

ВПЛИВ АДАПТИВНИХ ГОРМОНІВ НА СТАН КЛІТИН ПАНЕТА ТВАРИН З АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ

Актуальність роботи полягає в проведенні цитохімічних досліджень клітин Панета тонкого кишечника тварин в умовах моделювання та корекції цукрового діабету, що сприяє розумінню патогенетичних механізмів і пошуку шляхів профілактики та лікування цього захворювання. **Метою дослідження** було вивчення змін вмісту цинку та секреторного матеріалу в клітинах Панета тварин з алоксановим діабетом після введення адреналіну та преднізолону окремо та в поєднанні з інсуліном. Матеріалом досліджень слугували зрізи тонкої кишки білих безпородних мишей і щурів, яким робили ін'єкції діабетогенного агента та адаптивних гормонів. **Наукова новизна** роботи полягає у використанні для проведення досліджень цитохімічних **методів**: модифікованої реакції флоксину на секреторний матеріал і розробленої реакції 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну на цинк у панетовських клітинах. **Висновки.** Було встановлено, що в клітинах Панета тварин після ін'єкції діабетогенного агента алоксану розвивався виражений дефіцит цинку та секреторного матеріалу. Призначення інсуліну, адреналіну та преднізолону тваринам з діабетом викликало в досліджених клітинах часткову корекцію цинкової та секреторної недостатності. Більш виражений корегуючий ефект спостерігався у клітинах Панета тварин з алоксановим діабетом у випадку сполученої дії адаптивних гормонів. Достовірна позитивна кореляція змін у досліджених клітинах кількості металу та секрету вказує на функціональний зв'язок між ними.

Ключові слова: адреналін, інсулін, преднізолон, секреторний матеріал, цинк.

Постановка проблеми. Цукровий діабет (ЦД) є хронічним неінфекційним захворюванням, до основних симптомів якого належить хронічна гіперглікемія, що виникає внаслідок дефектів секреції та дії інсуліну [1, 2]. У всьому світі діабет вважають провідною глобальною проблемою охорони здоров'я. Для лікування діабету в розвинених країнах використовується близько 10% їхнього бюджету на охорону здоров'я. За прогнозами фахівців до 2040 року кількість хворих на ЦД може становити 642 мільйони осіб. Дослідження контролю та лікування діабету є актуальними, враховуючи серйозність загрози для здоров'я людини та суспільний економічний тягар [3–5]. Для розробки нових та ефективних засобів лікування ЦД важливими є дослідження на тваринних моделях патогенетичних механізмів розвитку цієї хвороби [6–8].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Для хімічної індукції ЦД традиційно використовується алоксан (5,5-дигідроксипіримідин-2,4,6-тріон), який належить до органічних сполук та являє собою цитотоксичний аналог глюкози. Алоксан характеризується коротким періодом напіврозпаду, протягом кількох хвилин у водному розчині він спонтанно розкладається на недіабетогенну алоксанову кислоту. Це є причиною його швидко поглинання та накопичення в панкреатичній β -клітині. У випадку переривання кровотоку до підшлункової залози впродовж перших декількох хвилин після ін'єкції алоксану його дія стає неефективною [6, 8, 9].

Цей діабетогенний агент має два патогенетичних механізми. Перший механізм пов'язаний з широким стримуванням глюкокінази, панкреатичного глюкозного сенсора β -клітин панкреатичних островців, внаслідок чого фермент специфічно пригнічує виділення

інсуліну, індуковане глюкозою. Зменшення окислення глюкози та утворення АТФ відбувається внаслідок інгібування глюкокінази, що в свою чергу пригнічує сигнал АТФ для запуску інсулінової секреції. Після впливу алоксану інгібування глюкокінази розвивається впродовж 1 хвилини [6, 9, 10].

В основі другого механізму лежить індукція утворення активних форм кисню, що генерує супероксидні радикали, створюючи окисно-відновний цикл, та призводить до вибіркового некрозу інсулінпродукуючих клітин і розвитку інсулінозалежного діабету. Відбувається відновлення алоксану до діалуричного оксиду, а потім повторне його окислення до попередньої речовини з утворенням супероксидних радикалів, на які діє супероксиддисмутаза, утворюючи пероксид водню. Гідроксильні радикали також можуть утворюватися внаслідок побічних реакцій. До розвитку апоптозу може призвести фрагментація ДНК β -клітин, спричинена дією високоактивних форм кисню. Не зважаючи на те, що поглинання алоксану відбувається в печінці, гепатотоксичність є недійсною або незначною, тому що цьому органу властиві кращі антиоксидантні механізми у порівнянні з β -клітинами. Крім того, у цих захисних механізмів налічується декілька ефектів біотрансформації та елімінації ксенобіотиків. Пошкодження клітин алоксаном відбувається внаслідок порушення гомеостазу кальцію в клітинах і підсилення основного окислення, тобто SH-класів [11–13].

Вік, стать, стан нервової та ендокринної систем, таких органів, як печінка, нирки та деяких інших, а також характер обміну речовин, харчування, вміст у тканинах SH-груп та ін. у тварин одного й того самого виду обумовлюють індивідуальну чутливість до алоксану, що варіює в дуже широких межах [7–9].

Визначення невирішених раніше частин загальної проблеми. ЦД належить до групи метаболічних захворювань, при яких порушуються всі види обміну речовин, включно з мікроелементним [1, 2]. Було встановлено, що на тлі інсулінової недостатності у тварин з алоксановим діабетом розвивається дефіцит цинку в панкреатичних острівцях [14, 15]. Відомо, що в секреторних гранулах β -клітин панкреатичних острівців міститься цинк. Згідно з існуючим припущенням іони цинку знаходяться в комплексі з конденсованими молекулами інсуліну, утворюючи гексамерні структури [16–19].

Клітини Панета тонкого кишечника подібного до інсулінпродукуючих клітин панкреатичних острівців містять іони цинку в секреторних гранулах. Вірогідно, що в панетовських клітинах цей метал також бере участь в утворенні комплексу з секреторним матеріалом і його депонуванні [19, 20]. Це дає підстави вважати, що не тільки кількість секрету в панетівських клітинах, але й зв'язаного з ним металу, є показником їх функціонального стану. Враховуючи викладене вище, представляють інтерес дослідження вмісту цинку та секреторного матеріалу в клітинах Панета тварин при моделюванні ЦД і його корекції шляхом введення адаптивних гормонів. Недосконалий характер існуючих методів цитохімічного виявлення металу та секрету в клітинах Панета завадив проведенню таких досліджень раніш. Вирішення цієї проблеми стало можливим після розробки на базі кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини біологічного факультету Запорізького національного університету реакції 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ) і модифікації флоксинової реакції у цих клітинах тонкої кишки.

Метою дослідження було вивчення змін вмісту цинку та секреторного матеріалу в клітинах Панета тварин з алоксановим діабетом після введення адреналіну та преднізолону окремо та в поєднанні з інсуліном.

Матеріали та методи дослідження. Досліди проводилися на білих безпородних мишах і щурах віком 6 місяців. Контролем у всіх експериментах слугували інтактні тварини, тому що статистично між собою не відрізнялися результати, отримані після дослідження контрольної групи тварин (тварини, яким вводили фізіологічний розчин) та інтактної групи (тварини без втручання). При проведенні досліджень на лабораторних тварин дотримувалися вимог ст. 26

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

Діабет у тварин викликали шляхом підшкірного введення алоксану дозою 400 мг/кг. В окремій серії експериментів тваринам з алоксановим діабетом вводили внутрішньом'язово преднізолон у дозі 10 мг/кг, підшкірно – адреналіну гідрохлорид у дозі 0,05 мг/кг, а також інсулін у дозі 20 ОД/кг ваги тіла (мишам вводили гормон, розведений у 20 разів, щурам – у 2 рази). Через добу після введення алоксану робили першу ін'єкцію речовин, а наступні – впродовж 4 діб. У тварин методом декапітації вилучали шматочки тонкої кишки через 5 діб після введення діабетогенної речовини, 5 діб та ще 2 год пізніше – алоксану та адаптивних гормонів.

Шматочки тонкої кишки для цитохімічного визначення цинку фіксували в холодному (+4 °C) ацетоні, а потім доводили до парафіну та заливали в нього. Двома ксилолами та спиртами обробляли парафінові зрізи завтовшки 10 мкм 0,01% ацетоновий розчин 8-ТСХ використовували для забарвлення депарафінованих зрізів. Потім проводили їх промивку в дистильованій воді, замикаючи в гліцерин та вивчення під люмінесцентним мікроскопом з використанням фіолетового (ФС-1) та жовтого (ЖС-18) світлофільтрів. На препаратах у клітинах Панета виявлялася жовто-зелена люмінесценція, що є показником вмісту цинку в клітинах.

Для цитохімічного визначення секреторного матеріалу шматочки тонкої кишки фіксували в формаліні протягом 24 год, потім зневоднювали, обробляли ксилолами, сумішшю ксилолу та парафіну, витримували в рідких парафінах та заливали в парафін. Парафінові зрізи 5-10 мкм завтовшки обробляли ксилолами, спиртами, промивали дистильованою водою та забарвлювали 0,5% розчином флоксину. Після забарвлення зрізи промивали дистильованою водою та замикали в гліцерин-желатин. На препаратах у цитоплазмі клітин Панета тонкої кишки визначали червоні гранули. Кількість цих гранул – показник вмісту в клітинах секреторного матеріалу.

Використовуючи трибальну систему, оцінювали інтенсивність цитохімічної реакції флоксину. За один бал приймали слабопозитивну реакцію, два бали – помірну, три бали – виражену за інтенсивністю реакцію. Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ визначали за допомогою мікрофлуориметра. Вміст цинку оцінювали в мкг/г. Одержані результати статистично були опрацьовані за t-критерієм Стюдента за допомогою програми Statistica, 6.0. Коефіцієнт кореляції Пірсона (r) обчислювали для оцінки ступеня зв'язку між змінами досліджених показників.

Результати та їх обговорення. У таблицю 1 зведені результати досліджень вмісту цинку та секреторного матеріалу в панетовських клітинах мишей з алоксановим діабетом, яким вводили адаптивні гормони.

З таблиці видно, що ін'єкція алоксану викликала високодостовірне зменшення в клітинах Панета мишей вмісту цинку – на 49%, секреторного матеріалу – 42%, кількості гранул 8-ТСХ – 29%, флоксинофільних гранул – 27 %.

У випадку призначення інсуліну мишам з діабетом нижче контролю були рівень цинку на 29%, секреторного матеріалу – на 25% ($p < 0,01$), а також кількість гранул, що їх містять, – на 17% ($p < 0,01$) і 16% ($p < 0,05$). Порівняно з діабетичними тваринами ці показники зростали відповідно на 38% ($p < 0,01$), 29, 16 і 15% ($p < 0,05$).

Вміст внутрішньоклітинних цинку та секрету був нижче контролю на 24% ($p < 0,05$) і 17% ($p > 0,05$), а кількість гранул 8-ТСХ і флоксинофільних гранул – на 12 і 11% ($p < 0,05$) у тварин, яким на тлі діабету вводили преднізолон. Відносно діабетичних мишей ці показники зростали на 48 і 43% ($p < 0,01$), 24% і 23% ($p < 0,01$).

У мишей з алоксановим діабетом у присутності інсуліну та адреналіну порівняно з контролем був нижче вміст цинку на 7%, секреторного матеріалу – на 8%, а кількість гранул, які їх містять, скорочувалась на 4 і 5% ($p > 0,05$). У порівнянні з діабетичними тваринами отримані показники були вище на 81% ($p < 0,001$), 57% ($p < 0,01$), 35% ($p < 0,001$) і 30% ($p < 0,01$).

Таблиця 1

Вміст цинку та секреторного матеріалу ($M \pm m$) та їх взаємозв'язок (r) у клітинах Панета мишей при введенні алоксану, адреналіну, преднізолону та інсуліну

Група тварин	Вміст цинку, мкг/г	Вміст секреторного матеріалу, ум.од.	Кількість гранул		r_1	r_2
			8-ТСХ	флоксину		
Контроль (n=14)	41±2,9	1,2±0,08	52±2,4	55±2,6	0,48*	0,91***
Алоксан (n=10)	21±1,7***	0,7±0,05***	37±1,6***	40±1,9***	0,53*	0,82***
Алоксан+інсулін (n=10)	29±2,1** ##	0,9±0,06** #	43±2,0** #	46±2,1* #	0,46*	0,82***
Алоксан+адреналін (n=10)	32±2,6* ##	1,0±0,07##	47±3,1#	50±2,4##	0,44*	0,85***
Алоксан+преднізолон (n=10)	31±2,5* ##	1,0±0,09##	46±2,2##	49±2,3##	0,44*	0,86***
Алоксан+інсулін+адреналін (n=10)	38±3,4###	1,1±0,10##	50±2,7###	52±3,0##	0,42*	0,90***
Алоксан+інсулін+преднізолон (n=10)	38±4,1###	1,1±0,12##	49±2,3###	51±3,3 ##	0,46*	0,92***

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ порівняно з алоксаном; r_1 – коефіцієнт кореляції змін у клітинах Панета вмісту цинку та секреторного матеріалу, визначеного за допомогою цитохімічних реакцій; r_2 – коефіцієнт кореляції змін кількості гранул 8-ТСХ і флоксифільних гранул у клітинах Панета.

Після сполученого впливу інсуліну та преднізолону на мишей з діабетом у панетовських клітинах зменшувався рівень металу на 7%, секрету – 8%, кількість гранул 8-ТСХ – 6%, флоксифільних гранул – 7% ($p > 0,05$) відносно контрольних величин. Зростання показників на 81% ($p < 0,001$), 57% ($p < 0,01$), 32% ($p < 0,001$) і 28% ($p < 0,01$) встановлено відносно діабетичних тварин.

У мишей з алоксановим діабетом, яким вводили адаптивні гормони, спостерігалась позитивна кореляція змін вмісту цинку та секреторного матеріалу в клітинах Панета.

Подібні зміни вмісту цинку та секреторного матеріалу в панетовських клітинах встановлені в дослідах на діабетичних щурах після введення інсуліну, адреналіну та преднізолону (табл. 2).

Отримані дані свідчать про те, що в клітинах Панета щурів з алоксановим діабетом високодостовірно зменшувався вміст цинку на 55%, секреторного матеріалу – 47%, кількість гранул 8-ТСХ – на 29%, флоксифільних гранул – на 26%.

У випадку призначення інсуліну щурам з діабетом був нижче контролю рівень цинку на 32% ($p < 0,001$), секреторного матеріалу – на 24% ($p < 0,05$), кількість гранул, що їх містять, – на 18% ($p < 0,01$) і 26% ($p < 0,05$). Порівняно з діабетичними тваринами ці показники зростали відповідно на 54 і 44% ($p < 0,001$), 15 і 14% ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Вміст цинку та секреторного матеріалу ($M \pm m$) та їх взаємозв'язок (r) у клітинах Панета щурів при введенні алоксану, адреналіну, преднізолону та інсуліну

Група тварин	Вміст цинку, мкг/г	Вміст секреторного матеріалу, ум.од.	Кількість гранул		r_1	r_2
			8-ТСХ	флоксину		
Контроль (n=16)	92±5,9	1,7±0,12	55±2,5	57±3,1	0,47 [*]	0,92 ^{***}
Алоксан (n=10)	41±2,5 ^{***}	0,9±0,05 ^{***}	39±1,8 ^{***}	42±2,1 ^{***}	0,49 [*]	0,87 ^{***}
Алоксан+інсулін (n=10)	63±4,6 ^{***} ###	1,3±0,09 [*] ###	45±2,0 ^{**} #	48±1,9 [*] #	0,43 [*]	0,46 [*]
Алоксан+адреналін (n=10)	70±5,4 [*] ###	1,4±0,10###	51±2,2###	51±2,6##	0,42 [*]	0,91 ^{***}
Алоксан+преднізолон (n=10)	69±5,8 [*] ###	1,4±0,12###	50±2,7##	51±2,3##	0,44 [*]	0,95 ^{***}
Алоксан+інсулін+адреналін (n=10)	90±6,4###	1,6±0,14###	53±2,9###	54±2,8###	0,45 [*]	0,93 ^{***}
Алоксан+інсулін+преднізолон (n=10)	85±5,7###	1,5±0,13###	52±2,6###	53±2,7##	0,42 [*]	0,92 ^{***}

Примітка: позначення, як у табл. 1.

Після введення адреналіну вміст цинку та секрету в панетовських клітинах щурів з алоксановим діабетом був нижче контролю на 24% ($p < 0,05$) і 18% ($p > 0,05$) відповідно, а кількість 8-ТСХ і флоксифільних гранул на 8 і 11% ($p > 0,05$). У порівнянні з діабетичними тваринами отримані цифри були вище на 71 і 56% ($p < 0,001$), 31% ($p < 0,001$) і 21% ($p < 0,01$).

На тлі діабету в тварин, яким вводили преднізолон, вміст внутрішньоклітинних компонентів був нижче контролю на 25% ($p < 0,05$) і 18% ($p > 0,05$), а кількість 8-ТСХ і флоксифільних гранул на 9 і 11% ($p > 0,05$). Відносно діабетичних щурів ці показники зростали на 68 і 56% ($p < 0,001$), 28 і 21% ($p < 0,01$).

У щурів з алоксановим діабетом у присутності інсуліну та адреналіну порівняно з контролем був нижче вміст цинку на 3%, секреторного матеріалу – на 6%, а кількість гранул, які їх містять, скорочувалась на 4 і 5% ($p > 0,05$). У порівнянні з діабетичними тваринами отримані показники були вище на 120 і 78% ($p < 0,001$), 36 і 29% ($p < 0,01$).

Після сполученого впливу інсуліну та адреналіну на щурів з діабетом у панетовських клітинах зменшувався рівень металу на 8%, секрету – на 12%, кількість гранул 8-ТСХ – на 5%, флоксифільних гранул – на 7% ($p > 0,05$) відносно контрольних величин. Зростання показників на 107 і 67% ($p < 0,001$), 33% ($p < 0,001$) і 26% ($p < 0,01$).

Позитивні коефіцієнти кореляції змін вмісту цинку та секреторного матеріалу в клітинах Панета піддослідних щурів свідчать про наявність між цими компонентами функціонального зв'язку.

Таким чином, у тварин з алоксановим діабетом погіршується функціональна активність клітин Панета, про що свідчить розвиток цинкової і секреторної недостатності внаслідок виснаження депо цих компонентів у клітинах. Склад секреторного матеріалу багатокомпонентний, до нього зокрема входять лізосомальні ферменти, лізоцим і дефензини – низькомолекулярні цистеїновмісні катіонні пептиди, які здібні знищувати різноманітні патогени [21, 22]. Інші автори в своїх дослідженнях спостерігали у діабетичних мишей ранній початок тяжкого дисбактеріозу кишечника, що характеризується розмноженням прозапальних протеобактерій та пізнішим колапсом антимікробного захисту клітин Панета. У тварин, що в якості діабетогенного агента отримували антагоніст інсулінових рецепторів (S961), були значні дефекти епітеліальних функцій кишкового бар'єра, такі як підвищена епітеліальна парацелюлярна проникність та порушення цілісності клітинно-клітинних з'єднань [23]. Liu L. та ін. також з'ясовували роль клітин Панета в пошкодженні тонкого кишечника під час гострого некротичного панкреатиту (ГНП) з використанням моделей щурів, створених шляхом ін'єкції дитизону, хелатора металу цинку, здатного вибірково руйнувати клітини Панета. Вчені зазначали, що збільшення стресу кишкового ендоплазматичного ретикулуму, що оцінювалося за високими рівнями експресії білка зв'язуючого імуноглобуліну та активуючого фактора транскрипції β , може бути одним із механізмів, пов'язаним із втратою клітин Панета та порушенням кишкового бар'єру під час ГНП. Це дослідження показало, що відсутність клітин Панета може бути важливим фактором, що бере участь у пошкодженні кишечника, сприяючи прогресуванню ГНП [24].

За результатами наших досліджень уведення інсуліну, адреналіну та преднізолону тваринам з алоксановим діабетом зменшувало дефіцит цинку та секреторного матеріалу в панетовських клітинах, таким чином покращуючи функціональний стан останніх. Потенційований ефект спостерігався у випадку сполученої дії інсуліну та гормонів надниркових залоз. В іншій роботі також підкреслено, що інсуліновий сигналінг є незамінним охоронцем цілісності кишкового бар'єру, що діє як захист від мікробного дисбалансу та гострих інфекцій, спричинених ентеропатогенами [23].

Висновки.

1. Уведення діабетогенного агенту мишам і щурам призводило до розвитку в клітинах Панета дефіциту цинку в межах 27-55% та секреторного матеріалу – 26-47% ($p < 0,001$), що вказує на пригнічення функціонального стану цих клітин.

2. Часткова корекція цинкової і секреторної недостатності в панетовських клітинах спостерігалася у випадку призначення тваринам з алоксановим діабетом інсуліну, адреналіну та преднізолону: показники вмісту внутрішньоклітинних металу та секрету були менше порівняно з контролем на 8% ($p > 0,05$) – 32% ($p < 0,001$) і 11% ($p > 0,05$) – 26% ($p < 0,05$), але більше відносно діабетичних тварин відповідно на 15% ($p < 0,05$) – 71% ($p < 0,001$) і 14% ($p < 0,05$) – 56% ($p < 0,001$).

3. Сполучена дія адаптивних гормонів викликала у клітинах Панета тварин з алоксановим діабетом більш виражений корегуючий ефект щодо дефіциту цинку та секреторного матеріалу, при цьому отримані цифри суттєво не відрізнялися від контролю, а в порівнянні з діабетичними тваринами були вище відповідно на 32-107% ($p < 0,001$) і 26% ($p < 0,01$) – 67% ($p < 0,001$).

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу адаптивних гормонів на стан клітин Панета адреналектомованих тварин.

Список використаних джерел

1. Тронько М. Д., Большова О. В., Соколова Л. К. Цукровий діабет 1-го типу: етіологія, патогенез, клініка, діагностика та лікування. *Практикуючий лікар*. 2021. 10(3). С. 26–35.
2. Сіренко Г. О., Складанюк М. Б., Мартинюк М. І. [та ін.]. Теоретичні основи цукрового діабету. *Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. Серія Хімія*. 2019. Вип. XXIII. С. 4–70.
3. Гурський А. Й., Каськів М. В. Екологічні та соціальні проблеми як наслідок розвитку ендокринної патології. *Бюлетень Національного університету водного господарства та природокористування*. 2021. 95(3). С. 47–57. <https://doi.org/10.31713/vs320214>

4. El-Kebbi I. M., Bidikian N. H., Hneiny L., Nasrallah M. P. Epidemiology of type 2 diabetes in the Middle East and North Africa: challenges and call for action. *World J. Diabetes*. 2021. 12(9). P. 1401–1425. doi: 10.4239/wjd.v12.i9.1401.
5. Cho Y., Yoon K. H. Being caught in the perfect storm of a diabetes epidemic and the COVID-19 pandemic: what should we do for our patients? *J. Diabetes Investig*. 2021. 12(3). P. 297–300. doi: 10.1111/jdi.13425.
6. Kottaisamy C. P. D, Raj D. S., Prasanth Kumar V., Sankaran U. Experimental animal models for diabetes and its related complications – a review. *Lab Anim Res*. 2021. 37(1). P. 1–14. doi: 10.1186/s42826-021-00101-4.
7. Coppola A., Zorzetto G., Piacentino F. [et al]. Imaging in experimental models of diabetes. *Acta Diabetol*. 2022. 59(2). P. 147–161. doi: 10.1007/s00592-021-01826-3.
8. Yagihashi S. J. Contribution of animal models to diabetes research: its history, significance, and translation to humans. *Diabetes Investig*. 2023. 14(9). P. 1015–1037. doi: 10.1111/jdi.14034.
9. Algul S., Ozcelik O. Comprehensive review of animal models in diabetes research using chemical agents. *Lab Anim*. 2025. 59(3). P. 356–363. doi: 10.1177/00236772241296199.
10. Mauvais F. X., van Endert P. M. Type 1 diabetes: a guide to autoimmune mechanisms for clinicians. *Diabetes Obes. Metab*. 2025. Suppl 6. P. 40–56. doi: 10.1111/dom.16460
11. Drikvandi P., Bahramikia S., Alirezaei M. Modulation of the antioxidant defense system in liver, kidney, and pancreas tissues of alloxan-induced diabetic rats by camphor. *J. Food Biochem*. 2020. 44(12): e13527. doi: 10.1111/jfbc.13527.
12. Salazar-García M., Corona J. C. The use of natural compounds as a strategy to counteract oxidative stress in animal models of diabetes mellitus. *Int. J. Mol. Sci*. 2021. 22(13): 7009. doi: 10.3390/ijms22137009.
13. Madhariya R., Dixena B., Ram A. [et al]. Experimental animal models: tools to investigate antidiabetic activity. *Curr. Pharm. Des*. 2023. 29(2). P. 79–94. doi: 10.2174/1381612829666221220115649.
14. Карпов А. К., Григорова Н. В., Єщенко В. А. Пошкоджуюча дія алоксану, дитизону і стрептозотину на інсулярний апарат золотистих і китайських хом'ячків. *Вісник Запорізького національного університету: Біологічні науки*. 2012. № 1. С. 83–88.
15. Григорова Н. В. Внутрішньосекреторна функція підшлункової залози в нормі та при патології. *Запоріжжя : Запорізький національний університет*, 2014. 304 с.
16. Григорова Н. В., Єщенко В. А. Роль цинку в нейрогуморальних механізмах регуляції функції інсулярного апарату. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2013. 61(1). С. 79–84.
17. Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Шумейко О. В. [та ін.]. Фармакологічні властивості препаратів цинку. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. № 3 (6). С. 37–44.
18. Акімов О. Є., Кузнецова Т. Ю., Соловйова Н. В. [та ін.]. Роль цинку в організмі людини та шляхи подолання його дефіциту. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2023. 23 (3). С. 246–249.
19. Kiouri D. P., Tsoupra E., Peana M. [et al]. Multifunctional role of zinc in human health: an update. *EXCLI J*. 2023. 22 (4). P. 809–827.
20. Григорова Н. В., Єщенко В. А., Кузьміна М. А. Механізми регуляції вмісту хелатованих металів у клітинах. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2013. 61(4). С. 7–12.
21. Cui C., Wang F., Zheng Y, [et al]. From birth to death: the hardworking life of Paneth cell in the small intestine. *Front Immunol*. 2023. 14:1122258. doi: 10.3389/fimmu.2023.1122258
22. Wallaey C., Garcia-Gonzalez N., Libert C. Paneth cells as the cornerstones of intestinal and organismal health: a primer. *EMBO Mol. Med*. 2023. 15(2): e16427. doi: 10.15252/emmm.202216427.
23. Gueddouri D., Caüzac M., Fauveau V. [et al]. Insulin resistance per se drives early and reversible dysbiosis-mediated gut barrier impairment and bactericidal dysfunction. *Mol. Metab*. 2022. 57: 101438. doi: 10.1016/j.molmet.2022.101438.
24. Liu L., Guo Y., Zheng J. [et al]. Paneth cell ablation increases the small intestinal injury during acute necrotizing pancreatitis in rats. *Mol. Med. Rep*. 2019. 20(1): 473-484. doi: 10.3892/mmr.2019.10274.

References

1. Tronko, M. D., Bolshova, O. V., & Sokolova, L. K. (2021). Type 1 diabetes mellitus: etiology, pathogenesis, clinical features, diagnostics and treatment. *Praktykuiuchy likar [Practitioner]*; 10(3): 26-35 (in Ukr.).
2. Sirenko, H. O., Skladaniuk, M. B., Martyniuk, M. I. [et al]. (2019). *Teoretychni osnovy tsukrovoho diabetu. Visnyk Prykarpatskoho natsionalnoho universytetu imeni Vasylia Stefanyka. Seriya Khimiia [Bulletin of the Vasyl Stefanyk Precarpathian National University. Chemistry Series]*; 23: 4-70 (in Ukr.).
3. Hurskyi, A. Y., & Kaskiv, M. V. (2021). Environmental and social problems as a consequence of the development of endocrine pathology. *Biuletyn Natsionalnoho universytetu vodnoho hospodarstva ta pryrodokorystuvannia [Bulletin of the National University of Water Management and Environmental Management]*; 95(3): 47-57. <https://doi.org/10.31713/vs320214> (in Ukr.).
4. El-Kebbi, I. M., Bidikian, N. H., Hneiny, L., & Nasrallah, M. P. (2021). Epidemiology of type 2 diabetes in the Middle East and North Africa: Challenges and call for action. *World J Diabetes*; 12(9): 1401-1425. doi: 10.4239/wjd.v12.i9.1401.
5. Cho, Y., & Yoon, K. H. (2021). Being caught in the perfect storm of a diabetes epidemic and the COVID-19 pandemic: what should we do for our patients? *J Diabetes Investig*; 12(3): 297-300. doi: 10.1111/jdi.13425.

6. Kottaisamy, C. P. D., Raj, D. S., Prasanth, Kumar, V., & Sankaran, U. (2021). Experimental animal models for diabetes and its related complications-a review. *Lab Anim Res*; 37(1): 23. doi: 10.1186/s42826-021-00101-4.
7. Coppola, A., Zorzetto, G., Piacentino, F. [et al]. (2022). Imaging in experimental models of diabetes. *Acta Diabetol*; 59(2): 147-161. doi: 10.1007/s00592-021-01826-3.
8. Yagihashi, S. J. (2023). Contribution of animal models to diabetes research: its history, significance, and translation to humans. *Diabetes Investig*; 14(9): 1015–1037. doi: 10.1111/jdi.14034.
9. Algul, S., & Ozcelik, O. (2025). Comprehensive review of animal models in diabetes research using chemical agents. *Lab Anim*; 59(3): 356-363. doi: 10.1177/00236772241296199.
10. Mauvais, F. X., & van Endert, P. M. (2025). Type 1 diabetes: a guide to autoimmune mechanisms for clinicians. *Diabetes Obes Metab*; 6: 40-56. doi: 10.1111/dom.16460.
11. Drikvandi, P., Bahrakia, S., & Alirezai, M. (2020). Modulation of the antioxidant defense system in liver, kidney, and pancreas tissues of alloxan-induced diabetic rats by camphor. *J Food Biochem*; 44(12): e13527. doi: 10.1111/jfbc.13527.
12. Salazar-García, M., & Corona, J. C. (2021). The use of natural compounds as a strategy to counteract oxidative stress in animal models of diabetes mellitus. *Int J Mol Sci*; 22(13): 7009. doi: 10.3390/ijms22137009.
13. Madhariya, R., Dixena, B., Ram, A. [et al]. (2023). Experimental animal models: tools to investigate antidiabetic activity. *Curr Pharm Des*; 29(2): 79-94. doi: 10.2174/1381612829666221220115649.
14. Karpov, A. K., Hryhorova, N. V., & Eshchenko, V. A. (2012). Injuring action of alloxan, dithizone and streptozotocine on insular apparatus of golden and chinese hamsters. *Visnyk Zaporizkoho natsionalnoho universytetu: Biologichni nauky. Zaporizhzhya National University [Bulletin of Zaporizhzhia National University: Biological Sciences]*; (1): 83-88.
15. Hryhorova, N. V. (2014). Endocrine function of the pancreas in normal and pathological conditions. *Zaporizhzhia: Zaporizkyi natsionalnyi universytet [Zaporizhzhia: Zaporizhzhia National University]* (in Ukr.).
16. Hryhorova, N. V., & Eshchenko, V. A. (2013). The role of zinc in neurohumoral mechanisms of regulation of insular apparatus function. *Eksperymentalna ta klinichna fiziologhiia i biokhimiia [Experimental and clinical physiology and biochemistry]*; 61(1): 79-84 (in Ukr.).
17. Zaichenko, H. V., Horchakova, N. O., Shumeiko, O. V. [et al]. (2021). Pharmacological properties of zinc preparations. *Ukrainskyi zhurnal medytsyny, biolohii ta sportu [Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports]*; 6 (3): 37-44. <https://doi:10.26693/jmbs06.03.037> (in Ukr.).
18. Akimov, O. Ye., Kuznetsova, T. Yu., Soloviova, N. V. [et al]. (2023). The role of zinc in the human body and ways to overcome its deficiency. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk Ukrainskoi medychnoi stomatologichnoi akademii [Current problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy]*; 23(3): 246-249. <https://doi:10.31718/2077-1096.23.3.246> (in Ukr.).
19. Kiouri, D. P., Tsoupra, E., Peana, M. [et al]. (2023). Multifunctional role of zinc in human health: an update. *EXCLI J*; 22(4): 809-827. <https://doi:10.17179/excli2023-6335>.
20. Hryhorova, N. V., Eshchenko, V. A. & Kuzmina, M. A. (2013). Mechanisms of regulation of the content of chelated metals in cells. *Eksperymentalna ta klinichna fiziologhiia i biokhimiia [Experimental and clinical physiology and biochemistry]*; 61(4): 7-12 (in Ukr.).
21. Cui, C., Wang, F., Zheng, Y. [et al]. (2023). From birth to death: the hardworking life of Paneth cell in the small intestine. *Front Immunol*; 14:1122258. doi: 10.3389/fimmu.2023.1122258.
22. Wallaey, C., Garcia-Gonzalez, N., & Libert, C. (2023). Paneth cells as the cornerstones of intestinal and organismal health: a primer. *EMBO Mol Med*; 15(2): e16427. doi: 10.15252/emmm.202216427.
23. Gueddouri, D., Caüzac, M., Fauveau, V. [et al]. (2022). Insulin resistance per se drives early and reversible dysbiosis-mediated gut barrier impairment and bactericidal dysfunction. *Mol Metab*; 57: 101438. doi: 10.1016/j.molmet.2022.101438.
24. Liu, L., Guo, Y., Zheng, J. [et al]. (2019). Paneth cell ablation increases the small intestinal injury during acute necrotizing pancreatitis in rats. *Mol Med Rep*; 20(1): 473-484. doi: 10.3892/mmr.2019.10274.

Hryhorova N. V.

THE INFLUENCE OF ADAPTIVE HORMONES ON THE STATE OF PANETH CELLS OF ANIMALS WITH ALLOXAN DIABETES

Introduction. *It is known that in diabetes mellitus, which belongs to the group of metabolic diseases, all types of metabolism are disturbed, including microelement metabolism. The microelement zinc plays an important role in the functioning of a living organism and the implementation of its vital processes. Paneth cells of the small intestine contain zinc ions in their secretory granules. It is likely that in Paneth cells, like β -cells of pancreatic islets, this metal also participates in the formation of a complex with secretory material and its deposition. This gives reason to believe that not only the amount of secretion in Paneth cells, but also the content of the metal bound to it, are indicators of their functional state. Taking into account the above, it is of*

interest to study the content of zinc and secretory material in Paneth cells of animals during the modeling of diabetes mellitus and its correction by the introduction of adaptive hormones. The imperfect nature of existing cytochemical methods for metal and secretion detection in Paneth cells has prevented such studies from being conducted earlier. This problem was overcome by our development of the 8-(p-toluenesulfonylamino)-quinoline (8-TSQ) reaction and modification of the phloxine reaction in these small intestinal cells.

The purpose of the study was to investigate changes in the content of zinc and secretory material in Paneth cells of animals with alloxan diabetes after the administration of adrenaline and prednisolone separately and in combination with insulin.

Methods. The experiments were conducted on white outbred mice and rats aged 6 months. Some animals received a single injection of alloxan, while others received insulin, adrenaline and prednisolone a day after the administration of the diabetogenic agent. These procedures were repeated for 4 days. Cytochemical methods were used to conduct the studies. Yellow-green luminescence was detected on preparations stained with 8-TSQ, which is an indicator of the content of zinc in Paneth cells of the small intestine. When stained with phloxine, red granules were detected in the cytoplasm of Paneth cells. The number of these granules is an indicator of the content of secretory material in the cells. The content of secretory material was estimated in conventional units, and zinc in $\mu\text{g/g}$. The results were statistically processed using the Student's t-test using the Statistica 6.0 program. The Pearson correlation coefficient (r) was calculated to assess the degree of relationship between changes in the studied indicators.

Results. In Paneth cells of mice after alloxan injection, the zinc content decreased by 29-49% and the secretory material by 27-42%, and in rats – by 29-55 and 26-47%, respectively ($p < 0,001$). After the administration of insulin, adrenaline and prednisolone against the background of the development of alloxan diabetes, the intracellular metal and secretory content were lower compared to the control in mice by 10% ($p > 0,05$) – 29% ($p < 0,01$) and 11% ($p > 0,05$) – 25% ($p < 0,01$), in rats – 8% ($p > 0,05$) – 32% ($p < 0,001$) and 11% ($p > 0,05$) – 26% ($p < 0,05$). In relation to diabetic animals, the obtained figures were higher in mice by 16% ($p < 0,05$) – 52% ($p < 0,01$) and 15% ($p < 0,05$) – 43% ($p < 0,01$), respectively, in rats – by 15% ($p < 0,05$) – 71% ($p < 0,001$) and 14% ($p < 0,05$) – 56% ($p < 0,001$). In the case of the combined action of adaptive hormones in Paneth cells of animals with alloxan diabetes, an unreliable nature of changes in the content of zinc and secretory material was established in relation to the control, and in comparison with diabetic mice, the indicators were higher by 32-81% ($p < 0,001$) and 28-57% ($p < 0,01$), respectively, in diabetic rats – by 33-107% ($p < 0,001$) and 26% ($p < 0,01$) – 67% ($p < 0,001$). Positive correlation coefficients of changes in the content of zinc and secretory material in Paneth cells of experimental rats indicate the presence of a functional connection between these components.

Originality. For the first time, using the developed cytochemical reaction of 8-TSQ and the modified phloxine reaction, a study of the influence of adaptive hormones on the state of Paneth cells of animals with alloxan diabetes was carried out.

Conclusion. The introduction of the diabetogenic agent alloxan led to the development of zinc and secretory material deficiency in Paneth cells of mice and rats, which indicates the suppression of the functional state of these cells. Partial correction of zinc and secretory deficiency in Paneth cells was observed in the case of the administration of insulin, adrenaline and prednisolone to animals with alloxan diabetes. The corrective effect was more pronounced with the combined action of adaptive hormones. The results obtained will allow us to deepen our understanding of the pathogenetic mechanisms of the development of diabetes, and the search for ways to correct the disorders contributes to the prevention and treatment of this disease.

Keywords: adrenaline, insulin, prednisolone, secretory material, zinc.