

Н.В. Григорова

## Вміст цинку в тимоцитах при активації, пригніченні та виключенні функції інсулярного апарату мишей і щурів

Запорізький національний університет

**Ключові слова:** В-інсулоцити, тимоцити, цинк.

Вміст цинку в клітинах вилочкової залози мишей і щурів залежить від функціонального стану інсулярного апарату. Кількість цього металу та інсуліну в клітинах В-острівців, а також цинку в тимоцитах були збільшені, а глікемія знижена при голодуванні, яке гальмує секреторну активність В-клітин. Протилежні результати спостерігались при введенні глюкози, специфічного стимулятора секреції інсуліну клітинами В, а також при алоксановому діабеті, при якому виключалась інкреторна функція панкреатичних острівців. Отримані дані можуть слугувати підтвердженням припущення про функціональні зв'язки між В-інсулоцитами та клітинами тимуса.

### Содержание цинка в тимоцитах при активации, угнетении и выключении функции инсулярного аппарата мышей и крыс

Н.В. Григорова

Содержание цинка в клетках вилочковой железы мышей и крыс зависит от функционального состояния инсулярного аппарата. Количество этого металла и инсулина в клетках В-островков, а также цинка в тимоцитах были увеличены, а гликемия снижена при голодании, которое угнетает секреторную активность В-клеток. Обратные результаты наблюдались при введении глюкозы, специфического стимулятора секреции инсулина клетками В, а также при аллоксановом диабете, при котором выключалась инкреторная функция панкреатических островков. Полученные данные могут служить подтверждением предположения о функциональных связях между В-инсулоцитами и клетками тимуса.

**Ключевые слова:** В-инсулоциты, тимоциты, цинк.*Патология.* – 2011. – Т.8, №2. – С. 24–25

### Zinc content in thymocytes under activation, inhibition and turning out mice and rats insular apparatus

N.V. Grigороva

Zinc content in thymocytes cells of mice and rats depends on insular functional state. The amounts of this metal and insuline in islet cells В also of zinc in thymocytes were increased and glycemia was lowed under starvation that inhibits secretory activity of В-cells. Opposite results were observed under the injection of glucose-specific stimulator of insuline secretion by cells В and also on alloxan diabetes, under wich the incretory function of pancreatic islets was turned out. The data received may serve as suggestion of supposition the functional correction between the В-insulocytes and thymus cells.

**Key words:** В-insulocytes, thymocytes, zinc.*Pathologia.* 2011; 8(2): 24–25

Панкреатичні клітини В і клітини вилочкової залози (тимоцити) здатні акумулювати цинк, доступний для взаємодії з хелантом-хромофором 8 – (п-толуолсульфоніламіно) – хіноліном (8-ТСХ) [1]. У панкреатичних острівцях основна частина цинку припадає на долю інсулінпродукуючих клітин [2]. Електронномікроскопічно він виявляється в секреторних гранулах зазначених клітин. Біохімічним методом було показано, що два атоми цинку здатні зв'язати шість молекул інсуліну [3,4]. Напевно, такий гексамер є «депо-формою» гормону, що накопичується в зрілих секреторних гранулах В-інсулоцитів. Доведено, що вміст цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах В є індикатором їх функціонального стану [1]. У тимоцитах, подібно до інсулінпродукуючих В-клітин, цинк акумулюється в секреторних гранулах і, можливо, бере участь у депонуванні секреторного матеріалу. Відомо, що цинк входить до складу тимуліну-пептидного гормону, що синтезується епітеліальними клітинами тимуса. Він зв'язується з тимуліном у співвідношенні 1:1 [5,6]. Цитохімічна реакція на цей метал може слугувати показником функціонального стану тимоцитів.

#### Мета роботи

Вивчення функціональних зв'язків між клітинами тимуса та В-інсулоцитами. Для досягнення мети про-

ведено дослідження вмісту цинку в клітинах мишей і щурів при різному функціональному стані інсулярного апарату внаслідок голодування, навантаження глюкозою та введення діабетогенного агента алоксану.

#### Матеріали і методи дослідження

У досліджах використано 55 мишей і 59 щурів, з яких 14 мишей і 16 щурів були контрольними (інтактними). У випадку з гострим голодуванням мишей позбавляли їжі на 12 год, а щурів – на 1 добу. Глюкозу тваринам вводили внутрішньоочеревинно в дозі 10 г/кг ваги тіла у вигляді 40% розчину. Ін'єкції алоксану робили підшкірно в дозі 200–400 мг/кг у вигляді 2–4% розчинів. Після закінчення терміну голодування, через 2 год після введення розчину глюкози та через 5 діб після ін'єкції алоксану у тварин за життя брали кров з хвоста, а після декапітації вилучали шматочки підшлункової і вилочкової залоз, встановлювали рівень цукру в крові модифікованим методом Хаггедорна-Йенсена.

Для цитохімічного визначення цинку шматочки тимуса та підшлункової залози, фіксовані протягом 12 год у холодному (+4°C) ацетоні, доводили до парафіну та заливали в нього. Депарафіновані зрізи завтовшки 5–10 мкм промивали в дистильованій воді. На зрізи вилочкової залози наносили на 5 хв 0,1% спиртовий розчин 8-ТСХ, а на зрізи

підшлункової залози – на 1 хв 0,01 % ацетоновий розчин цього реагенту. Потім їх промивали в дистильованій воді, замикали в гліцерин і розглядали під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1, ЖС-18). На препаратах тимоцити і В-інсулоцити люмінесціювали жовто-зеленим світлом.

Для цитохімічного визначення інсуліну в панкреатичних острівцях шматочки підшлункової залози фіксували протягом 24 год у рідині Буена, доводили до парафіну та заливали в нього. Депарафіновані зрізи залози витримували в окиснику (суміші перманганату калію та сірчаної кислоти) до порудіння, у відновнику (розчин шавлевої кислоти) – до знебарвлення, дистильованій воді. Зрізи фарбували протягом 6 хв 0,25% спиртовим розчином альдегідфуксину, оброблювали солянокислим спиртом, промивали водопровідною водою, оброблювали в спиртах, ксилолах, замикали в бальзам і досліджували під світловим мікроскопом з масляною імерсією. На препаратах інсулін визначали в цитоплазмі острівцевих клітин В у вигляді зернистості синьо-фіолетового кольору.

Інтенсивність цитохімічних реакцій визначали за трибальною системою, запропонованою В.В. Соколовським [7], і Ф. Хейхоу та Д. Квагліно [8]. Підраховували середню арифметичну величину ( $\bar{x}$ ), обчислювали похибку (m), показник вірогідності (p), коефіцієнт кореляції (r) змін вмісту цинку в тимоцитах і В-інсулоцитах.

#### Результати та їх обговорення

У контрольних (інтактних) мишей концентрація глюкози в крові становила в середньому  $5,9 \pm 0,21$  ммоль/л, а кількість інсуліну в панкреатичних клітинах В –  $2,0 \pm 0,16$  ум. од., вміст цинку в тимоцитах –  $1,0 \pm 0,08$  ум. од., у В-інсулоцитах –  $1,5 \pm 0,12$  ум. од. Коефіцієнт кореляції змін вмісту цинку в досліджених клітинах відповідав 0,50 ( $P < 0,05$ ). Після голодування глікемія знижувалась на 34% ( $P < 0,001$ ), підвищувався в інсулінпродукуючих В-клітинах рівень гормону на 27% ( $P < 0,05$ ), металу – на 30% ( $P < 0,01$ ). Вміст цинку в клітинах вилочкової залози також зростає на 30% ( $P < 0,05$ ). При цьому  $r = 0,42$  ( $P < 0,05$ ). Введення мишам глюкози призводило до підвищення рівня цукру в крові на 83% ( $P < 0,001$ ), зниження в панкреатичних острівцях вмісту інсуліну на 20% ( $P < 0,05$ ), цинку – на 25% ( $P < 0,05$ ), а в тимусі – на 27% ( $P < 0,05$ ). Коефіцієнт кореляції дорівнював 0,50 ( $P < 0,05$ ). У тварин, які отримали алоксан, гіперглікемія досягала 158% ( $P < 0,001$ ). Встановлено падіння в клітинах В острівців рівня інсуліну – на 80% ( $P < 0,001$ ), цинку – на 65% ( $P < 0,001$ ). У вилочковій залозі кількість цього металу зменшувалась на 60% ( $P < 0,001$ ). Коефіцієнт кореляції змін досліджуваного показника в клітинах відповідав 0,72 ( $P < 0,001$ ).

У щурів контрольної групи рівень цукру в крові в середньому складав  $5,7 \pm 0,18$  ммоль/л, вміст цинку та інсуліну в В-інсулоцитах –  $0,5 \pm 0,03$  ум. од. і  $1,6 \pm 0,12$  ум. од. відповідно, вміст цинку в тимоцитах –  $1,2 \pm 0,09$  ум. од. Коефіцієнт кореляції змін вмісту металу в досліджених клітинах 0,52 ( $P < 0,05$ ). Гостре

голодування викликало у тварин зменшення глікемії на 30% ( $P < 0,001$ ), в острівцевих клітинах В збільшення кількості інсуліну на 25% ( $P < 0,05$ ), цинку – на 40% ( $P < 0,001$ ). Вміст останнього в тимусі був вище контролю на 33% ( $P < 0,05$ )  $r = 0,51$  ( $P < 0,05$ ). Після введення глюкози щурам її концентрація в крові зростала на 81% ( $P < 0,001$ ), а рівень інсуліну в панкреатичних острівцях знижувався на 25% ( $P < 0,05$ ). Встановлено зменшення вмісту цинку в підшлунковій і вилочковій залозах на 20% ( $P < 0,05$ ) і 25% ( $P < 0,05$ ) відповідно. При цьому  $r = 0,57$  ( $P < 0,05$ ). Ще більш виражені зміни досліджених показників відзначали у алоксанових щурів: 151% ( $P < 0,001$ ), 87% ( $P < 0,001$ ), 60% ( $P < 0,001$ ) і 58% ( $P < 0,001$ ).  $r = 0,74$  ( $P < 0,001$ ).

#### Висновки

Пригнічення функціональної активності інсулярного апарату внаслідок гострого голодування у мишей і щурів викликало зниження рівня цукру в крові, підвищення вмісту цинку та інсуліну в панкреатичних клітинах В, цинку в клітинах вилочкової залози.

У випадку активації інкреторної функції підшлункової залози при навантаженні глюкозою спостерігали розвиток дефіциту досліджених внутрішньоклітинних компонентів.

Введення діабетогенного агента алоксану, що виключає функцію інсулярного апарату, призводило до подальшого зростання концентрації глюкози в крові та зниження рівня цинку та інсуліну в острівцевих В-клітинах, цинку – в клітинах тимуса.

Встановлено позитивну кореляцію змін вмісту цинку в В-інсулоцитах і тимоцитах піддослідних тварин, що вказує на наявність функціонального зв'язку між цими клітинами.

#### Література

1. Берегова Т.В. Визначення вмісту цинку та інсуліну в 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.
2. Гольдберг Е.Д. Сахарный диабет. Этиологические факторы / Е.Д. Гольдберг, В.А. Ещенко, В.Д. Бовт. – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1993. – 136 с.
3. Mutation of active site residues of insulin degrading enzyme alters allosteric interactions / E.S. Song, A. Daily, M.G. Fried [et al.] // J. Biol. Chem. – 2005. – №3. – P. 175–179.
4. Development of an automated protein-tyrosine phosphatase inhibition assay and the screening of putative insulin-enhancing vanadium (IV) and zinc (II) complexes / A.P. Seale, L.A. de Jesus, C.J. Kim [et al.] // Biotechnol. Lett. – 2005. – Vol. 27, №4. – P. 221–225.
5. Bach J.F. Thymulin, a zinc-dependent hormone / J.F. Bach // Med. Oncol. Tumor. Pharmacother. – 1989. – Vol. 6, №1. – Н. 25–29.
6. Сергеев П.В. Цинкосодержащие препараты как модуляторы иммунной системы / П.В. Сергеев, Н.Л. Шимановский, К.Г. Гуревич // Междунар. мед. журнал. – 2000. – Т. 6, №4. – С. 99–101.
7. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии / Соколовский В.В. – Л.: Медицина, 1971. – 172 с.
8. Хейхоу Ф. Гематологическая цитохимия / Хейхоу Ф., Квагліно Д. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.

#### Відомості про автора:

Григорова Н.В., к. біол. н., доцент ЗНУ.

#### Адреса для листування:

Григорова Наталя Володимирівна. 69068, м. Запоріжжя, вул. Грязнова, 90а, кв. 55.

Тел.: (061) 289 12 10. E-mail: camelot@mail.zp.ua