

УДК: 616-002-092.9:613.22+613.86

Омельченко О. Є., Білець М. В.

**ОСОБЛИВОСТІ МАКРОФАГАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ НА ТЛІ СПОЛУЧЕНОЇ ДІЇ ВИСОКОКАЛОРИЙНОГО ХАРЧУВАННЯ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ У ЩУРИВ****Вищий державний навчальний заклад України  
«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)**

bcp-p@i.ua

Дана робота є фрагментом НДР «Метаболічні зміни та стресостійкість органів травлення та кісткової тканини при поєднанні впливів ожиріння і емоційного стресу», № державної реєстрації 0114U001457.

**Вступ.** З часів І.І. Мечнікова добре відома важливість макрофагів у захисті різних видів організмів від чужорідного матеріалу. Доведена також суттєва роль макрофагів у процесах обміну ліпідів та метаболізмі жирової тканини [3]. В процесі прогресування ожиріння виникає системне запалення з уповільненим перебігом [11]. Ініціальну роль у його розвитку відіграють тканинні макрофаги, які підтримують хронічне запалення у жировій тканині, що переконливо обґрунтовано в гістохімічних дослідженнях Л.Е. Гогишвили та співавт. [1]. Автори спостерігали агрегацію макрофагів з адипоцитами, яка в середньому в 30 разів перевищувала показники контрольної групи осіб з нормальною масою тіла та позитивно корелювала з некрозом адипоцитів. Активовані макрофаги та деякі інші клітини синтезують прозапальні цитокіни (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\alpha$ , ІЛ-6), біологічна роль яких полягає у підвищенні імунного захисту: диференціюванні Т- і В-лімфоцитів, синтезі білків гострої фази, підсиленні гемопоезу [11,12]. Питання щодо участі макрофагальної реакції в запаленні жирової тканини на тлі висококалорійного харчування та іммобілізаційного стресу залишається до кінця не з'ясованим.

**Мета даного дослідження** – вивчити в експерименті макрофагальну реакцію в жировій тканині при висококалорійному харчуванні (ВКХ), іммобілізаційному стресі (ІС) та їх сполученій дії.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти виконані на 40 статевозрілих щурах-самцях, яких впродовж 9 тижнів утримували на висококалорійному раціоні, що включав 47% стандартного корму та додатково згущене молоко (44%), соняшникову олію (8%) та крохмаль (1%) [13]. У висококалорійній суміші вміст жирів був на 18,4%, вміст вуглеводів – на 17,2% більший та вміст білків – на 40% менший порівняно з стандартним кормом. Контрольна група щурів отримувала стандартний корм, дослідна група – висококалорійну суміш. Через 9 тижнів тварин дослідної і контрольної груп рандомізували та розподілили кожну на дві підгрупи, сформувавши наступні чотири підгрупи: перша – інтактні щури, які отримували стандартний корм, друга – іммобілізаційний стрес за методом Г. Сельє [8] – п'ять сеансів щоденно по три години іммобілізації; третя – висококалорійне харчування; четверта підгрупа – висококалорійне харчування та іммобілізаційний стрес.

Після моделювання іммобілізаційного стресу через одну добу тварин всіх підгруп забивали паралельно під тіопенталовим наркозом (внутрішньочеревинно 40 мг/кг маси тіла). Для оцінки макрофагальної реакції відбирали шматочки епидидимальної жирової тканини, яка відзначається високою чутливістю до біологічної дії інсуліну. Отриманий матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, потім піддавали парафіновій проводці, після чого виготовляли серійні зрізи товщиною 4-5 $\times 10^{-6}$  м. Препарати зафарбовували гематоксиліном і еозинном, а також використовували PAS-реакцію по МакМанусу-Хочкісу (контроль з амілазою). Гістологічні методики виконували згідно прописів, викладених в посібниках з гістологічної техніки і гістохімії [4,6]. Вивчення мікропрепаратів і фотографування проводили на мікроскопі «Olympus» BX-41 (Японія) при збільшенні на 4200 $\times$ 400 $\times$ 1000. Морфометричним методом оцінювали загальну кількість макрофагів в одному полі зору (3,12 $\times 10^{-7}$ м). Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики за допомогою електронних таблиць «Excel-5». Статистичний аналіз результатів дослідження проводили за допомогою програми SPSS 17.0 для Windows методами варіаційної статистики. Для оцінки відмінностей між групами використовували тест Краскела-Уолліса. Критичний рівень значущості у дослідженнях приймали  $\leq 0,05$ .

Експерименти виконані з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Дослідження показали, що у тварин, які отримували висококалорійний корм впродовж 9 тижнів (III група), кількість макрофагів в жировій тканині суттєво збільшилась в середньому в 4 рази ( $p < 0,001$ ) порівняно з контрольною групою щурів (**табл.**).

Аналогічний характер змін макрофагальної інфільтрації жирової тканини спостерігався у стресованих щурих (II група), але ці зміни були менш виражені (**табл.**).

Максимальних значень інфільтрація жирової тканини макрофагами і лімфоцитами набула в групі щурів з поєднаним впливом ВКХ та ІС (IV група). Кількість макрофагів в одному полі зору в даній групі достовірно перевищувала в 5,5 рази вміст клітин в жировій тканині контрольної групи щурів (**табл.**).

**Таблиця.**

**Кількість макрофагів в одному полі зору  
(3,12×10<sup>-7</sup> м<sup>2</sup>), екз. (M±m)**

Групи	Кількість макрофагів в одному полі зору
I. Контроль	0,86±0,26
II. Імобілізаційний стрес	2,86±0,26*^□
III. Висококалорійне харчування	3,86±0,34*
IV. Висококалорійне харчування + іммобілізаційний стрес	4,71±0,29*#

**Примітка:**

- \* – p<0,001 між дослідними і контрольною групами;
- ^ – p<0,05 між другою, третьою та четвертою групами;
- – p>0,05 між другою та іншими дослідними групами (третьою, четвертою);
- # – p<0,001 між четвертою та іншими дослідними групами.

Відомо, що стресорна реакція носить адаптивний характер, обумовлюючи зміни у всіх системах організму. Згідно концепції Г. Сельє хронічний стрес формує біологічну реакцію запалення [8]. Згодом було обґрунтовано положення про те, що реакція запалення при стресі супроводжується підсиленням апоптозу та підвищенням продукції первинних та вторинних медіаторів – сімейства прозапальних цитокінів та білків гострої фази [10]. На фагоцитуючих клітинах виявляються різні типи адренорецепторів, які здійснюють адренергічний контроль їх функцій як

прояв стресорної реакції, яка супроводжується активацією симпато-адреналової системи [7].

Нами доведено, що ВКХ викликає у щурів послаблення інкреторної функції підшлункової залози та зменшення в периферичній крові вмісту інсуліну [9]. За умов недостатності інсуліну, для підтримання енергетичного гомеостазу організму, активується процес харчування, що відноситься до найбільш древніх зв'язків між організмом та оточуючим середовищем і відіграє важливу роль в процесах адаптації [2].

Отримані нами результати співпадають з даними інших дослідників [5, 11] і свідчать про те, що ВКХ та супутній розвиток ожиріння супроводжується запаленням жирової тканини і відіграє важливу патогенетичну роль у розвитку неінфекційних захворювань.

**Висновки.** При висококалорійному харчуванні спостерігається розвиток макрофагальної інфільтрації жирової тканини у щурів, що підсилюється на тлі сполученої дії іммобілізаційного стресу та висококалорійного харчування.

**Перспективи подальших досліджень.** Відкриваються перспективи подальших досліджень динаміки розвитку макрофагальної реакції залежно від тривалості висококалорійного харчування та тяжкості емоційного стресу, що важливо для вивчення реакції цілісного організму і закономірностей імунного захисту.

## Література

1. Gogiashvili L.E. Makrofagi: ul'trastruktura i funkcii v zhirovoj tkani i perifericheskoy krovi u lic s izbytochnoj massoj tela / L.E. Gogiashvili, Z.G. Cagareli, E.G. Nikobadze [i dr.] // Allergologija i immunologija. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 119-120.
2. Kaznacheev V.P. Sovremennye aspekty adaptacii / V.P. Kaznacheev. – М.: Nauka, 1980. – 192 s.
3. Karr Ja. Makrofag. Obzor ul'trastruktury i funkcii / Ja. Karr. – М.: Medicina, 1978. – 189 s.
4. Lili R. Patogistologicheskaja tehnika i prakticheskaja gistohimija / R. Lili. – М.: Mir, 1960. – 648 s.
5. Liftiev R.B. Rol' pishhevoego povedenija v formirovanii izbytochnoj massy tela i ozhireniya vzroslogo naselenija g. Baku / R.B. Liftiev, A.A. Agaev // Mezhdunar. med. zhurnal. – 2011. – № 2. – С. 65-68.
6. Merkulov G.A. Kurs patologogistologicheskoy tehniki / G.A. Merkulov. – М.: Medicina, 1961. – 339 s.
7. Orlova E.G. Molekuljarnye mehanizmy adrenorgicheskogo kontrolja funkcij fagocitirujushih kletok / E.G. Orlova, S.V. Shergiev // Uspehi sovremennoj biologii. – 2004. – Т. 124, № 4. – С. 342-353.
8. Sel'e G. Ocherki ob adaptacionnym sindrome / G. Sel'e. – М.: Medicina, 1960. – 254 s.
9. Tarasenko L.M. Vpliv visokokalorijnoj zmishanoj dieti na virazkove uskodzhennja shlunka ta inkretornu funkciju pidshlunkovoї zalozі za umov immobilizacijnoгo stresu v shhuriv / L.M. Tarasenko, O.E. Omel'chenko, V.Ju. Cuber [ta in.] // Medichna himija. – 2014. – Т. 16, № 3 (60). – С. 46-49.
10. Titov V.N. Biologicheskaja funkcija trofologii (pitanija) i patogenez metabolicheskogo sindroma – fiziologicheskogo pereedanija. Filogeneticheskaja teorija obshhej patologii, leptin i adiponektin: obzor / V.N. Titov // Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija. – 2014. – № 2. – С. 68-79.
11. Shvarc V.V. Vospalenie zhirovoj tkani. Chast' 6. Dejstvie medikamentoznyh sredstv / V.V. Shvarc // Problemy jendokrinologii. – 2012. – № 1. – С. 67-73.
12. Akira S. Interleukin-6 in biology and medicine / S. Akira, T. Taga, T. Kishimoto // Adv. Immunol. – 1993. – Vol. 54. – P. 1-78.
13. West D.B. Dietary obesity in nine inbred mouse strains / D.B. West, C.N. Boozer, D.L. Moody [et al.] // Am. J. Physiol. – 1992. – № 262. – P. 1025-1032.

**УДК** 616-002-092.9:613.22+613.86

### **ОСОБЛИВОСТІ МАКРОФАГАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ НА ТЛІ СПОЛУЧЕНОЇ ДІЇ ВИСОКОКАЛОРИЙНОГО ХАРЧУВАННЯ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ**

**Омельченко О. Є., Білець М. В.**

**Резюме.** Мета дослідження – вивчити в експерименті макрофагальну реакцію в жировій тканині при висококалорійному харчуванні, іммобілізаційному стресі та їх сполученій дії. В ході проведених досліджень, встановлено, що при висококалорійному харчуванні спостерігається розвиток макрофагальної інфільтрації жирової тканини у щурів, що підсилюється на тлі сполученої дії іммобілізаційного стресу та висококалорійного харчування.

**Ключові слова:** іммобілізаційний стрес, висококалорійне харчування, макрофагальна інфільтрація жирової тканини.

**УДК:** 616-002-092.9:613.22+613.86

### **ОСОБЕННОСТИ МАКРОФАГАЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ НА ФОНЕ СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ВЫСОКОКАЛОРИЙНОГО ПИТАНИЯ И ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА У КРЫС**

**Омельченко А. Е., Билец М. В.**

**Резюме.** Цель исследования – исследовать макрофагальную реакцию в жировой ткани при высококалорийном питании, иммобилизационном стрессе и их сочетанном действии. В ходе исследования, установлено, что при высококалорийном питании наблюдается развитие макрофагальной инфильтрации жировой ткани у крыс, которая усиливается при сочетанном действии иммобилизационного стресса и высококалорийного питания.

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс, высококалорийное питание, макрофагальная инфильтрация жировой ткани.

**UDC** 616-002-092.9:613.22+613.86

### **FEATURES OF MACROFAGAL REACTION OF ADIPOSE TISSUE AT COMBINE EFFECT OF HIGH CALORIE DIET AND IMMOBILIZATION STRESS IN RATS**

**Omelchenko O. Y., Bilets M. V.**

**Abstract.** It is known that in the process of obesity progression, systemic inflammation occurs. In the development of inflammation, the incipient role is played by tissue macrophages that support chronic inflammation in the adipose tissue, as proved by many experiments. But the question of the participation of the macrophagal reaction in inflammation of adipose tissue at combine effect of high calorie diet and immobilization stress remains unexplained.

*The aim* of this investigation was to research features of macrofagal reaction of adipose tissue at high calorie diet, immobilization stress and their combined effect in rats.

Experiments were performed on 40 sexually mature male rats, which were kept for a high calorie diet for 9 weeks, including 47% of standard feed and additionally condensed milk (44%), sunflower oil (8%) and starch (1%). Control group of rats received standard feed, experimental group – high-calorie mixture. After 9 weeks, the animals of the experimental and control groups were randomized and divided into four subgroups: the first – intact rats receiving the standard feed, the second – immobilization stress by the method G. Selje – five sessions daily on three hours of immobilization; the third – high-calorie diet; the fourth subgroup is high-calorie diet and immobilization stress.

One day after modeling of immobilization stress, animals of all groups were sacrificed under anesthesia. Fragments of epididymal adipose tissue were selected for assessment of macrophage reaction, then were fixed in 10% formalin solution and embedded in paraffin and sectioned. The tissue sections were 4-5 $\times$ 10<sup>-6</sup> m thick. The preparations were stained with hematoxylin and eosin. PAS-reaction of McManus-Hocchys was used. Histological techniques were performed in accordance to formulations described in manuals of histological techniques and histochemistry. An «Olympus» BX-41 microscope (Japan) was used to study and photograph the micropreparations at magnification x200x400x1000. The total number of macrophages in one visual field (3,12 $\times$ 10<sup>-7</sup>m) was estimated by morphometric method.

Investigations have shown that in rats that received high calorie food for 9 weeks, the number of macrophages in adipose tissue significantly increased by an average of 4 times as much as ( $p < 0.001$ ) control group of rats.

A similar changes in macrophagal infiltration of adipose tissue was observed in stressed rats, but these changes were less pronounced.

The maximum infiltration of adipose tissue by macrophages and lymphocytes were in the group of rats with a combined effect of high calorie diet and immobilization stress – of 5,5 times as much as ( $p < 0.001$ ) control group of rats.

**Conclusions.** Macrophage infiltration of adipose tissue develops in group of rats with high-calorie diet, and intensifies in the group of rats with a combined effect of high calorie diet and immobilization stress.

**Keywords:** immobilization stress, high calorie diet, macrophage infiltration of adipose tissue.

*Рецензент – проф. Непорада К. С.*

**Стаття надійшла 14.08.2017 року**