

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. Tonyz 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.

Grigorova N.V., Eshchenko J.V., Bovt V.D.,
Omelyanchik V.M., Eshchenko V.A.

METALS CONTENT IN β -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 мембрани [8 - 10, 15, 18]. Під впливом екстремальних факторів здійснюються зміни

ферментативної активності та проникності мембрани в клітинах [5]. Тому певний інтерес викликає питання, як при дії вказаних факторів змінюється вміст цинку в клітинах.

Раніш було показано [3] в дослідах на мишиах, що при багаторазовому фізичному навантаженні знижується вміст цинку в клітинах. У цій роботі були проведені дослідження з використанням щурів різного віку. Найбільша частина робіт, присвячених визначенням цинку в клітинах, відноситься до клітин В панкреатичних острівців [4]. Відомо, що два йони цинку спроможні зв'язати шість молекул інсуліну [10, 13]. Гексамер, який утворюється при цьому, вірогідно, акумулюється в секреторних гранулах вказаних клітин [2, 10]. Для вирішення цього питання нами були проведені порівняльні дослідження вмісту цинку та інсуліну в клітинах при різних експериментальних станах, які змінюють секреторну активність клітин В панкреатичних острівців. Такими станами, зокрема, були вікові фактори та фізичне навантаження. Для порівняння нами проводилися дослідження цинку в інших секреторних клітинах (нейрони гіпокампа, клітини Панета та передміхурової залози) при дії цих факторів.

Матеріал і методика досліджень

Дослідження були проведені на 82 щурах. Молодими тваринами слугували щурі у віці 3 місяців, дорослими – 6 місяців, старими – 24 місяців і більш. У дослідах із фізичним навантаженням тварин поміщали в акваріум з температурою води 32° С, де вони плавали протягом 1-2 год. У хронічних дослідах таку процедуру повторювали щоденно протягом 10 днів.

Забивали щурів декапітацією через 2 год після останнього фізичного навантаження. На дослідження брали головний мозок, підшлункову залозу, тонку кишку, передміхурову залозу.

Для цитохімічного визначення цинку в гіпокампі із головного мозку готували заморожені зрізи 30-60 мкм завтовшки. На зрізи наносили по декілька крапель 0,01%-вого ацетонового розчину 8-TCX. Через 1-5 хв зрізи промивали дистильованою водою та замикали у гліцерин. На препаратах цинк визначали по жовто-зеленій люмінесценції у зубчастій фасції та полях CA2-CA4 амонова рога. Для збудження люмінесценції використовували світлофільтр ФС-1, в якості захисного (окулярного) застосовували світлофільтр зі скла ЖС-18.

Для цитохімічного визначення цинку в підшлунковій залозі, тонкій кишці, передміхуровій залозі шматочки цих органів фіксували в холодному ацетоні (4° С) протягом 12 год, потім витримували у двох ксилолах (по 15 хв у кожному), суміші 50% ксилолу та 50% парафіну (30 хв при 40° С), двох рідких парафінах (по 1,5 год у кожному при 56° С) та заливали у парафін. Парафінові зрізи готували 5-10 мкм завтовшки. Депарафінували їх витримуванням у двох ксилолах (по 3 хв у кожному), двох 96% спиртах. Зрізи забарвлювали розчином 8-TCX і розглядали у люмінесцентному мікроскопі, як вказано вище у випадку зі зрізами головного мозку. На препаратах люмінесценцію визначали в клітинах панкреатичних острівців, базальних відділів кишкових крипт (клітинах Панета), кінцевих відділів передміхурової залози.

Для цитохімічного визначення інсуліну, шматочки підшлункової залози фіксували в рідині Буена (суміші нейтрального формаліну, пікринової та оцтової кислоти) протягом 24 год. Потім зрізи проводили через серію спиртів зростаючої концентрації (70°-ний, 80°-ний, 90°-ний, 100°-ний – по 4 год у кожному), два ксилоли, суміші ксилолу та парафіну, два рідких парафіну та заливали в парафін, як вказано вище.

Депарафінували зрізи витримуванням їх у двох ксилолах (по 3 хв у кожному), спиртах падаючої концентрації (100°-ний, 96°-ний, 90°-ний, 80°-ний, 70°-ний – по 3 хв у кожному), водопровідній воді (5 хв). Потім проводилась обробка зрізів до порудіння окислювачем (сумішшю перманганату калію та сірчаної кислоти), знебарвлення їх відновником (розчином щавлевої кислоти), промивка дистильованою водою (5 хв). Зрізи забарвлювали альдегідфуксином протягом 6 хв. Барвник готували розчиненням 0,25 г альдегідфуксина в 100 мл 70°-ного спирту, в якій було добавлено 1 мл крижаної оцтової кислоти.

Зрізи забарвлювали у закритій посудині, потім їх виймали з неї, обробляли 96°-ним спиртом, промивали впродовж 5 хв у водопровідній воді, замикали в гліцерин-желатин. На препаратах у цитоплазмі панкреатичних В-клітин виявляли синьо-фіолетові гранули – показник вмісту в клітинах інсуліну.

Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-TCX та альдегідфуксина оцінювали за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським [6], а також Ф.Хейхоу і Д. Квагліно [7].

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

Результати дослідження та їх обговорення

У контрольних (дорослих) щурів вміст у В-інсулінатах цинку складав $0,5 \pm 0,03$ ум. од, інсуліну – $1,5 \pm 0,12$ ум. од. У молодих інтактних тварин у порівнянні з контролем вміст цинку в В-клітинах був нижче на 20%, інсуліну – на 27%.

У дорослих стресованих щурів концентрації цинку в клітинах були знижені на 40%, інсуліну – на 33%. У молодих стресованих тварин отримані цифри відповідно 60% та 47%.

Таблиця 1.

Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-TCX та альдегідфуксину в В-інсулінатах у молодих щурів при фізичному навантаженні ($\bar{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум. од.	
	8-TCX	альдегідфуксину
Контроль (дорослі інтактні) (n=17)	$0,5 \pm 0,03$	$1,5 \pm 0,12$
Молоді інтактні (n=14)	$0,4 \pm 0,02^{**}$	$1,1 \pm 0,07^{**}$
Дорослі стресовані (n=15)	$0,3 \pm 0,02^{***}$	$1,0 \pm 0,05^{***}$
Молоді стресовані (n=12)	$0,2 \pm 0,01^{***}$ ###	$0,8 \pm 0,06^{***}$ ##

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ в порівнянні з контролем; ## - $p < 0,01$; ### - $p < 0,001$ в порівнянні з дорослими стресованими щурами

Ці дані вказують про те, що у молодих щурів вміст цинку та інсуліну в клітинах нижче, ніж у дорослих. Фізичне навантаження викликає такі ж зміни, причому вони у молодих щурів у порівнянні з дорослими тваринами більш виражені.

У старих інтактних щурів вміст цинку в панкреатичних клітинах В був знижений на 40%, інсуліну – на 33%, що вказує на подібність змін у порівнянні з молодими тваринами. У старих стресованих щурів був знижений вміст у цих клітинах цинку на 60%, інсуліну – 53%.

Таблиця 2.

Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-TCX та альдегід фуксину в панкреатичних клітинах В у старих щурів при фізичному навантаженні ($\bar{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум. од.	
	8-TCX	альдегідфуксину
Контроль (дорослі інтактні) (n=17)	$0,5 \pm 0,03$	$1,5 \pm 0,12$
Старі інтактні (n=13)	$0,3 \pm 0,01^{***}$	$1,0 \pm 0,06^{***}$
Дорослі стресовані (n=15)	$0,3 \pm 0,02^{***}$	$1,0 \pm 0,05^{***}$
Старі стресовані (n=11)	$0,2 \pm 0,02^{***}$ ###	$0,7 \pm 0,05^{***}$ ##

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ в порівнянні з контролем; ## - $p < 0,01$ в порівнянні з дорослими стресованими щурами

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

Ці зміни нагадують спостерігаємі у стресованих молодих тварин. Порівнянно з дорослими щурами, які зазнавали фізичного навантаження, у старих стресованих тварин вміст цинку в острівцевих В-клітинах був нижче на 43%, а інсуліну - на 30%.

У контрольних (інтактних) щурів вміст цинку складав $2,0 \pm 0,15$ ум. од. у гіпокампі, $2,1 \pm 0,16$ ум. од. - у кишці, $1,9 \pm 0,14$ ум. од. - у передміхуровій залозі. У молодих інтактних тварин концентрація цього металу була нижче, ніж у контролі, на 30% в гіпокампі, 38% - у кишці, 47% - у простаті. Фізичне навантаження викликало у дорослих щурів зменшення вмісту цинку на 40% у гіпокампі, 33% - у кишці, 37% - у передміхуровій залозі. У молодих стресованих тварин концентрація цього металу була зниженою відповідно на 55%, 52% та 53%. В цьому випадку в порівнянні з дорослими стресованими щурами вміст цинку був знижений на 25% у гіпокампі, 29% - у кишці, 25% - у передміхуровій залозі.

Таблиця 3.

Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-TCX у гіпокампі, тонкої кишці, передміхурової залозі у молодих щурів при фізичному навантаженні ($\bar{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум. од.		
	гіпокамп	кишка	простата
Контроль (дорослі інтактні) (n=17)	$2,0 \pm 0,15$	$2,1 \pm 0,16$	$1,9 \pm 0,14^{***}$
Молоді інтактні (n=14)	$1,4 \pm 0,08^{***}$	$1,3 \pm 0,4^{***}$	$1,0 \pm 0,06^{***}$
Дорослі стресовані (n=15)	$1,2 \pm 0,09^{***}$	$1,4 \pm 0,10^{***}$	$1,2 \pm 0,08^{***}$
Молоді стресовані (n=12)	$0,9 \pm 0,06^{***}$ ###	$1,0 \pm 0,06^{***}$ #	$0,9 \pm 0,05^{***}$ ##

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ в порівнянні з контролем;
- $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$; ### - $p < 0,001$ в порівнянні з дорослими стресованими щурами

Таким чином, у гіпокампі, кишці, простаті молодих щурів міститься менше цинку, ніж у дорослих тварин. Стресові впливи викликають ще більше зниження концентрації цинку в клітинах.

У старих інтактних щурів вміст цинку був знижений на 25% у гіпокампі, 28% - у кишці, 53% - у простаті. При фізичному навантаженні у старих щурів концентрація цього металу була знижена на 50% в гіпокампі, 48% - у кишці, 47% - у передміхуровій залозі. У таких тварин у порівнянні з дорослими стресованими щурами вміст цинку був нижче на 23% у гіпокампі, 22% - у кишці, 20% - у простаті.

Таким чином, вміст цинку та інсуліну змінюється східним характером при різних експериментальних станах, що вказує на можливий зв'язок цих двох компонентів в В-клітинах панкреатичних острівців. Дефіцит цинку у молодих тварин можна пояснити підвищеною потребою в цьому металі, необхідному для росту та розвитку організму. У старих щурів дефіцит цинку в клітинах пояснюється підсиленням катаболічних процесів в організмі. Стресові впливи викликають більш виражені порушення метаболізму цинку у молодих та старих, ніж у дорослих тварин. Відмінності вмісту цинку в клітинах у молодих та старих тварин можна також пояснити відносною недостатністю у них надниркових залоз.

Таблиця 4.

Інтенсивність цитохімічних реакцій 8-TCX в гіпокампі, тонкої кишці, передміхурової залозі у старих щурів при фізичному навантаженні ($\bar{X} \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум. од.		
	гіпокамп	кишка	простата
1	2	3	4

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

1	2	3	4
Контроль (дорослі інтактні) (n=17)	$2,0 \pm 0,15$	$2,1 \pm 0,16$	$1,9 \pm 0,14^{***}$
Старі інтактні (n=13)	$1,5 \pm 0,12^*$	$1,3 \pm 0,10^{***}$	$0,9 \pm 0,05^{***}$
Дорослі стресовані (n=15)	$1,2 \pm 0,09^{***}$	$1,4 \pm 0,10^{***}$	$1,2 \pm 0,08^{***}$
Старі стресовані (n=11)	$1,0 \pm 0,07^{***}$	#	$1,1 \pm 0,09^{***}$
		#	#
			#

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ в порівнянні з контролем; # - $p < 0,05$ в порівнянні з дорослими стресованими щурами

Висновки

- У молодих, старих та стресованих фізичним навантаженням щурів вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах В був знижений.
- У молодих та старих щурів, які підлягали фізичному навантаженню, вміст цинку та інсуліну в клітинах В нижче, ніж у дорослих стресованих щурів.
- Дефіцит цинку в В-інсулоцитах супроводжувався зниженням вмісту цього металу в інших видах клітин та у тварин різного віку.

ЛІТЕРАТУРА

- Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология). – М.: Медицина, 1991.– 496 с.
- Балаболкин М.И. Диабетология.– М.: Медицина, 2000.– 671 с.
- Берегова Т.В., Єщенко Ю.В. Зміни вмісту цинку в клітинах при різних функціональних станах інсулярного апарату підшлункової залози // Вісник ЗДУ, 2003.- №1.– С. 112-116.
- Ещенко В.А. Гистохимическое исследование цинка // Цитология, 1978.– Т. 20,- №8. – С. 927 – 933.
- Панин Л.Е. биохимические механизмы стресса.-Новосибирск: Наука, 1983.-233 с.
- Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии. – Л.: Медицина, 1971. – 172 с.
- Хейхоу Ф., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия.–М.: Медицина, 1983.–320 с.
- Bettger W.T., O'Dell B.L. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes // Life Sci.,1981. – Vol. 28. – P. 1425 – 1438.
- Bray T.M., Bettger W.J. The physiological role of zinc as an antioxidant // Free Radic. Biol. Med., 1990. – Vol. 8, №3. – P. 281 – 291.
- Chausmer A.B. Zinc, insulin and diabetes // J. Coll. Nutr., 1998. – Vol.17,-№2. – P. 109 – 115.
- Furner A.J. Exploring the structure and function of zinc metallopeptidase: old enzymes and new discoveries // Biochem. Soc. Frans. – 2003. – Vol. 31,- Pt 3. – P. 723 – 727.
- Parkin G. Synthetic analogs of zinc enzymes // Met. Ions Biol. Syst., 2001. – Vol.38. – P. 411 – 460.
- 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.
- Tan X., Bramlett M.R., Lindahe P.A. Effect of Zn on acetyl coenzyme A synthase: evidence for a conformational change in the alpha subunit during catalysis //J. Am. Chem. Soc., 2004. – Vol.126,- №19. – P. 5954 – 5955.
- Toyama A., Takahashi Y., Takenchi H. Catalytic structural role of metal free histidine residue in bovine Cu – Zn superoxide dismutase //Biochemistry, 2004. – Vol.43,-№16. – P. 4670 – 4679.
- Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology // Biofactors, 1988. – Vol.1. – P. 31 – 36.
- Vallee B.L., Auld D.S. Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins// Biochemistry, 1990. – Vol.19. – P. 5647 – 5659.
- Vallee B.L., Falchuk K.H. The biochemical basis of zinc physiology // Physiol. Rev., 1993.-Vol.73,-№1.- P. 79-118.

Grigorova N.V., Mirgorodskaya K.P.,
Eshchenko J.V., Bovt V.D., Eshchenko V.A.

INFLUENCE OF PHYSICAL LOAD ON ZINC AND INSULIN CONTENT IN THE CELLS OF VARIOUS AGE RATS

Zinc and insulin content in pancreatic B-cell was decreased in young, old and stressed with physical load rats. This metal and hormone quality in those cells of young and old animals subjected to such load was lower than that in adult stressed rats. Changes of zinc concentration in mentioned cells were in accordance with insulin content changes. Zinc deficit in B-insulocytes was accompanied by this metal content decrease in other cell types of various age animals.

Надійшла 25.01.2006 р.

УДК 612.171: 612.144

Л. М. Корінчак

Уманський державний педагогічний університет
імені Павла Тичини
вул. Садова, 2, м. Умань, 20300

СЕЗОННІ ЗМІНИ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ СТУДЕНТІВ ТА ШКОЛЯРІВ

Нервова система, сила нервових процесів, розумова працездатність, обсяг уваги

Важливим етапом формування особистості майбутнього спеціаліста є роки навчання у вищому навчальному закладі. При цьому значну роль у комплексній системі навчального процесу відіграє не тільки безпосереднє навчання, але й виховання. Адже саме виховання спрямоване на формування здорового, фізично досяконалого, соціально-активного і морально стійкого підростаючого покоління. Тому зміцнення здоров'я, підвищення працездатності, продовження творчого довголіття і життя людей - це завдання, що стоять перед педагогами, науковцями та медиками.

У зв'язку з цим актуальним питанням є дослідження фізіологічних функцій людини під час різних видів діяльності, визначення адаптаційних можливостей її організму. Важливими показниками цього є стан серцево-судинної та нервової системи в учнів і студентів. Останню характеризує розумова працездатність, яка визначається концентрацією та стійкістю уваги [4].

Прогрес науки і техніки спричинює до необхідності отримання людиною значного обсягу професійних знань і великої кількості різноманітної інформації. Зріс темп життя. Все це зумовило значне навантаження не тільки на фізичний стан, але і на психічну, розумову та емоційну сфери діяльності.

Людський мозок має великі компенсаторні можливості, але виробництво випереджає еволюцію розвитку пристосувальних та емоційних реакцій людини. Тому прагнення людини більше побачити і запам'ятати створює додаткове навантаження на організм. Розумова діяльність людини супроводжується змінами функціонального стану різних органів і систем. Насамперед, збільшується потреба кисню і поживних речовин для тканин головного мозку. Розумова працездатність може змінюватися залежно від самопочуття і настрою студента, розуміння ним сенсу виконуваної роботи. Водночас, сучасність характеризується погіршенням режиму рухової активності - одного з важливих факторів виникнення межових та патологічних станів у молоді в ході навчального процесу. Одним з найбільш патогенних факторів навчального процесу є емоційний стрес у поєднанні з довготривалою гіподінамією. Такий стан, характерний для студентів та учнів упродовж навчального року, і призводить до порушень вегетативної регуляції серцево-судинної системи та гострих серцевих патологій [1; 3]. При систематичному перенапруженні нервової системи виникає перевтома, яка характеризується загальною втомлюваністю, головним болем, дратівливістю, зниженням апетиту,