

- 14 Qian W.J., Gee K.R., Kennedy R.T. Imaging of Zn<sup>2+</sup> release from pancreatic B-cells at the level of single exocytotic events // *Anal.Chem.*, 2003. – Vol. 75, - № 14. – P. 3468 – 3475.
- 15 Rahuel-Clermont S., French C.A., Kaarsholm N.C., Dunn M.F., Chon C.I. Mechanisms of stabilization of the insulin hexamer through allosteric ligand interactions // *Biochemistry*, 1997. – Vol.36, - №19. – P.5837 –5845.
- 16 Rorsman P., Renström E. Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells // *Diabetologia*, 2003. – Vol.46, - №8. – P.1029 – 1045.
- 17 Rosenfeld L. Insulin: discovery and controversy // *Clin.chem.*, 2002. – Vol.48, - №12. – P.2270 – 2288.
- 18 Seale A.P., de Jesus L.A., Kim S.J., Choi J.H., Lim H.B., Hwang C.S., Kim J.S. Development of an automated protein – tyrosine phosphatase 1 B inhibition assay and the screening of putative insulin – enhancing vanadium (IV) and zinc (II) complexes // *Biotechnol. Lett.*, 2005. – Vol. 27, - №4. – P. 221 – 225.
- 19 Song E.S., Daily A., Fried M.G., Juliano M.A., Juliano L., Hersh L.B. Mutation of active site residues of insulin degrading enzyme alters allosteric interactions // *J.Biol.Chem.*, 2005. – №3. – P.175 – 179.
- 20 Yamada S., Komatsu M., Sato Y., Yamanichi K.Y., Kojuma I., Aizawa T., Hashizume K. Time-dependent stimulation of insulin exocytosis by 3', 5' – cyclic adenosine monophosphate in the rat islet beta-cell // *Endocrinology*, 2002. – Vol.143, - №11. – P.4203- 4209.

**Grigorova N.V.**

## **ZINC, MAGNESIUM AND INSULIN DETERMINATION IN PANCREATIC ISLETS IN VARIOUS KINDS OF ANIMALS**

In various kinds of animals (men, dogs, cats, rats, rabbits, mice, hamsters, guinea pigs, lizards and pigeons) zinc, magnesium and insulin content was investigated in pancreatic islets. In experiments on mice and rats the influence was studied of starvation and glucose load on these components content in insulin-producing cells. Data obtained indicate possible role of zinc and magnesium in pancreas incretory function.

Надійшла 17.10.2005 р.

УДК 669.5:61

**Н. В. Григорова, Ю. В. Єщенко,  
В. Д. Бовт, В. М. Омелянчик, В. А. Єщенко**

Запорізький національний університет,  
вул. Жуковського, 66,  
м. Запоріжжя, ГСП-41, 69600

## **ВМІСТ МЕТАЛІВ У В-ІНСУЛОЦИТАХ У МИШЕЙ І ЩУРІВ ПРИ ГІПОФУНКЦІЇ ОСТРІВЦЕВОГО АПАРАТУ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ**

*Алоксан, інсулін, магній, миші, острівцевий апарат, цинк, щури.*

В організмі людини та тварин важливу роль відіграють метали цинку і магній [9, 12, 16, 17, 22]. Саме від них залежить активність багатьох ферментів [14, 17, 18, 21]. Вони підтримують інтегральну структуру та функцію біомембран [7, 13, 19, 23]. При дії факторів, які пошкоджують клітини, порушується активність у них ферментів [2, 5, 6, 8, 10, 11, 15, 20, 23] і, відповідно, функція біомембран.

Алоксан призводить до вибіркового пошкодження інсулінпродукуючих клітин [1]. У зв'язку з цим, дослідження впливу даного агента на вміст основних компонентів β-клітин острівців – інсуліну,

цинку та магнію є важливою проблемою. Важливо також прослідкувати, як змінюється вміст цих компонентів у тварин різних видів, які отримали алоксан, інсулін, цинк і магній.

## Матеріал і методика досліджень

У дослідях використано 97 мишей і 75 щурів. Гіпофункцію інсулярного апарату викликали введенням тваринам алоксану підшкірно в дозі 200-400 мг/кг. В окремій серії досліджень білі нелінійні безпородні миші та щурі отримували перорально 10 мг/кг ацетату цинку та 200 мг/кг сульфату магнію через 1 добу і щоденно протягом чотирьох останніх діб після ін'єкції алоксану. У ці самі строки тваринам вводили підшкірно інсулін у дозі 20 ОД/кг. Мишей і щурів забивали декапітацією через 5 діб після ін'єкції алоксану і через добу після останнього введення солей цинку і магнію, а також інсуліну.

У тварин брали на дослідження шматочки підшлункової залози. Заморожені розтини завтовшки 30-60 мкм використовували для цитохімічного визначення магнію. Парафінові розтини завтовшки 5-10 мкм готували з фіксованих шматочків тканин.

Для цитохімічного виявлення магнію використовували люмінесцентно-темнопольову мікроскопію. Для цього в люмінесцентному мікроскопі встановлювали конденсор темного поля. Заморожений розтин одночасно розглядали у світлі люмінесценції і темному полі зору. Для активації люмінесценції застосовували світлофільтр ФС-1, як захисний (окулярний) використовували світлофільтр із скла ЖС-18. Цитохімічну реакцію на магній отримували методом заморожених розтинів протягом 0,5–1 хвилини 0,01% спиртовим розчином хлортетрацикліну (ХТЦ), промиванням їх протягом 5 хвилин дистильованою водою, замиканням у гліцерин і наступною мікроскопією.

Для цитохімічного виявлення цинку шматочки органів фіксували в холодному ацетоні (+4 °С) протягом 12 годин, проводили через 2 розчини ксилололу (по 15 хвилин у кожному) і заливали в парафін. Парафінові розтини опрацювали в двох розчинах ксилолу (по 3 хвилин у кожному). Згодом, на розтини наносили по декілька крапель 0,01% ацетонового розчину 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ), через 1 хвилину їх промивали протягом 5 хвилин дистильованою водою та замикали гліцерин. Розтини розглядали під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1 і ЖС-18). На препаратах цинк виявляли в цитоплазмі інсулоцитів за жовто-зеленою люмінесценцією.

Шматочки підшлункової залози також фіксували протягом однієї доби в рідині Буена (суміш 15 мл пікринової кислоти, 10 мл формаліну, 1 мл оцтової кислоти). Потім їх зневоднювали витриманням у 70°, 80°, 90°, 96°-ному і абсолютному спиртах – по 4 години у кожному. Зневоднені шматочки проводили через ксилоли, суміш ксилолу з парафіном, рідкі парафіни, як охарактеризовано вище, та заливали в парафін.

Для цитохімічного виявлення інсуліну депарафіновані розтини підшлункової залози, фіксовані у рідині Буена, опрацювали окислювачем (до порудіння) та відновником (до знебарвлення), промиванням дистильованою водою (5 хвилин) і забарвлювали протягом 6 хвилин розчином альдегідфуксину.

Як окислювач використовували суміш: 1 частини 2,5% розчину перманганату калію, 1 частину 5% розчину сірчаної кислоти та 4 частини дистильованої води. Відновником слугував 2,5% розчин щавлевої кислоти.

Робочий розчин альдегідфуксину готували наступним чином: 250 мг альдегідфуксину розчиняли в 25 мл 70° спирту, після чого додавали 75 мл 70° спирту та 1 мл льодяної оцтової кислоти.

Забарвлені розтини промивали протягом 1 хвилини 96° спиртом, промивали водопровідною водою (5 хвилин), заключали в гліцерин-желатин і розглядали в світловому мікроскопі. На препаратах у цитоплазмі панкреатичних  $\beta$ -клітин виявляли синьо-фіолетову зернистість – показник вмісту інсуліну в клітинах.

Інтенсивність цитохімічних реакцій оцінювали за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським [3] і Ф. Хейхоу, Д. Квагліно [4]. Середні величини ( $\bar{X}$ ) встановлювали на підставі підрахунку в 100 клітинах. Підраховували також похибку (m) і показник вірогідності (p).

## Результати дослідження та їх обговорення

У панкреатичних острівцях мишей і щурів основну центральну частину складають інсулінпродукуючі  $\beta$ -клітини, по периферії розташовані у вигляді облямівки глюкогонпродукуючі  $\alpha$ -клітини.

Введення алоксану призвело до різкого скорочення кількості  $\beta$ -клітин, внаслідок чого острівці зменшувались в розмірах, стали деформованими. Зустрічались також дрібні острівці, що

# ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

складаються виключно з  $\alpha$ -інсулоцитів.

При забарвленні 8-ТСХ виявляли в цитоплазмі  $\beta$ -клітин цинк, кількість якого знижувалась при діабеті. Подібні зміни спостерігаються також з боку магнію, що виявлявся в цих клітинах за допомогою ХТЦ, а також при забарвленні альдегідфуксином. Введення інсуліну, суміші солей цинку та магнію дещо поліпшувало картину: вміст трьох компонентів у  $\beta$ -клітинах підвищувався.

У таблиці 1 наведені дані, отримані при дослідженні острівців Лангерганса у мишей.

Таблиця 1.

Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-ТСХ, ХТЦ і альдегідфуксину в панкреатичних  $\beta$ -клітинах у мишей при вимиканні функції інсулярного апарату підшлункової залози та введенні цинку, магнію, інсуліну ( $\bar{X} \pm m$ )

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум.од.		
	8-ТСХ	ХТЦ	альдегідфуксин
Інтактні тварини (n=17)	1,9±0,15	1,3±0,12	1,2±0,09
Тварини, які отримали алоксан (n=63)	0,7±0,06***	0,4±0,04***	0,3±0,05***
Тварини, які отримали алоксан, цинк і магній (n=17)	1,1±0,09*** ###	0,7±0,07*** ###	0,6±0,05*** ###
Тварини, які отримали алоксан та інсулін (n=14)	1,0±0,08*** #	0,8±0,06*** ###	0,8±0,07*** ###

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$  у порівнянні з контролем; # -  $p < 0,05$ ; ### -  $p < 0,001$  у порівнянні з алоксановими тваринами.

У інтактних тварин вміст цинку, магнію, інсуліну складав у  $\beta$ -клітинах  $1,9 \pm 0,15$  ум.од.;  $1,3 \pm 0,12$  ум.од.;  $1,2 \pm 0,09$  ум.од. відповідно. При введенні алоксану кількість цинку в цих клітинах знижена на 63%, магнію – на 69%, інсуліну – на 75%. У випадку призначення суміші солей двох металів отримували цифри 42%, 46% і 50%. Подібні результати були отримані також при введенні інсуліну (47%, 58%, 33%).

У інтактних щурів вміст цинку, магнію та інсуліну в панкреатичних  $\beta$ -клітинах складав  $0,5 \pm 0,07$  ум.од.;  $1,3 \pm 0,10$  ум.од.;  $1,5 \pm 0,13$  ум.од. відповідно (табл. 2).

Таблиця 2.

Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-ТСХ, ХТЦ і альдегідфуксину в панкреатичних  $\beta$ -клітинах у щурів при вимиканні функції інсулярного апарата підшлункової залози та введенні цинку, магнію, інсуліну ( $\bar{X} \pm m$ )

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум.од.		
	8-ТСХ	ХТЦ	альдегідфуксин
1	2	3	4
Інтактні тварини (n=16)	0,5±0,07	1,3±0,10	1,5±0,13
Тварини, які отримали алоксан (n=44)	0,2±0,04***	0,2±0,03***	0,1±0,03***

# ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

1	2	3	4
Тварини, які отримали алоксан, цинк і магній (n=15)	0,3±0,02 <sup>*</sup> <sub>#</sub>	0,6±0,04 <sup>***</sup> <sub>###</sub>	0,4±0,05 <sup>***</sup> <sub>###</sub>
Тварини, які отримали алоксан та інсулін (n=12)	0,3±0,03 <sup>*</sup> <sub>#</sub>	0,5±0,04 <sup>***</sup> <sub>###</sub>	0,5±0,03 <sup>***</sup> <sub>###</sub>

Примітка: \* - p < 0,05; \*\*\* - p < 0,001 у порівнянні з контролем; # - p < 0,05; ### - p < 0,001 у порівнянні з алоксановими тваринами.

Призначення алоксану призвело до зменшення кількості цинку на 80%, магнію – 85%, інсуліну – 97%. При введенні щурам суміші солей цинку та магнію отримані дані склали 70%, 54%, 73%, відповідно. Введення інсуліну супроводжувалось подібними результатами: 70%, 62%, 67%.

Отже, отримані дані мають значний інтерес з точки зору можливого використання суміші солей цинку та магнію як пероральних антидіабетичних засобів.

## Висновки

1. Вимикання функції панкреатичних β-клітин ін'єкціями алоксану супроводжується зниженням у них цинку, магнію та інсуліну.
2. Часткову корекції цих змін викликає введення тваринам з алоксановим діабетом суміші солей цинку та магнію, чи інсуліну.
3. Результати досліджень вказують на можливий зв'язок у панкреатичних β-клітинах усіх трьох компонентів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Гольдберг Е.Д., Бовт В.Д., Ещенко В.А. Сахарный диабет. Этиологические факторы. – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1993. – 136 с.
2. Гуревич К.Г. Нарушения обмена микроэлементов // Вопр. биол., мед. и фарм. химии, 2002. - № 2. – С. 7-14.
3. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии. – Л.: Медицина, 1971. – 172 с.
4. Хейхоу Ф., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.
5. Alveres-Mon M. Behaviour of zinc in physical exercise: a special reference to immunity and fatigue // Biobehav. Rev. – 1995. – Vol. 19, - N 3. – P. 439-445.
6. Cordova A., Navas F. J., Escanero J. E. The effect of exercise and zinc supplement on the hematological parameters in rats // Biol. Trace Elem. Res. – 1993. – Vol. 39, N 1 – P. 13-20.
7. Ferment O., Touitou J. Magnesium: metabolism and hormonal regulation in different species //Comp.Biochem.Physiol. J.,1985.–Vol.82,-№ 4 – P. 753-758.
8. Gurrero-Romero F., Rodriguez-Moran M. Low serum magnesium levels and metabolic syndrome //Acta Diabetol., 2002. – Vol. 39, - № 4. – P. 209-213.
9. Huerta M.G., Roemmich J.N., Kington M.L., Bovbjerg V.E., Weltman A.L., Holmes V.F., Patric J.T., Rogol A.D., Nadles J.L. Magnesium deficiency is associated with insulin resistance in obese children //Diabetes Care, 2005. – Vol. 28, - № 5. – P. 1175-1178.
10. Laires M.J., Monteiro C.P., Bicho M. Role of cellular magnesium in health and human disease //Front Biosci., 2004. – Vol. 9. – P. 262-276.
11. Mendez D.R., Corbett R., Macias C., Laptook A. Total and ionized plasma magnesium concentrations in children after traumatic brain injury //Pediatr. Res., 2005. – Vol. 57, - № 3. – P. 347-352.
12. Murek H. Magnesium and affective disorders //Nutr. Neurosci., 2002. – Vol. 5, - № 6. – P. 375-389.
13. Shabala S., Hariadi Y. Effect of magnesium availability on the activity of plasma membrane ion transporters and light-induced responses from bean leaf mesophyl //Plant, 2005. – Vol. 221, – № 1. – P. 56-65.

14. Shin S.J., Lee H.S., Kwon S.T., Kwak S.S. Molecular characterization of a cDNA encoding copper/zinc superoxide dismutase from cultured cells of *Manihot esculenta* //Plant Physiol. Biochem., 2005. – Vol. 43, - № 1. – P. 55-60.
15. Tonz R.M. Magnesium in clinical medicine //Front Biosci., 2004. – Vol. 9. – P. 1278-1293.
16. Tudor R., Zalewsky P.D., Ratnoike R.N. Zinc in health and chronic disease //J. Nutr. Health. Aging, 2005. – Vol. 9, № 1. – P. 45-51.
17. Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology //Biofactors, 1988. – Vol. 1. – P. 31-36.
18. Vallee B.L., Auld D.S. Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other proteins //Biochemistry, 1990. – Vol. 29. - № 4. – P. 5647-5659.
19. Varvarra G., Traini T., Esposito P., Caputi S., Perinetti G. Copper-zinc superoxide dismutase activity in healthy and inflamed human dental pulp //Int. Endod. J., 2005. – Vol. 38, - № 3. – P. 195-199.
20. Vormann J. Magnesium: nutrition and metabolism //Mol. Aspects Med., 2003. – Vol. 24, - № 1-3. – P. 27-37.
21. Williams R.J. Metallo-enzyme catalysis //Chem. Commun, 2003. - № 10. – P. 1109-1113.
22. Wolf F.I., Cittadini A. Chemistry and biochemistry of magnesium //Mol. Aspects Med., 2003. – Vol. 24, - № 1-3. – P. 3-9.
23. Yakoyama T., Oono H., Miyamoto A., Shiguro S., Mihio A. Magnesium-deficient medium enhances NO production in alveolar macrophages isolated from rats //Live Sci., 2003. – Vol. 72, - № 11. – P. 1247-1257.

**Grigороva N.V., Eshchenko J.V., Bovt V.D.,  
Omelyanchik V.M., Eshchenko V.A.**

### **METALS CONTENT IN $\beta$ -INSULOCYTES OF MICE AND RATS UNDER INSULAR APPARATUS HIPOFUNCTION AND IT'S CORRECTION**

In experiments on mice and rats it was shown that zinc, magnesium and insulin content decreases under insular apparatus hypofunction, induced by alloxan injection. These changes were loosened in the cases of subsequent giving zinc and magnesium mixture and also insulin.

Надійшла 08.12.2005 р.

УДК 669.5:61

**Н. В. Григорова, К. П. Миргородська,  
Ю. В. Єщенко, В. Д. Бовт, В. А. Єщенко**

Запорізький національний університет  
вул. Жуковського, 66,  
м. Запоріжжя, ГСП-41, 69600

### **ВПЛИВ ФІЗИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ НА ВМІСТ ЦИНКУ ТА ІНСУЛІНУ В КЛІТИНАХ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ**

*Вікові відмінності, інсулін, клітини, фізичне навантаження, цинк*

Цинк є важливим мікроелементом в організмі [1, 3, 4, 10, 16, 18]. Від нього залежить активність багатьох металоензимів [11, 12, 14, 16 - 18]. Цинк підтримує інтегральну структуру клітинних мембран [8 - 10, 15, 18]. Під впливом екстремальних факторів здійснюються зміни