

**В. А. Єщенко, В. Д. Бовт, М. М. Малько,  
А. В. Прохвятилова, О. М. Кучковський**

## **Вміст цинку в панкреатичних острівцях і гіпокампі при дії фізіологічних і надзвичайних подразників**

*Содержание цинка в клетках панкреатических островков и гиппокампе исследовалось с помощью высокочувствительной селективной реакции 8-(п-толуолсульфониламино)-хинолина. Показано, что факторы, стимулирующие секреторную активность В-инсулоцитов, вызывают уменьшение концентрации в них цинка. Повышение содержания цинка в этих клетках наблюдалось в случаях угнетения их секреторной активности. Экстремальные факторы вызвали двухфазные изменения концентрации цинка в панкреатических островках и гиппокампе.*

### **Вступ**

У літературі є дані про значення гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи в нейрогуморальних механізмах стресу [2]. Разом з тим роль інсулярного апарату та гіпокампа в адаптаційних реакціях організму вивчена недостатньо. Дослідження вмісту цинку в інсулоцитах і гіпокампі при екстремальних впливах допомагають у вивченні цієї проблеми. Цинк необхідний для активності великої кількості металоензимів [6, 7, 9, 11–14], підтримання стабільності клітинних мембран [5, 6]. У клітинах панкреатичних острівців і нейронах гіпокампа цинк акумулюється у високих концентраціях [1, 7]. Показано, що цитохімічні реакції на цей метал можуть бути індикатором функціонального стану клітин [1]. Для визначення вмісту цинку в інсулоцитах і гіпокампі нами була використана високочутлива селективна реакція на цей метал 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ).

### **Методика**

Експерименти проведено на 135 мишах. Тварини голодували в гострих дослідах упродовж 12 год, а в хронічних 2–3 доби. У дослідах з фізичним навантаженням миші плавали протягом 1 год в акваріумі з температурою води 32 °С. Для іммобілізації тварин на 6 год прив'язували м'якими пов'язками до станка в положенні «на спині». У хронічних дослідах ці процедури повторювали щодобово впродовж 10 діб. В окремих серіях мишам вводили 10 г/кг глюкози внутрішньом'язово, 0,05 мг/кг адреналіну внутрішньовенно та 1 мг/кг пілокарпіну підшкірно.

У тварин за життя брали кров з хвоста для визначення вмісту цукру. Тварин декапітували по закінченні терміну голодування, через 1 добу після останнього впливу багатократним фізичним навантаженням та іммобілізацією, через 1–2 год після введення речовин, через 2 год з початку однократного фізичного навантаження та по закінченні однократної іммобілізації.

© В. А. Єщенко та ін.

Після декапітації у мишей брали головний мозок і підшлункову залозу. З мозку готували заморожені зрізи товщиною 30–60 мкм. Шматочки залози фіксували в холодному (4 °С) ацетоні впродовж 12 год для цитохімічного визначення вмісту цинку, а також у рідині Буена протягом 24 год для визначення специфічної зернистості В-клітин. Після фіксації в ацетоні шматочки через ксилоли доводили до парафіну, а при фіксації в рідині Буена попередньо витримували у спиртах зростаючої концентрації. Парафінові зрізи готували товщиною 5–10 мкм.

Зрізи головного мозку та підшлункової залози, обробляли впродовж 1 хв 0,01 %-м ацетоновим розчином 8-ТСХ. На препаратах цинк виявлявся за наявності в цитоплазмі клітин гранул, які люмінесціювали жовто-зеленим світлом. На зрізах підшлункової залози, які забарвлювали альдегідфуксином, в цитоплазмі В-клітин виявлялася синьо-фіолетова зернистість – показник вмісту в них інсуліну.

Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-ТСХ і альдегідфуксину оцінювали в умовних одиницях за бальною системою, яка була запропонована Соколовським [3], а також Хейхоу і Квагліно [9]. За один бал приймали слабопозитивну, два бали – помірну, три бали – виражену інтенсивність реакції.

### Результати та їх обговорення

Вміст цукру в крові контрольних (інтактних) мишей становив  $6,2 \text{ ммоль/л} \pm \pm 0,38 \text{ ммоль/л}$ . При дослідженні головного мозку цинк виявлявся в ділянці зубчатої фасції, полях СА4, СА3 і СА2 амонова рогу. Поле СА2 світилося слабо, а поле СА1 – зовсім не люмінесціювало. Для порівняння вмісту цинку у тварин різних груп користувалися результатами визначення інтенсивності люмінесценції поля СА3.

В табл. 1 наведено результати досліджень інсулярного апарату підшлункової залози при гострому впливі надзвичайних подразників, а також введенні

**Таблиця 1. Глікемія, інтенсивність цитохімічних реакцій альдегідфуксину та 8-ТСХ у В-інсулоцитах мишей при гострому впливі екстремальних факторів і введенні адреналіну та глюкози ( $M \pm m$ )**

Група тварин	Вміст цукру в крові, ммоль/л	Інтенсивність реакції, ум. од.	
		альдегідфуксину	8-ТСХ
Інтактні тварини (n = 12)	6,2±0,38	1,2±0,09	2,0±0,14
Тварини, які голодували (n = 11)	4,8±0,24***	1,5±0,08***	2,7±0,18**
Тварини, яких піддавали фізичному навантаженню (n = 16)	8,2±0,43*	1,5±0,10***	2,6±0,18**
Тварини, яких піддавали іммобілізації (n = 15)	6,8±0,42**	1,7±0,11**	2,6±0,15**
Тварини, яким вводили адреналін (n = 13)	8,3±0,51*	1,6±0,10**	2,5±0,16**
Тварини, яким вводили глюкозу (n = 11)	17,3±2,05*	0,9±0,18***	1,4±0,11**

P\* < 0,001, P\*\* < 0,01, P\*\*\* < 0,05.

глюкози й адреналіну. Голодування викликало зниження вмісту цукру в крові, а також накопичення інсуліну та цинку в В-клітинах панкреатичних острівців. Ці зміни можна пояснити припиненням надходження в організм вуглеводів і пригніченням інкреторної функції інсулярного апарату. Введення глюкози, специфічного стимулятора секреції інсуліну, викликало розвиток у тварин гіперглікемії та зменшення вмісту інсуліну і цинку в досліджуваних клітинах.

Однократне фізичне навантаження та іммобілізація збільшували вміст цукру в крові, а також підвищували інтенсивність цитохімічних реакцій альдегідфуксину та 8-ТСХ в В-інсулоцитах. Подібні ж зміни спостерігалися при введенні тваринам адреналіну.

У інтактних мишей інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ в гіпокампі становила  $1,9 \pm 0,08$ . Однократне фізичне навантаження та іммобілізація підвищували вміст цинку в гіпокампальних клітинах на 32 і 37 %. Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ при цьому становила  $2,5 \pm 0,17$  ( $P < 0,05$ ) і  $2,6 \pm 0,21$  ( $P < 0,01$ ) відповідно. Подібні зміни вмісту цинку в гіпокампі спостерігалися при введенні адреналіну (інтенсивність реакції 8-ТСХ становила  $2,5 \pm 0,19$ ;  $P < 0,05$ ). Ці результати свідчать про можливий функціональний зв'язок гіпокампа та інсулярного апарату підшлункової залози.

При хронічному впливі екстремальних факторів у всіх досліджуваних групах тварин відзначалася схильність до гіпоглікемії. Однак істотна відмінність від норми простежувалася лише при голодуванні та введенні пілокарпіну. У мишей, які піддавалися хронічному впливу надзвичайних подразників, зменшувалася концентрація інсуліну, а також вміст цинку в панкреатичних острівцях (табл. 2). Ці результати можна пояснити зниженням активності симпато-адреналової системи та переважанням парасимпатичної нервової системи.

Подібні зміни вмісту цинку при хронічних екстремальних впливах спостерігалися в гіпокампі (див. табл. 2). Результати досліджень можуть бути додатковим підтвердженням функціонального зв'язку гіпокампу та інсулярного апарату підшлункової залози.

**Таблиця 2. Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ у В-інсулоцитах і гіпокампі у мишей при хронічному впливі екстремальних факторів та введенні пілокарпіну ( $M \pm m$ )**

Група тварин	Вміст цукру в крові, ммоль/л	Інтенсивність реакції, ум. од.	
		В-інсулоцити	Гіпокамп
Інтактні тварини (n = 12)	$6,2 \pm 0,38$	$2,0 \pm 0,14$	$1,9 \pm 0,08$
Тварини, які голодували (n = 10)	$3,9 \pm 0,22^*$	$1,2 \pm 0,13^*$	$1,1 \pm 0,09^*$
Тварини, яких піддавали фізичному навантаженню (n = 16)	$5,7 \pm 0,31$	$1,4 \pm 0,15^*$	$1,3 \pm 0,11^*$
Тварини, яких піддавали іммобілізації (n = 17)	$5,5 \pm 0,36$	$1,5 \pm 0,13^{***}$	$1,4 \pm 0,14^{***}$
Тварини, яким вводили пілокарпін (n = 14)	$4,3 \pm 0,22^*$	$1,3 \pm 0,16^*$	$1,2 \pm 0,10^*$

Отже, екстремальні фактори викликають фазні зміни вмісту цинку в клітинах (фази підвищення та зниження концентрації в них цього металу). Враховуючи антиоксидантні властивості цинку [4, 5], розвиток першої фази слід розглядати як захисну реакцію. Друга фаза пов'язана з пригніченням інкреторної функції надниркових залоз і переважанням парасимпатичної нервової системи та свідчить про послаблення адаптаційних можливостей клітин.

**V. A. Eshchenko, V. D. Bovt, M. M. Malko, A. V. Prohvatilova,  
O. M. Kuchkovsky**

**CELL ZINC METABOLISM IN PANCREATIC ISLETS  
AND HIPPOCAMPUS ON THE ACTION OF PHYSIOLOGICAL  
AND EXTREME IRRITANTS**

Zinc content in pancreatic islet cells and hippocampus was studied with the aid of highly sensitive selective cytochemical reaction of 8-(p-toluensulfonylamino)-quinoline. It was shown that the factors stimulating B-insulocyte secretory activity induced the decrease of this metal concentrations in the cell. An increase of these cells zinc content observed in the cases of their secretory activity inhibition. The extreme irritants induced two phase changes of zinc concentrations in pancreatic islets and hippocampus.

*Zaporozhye State University*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. *Єщенко В.А.* Гистохимическое исследование цинка // Цитология. — 1978. — №8. — С. 927-933.
2. *Панин Л.Е.* Биохимические механизмы стресса. — Новосибирск: Наука, 1983. — 234 с.
3. *Соколовский В.В.* Гистохимические исследования в токсикологии. — Л.: Медицина, 1971. — 172 с.
4. *Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д.* Гематологическая цитохимия: Пер. с англ. — М.: Медицина, 1983. — 319 с.
5. *Bettger W.J., O'Dell L.L.* A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes // Life Sci. — 1981. — **28**. — P. 1405-1438.
6. *Bray T., Bettger W.J.* The physiological role of zinc as an antioxidant // Free Radic. Biol. Med. — 1990. — **8**. — P. 281-291.
7. *Chausmer A.B.* Zinc, insulin and diabetes // J. Am. Coll. Nutr. — 1998. — **17**. — P.109-115.
8. *Fabris N.* Zinc, nervous system and aging // Aging (Milano). — 1997. — **9**. — P. 28-29.
9. *Gibson R.S.* Zinc: a critical nutrient in growth and development // N. Z. Med. J. — 1998. — **111**. — P. 63-64.
10. *Huang E.P.* Metal ions and synaptic transmission: think zinc // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — **94**. — P. 13386-13387.
11. *Thurnbam D.J.* Micronutrients and immune function: some recent developments // J. Clin. Pathol. — 1997. — **50**. — P. 887-891.
12. *Szerdahelyi P., Kasa P.* Histochemistry of zinc and copper // Intern. Rev. Cythol. — 1984. — **89**. — P. 1-33.
13. *Vallee B.L.* Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology // Biofactors. — 1988. — **1**. — P. 31-36.
14. *Vallee B.L., Auld D.S.* Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other proteins // Biochemistry. — 1990. — **19**. — P. 5647-5659.

*Запоріж. ун-т*

*Матеріал надійшов до редакції 18.09.98*