

ЦИТОКИНЫ, МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТЫ ПРИ НАРУШЕНИИ МОРФО- ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС ВСЛЕДСТВИЕ ГИПОКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТЫ

Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

yamarinka@ukr.net

Данная работа является фрагментом НИР «Патогенез впливу екзогенних шкідливих факторів на морфофункціональний стан підшлункової залози», № гос. регистрации 012U002381.

Вступление. Несбалансированное питание со сниженным содержанием в суточном рационе нутриентов оказывает неблагоприятное влияние на экзо- и эндокринный аппарат ПЗ человека и животных [2]. Поэтому представляется важным выяснить участие иммунных механизмов в повреждении ПЖ, в основе которых лежит активация экспрессии и повышение содержания в крови различных биологически активных веществ, прежде всего цитокинов [1], а так же рассмотреть баланс макро- и микроэлементов, потому что его нарушение может вносить негативный вклад в поддержание функциональных и морфологических изменений в ПЖ [5].

Целью исследования явилось уточнение патогенеза повреждения ПЖ беременных крыс при действии гипокалорийной диеты, путём изучения морфофункционального состояния ПЖ, уровня цитокинов, макро- и микроэлементов.

Объект и методы исследования. Изучены морфофункциональные изменения ПЖ беременных крыс 1-й гр., получивших гипокалорийную диету (57,4 ккал в сутки) и животных 2-й гр., находившихся на сбалансированном питании (104,5 ккал в сутки) с использованием гистологического и цитоморфометрического методов [3]. Для оценки цитокинов в сыворотке крови иммуноферментным методом определялись ИЛ-4 (Вектор БЕСТ, Новосибирск) и ИЛ-12 (Ani Biotech Oy, Finland). В гомогенате ткани ПЖ спектрофотометрическим методом определялись цинк (Spectromed, Молдова), магний и кальций («Филист-Диагностика», Днепропетровск).

Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», утвержденных Пятым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013).

Результаты исследований и их обсуждение. По данным морфологического исследования у 100%

крыс основной группы (1-й) по сравнению с животными группы сравнения наблюдается уменьшение объёма паренхимы на 8,7% ($p < 0,001$), увеличение объёма стромальной части ПЖ на 23,3% ($p < 0,001$), снижение средней площади ацинусов на 20,1% ($p < 0,001$), обнаружен меж- и внутридольковый фиброз ($y 80\% \pm 12,6$, $p < 0,001$ животных), липоматоз и отёк стромы ($y 80\% \pm 12,6$, $p < 0,001$), воспалительная инфильтрация ($y 40\% \pm 15,5$), дистрофические изменения ядер экзокриноцитов ($y 100\%$). Установлено уменьшение площади ОЛ на 25,3% ($p < 0,001$), уменьшении β - и α -клеток в ОЛ на 27,3% и 28% соответственно ($p < 0,001$), уменьшение размеров и дегенеративные изменения ядер α - и β -клеток, дистрофия их цитоплазмы ($y 100\%$).

С учётом того, что обнаруженные у крыс морфологические изменения ПЖ имеют выраженный характер, представляется важным выяснение участия иммунных механизмов в повреждении ПЖ и состояния баланса макро- и микроэлементов, поскольку его нарушения могут вносить негативный вклад в поддержание функциональных и морфологических изменений ПЖ. С этой целью был исследован уровень в сыворотке интерлейкинов 12 и 4 (ИЛ-12, ИЛ-4), а так же содержание в гомогенате ткани ПЖ кальция, магния и цинка. Из множества про- и противовоспалительных цитокинов мы выбрали ИЛ-12 и ИЛ-4 так как они определяют направление дифференцировки Т-лимфоцитов из $CD4^+$ -Т-клеток с образованием Т-хелперов 1-го (Th1) и 2-го (Th2) типов [1], т.е. являются маркерными цитокинами Th1- и Th2-лимфоцитов. Их уровень позволяет судить о пути реализации иммунного ответа на повреждение тканей, поскольку известно, что Th1-клетки опосредуют реакции клеточного иммунитета, основанные на взаимодействии антиген-Т-лимфоцит, а Th2 клетки – реакции гуморального иммунного ответа, связанного со стимуляцией В-лимфоцитов и выработкой антител [1].

Результаты исследования содержания цитокинов и микроэлементов представлены в **таблице**. Выявлено, что у 100% крыс 1-й гр. имеется существенное повышение содержания ИЛ-12 (в 1,8 раза) и снижение ИЛ-4 (в 2,4 раз) по сравнению с группой контроля. Соотношение ИЛ-12/ИЛ-4 у крыс 1-й гр. составляет 22,5 (в группе сравнения 5,0). Исследование уровня

Таблица 1
Содержание цитокинов в сыворотки крови и макро- и микроэлементов в гомогенате ткани поджелудочной железы (M±m) у крыс

Показатели	Крысы 1-й гр.	Крысы 2-й гр.	P
ИЛ-12 (кг/мл)	17,8±0,8	9,5±0,4	< 0,001
ИЛ-4 (кг/мл)	0,8±0,1	1,9±0,1	< 0,001
Кальций (мг/100г)	9,5±0,2	7,9±0,4	< 0,01
Магний (мг/100г)	2,25±0,07	2,4±0,1	
Цинк (мг/100г)	5,0±0,1	9,0±0,2	< 0,001

Примечание: p – сравнение с группой контроля.

макро- и микроэлементов в гомогенате ткани ПЖ показало, что у 100% крыс имеется повышение уровня кальция на 20,9%. Уровень магния снижен у 50% крыс (у 20% нормальный его уровень, у 30% - повышенный), при этом среднее значение показателя практически не отличается от такового у животных группы сравнения. Уровень цинка снижен (в среднем на 44,7%) у 100% животных (**табл.**). Таким образом, полученные в целом результаты исследования, манифестируют наличие у крыс-матерей основной группы системного гуморального ответа в виде дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов с преобладанием маркерного цитокина Th1-лимфоцитов (ИЛ-12), что свидетельствует о преимущественном вовлечении в патогенез повреждения ПЖ клеточного звена иммунитета. Это, безусловно, негативно сказывается на внутриклеточном метаболизме панкреатитов, их экзо- и эндокринной секреторной активности, что может еще больше усугубить повреждение ПЖ у экспериментальных животных с морфологическими признаками воспаления, так и у крыс без признаков воспаления, (поскольку иммунологические реакции, длительно сохраняются, а именно специфическая аллергическая реакции замедленного типа) со временем могут способствовать развитию хронического панкреатита и панкреатической недостаточности. Также у всех животных 1-й группы, по сравнению с крысами группы контроля, имеет место дисбаланс

макро- и микроэлементов в ткани ПЖ, который может усиливать нарушения метаболизма панкреатитов, возникшие вследствие гормонально-субстратных нарушений при гипокалорийной диете.

Выводы.

1. У всех беременных крыс, получавших гипокалорийную диету, наблюдаются морфофункциональные изменения ПЖ, проявляющиеся сочетанием дистрофических и склеротических изменений в специализированных клетках ПЖ.

2. У всех животных основной группы выражен системный гуморальный ответ в виде дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов с преобладанием маркерного цитокина Th1-лимфоцитов (ИЛ-12). Это свидетельствует о преимущественном вовлечении в патогенез повреждения ПЖ клеточного звена иммунитета.

3. У всех крыс экспериментальной группы (1-й) имеет место дисбаланс макро- и микроэлементов в ткани ПЖ (гипер- или гипокальциемия, гипомagneмия, снижение содержания цинка), который может усугублять нарушения метаболизма панкреатитов, возникшие вследствие гормонально-субстратных нарушений при гипокалорийной диете.

4. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что гипокалорийная диета беременных крыс является существенным фактором риска развития органической патологии ПЖ с секреторной недостаточностью у них самих.

Перспективы дальнейших исследований. Результаты исследования свидетельствуют о перспективности дальнейших научных разработок в данном направлении, поскольку на сегодня ещё остаются неизученными вопросы, касающиеся возможности применения препаратов магния и цинка в комплексе терапевтических мероприятий, направленных на улучшение функционального состояния ПЖ в случае несбалансированного питания животных. Выяснение этих вопросов на уровне эксперимента имеет большое значение для углубления знаний относительно патогенеза повреждения ПЖ при нарушении питания у взрослых людей и детей, а значит и совершенствования методов профилактики и лечения у них заболеваний ПЖ.

Литература

1. Болевич С.Б. Молекулярные механизмы в патологии человека: Руководство для врачей / С.Б. Болевич, В.А. Войнов. – М.: ООО «Изд-во «Медицинское информационное агентство», 2012. – С. 8-10.
2. Колесник Ю. М. Chronic fetal hyperglycemia as a predictor of neuroendocrine imbalance development with metabolic disturbances / Ю. М. Колесник, О. В. Ганчева, Ю. И. Вародеева [и др.] // Клінічна фармація. - 2013. – Т. 17, № 4. – С. 52-55.
3. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – М.: Мед., 1961. – 339 с.
4. Тотолян А.А. Клетки иммунной системы / А.А. Тотолян. – СПб.: Наука, 2000. – 231 с.
5. Herchuelz A. Na(+)/Ca(2+) exchange and the plasma membrane Ca(2+)-ATPase in β -cell function and diabetes / A. Herchuelz, E. Nguidjoe, L. Jiang, N. Pachera // Adv. Exp. Med. Biol. – 2013. – P. 385-394.

УДК 616.37–092:612.345:613.24:57.084:57.088.6:577.118

ЦИТОКИНИ, МАКРО- ТА МІКРОЕЛЕМЕНТИ ПРИ ПОРУШЕННІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ У ЩУРІВ ВНАСЛІДОК ГІПОКАЛОРИЙНОЇ ДІЄТИ

Ніколаєва О.В., Ковальцова М.В., Сулхдост І.О., Огнева, Литвиненко О.Ю.

Резюме. У підшлунковій залозі вагітних щурів, які отримували гіпокалорійну дієту, виявлені морфофункціональні зміни: зменшення обсягу паренхіми та площі ацинусів, набряк, фіброз та ліпоматоз стромы,

її запальна інфільтрація, дистрофічні зміни ядер та цитоплазми; дисбаланс про- та протизапальних цитокінів з переважанням маркерного цитокіну Th1-лімфоцитів (інтерлейкіну-12); дисбаланс макро- та мікроелементів у тканині підшлункової залози (гіпер- або гіпокальціємія, гіпомагніємія, зниження вмісту цинку). Подібні морфофункціональні зміни підшлункової залози у тварин, свідчать про те, що гіпокалорійна дієта вагітних щурів є істотним чинником ризику розвитку хронічної патології підшлункової залози.

Ключові слова: гіпокалорійна дієта, морфофункціональний стан підшлункової залози, вагітні щури, цитокіни, макро- та мікроелементи.

УДК 616.37–092:612.345:613.24:57.084:57.088.6:577.118

ЦИТОКИНЫ, МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТЫ ПРИ НАРУШЕНИИ MORFOFUNKЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС ВСЛЕДСТВИЕ ГИПОКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТЫ

Николаева О.В., Ковальцова М.В., Сулхдост И.А., Огнева Л.Г., Литвиненко Е.Ю.

Резюме. В поджелудочной железе крыс, получавших гипокалорийную диету, выявлены морфофункциональные изменения: уменьшение объёма паренхимы и площади ацинусов, отёк, фиброз и липоматоз стромы, её воспалительная инфильтрация, дистрофические изменения ядер и цитоплазмы; дисбаланс про- та противовоспалительных цитокинов с преимущественным увеличением маркерного цитокіна Th1-лімфоцитів (інтерлейкіна-12); дисбаланс макро- и микроэлементов в ткани поджелудочной железы (гипер- или гипокальциемия, гипомагніємія, снижение содержания цинка). Подобные морфофункциональные изменения поджелудочной железы у животных, свидетельствуют о том, что гипокалорийная диета беременных крыс является существенным фактором риска развития хронической патологии поджелудочной железы.

Ключевые слова: гипокалорийная диета, морфофункциональное состояние поджелудочной железы, беременные крысы, цитокіни, макро- и микроэлементы.

UDC 616.37–091.8–092.9:[612.017.1+577.118]

Cytokines, Major Mineral Elements and Trace Elements under Violation of Morphofunctional State of the Pancreas of Rats Having Received a Hypocaloric Diet

Nikolayeva O., Kovaltsova M., Sulhdost I., Ognieva L., Lytvynenko E.

Abstract. Introduction. The actual problem of medicine is the influence of exogenous pathogenic factors with are caused by the pathology of the pancreas. Modern conditions of human life, diets, religious beliefs and those of pregnant women in particular, result in a problem of digestion is manifested by the pathology of the pancreas.

The purpose of the study was specification of pathogenetic actions in the violated pancreas followed by the affectation of adverse exogenous factors in via analysis of characteristics of major mineral elements and trace elements under violation of morphofunctional state of the pancreas of pregnant rats resulting from a hypocaloric diet.

Materials and Methods. We studied morphological changes of pancreas of pregnant rats using histological, cytochemical, cytomorphometric and biochemical methods. A core group of adult rats received hypocaloric diet (57.4 calories per day). Comparison group consisted of animals with a balanced diet (104.5 calories per day). For the rats, the experiment was stopped immediately after the birth of offspring in compliance with the ethical principles. To assess the cytokine in the serum were determined by ELISA of IL-4 (Vector Best, Novosibirsk) and IL-12 (Ani Biotech Oy, Finland). In pancreatic tissue homogenates were determined by spectrophotometry of zinc (Spectromed, Moldova), magnesium and calcium («Filst-Diagnosis», Dnepropetrovsk).

Results. The pancreas of pregnant rats treated with hypocaloric diet revealed morphological changes. At the 100% of the rats of the main group (1st) compared to the control group animals, a decrease in the volume of parenchyma 8.7% ($p < 0,001$), an increase in the volume of the prostate stromal part for 23.3% ($p < 0,001$), a decrease of average Square acini to 20.1% ($p < 0,001$), and is found between intralobular fibrosis ($80\% \pm 12.6$, $p < 0,001$ animals), and swelling of stromal lipomatosis ($80\% \pm 12.6$, $p < 0,001$), inflammatory infiltration ($40\% \pm 15.5$), degenerative changes in exocrine cells nuclei (at 100%). The decrease in the area of OL 25.3% ($p < 0,001$) reduction β - and α -cells in the AL by 27.3% and 28%, respectively ($p < 0,001$) reduction in the size of the nuclei and degenerative changes α - and β - cells, degeneration of their cytoplasm (in 100%). The rats in all groups are diagnosed as having identical tendencies of cytokines change; significant buildup of pro-inflammatory interleukin-12 and reduction of anti-inflammatory interleukin-4 which indicates predominant involvement in pathogenesis of violation of pancreas cell component of immune system. The pancreas of rats treated with hypocaloric diet revealed major mineral elements and trace elements imbalance in the pancreas tissue (hyper- or hypocalcemia, hypomagnesemia, reduction of zinc content).

Conclusions. All pregnant rats treated with hypocaloric diet observed morphological changes of the pancreas, manifested by a combination of dystrophic and sclerotic changes in the specialized cells of the pancreas. In all animals of the main group expressed systemic humoral response in the form of imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines with predominance marker cytokine Th1-lymphocytes (IL-12). This indicates the preferential involvement in the pathogenesis of pancreatic damage cellular immunity. The results suggest that chronic stress of pregnant rats is a significant risk factor for future chronic pathology of the pancreas (including diabetes mellitus) not only in rats themselves, but also in their offspring.

Keywords: hypocaloric diet, morphology and function of the pancreas, pregnant rats and their offspring, cytokines, major mineral elements and trace elements.

Рецензент – проф. Костенко В.О.

Стаття надійшла 04.06.2015 р.