

О.М. Слободян¹
Л.В. Панкевич²
Н.О. Амбарова²

¹ Буковинський державний
медичний університет
Чернівці
² Львівський національний
медичний університет імені
Данила Галицького
Львів, Україна

Надійшла: 10.09.2024
Прийнята: 01.10.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.124-127>

УДК:611.84.018.1.019:612.015.2:616.379-008-64-092.4

ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ЦИНКУ В ТКАНИНАХ ОКА ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ СТРЕ- ПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОМУ ЦУК- РОВОМУ ДІАБЕТИ

Slobodyan O.M. , Pankevych L.V. , Ambarova N.O.  Zinc distribution in rat eye tissues: normal vs. streptozotocin-induced diabetes.

Bukovynian State Medical University, Chernivtsi, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.


ABSTRACT. Background. Reviewing the content and distribution of zinc in tissues from available foreign literature sources, we found that the highest concentration occurs in the cytoplasm of cells with endocrine function, smooth muscle cells, anisotropic disks of striated muscle fibers, and plasma membranes. The concentration varies depending on the functional state of the latter. Considering the complexity of the eye's structure and function, studying the functional histotopography of zinc in its membranes and tissues is of significant interest. Literature presents sporadic and isolated data on zinc content in eye tissues of humans across different age groups and in certain diseases. In cataract development, zinc levels decrease in the lens. In glaucoma, zinc levels increase in the cornea but remain unchanged in other tissues, including the vitreous humor. **Aim.** Our research aimed to investigate the specific histotopographic distribution of zinc in the tissues of the eyeball in normal conditions and at the early stage of experimentally induced streptozotocin-induced diabetes mellitus. **Methods.** The study was conducted on 15 mature, non-pedigreed, white male rats weighing 120-130 g. Experimental diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (Sigma) at a dose of 7 mg per 100 g body weight (prepared in 0.1 mol citrate buffer, pH = 4.5). The development of diabetes was monitored for two weeks by observing the increase in blood glucose levels, measured using the glucose oxidase method. The study was conducted from the second week of the experiment on animals with blood glucose levels exceeding 12.23 mmol/L. The study included two groups of animals: 1. Diabetic group (10 animals): Animals with developing diabetes (2 weeks after streptozotocin injection). 2. Control group (5 animals): Animals received injections of 0.9% saline solution for two weeks. For microscopic study, the rat eyeballs were used (sectioned at the limbal region). Tissues for histological examination were prepared using standard techniques. We studied the distribution of zinc in different tissues of the eyeball in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. The content and distribution of zinc in tissue elements were investigated using a histochemical, sulfide silver method. **Results.** Our observations demonstrate that zinc concentrates in the retina in areas where synapses are formed between photoreceptor neurons and the second system of neurons, between the second and third systems, as well as in the terminal regions of rods and cones. It is evident that zinc plays a significant role in nerve impulse transmission in synapses and even in the photochemical process of light perception by the terminal regions of photoreceptor neurons. At the end of the second week of experimental streptozotocin-induced diabetes, a decreased zinc content was observed, indicated by the lighter staining of the aforementioned retinal bands. Our research findings indicate a specific localization of zinc in the tissues of the eye, particularly the retina, suggesting that zinc is an essential bioelement for the normal functioning of the photoreceptor process in light-sensitive neurons and the transmission of visual sensations to the dendrites of the second and third systems of retinal neurons.


Key words: eye, membranes, retina, zinc, neurons, choroid, experiment, pathology, diabetes, rat.

Citation:

Slobodyan OM, Pankevych LV, Ambarova NO. [Zinc distribution in rat eye tissues: normal vs. streptozotocin-induced diabetes]. *Morphologia*. 2024;18(3):124-7. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.124-127>

 Slobodyan O.M. 0000-0003-4833-0730

 Pankevych L.V. 0000-0001-8687-7628

 Ambarova N.O. 0000-0002-6867-6803

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Як відомо, цинк відноситься до мікроелементів, що мають важливе біологічне значення в організмі людини та тварин. Він входить як незамінний металокомпонент до складу ряду ферментів, є активатором гормонів та багатьох ферментів [1-3]. При вивченні вмісту та особливості топографічного розподілу його по тканинам з доступних фахових джерел закордонної літератури нами встановлено, що найбільш висока концентрація цинку має місце в цитоплазмі клітин з ендокринною функцією, в гладких м'язових клітинах, в анізотропних дисках поперечно-смугастих м'язових волокон, в плазматичних мембранах і змінюється в залежності від функціонального стану останніх [4-6].

Враховуючи складність будови та функції ока, вивчення функціональної гістотопографії цинку в його оболонках і тканинах представляє суттєвий інтерес. У літературі висвітлюються поодинокі та розрізненні дані про вміст цинку в тканинах ока у людини у віковому аспекті і при деяких захворюваннях. При розвитку катаракти вміст цинку в кришталіку знижується, при глаукомі вміст цинку збільшується в рогівці і в склистому тілі залишаючись без змін в інших тканинах, при туберкульозі очей вміст цинку збільшується у всіх його тканинах [7].

Однак ці дані носять чисто кількісний характер. Гістотографія ж цього мікроелемента є не вивченою, хоча вивчення розподілу цинку в тканинних елементах органу може мати важливе значення.

Враховуюче вищезгадане, гістотопографічний розподіл цинку в тканинах очного яблука при цукровому діабеті залишається актуальною проблемою сьогодення.

Мета

Вивчити особливості гістотопографічного розподілу цинку в тканинах очного яблука в нормі та на ранньому терміні експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 15 статевозрілих, безпородних білих щурах-самцях, масою 120-130 г.

Експериментальний цукровий діабет викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозототину фірми "Sigma" з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла (приготованому на 0,1 моль цитратному буфері, рН=4,5). Розвиток цукрового діабету контролювали впродовж 2 тижнів за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили з другого тижня експерименту на тваринах з рівнем глюкози понад 12,23 ммоль на 1 л. У роботі використовували 2 групи тварин: 1 - група (10 тварин) - з цукровим діабетом, що розвивається (2 тижні після вве-

дення стрептозототину); 2 - група була контрольною (5 тварин), отримували ін'єкції 0,9% фізіологічного розчину упродовж 2 тижнів.

Усі тварини знаходились в умовах віварію і процедури, що стосувалися питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [Страсбург, 1985], "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001], Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01. 11. 2000 року (протокол № 10 від 26.12. 2011 року), (протокол №2 від 20 лютого 2012 року). Перед забором матеріалу дослідної ділянки тварину виводили з експерименту за допомогою диетилового ефіру. Для мікроскопічного дослідження використовували очні яблука щурів (пересікалися по ділянці лімба). Препарати для гістологічного дослідження готували за загальноприйнятою методикою [8]. В результаті проведеного гістологічного дослідження біоптатів тканин ока щурів зі стрептозототиніндукованим цукровим діабетом ми досліджували розподіл вмісту цинку в різних тканинах очного яблука. Вміст та розподіл цинку в тканинних елементах вивчався гістохімічним, сульфурічним методом. Суть методу полягає в тому, що завдяки фіксації в 70° спирті, насиченому сірководнем, тканинний цинк переводиться в сульфід цинку, що є активним каталізатором. Після подальшої обробки матеріалу в розчині, що містить азотно-кислий срібло, гуміарабік і гідрокінон, відбувається відновлення срібла. У місцях з найбільш високою концентрацією цинку відбувається його концентрація у вигляді гранул темно-коричневого кольору. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа МБІ – 1 і цифровим фотоапаратом Nikon D 3100.

Результати та їх обговорення

При проведенні мікроскопічного дослідження нами було встановлено, що цинк у різних оболонках та в середовищах ока розподіляється нерівномірно. У рогівці найбільше цинку міститься в поверхневих шарах багатошарового плоского епітелію. У власній речовині рогівки цинку міститься менше, але більше, ніж у склері. У препаратах, оброблених сульфурічним методом, межа між склерою і рогівкою у вигляді косої лінії виступає дуже чітко завдяки тому, що тканина рогівки має блідо-коричневий колір як результат осаду гранул відновленого срібла, в той час як тканина склери

майже не пофарбована і має вигляд світлої смужки. У кришталику значна кількість цинку локалізується в капсулі а у волокнах кришталика, цинк містився у незначній кількості. У волокнах ядра кришталика, концентрація цинку була високою, завдяки чому центральна частина кришталика чітко контрастується від периферичної частини. У судинній оболонці концентрація цинку була високою. За рахунок цього вона протягом усього свого ходу чітко контрастувана у темний колір. У війковому тілі підвищена концентрація цинку спостерігалась у товщі війкового м'яза, а також у клітинах пігментного епітелію війкової частини сітківки, що вистилає війкові відростки. У райдужній оболонці цинк накопичувався в цитоплазмі м'язових клітин м'язів, що відповідають за розширення та звуження зіниці, а також в цитоплазмі клітин пігментного епітелію. В оптичній частині сітківки у препаратах, оброблених сульфсрібним методом, темні гранули відновленого срібла утворювали чітко відмежовані смуги. Найбільш темна смуга проходить в ділянці локалізацій периферичних частин колбочок і паличок. Інша смуга була вужчою і локалізувалась у зовнішньому сітчастому шарі. І ще одна смуга, що була світліша і ширша за попередню локалізується у внутрішньому сітчастому шарі. Найбільш темна смуга розташовується на межі внутрішнього сітчастого, шару нервових клітин та нервововолокнистого шарів. У зовнішньому ядерному та внутрішньому ядерному шарах, реакція на цинк практично відсутня.

Таким чином видно, що цинк у сітківці концентрується в ділянках формування синапсів між фоторецепторними нейронами та другою системою нейронів, між другою та третьою системами, а також у термінальних відділах паличок та колбочок. Очевидно, цинк відіграє значну роль у передачі нервових імпульсів в синапсах, і навіть у фотохімічному процесі сприйняття світла термінальними відділами фоторецепторних нейронів.

Наприкінці другого тижня експериментального стрептозоточин індукованого цукрового діабету відзначалося знижений вміст цинку, про що

свідчило світліше забарвлення зазначених вище смужок сітківки.

Підсумок

У тканинних структурах ока цинк розподіляється нерівномірно: у зовнішній оболонці цинк концентрується в основному в поверхневих шарах покривного епітелію і у власній речовині рогівки. Відмічається підвищений вміст цинку в капсулі кришталика та у його ядрі. Велика концентрація цинку візуалізується в судинній оболонці а у сітчастій оболонці цинк локалізується пошарово. Найбільш високою концентрацією характеризується шар паличок та колбочок, місце синаптичних зв'язків між першою, другою та третьою системами нейронів. При проведенні експериментального моделювання стрептозоточиніндукованого цукрового діабету вміст цинку в перерахованих структурах знижується. Беззаперечним є той факт, що цинк має важливе значення для забезпечення нормального перебігу процесу передачі імпульсів у системі нейронів сітківки.

Перспективи подальших досліджень: Результати нашого дослідження свідчать про специфічну локалізацію цинку в тканинах ока і, зокрема, сітківці, що дає підставу припустити, що цинк є необхідним біоелементом для нормального здійснення фоторецепторного процесу в світлочутливих нейронах і передачі зорових відчуттів на дендрити другої і третьої системи нейронів сітківки.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Морфо-функціональні особливості органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операціях та ожирінні» (номер державної реєстрації 0120U002129).

Літературні джерела

References

1. Gadoa ZA. Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats. 2022. Int. J. Mol. Sci. 2014;15 S.
2. Alkaladi A, Abdelazim AM, Afifi M. Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats. Int J Mol Sci. 2014 Jan 28;15(2):2015-2023. doi: 10.3390/ijms15022015.
3. Alomari G, Al-Trad B, Hamdan S, Aljabali AAA, Al Zoubi MS, Al-Batanyeh K, Qar J, Eaton GJ, Alkaraki AK, Alshaer W, Haifawi S, Jemon K,

- Chellappan DK, Dua K, Tambuwala MM. Alleviation of diabetic nephropathy by zinc oxide nanoparticles in streptozotocin-induced type 1 diabetes in rats. IET Nanobiotechnol. 2021 Jul;15(5):473-483. doi: 10.1049/nbt2.12026.
4. Ghadam A, Bahaa A, Alehuddin A, Alaa AA, Mazha SA; Khalid A, Janti Q, Gregory JE, Al-muthanna KA, Walhan A, Saja H, Khairunadwa J, Dinesh KC, Kamal D, Murtaza MT. Alleviation of diabetic nephropathy by zinc oxide nanoparticles in streptozotocin-induced type 1 diabetes in rats. IET Nanobiotechnol. 2021;15:473-483. DOI:

10.1049/nbt2.12026

5. Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo QJiR, Wang H, Wang Y, Zhou Y. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis.* 2020;94:91–95. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.017

6. Elassy N, El-Dafrawy S, Abd El-Azim AO, El-Khawaga OAY, Negm A. Zinc oxide nanoparticles augment CD4, CD8, and GLUT-4 expression and restrict inflammation response in streptozotocin-induced diabetic rats. *IET Nanobiotechnol.* 2020

Oct;14(8):680-687. doi: 10.1049/iet-nbt.2020.0079.

7. Asif N, Amir M, Fatma T. Recent advances in the synthesis, characterization and biomedical applications of zinc oxide nanoparticles. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2023 Oct;46(10):1377-1398. doi: 10.1007/s00449-023-02886-1.

8. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. [Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions]. *Zhytomyr: Polissia.* 2015. 286 p. Ukrainian.

Слободян О.М., Панкевич Л.В., Амбарова Н.О. Особливості розподілу цинку в тканинах ока щурів в нормі та при експериментальному стрептозототиніндукованому цукровому діабеті.

РЕФЕРАТ. Актуальність. При вивченні вмісту та особливості топографічного розподілу цинку по тканинам з доступних фахових джерел закордонної літератури нами встановлено, що найбільш його висока концентрація має місце в цитоплазмі клітин з ендокринною функцією, в гладких м'язових клітинах, в анізотропних дисках поперечно-смугастих м'язових волокон, в плазматичних мембранах і змінюється в залежності від функціонального стану останніх. Враховуючи складність будови та функції ока, вивчення функціональної гістотопографії цинку в його оболонках і тканинах представляє суттєвий інтерес. У літературі висвітлюються поодинокі та розрізненні дані про вміст цинку в тканинах ока у людини у віковому аспекті і при деяких захворюваннях. При розвитку катаракти вміст цинку в кришталіку знижується, при глаукомі вміст цинку збільшується в рогівці і в склистому тілі залишаючись без змін в інших тканинах. Однак ці дані носять чисто кількісний характер. Гістотографія ж цього мікроелемента є не вивченою, хоча вивчення розподілу цинку в тканинних елементах органу може мати важливе значення. **Метою** нашого дослідження стало вивчити особливості гістотопографічного розподілу цинку в тканинах очного яблука в нормі та на ранньому терміні експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету. **Методи.** Дослідження проводили на 15 статевозрілих, безпородних білих щурах–самцях, масою 120-130 г. Експериментальний цукровий діабет викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозототину фірми "Sigma" з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла (приготованому на 0,1 моль цитратному буфері, рН=4,5). Розвиток цукрового діабету контролювали впродовж 2 тижнів за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили з другого тижня експерименту на тваринах з рівнем глюкози понад 12,23 ммоль на 1 л. У роботі використовували 2 групи тварин: 1 - група (10 тварин) - з цукровим діабетом, що розвивається (2 тижні після введення стрептозототину); 2 - група була контрольною (5 тварин), отримували ін'єкції 0,9% фізіологічного розчину впродовж 2 тижнів. Для мікроскопічного дослідження використовували очні яблука щурів (пересікалися по ділянці лімба). Препарати для гістологічного дослідження готували за загальноприйнятою методикою. В результаті проведеного гістологічного дослідження біопатів тканин ока щурів зі стрептозототиніндукованим цукровим діабетом ми досліджували розподіл вмісту цинку в різних тканинах очного яблука. Вміст та розподіл цинку в тканинних елементах вивчався гістохімічним, сульфсрібним методом. **Результати.** Цинк у сітківці концентрується в ділянках формування синапсів між фоторецепторними нейронами та другою системою нейронів, між другою та третьою системами, а також у термінальних відділах паличок та колбочок. Очевидно, цинк відіграє значну роль у передачі нервових імпульсів в синапсах, і навіть у фотохімічному процесі сприйняття світла термінальними відділами фоторецепторних нейронів. Наприкінці другого тижня експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету відзначалося знижений вміст цинку, про що свідчило світліше забарвлення зазначених вище смужок сітківки. Результати нашого дослідження свідчать про специфічну локалізацію цинку в тканинах ока і, зокрема, сітківці, що дає підставу припустити, що цинк є необхідним біоелементом для нормального здійснення фоторецепторного процесу в світлочутливих нейронах і передачі зорових відчуттів на дендрити другої і третьої системи нейронів сітківки.

Ключові слова: око, оболонки, сітківка, цинк, нейрони, судинна оболонка, експеримент, патологія, діабет, щур.