

УДК: 616.379-008.64:591.437:591.11

ВПЛИВ ДІАБЕТУ ТА СТРЕСУ НА СТАН ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ І ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ ТВАРИН

Григорова Н.В., к.б.н., доцент, Головченко Т.Р., магістрант, Макуха А.В., магістрант
Запорізький національний університет, Україна, 69600, м. Запоріжжя, вул. Жуковського, 66
nvgrigorova@ukr.net, tanyaznu@gmail.com, malinka02021995@gmail.com

Робота містить дані про рівень глюкози в крові, вміст інсуліну, цинку, магнію та міді в панкреатичних β -клітинах, а також вміст цих металів і секреторного матеріалу в гранулоцитах крові після введення тваринам алоксану, адреналіну, дексаметазону та пілокарпіну, окремо та в поєднанні між собою.

Мета – вивчити вплив гормонів надниркових залоз та холіноміметика на стан панкреатичних острівців і гранулоцитів крові золотистих хом'ячків з алоксановим діабетом.

Методи. Глікемію визначали модифікованим методом Хаггедорна-Йенсена, а за допомогою цитохімічних реакцій у гранулоцитах крові встановлювали вміст цинку, магнію, міді та секреторного матеріалу, а на зрізах залози – вміст цих металів та інсуліну в панкреатичних β -клітинах тварин.

Результати та висновки. Було встановлено, що введення золотистим хом'ячком адреналіну та дексаметазону викликало в інсулоцитах і гранулоцитах крові накопичення цинку, магнію та секреторного матеріалу та зменшення вмісту в них міді. Протилежні зміни спостерігались після ін'єкції пілокарпіну. Блокування функції інсулярного апарату тварин внаслідок введення діабетогенного агента алоксану призводило до виснаження в клітинах депо цинку, магнію, секрету та значного зростання вмісту міді. Після введення гормонів надниркових залоз золотистим хом'ячкам з алоксановим діабетом у клітинах не спостерігалось суттєвих змін вмісту досліджених компонентів порівняно з контролем, але достовірне зростання в порівнянні з діабетичними тваринами кількості цинку, магнію та секреторного матеріалу та зниження вмісту міді. Під впливом холіноміметика зміни вмісту металів і секрету в інсулоцитах і гранулоцитах крові хом'ячків з діабетом мали протилежний характер.

Ключові слова: цинк, магній, мідь, діабет, стрес, панкреатичні острівці, гранулоцити крові.

ВЛИЯНИЕ ДИАБЕТА И СТРЕССА НА СОСТОЯНИЕ ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ И ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ ЖИВОТНЫХ

Григорова Н.В., к.б.н., доцент, Головченко Т.Р., магістрант, Макуха А.В., магістрант
Запорожский национальный университет, Украина, 69600, г. Запорожье, ул. Жуковского, 66

Работа содержит данные об уровне глюкозы в крови, содержание инсулина, цинка, магния и меди в панкреатических β -клетках, а также содержание этих металлов и секреторного материала в гранулоцитах крови после введения животным аллоксана, адреналина, дексаметазона и пилокарпина, отдельно и в сочетании между собой.

Цель – изучить влияние гормонов надпочечников и холиномиметика на состояние панкреатических островков и гранулоцитов крови золотистых хомячков с аллоксанового диабета.

Методы. Гликемию определяли модифицированным методом Хаггедорна-Йенсена, а с помощью цитохимических реакций в гранулоцитах крови устанавливали содержание цинка, магния, меди и секреторного материала, а на срезах железы – содержание этих металлов и инсулина в панкреатических β -клетках животных.

Результаты и выводы. Было установлено, что введение золотистым хомячком адреналина и дексаметазона вызывало в инсулоцитах и гранулоцитах крови накопления цинка, магния и секреторного материала и уменьшение содержания в них меди. Противоположные изменения наблюдались после инъекции пилокарпина. Угнетение функции инсулярного аппарата животных вследствие введения диабетогенного агента аллоксана приводило к истощению в клетках депо цинка, магния, секрета и значительному повышению содержания меди. После введения гормонов надпочечников золотистым хомячком с аллоксановым диабетом в клетках не наблюдалось существенных изменений содержания исследованных компонентов по сравнению с контролем, но установлено достоверное повышение по сравнению с диабетическими животными количества цинка, магния и

секреторного матеріала і зниження содержания міді. Под впливом холиномиметика изменения содержания металлов и секрета в инсулоцитах и гранулоцитах крови хомячков с диабетом имели противоположный характер.

Ключевые слова: цинк, магний, медь, диабет, стресс, панкреатические островки, гранулоциты крови.

THE IMPACT OF DIABETES AND STRESS ON STATE OF PANCREATIC ISLAND AND BLOOD GRANULOCYTES OF ANIMALS

Grigороva N.V., Holovchenko T.R., Makuha A.V.

Zaporizhzhya national university, Ukraine, 69600, Zaporizhzhya, Zhukovskogo Street 66

Introduction. The article contains information about level of glucose in the blood, the content of insulin, zinc, magnesium and copper in pancreatic β -cells, as well as the content of these metals and secretory material in the granulocytes of blood after administration of alloxan, adrenaline, dexamethasone and pilocarpine to the animals, separately and in combination by itself.

Aim of the study – to study the influence of adrenal hormones and cholinomimetics on the condition of pancreatic islets and granulocytes of blood of golden hamsters with alloxan diabetes.

Material and methods. Glycemia was determined by the modified Hagedorn-Jensen method, and the content of zinc, magnesium, copper and secretory material was established with the help of cytochemical reactions in granulocytes of blood, and the content of these metals and insulin in the pancreatic β -cells of animals was determined on sections of the gland.

Results and conclusions. It was established that the injection of adrenaline and dexamethasone to golden hamsters caused accumulation of zinc, magnesium and secretory material in insulinocytes and granulocytes of blood and a decrease in the content of copper in them. Opposite changes were observed after injection of pilocarpine. Blocking the function of the insular apparatus of animals due to the introduction of a diabetic agent of alloxan resulted in the depletion of zinc, magnesium, secretion depots in the cells, and a significant increase in the copper content. After administration of adrenal hormones to golden hamsters with alloxan diabetes in the cells, there was no significant change in the content of the investigated components compared to the control, but significant increase in the amount of zinc, magnesium and secretory material compared with diabetic animals and a decrease in the copper content. Under the influence of cholinomimetics, changes in the content of metals and secretion in insulinocytes and granulocytes of blood of hamsters with diabetes were directly opposite.

Injection of alloxan to golden hamsters led to the development of diabetes mellitus, which was manifested by an increasing in blood glucose levels up to 2,68 times, and in islet β -cells, a decrease in insulin content by 79 %, zinc – by 75 %, magnesium – by 73 % and an increase in copper content by 67% ($P < 0,001$). In animals that received adrenaline, the blood glucose concentration was higher than control by 66% ($P < 0,001$). Insulin, zinc and magnesium content increased by 36% ($P < 0,05$), 38 and 45% ($P < 0,01$), and copper content decreased by 50% in the β -cells ($P < 0,001$). Similar changes in glycaemia, the content of the studied hormone and metals were observed in the hamster after the injection of dexamethasone: glycaemia increased by 61% ($P < 0,001$); in pancreatic islets, insulin, zinc, and magnesium increased by 29, 31 and 36% respectively, as well as a high-yield reduction of copper content by 33%. The administration of pilocarpine, on the contrary, led to a decrease in blood glucose concentration by 42% ($P < 0,001$), in insulin-producing β -cells, the content of the hormone – by 36%, zinc – by 31%, magnesium – by 45% ($P < 0,01$) against the background of increasing the copper content by 50% ($P < 0,001$).

Injection of adrenaline to golden hamster with alloxan diabetes caused an increase in glucose levels in the blood of 3,09 times ($P < 0,001$) and a decrease in insulin, zinc and magnesium content in pancreatic islets, respectively, by 43%, 38% ($P < 0,001$), and 42 % ($P < 0,01$), increasing the copper content by 33% ($P < 0,001$) relative to the control. Compared to diabetic animals, glycaemia did not significantly change ($P > 0,05$), in islet β -cells the amount of insulin was 2,67 times higher, zinc was 2,5 times, magnesium 2,3 times ($P < 0,001$), and the copper content is lower by 20% ($P < 0,05$).

Injection of prednisolone into diabetic animals resulted in an increase in the content of sugar in the blood by 3 times ($P < 0,001$) and copper content in islet β -cells, but with a decrease in insulin, zinc and magnesium content by 50% ($P < 0,001$), 44% ($P < 0,001$) and 36% ($P < 0,001$) compared to control. Compared to the alloxan hamster, the indexes of the hormone, zinc and magnesium in insulinocytes increased respectively by 2,33, 2,25 and 2,33 times ($P < 0,001$), while the copper content decreased by 30% ($P < 0,05$).

After administration of pilocarpine to hamster with alloxan diabetes, the level of glucose in the blood was increased by 1,84 times in the blood, insulin-producing islet cells reduced the content of the hormone by 93%, zinc by 87%, magnesium by 91%, the copper content was increased by 2,16 times ($P < 0,001$). Compared to animals with alloxan diabetes, glucose concentration in blood was 31%, glucose concentration was 31%, insulin-zinc, magnesium content was 67%, 50% and 67%, respectively, and the amount of copper in them increased by 30% ($P < 0,05$).

Thus, the inhibition of secretory activity of β -cells in golden hamster in the administration of adrenaline and dexamethasone, which is characteristic for the development of acute stress reaction, which activates the sympathetic part of the nervous system and the function of the adrenal glands, was accompanied by the development of hyperglycemia, the accumulation of insulin, zinc in pancreatic islets and magnesium and a decrease in the content of copper in them. Opposite changes have been established with enhancement of secretory activity of insulocytes as a result of administration of pilocarpine, which can be considered as a sign of activation of the parasympathetic part of the nervous system and inhibition of the inactive function of the adrenal glands: development of hypoglycemia, insulin content decrease in insulin, zinc and magnesium, increase – copper. When blocking the function of the insular apparatus of animals after the injection of alloxan was established after administration of a holinomimetic, the nature of changes in the content of glucose in blood, hormones and metals in pancreatic β -cells was more pronounced.

After the administration of adrenal hormones to golden hamster with alloxan diabetes, there was a further increase in glucose levels in the blood and a partial correction of intracellular insulin, zinc, and magnesium deficiency in pancreatic islets, and an excess of copper. In diabetic animals, hypocalcemia due to cholinomimetics of pilocarpine has been shown to reduce hyperglycemia with a significant insufficiency of insulin, zinc and magnesium and a pronounced increase in copper content in pancreatic islets.

The results suggest that under the influence of alloxan in granular leukocytes, golden hamsters with a high degree of reliability reduced the content of zinc by 50%, magnesium – by 57%, secretory material – by 55%, and the content of copper increased significantly by 60%. After injection of adrenaline in the examined cells, an increase in zinc and magnesium content was detected by 50% ($P < 0,01$), secretory material by 45% ($P < 0,05$), reduction of copper content by 60% ($P < 0,001$). Similar changes were observed in the case of the use of dexamethasone hamster, with changes in the values of the indices correspondingly equal to 40% ($P < 0,01$), 43% ($P < 0,01$), 36 and 40% ($P < 0,05$). The opposite nature of the changes in the content of metals and secretion was accompanied by administration of pilocarpine to animals: reduction of zinc content by 30% ($P < 0,01$), magnesium by 29% ($P < 0,01$), secretory material by 36% ($P < 0,05$), increase of copper content by 40% ($P < 0,05$).

After administering adrenaline to golden hamster with alloxan diabetes, the content of granulocytes in blood of all the studied components did not differ significantly from the control values. Compared to diabetic animals, an increase in zinc content by 60%, magnesium by 80%, secretory material by 67% ($P < 0,01$) and a decrease in copper content by 25% ($P < 0,05$).

Insignificant changes in the content of intracellular metals and the secrecy with regard to control are also established in experiments with the administration of dexamethasone to diabetic animals. Compared to animals with alloxan diabetes, the content of zinc increased by 60%, magnesium – by 67%, secretory material – by 50%, and the content of copper decreased by 25%. In the case of pilocarpine administration in animals with alloxan diabetes, a marked deficit of zinc, magnesium and secretory material and a significant accumulation of copper in granulocytes were detected in comparison with the control: respectively, 70, 71, 64 and 100% ($P < 0,001$). In relation to diabetic animals, the values of zinc, magnesium and secretion contents were lower by 40, 33 and 33%, and the copper content was higher by 25% ($P < 0,05$).

Consequently, the administration of adrenaline and dexamethasone to golden hamster caused in blood granulocytes the accumulation of zinc, magnesium and secretory material and the reduction of copper content in them. Opposite changes (reduction of the number of the first three components and increase of the fourth level) were observed after injection of pilocarpine. The blocking of the insulatory function of animals as a result of the administration of the diabetic agent alloxane resulted in depletion of zinc, magnesium, secret secretion and significant increase in the content of copper in the cells. Studies of other authors also with diabetes have established the development of hypotension and hypomagnesemia. Increasing the content of copper in the granulocytes of diabetic blood, in our opinion, indicates a compensatory reaction in response to the activation of lipid peroxide oxidation processes. After administration of adrenal hormones to golden hamster with alloxane diabetes, there were no significant changes in the content of the components of the studied components compared to control, but the significant increase in the amount of zinc, magnesium and secretory material in comparison with diabetic animals and reduction of copper content. Under the influence of cholinomimetics of changes in the content of metals and secretion in granular leukocytes, blood of hamsters with diabetes had a completely opposite character.

Keywords: zinc, magnesium, copper, diabetes, stress, pancreatic islets, granulocytes of blood.

ВСТУП

На сьогоднішній день цукровий діабет (ЦД) – одне із найпоширеніших захворювань. Враховуючи, що дана патологія супроводжується великою кількістю ускладнень, а саме, розвитком органоспецифічних уражень багатьох органів і систем, то питання профілактики, ранньої діагностики та лікування цукрового діабету набувають особливого значення [1, 2]. За даними ВООЗ у світі зареєстровано 175 млн. хворих на цукровий діабет, а у 2025 році їх буде вже 340 млн. За останнє десятиріччя кількість хворих на ЦД в Україні стрімко зросла – з 1,8 до 2,8 %. Однак, як свідчать дослідження, їх реальна кількість щонайменше вдвічі більша, оскільки половина хворих навіть не здогадується про свою недугу. Нині в Україні від цукрового діабету страждає 1,2 млн. осіб [3].

Загальновідомо, що ЦД розвивається внаслідок дефіциту інсуліну в організмі, обумовленого пониженою його секрецією в крові або підвищеною потребою організму в зазначеному гормоні. В основі цього ендокринного захворювання лежать глибокі порушення обміну речовин, у тому числі мінерального [2-4]. На особливу увагу, на наш погляд, заслуговують дослідження в β -клітинах панкреатичних острівців вмісту цинку, магнію та міді, що відіграють важливу роль у діяльності інсулярного апарату та регуляції вуглеводного обміну [4-7]. Інсулін у секреторних гранулах панкреатичних β -клітин з іонами цинку утворює гексамери [5]. Включення цинку в інсулін пролонгує його фізіологічну дію та гіпоглікемічний стан [2-4]. Магній, з'єднуючись з інсуліном, переводить гормон в активний стан. Баланс магнію модулює трансмембранний потік глюкози в м'язи, гепатоцити, нейрони, клітини плаценти та інші енергоємні, насичені мітохондріями клітини організму, перешкоджаючи тим самим формуванню інсулінорезистентності [4, 6]. Дія міді на вуглеводний обмін полягає в пришвидшенні процесів окислення глюкози, гальмуванні розпаду глікогену в печінці, інактивації інсулінази – ферменту, який руйнує інсулін [4, 7].

Розвиток інсулінозалежного ЦД обумовлений хронічним аутоімунним запаленням острівців Лангерганса, при якому відбувається поступова деструкція та загибель інсулінпродукуючих β -клітин [2, 3]. Враховуючи той факт, що при індукції цієї аутоімунної реакції задіяні як гуморальний, так і клітинний ланцюги імунітету, представляє також інтерес визначення при діабеті вмісту цинку, магнію та міді в гранулоцитах крові – складових ланки неспецифічного імунного захисту. Самі гранулоцити в секреторних гранулах містять катіонні антимікробні білки [8]. Це вказує на необхідність визначення в клітинах крові вмісту секрету.

Організм хворого на ЦД у реальному житті зазнає впливу стресогенних факторів, що може відбитися на перебігу захворювання. Відомо, що при стресі змінюється, зокрема, функціональний стан кори надниркових залоз і автономної нервової системи [1-3]. Введення золотистим хом'ячкам з алоксановим діабетом адреналіну, дексаметазону та пілокарпіну дасть змогу змоделювати при стресовій ситуації зазначені зміни стану гормональної та нервової систем. Вибір в якості об'єкту дослідження саме цього виду лабораторних тварин не випадковий, оскільки за морфологічними характеристиками їх острівцеві тканини наближаються до людської [9].

Метою роботи було вивчити вплив гормонів надниркових залоз та холіноміметика на стан панкреатичних острівців і гранулоцитів крові золотистих хом'ячків з алоксановим діабетом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідах було використано 64 статевозрілих хом'ячка віком 5-6 міс. У всіх експериментах інтактні тварини слугували контролем, тому що після дослідження контрольної групи тварин (тварини, яким вводили фізіологічний розчин) та інтактною групи (тварини без втручання) були отримані дані, які між собою статистично не відрізнялися. Дослідження з використанням лабораторних тварин проводились згідно з вимогами ст. 26 Закону України

«Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції про захист хребетних тварин» (Страсбург, 1986) та принципів біоетики.

Діабет у тварин викликали шляхом підшкірного введення алоксану в дозі 200 мг/кг. В окремі серії експериментів тваринам з алоксановим діабетом та без нього вводили підшкірно адреналіну гідрохлорид у дозі 0,05 мг/кг, пілокарпіну гідрохлорид – у дозі 1 мг/кг і дексаметазон – внутрішньом'язово в дозі 0,1 мг/кг ваги тіла. Першу ін'єкцію речовин робили через добу після введення алоксану, наступні – щоденно впродовж 4 діб. У тварин через 5 діб після введення діабетогенної речовини, 5 діб та ще 2 год пізніше – алоксану, гормонів надниркових залоз і холіноміметика прижиттєво брали кров з вуха чи хвоста, а після забою методом декапітації – шматочки підшлункової залози.

Рівень глюкози в крові визначали модифікованим методом Хаггедорна–Йенсена та виражали в ммоль/л. Для цитохімічного виявлення інсуліну в панкреатичних β -клітинах шматочки підшлункової залози спочатку фіксували в рідині Буена впродовж 24 годин, потім доводили до парафіну і заливали в нього. Депарафіновані зрізи після процедур окислення та відновлення фарбували 0,25% спиртовим розчином альдегідфуксину. Потім зрізи диференціювали 96° спиртом, промивали у водопровідній воді та занурювали в бальзам. На препаратах у цитоплазмі панкреатичних β -клітин виявлялася синьо-фіолетова зернистість.

Для цитохімічного визначення цинку шматочки підшлункової залози фіксували протягом 12 годин в холодному ацетоні (+4°C), доводили до парафіну та заливали в нього. Депарафіновані зрізи фарбували 0,01% ацетоновим розчином 8-ТСХ протягом 1 хвилини. Після цього зрізи промивали дистильованою водою, занурювали в гліцерин і розглядали під люмінесцентним мікроскопом. Для збудження люмінесценції застосовували світлофільтр ФС-1, а в якості захисного (окулярного) використовували світлофільтр зі скла ЖС-18. На препаратах у цитоплазмі панкреатичних β -клітин виявлялася зернистість, яка люмінесціювала жовто-зеленим світлом.

Для цитохімічного визначення магнію в клітинах підшлункової залози шматочки фіксували в 70° холодному (4°C) спирті, насиченому сірководнем. Потім шматочки доводили до парафіну та заливали в нього. Парафінові зрізи 5 мкм завтовшки обробляли послідовно у двох ксилолах та спиртах. Потім флуорохромували 1% водним розчином люмомагнезону впродовж 3 годин і вивчали під люмінесцентним мікроскопом з використанням масляної імерсії (світлофільтри ФС-1 і ЖС-18). Інсулоцити давали рожеве світіння.

Заморожені зрізи підшлункової залози завтовшки 30-60 мкм фарбували впродовж 1 години 0,1 % водним розчином цього люмокупферону. Під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1 і ЖС-18) мідь виявлялась за жовто-зеленим світінням.

Для цитохімічного визначення цинку в гранулоцитах за допомогою сульфарсазену по предметному склу, вкритому шаром яєчного білка, робили мазок. Мазок фіксували в чашках Петрі протягом 5 хвилин у висхідних парах формаліну. Після закінчення терміну фіксації скло з мазком з них виймали та занурювали в суміш для забарвлення, що нагрівали. Суміш складалася з 4% розчину ацетату натрію, 25% розчину гідроксиду амонію, дистильованої води та розчину сульфарсазену. Тривалість забарвлення складала 3 години. На забарвлених препаратах у цитоплазмі гранулоцитів виявляли помаранчеві гранули, кількість яких є показником вмісту цинку в клітинах.

Для цитохімічного визначення магнію в гранулоцитах за допомогою магнезону на предметні скельця також наносили шар яєчного білка. Готували мазки, які фіксували у висхідних парах формаліну. Потім предметні стекла занурювали в суміш, яка містила 10% розчин ацетату натрію, 0,25% розчин гідроксиду амонію та дистильовану воду. Забарвлення мазків

проводили упродовж 12 годин. На препаратах у цитоплазмі зернистих лейкоцитів визначали червоні гранули. Їх кількість – показник вмісту магнію в клітинах.

Для визначення міді в гранулоцитах за допомогою дитіооксаміду (ДТО) по предметним стеклам, вкритим шаром яєчного білку, проводили мазки та фіксували їх, як зазначено вище. Потім предметні стекла занурювали в суміш, що нагрівали. Вона містила насичений розчин рубеанової кислоти, 2% розчин ацетату натрію, 0,25% розчин гідроксиду амонію. Фарбування проводили протягом 3 годин. На забарвлених препаратах у цитоплазмі гранулоцитів виявляють темно-зелені гранули, кількість яких є показником вмісту міді у клітинах.

Для цитохімічного виявлення секреторного матеріалу в гранулоцитах крові фіксовані мазки крові фарбували впродовж 30 хвилин 1% водними розчинами метилового зеленого та еозину. На забарвлених препаратах у цитоплазмі нейтрофілів добре видно фіолетові гранули. У базофілах виявляється груба зернистість синього кольору, а в еозинофілах – також крупні гранули червоного кольору.

Інтенсивність цитохімічних реакцій оцінювали напівкількісним методом. Напівкількісний метод полягав у визначенні інтенсивності реакції за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським (1971р.), Ф. Хейхоу та Д. Квагліно (1983 р.). За один бал приймали слабо позитивну, два бали – помірну, три бали – виражену за інтенсивністю реакцію. На підставі підрахунку на 100 клітинах виводили середню величину інтенсивності реакції [10, 11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У серії експериментів досліджувався вплив гормонів надниркових залоз і холіноміметика на стан панкреатичних острівців золотистих хом'ячків з алоксановим діабетом. Було встановлено, що введення алоксану золотистим хом'ячкам призводило до розвитку в них цукрового діабету, який проявлявся підвищенням рівня глюкози в крові в 2,68 рази, а в острівцевих β -клітинах зниженням вмісту інсуліну на 79 %, цинку – на 75%, магнію – на 73% та збільшенням вмісту міді на 67% ($P < 0,001$). У тварин, які отримали адреналін, концентрація глюкози в крові вища за контроль на 66% ($P < 0,001$). У β -клітинах острівців збільшувався вміст інсуліну, цинку та магнію відповідно на 36 % ($P < 0,05$), 38 і 45 % ($P < 0,01$), знижувався вміст міді на 50% ($P < 0,001$). Аналогічні зміни глікемії, вмісту досліджуваних гормону та металів спостерігалися у хом'ячків після ін'єкції дексаметазону: зростання глікемії становило 61% ($P < 0,001$), у панкреатичних острівцях вірогідне підвищення рівня інсуліну, цинку та магнію відповідно на 29, 31 і 36%, а також високдостовірне зниження вмісту міді на 33%. Призначення пілокарпіну, навпаки, призводило до зниження в крові концентрації глюкози на 42% ($P < 0,001$), в інсулінпродукуючих β -клітинах вмісту гормону – на 36%, цинку – на 31%, магнію – на 45% ($P < 0,01$) на тлі підвищення вмісту міді на 50% ($P < 0,001$).

Введення адреналіну золотистим хом'ячкам з алоксановим діабетом викликало зростання рівня глюкози в крові в 3,09 рази ($P < 0,001$) та зниження в панкреатичних острівцях вмісту інсуліну, цинку та магнію відповідно на 43 %, 38 % ($P < 0,001$) і 42 % ($P < 0,01$), підвищення вмісту міді на 33 % ($P < 0,001$) відносно контролю. У порівнянні з діабетичними тваринами глікемія суттєво не змінювалась ($P > 0,05$), в острівцевих β -клітинах кількість інсуліну була більша в 2,67 рази, цинку – в 2,5 рази, магнію – в 2,3 рази ($P < 0,001$), а вміст міді – нижче на 20% ($P < 0,05$).

Ін'єкція дексаметазону діабетичним тваринам призводила до підвищення вмісту цукру в крові в 3 рази ($P < 0,001$) та вмісту міді в острівцевих β -клітинах, але на тлі зниження в них вмісту інсуліну, цинку та магнію відповідно на 50% ($P < 0,001$), 44% ($P < 0,001$) і 36% ($P < 0,001$) порівняно з контролем. У порівнянні з хом'ячком, що отримували алоксан,

показники вмісту гормону, цинку та магнію в інсулоцитах збільшувалися відповідно в 2,33, 2,25 та 2,33 рази ($P < 0,001$), а вмісту міді – знижувалися на 30 % ($P < 0,05$).

Після введення пілокарпіну хом'ячкам з алоксановим діабетом порівняно з контролем рівень глюкози в крові був підвищеним у 1,84 рази, в інсулінпродукуючих клітинах острівців був зниженим вміст гормону на 93 %, цинку – на 87 %, магнію – на 91 %, вміст міді був підвищеним в 2,16 рази ($P < 0,001$). У порівнянні з тваринами з алоксановим діабетом високодостовірно знижувалися концентрація глюкози в крові на 31 %, у β -клітинах острівців вміст інсуліну, цинку, магнію відповідно на 67, 50 і 67 %, а кількість в них міді збільшувалася на 30 % ($P < 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст глюкози в крові (ммоль/л), інсуліну, цинку, магнію та міді (ум. од.) у панкреатичних β -клітинах золотистих хом'ячків при введенні алоксану, адреналіну, дексаметазону, пілокарпіну ($M \pm m$) (ум. од.)

Група тварин	Глюкоза в крові, ммоль/л	Метод альдегід-фуксину, ум. од.	Метод 8-ТСХ, ум. од.	Метод ЛМ, ум. од.	Метод ЛК, ум. од.
Контроль (n=8)	6,4±0,13	1,4±0,13	1,6±0,11	1,1±0,12	0,6±0,03
Алоксан (n=8)	17,2±1,44***	0,3±0,01***	0,4±0,02***	0,3±0,05***	1,0±0,06***
Адреналін (n=8)	10,6±1,28**	1,9±0,14*	2,2±0,15**	1,6±0,13**	0,3±0,02***
Дексаметазон (n=8)	10,3±1,10**	1,8±0,11*	2,1±0,10*	1,5±0,12*	0,4±0,01***
Пілокарпін (n=8)	3,7±0,11***	0,9±0,05**	1,1±0,12**	0,6±0,09**	0,9±0,06***
Алоксан+адреналін (n=8)	19,8±1,67***	0,8±0,04***, ###	1,0±0,08***, ###	0,7±0,05** , ###	0,8±0,04***, #
Алоксан+дексаметазон (n=8)	19,2±1,53***	0,7±0,05***, ###	0,9±0,7***, ###	0,7±0,06** , ###	0,7±0,03*, ###
Алоксан+пілокарпін (n=8)	11,8±1,14** , ###	0,1±0,02***, ###	0,2±0,01***, ###	0,1±0,03***, ###	1,3±0,10***, #

Примітка: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ порівняно з контролем; # – $P < 0,05$; ### – $P < 0,001$ порівняно з тваринами, яким вводили алоксан.

Отже, гальмування секреторної активності β -клітин у золотистих хом'ячків при введенні адреналіну та дексаметазону, що характерно для розвитку гострої стресової реакції, при якій активується симпатичний відділ нервової системи і функція надниркових залоз, супроводжувалося розвитком гіперглікемії, накопиченням у панкреатичних острівцях інсуліну, цинку та магнію та зниженням вмісту в них міді. Протилежні зміни встановлені при підсиленні секреторної активності інсулоцитів внаслідок введення пілокарпіну, що, можна розглядати як ознаку активації парасимпатичного відділу нервової системи та пригнічення

інкреторної функції надниркових залоз,: розвиток гіпоглікемії, зниження в острівцях вмісту інсуліну, цинку та магнію, підвищення – міді. При блокуванні функції інсулярного апарату тварин після ін'єкції алоксану встановлений після введення холіноміметика характер змін вмісту глюкози в крові, гормонів і металів у панкреатичних β -клітинах був більш вираженим. Після введення гормонів надниркових залоз золотистим хом'ячком з алоксановим діабетом спостерігалось подальше зростання рівня глюкози в крові та часткова корекція в панкреатичних острівцях дефіциту внутрішньоклітинних інсуліну, цинку та магнію та надлишку міді. У діабетичних тварин під впливом холіноміметика пілокарпіну встановлено зниження гіперглікемії на тлі значної недостатності вмісту інсуліну, цинку та магнію та вираженого підвищення вмісту міді в панкреатичних острівцях.

Про зміни стану гранулоцитів крові діабетичних тварин, яким вводили гормони надниркових залоз і холіноміметик, можна робити висновки на підставі даних таблиці 2.

Таблиця 2. Вміст цинку, магнію, міді та секреторного матеріалу (ум. од.) у гранулоцитах крові золотистих хом'ячків при введенні алоксану, адреналіну, дексаметазону, пілокарпіну ($M \pm m$) (ум. од)

Група тварин	Метод сульфарсазену, ум. од.	Метод магнезону, ум. од.	Метод ДТО, ум. од.	Метод МЗЕ, ум. од.
Контроль (n=8)	1,0 \pm 0,08	0,7 \pm 0,09	0,5 \pm 0,07	1,1 \pm 0,12
Алоксан (n=8)	0,5 \pm 0,08***	0,3 \pm 0,03***	0,8 \pm 0,08*	0,6 \pm 0,07***
Адреналін (n=8)	1,5 \pm 0,12**	1,1 \pm 0,09**	0,2 \pm 0,01***	1,6 \pm 0,13*
Дексаметазон (n=8)	1,4 \pm 0,10**	1,0 \pm 0,08**	0,3 \pm 0,02*	1,5 \pm 0,11*
Пілокарпін (n=8)	0,7 \pm 0,05**	0,5 \pm 0,02*	0,7 \pm 0,04*	0,7 \pm 0,06*
Алоксан+ адреналін (n=8)	0,8 \pm 0,09 #	0,6 \pm 0,08 ##	0,6 \pm 0,02 #	1,0 \pm 0,06 ##
Алоксан+ дексаметазон (n=8)	0,8 \pm 0,10 #	0,5 \pm 0,09 #	0,6 \pm 0,03 #	0,9 \pm 0,05 #
Алоксан+ пілокарпін (n=8)	0,3 \pm 0,02***, #	0,2 \pm 0,02***, #	1,0 \pm 0,09***, #	0,4 \pm 0,03***, #

Примітка: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ порівняно з контролем; # – $P < 0,05$; ## – $P < 0,01$ порівняно з тваринами, яким вводили алоксан.

Отримані результати свідчать про те, що під впливом алоксану в зернистих лейкоцитах золотистих хом'ячків з високим ступенем достовірності зменшувався вміст цинку на 50%, магнію – на 57%, секреторного матеріалу – на 55% та вірогідно збільшувався вміст міді на 60 %. Після ін'єкції адреналіну у досліджених клітинах встановлено збільшення вмісту цинку та магнію на 50% ($P < 0,01$), секреторного матеріалу – на 45% ($P < 0,05$), зменшення вмісту міді на 60% ($P < 0,001$). Подібні зміни спостерігалися у випадку призначення

хом'ячкам дексаметазону, при цьому зміни величин показників становили відповідно 40% ($P < 0,01$), 43% ($P < 0,01$), 36 і 40% ($P < 0,05$). Протилежний характер змін вмісту металів і секрету супроводжував введення тваринам пілокарпіну: зменшення вмісту цинку на 30% ($P < 0,01$), магнію – на 29% ($P < 0,01$), секреторного матеріалу – на 36% ($P < 0,05$), збільшення вмісту міді на 40% ($P < 0,05$).

Після введення адреналіну золотистим хом'ячкам з алоксановим діабетом вміст у гранулоцитах крові усіх досліджуваних компонентів суттєво не відрізнявся від контрольних величин. Порівняно з діабетичними тваринами відмічалось збільшення вмісту цинку на 60%, магнію – на 80%, секреторного матеріалу – на 67% ($P < 0,01$) та зниження вмісту міді на 25% ($P < 0,05$).

Несуттєві зміни вмісту внутрішньоклітинних металів і секрету відносно контролю також встановлені в дослідках з введення дексаметазону діабетичним тваринам. У порівнянні з тваринами з алоксановим діабетом вірогідно збільшувався вміст цинку на 60%, магнію – на 67%, секреторного матеріалу – на 50% та зменшувався вміст міді на 25%. У разі призначення пілокарпіну тваринам з алоксановим діабетом порівняно з контролем встановлено виражений дефіцит цинку, магнію та секреторного матеріалу та значне накопичення міді в гранулоцитах крові: відповідно 70, 71, 64 і 100% ($P < 0,001$). Відносно діабетичних тварин отримані значення показників вмісту цинку, магнію та секрету були нижчими на 40, 33 і 33% , а вмісту міді – вищим на 25% ($P < 0,05$).

Отже, введення адреналіну та дексаметазону золотистим хом'ячкам викликало в гранулоцитах крові накопичення цинку, магнію та секреторного матеріалу та зменшення вмісту в них міді. Протилежні зміни (зменшення кількості перших трьох компонентів і підвищення рівня четвертого) спостерігались після ін'єкції пілокарпіну. Блокування функції інсулярного апарату тварин внаслідок введення діабетогенного агента алоксану призводило до виснаження в клітинах депо цинку, магнію, секрету та значного зростання вмісту міді. Дослідженнями інших авторів також при цукровому діабеті встановлений розвиток гіпоцинкемії і гіпомagneземії [4, 6]. Підвищення вмісту міді в гранулоцитах крові діабетичних тварин, на наш погляд, свідчить про компенсаторну реакцію у відповідь на активацію процесів перекісного окиснення ліпідів [4, 7]. Після введення гормонів надниркових залоз золотистим хом'ячкам з алоксановим діабетом не спостерігалось суттєвих змін у клітинах вмісту досліджених компонентів порівняно з контролем, але достовірне зростання в порівнянні з діабетичними тваринами кількості цинку, магнію та секреторного матеріалу та зниження вмісту міді. Під впливом холіноміметика зміни вмісту металів і секрету в зернистих лейкоцитах крові хом'ячків з діабетом мали цілком протилежний характер.

ВИСНОВКИ

1. Під впливом адреналіну та дексаметазону у золотистих хом'ячків встановлено підвищення концентрації глюкози в крові, в β -клітинах панкреатичних острівців вмісту інсуліну, цинку та магнію, гранулоцитах крові – цинку, магнію та секреторного матеріалу, а також зниження в обох видах клітин вмісту міді.
2. У золотистих хом'ячків, яким робили ін'єкцію пілокарпіну, спостерігалось зниження рівня глюкози в крові, в острівцях вмісту інсуліну, цинку та магнію, в зернистих лейкоцитах – цих металів і секрету на тлі підвищення вмісту міді в гранулоцитах крові та інсулоцитах.
3. Розвиток цукрового діабету внаслідок введення алоксану золотистим хом'ячкам супроводжувався вираженими гіперглікемією та дефіцитом цинку, магнію та секреторного матеріалу, а також накопиченням міді в панкреатичних острівцях і гранулоцитах крові.

4. Після введення гормонів надниркових залоз золотистим хом'ячкам з алоксановим діабетом спостерігалось подальше зростання рівня глюкози в крові та часткова корекція в β -клітинах панкреатичних острівців дефіциту інсуліну, цинку та магнію, гранулоцитах крові – секрету, цинку та магнію, а також надлишку в них міді.

5. У діабетичних тварин під впливом пілокарпіну відмічалось зниження гіперглікемії на тлі значної недостатності в острівцевих β -клітинах інсуліну, цинку та магнію, зернистих лейкоцитах – цих металів і секрету та вираженого підвищення вмісту міді в клітинах острівців і крові.

ЛІТЕРАТУРА

1. Карамышева Т.С. Сахарный диабет. Современная энциклопедия диабетика / Т.С. Карамышева. – М.: Эксмо, 2012. – 464 с.
2. Балаболкин М.И. Диабетология / М.И. Балаболкин. – М.: Медицина, 2000. – 671 с.
3. Григорова Н.В. Внутрішньосекреторна функція підшлункової залози в нормі та при патології / Н.В. Григорова. – Запоріжжя: ЗНУ, 2014. – 304 с.
4. Скальный А.В. Микроэлементы: бодрость, здоровье, долголетие / А.В. Скальный. – М.: Litress, 2015. – 720 с.
5. Шейбак В.М. Синтез и секреция инсулина: роль катионов цинка / В.М. Шейбак // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – № 1. – С. 5 – 8.
6. De Baaij J.H. Magnesium in man: implication for health and disease / J.H. Baay, J.G. Hoenderop, R.J. Bindels // *Physiol. Rev.* – 2015. – Vol. 95, № 1. – P. 1 – 46.
7. Hordyjewska A. The many “faces” of copper in medicine and treatment / A. Hordyjewska, L. Popielek, J. Kocot // *Biometals.* – 2014. – Vol. 27, № 4. – P. 611 – 621.
8. Морфофункциональные и метаболические особенности гранулоцитов периферической крови / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, Т.А. Невважай [и др.] // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2015. – № 3. – С. 285 – 290.
9. Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Часть 1. Аллоксановый диабет / Л.А. Можейко // *Журнал ГГМУ.* – № 3. – 2013. – С. 26 – 29.
10. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии / В.В. Соколовский – Л.: Медицина, 1997. – 172 с.
11. Хейхоу Ф. Гематологическая цитохимия / Ф. Хейхоу, Д. Кваглино. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.

REFERENCES

1. Karamisheva T.S. Sakharniy dyabet. Sovremennaya entsyklopediya dyabetyka / T.S. Karamisheva. – M.: Eksmo, 2012. – 464 s.
2. Balabolkyn M.Y. Dyabetologyya / M.Y. Balabolkyn. – M.: Medytsyna, 2000. – 671 s.
3. Hryhorova N.V. Vnutrishn'osekretorna funktsiya pidshlunkovoyi zalozy v normi ta pry patolohiyi / N.V. Hryhorova. – Zaporizhzhya: ZNU, 2014. – 304 s.
4. Skal'niy A.V. Mykroelementy: bodrost', zdorov'e, dolholetye / A.V. Skal'niy. – M.: Litress, 2015. – 720 s.
5. Sheybak V.M. Syntez y sekretyyya ynsulyna: rol' katyonov tsynka / V.M. Sheybak // *Zhurnal Hrodnenskoho hosudarstvennoho medytsynskoho unyversyteta.* – 2015. – № 1. – S. 5 – 8.
6. De Baaij J.H. Magnesium in man: implication for health and disease / J.H. Baay, J.G. Hoenderop, R.J. Bindels // *Physiol. Rev.* – 2015. – Vol. 95, № 1. – P. 1 – 46.

7. Hordyjewska A. The many “faces” of copper in medicine and treatment / A. Hordyjewska, L. Popiolek, J. Kocot // *Biometals*. – 2014. – Vol. 27, № 4. – P. 611 – 621.
8. Morfofunktsyonal'nye y metabolycheskye osobennosty hranulotsytov peryferycheskoy krovy / N.P. Chesnokova, E.V. Ponukalyna, T.A. Nevvazhay [y dr.] // *Mezhdunarodniy zhurnal prykladnikh y fundamental'nikh yssledovanyu*. – 2015. – № 3. – S. 285 – 290.
9. Mozheyko L.A. Eksperymental'nye modely dlya yzuchenyya sakharnoho dyabeta. Chast' 1. Alloksanoviy dyabet / L.A. Mozheyko // *Zhurnal NHMU*. – № 3. – 2013. – S. 26 – 29.
10. Sokolovskyy V.V. Nystokhymycheskye yssledovanyua v toksykolohyy / V.V. Sokolovskyy – L.: Medytsyna, 1997. – 172 s.
11. Kheykhou F. Hematolohycheskaya tsytokhymyya / F. Kheykhou, D. Kvahlyno. – M.: Medytsyna, 1983. – 320 s.

Рецензенти: Куш О.Г. д.б.н., професор, зав.кафедри нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету

Федотов Є.Р., к.б.н., доцент кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини ЗНУ