARPINE INJECTION / Zaporizhzhya national university, Ukraine
Zinc content in blood granulocytes and B-insulocytes was detected in men and various species of animals. Zinc concentration in the cells increased after adrenaline and prednisolone injection and decreased on the contrary after pylocarpine injection. A positive corelation was observed between zinc content changes in both cell species.

Key words: adrenaline, B-insulocytes, blood granulocytes, prednisolone, pylocarpine, zinc

ВСТУП

У деяких органах та тканинах міститься цитохімічно виявляємий цинк [1-4], фізіологічне значення якого недостатньо вивчено. Значна кількість цього металу визначається в гранулоцитах крові та панкреатичних клітинах В [1, 2]. Показано, що при гострому стресі вміст цинку в цих клітинах підвищений, а при хронічному – навпаки, знижений [1]. Механізм таких коливань цинку в клітинах недостатньо вивчений. Можна гадати, що такі зміни вмісту цинку в клітинах пов'язані з функціональним станом наднирників.