

- 18.
5. Kovalenko VN Compendium. Medications / Edited by VN Kovalenko, AP Viktorov. - Kiev: Morion, 2005. - 100 s.
6. Ravi V. Anti-Inflammatory Effect of Methanolic Extract of Solanum nigrum Linn Berries / V. Ravi, T.S.M. Saleem, S.S. Patel, J. Raamamurthy, K. Gauthaman // International Journal of Applied Research in Natural Products., June-July 2009., Vol. 2 (2)., P. 36.
7. Stefanov O.V. Preclinical studies of medicines. Guidelines / O.V. Stefanov. - Kyiv, Ukraine Ministry of Health. State Pharmacological Centre, 2001. - 527 p.

Резюме

ПРОТИЗАПАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ПОЄДНАНОГО ВИКОРИСТАННЯ СКЛАДНИХ ЕСТЕРІВ ІБУПРОФЕНУ З НИЗЬКОЧАСТОТНИМ УЛЬТРАЗВУКОМ

*Пристапа Б.В., Кравченко І.А.,
Снегур П.А., Лепих Я.І.*

Була вивчена протизапальна активність нових синтезованих естерів ібупрофену при трансдермальному введенні м'якої лікарської форми з поєднаним використанням низькочастотного ультразвуку. Запальний процес викликали введенням розчинів гістаміну та трипсину в задню кінцівку експериментальних тварин. Динаміку зміни запального процесу визначали за допомогою вимірювання ширини та об'єму уражених

кінцівок.

Ключові слова: протизапальна активність, НПЗЗ, гістамін, трипсин, ефіри ібупрофену, низькочастотний ультразвук, трансдермальне введення.

Summary

ANTIINFLAMMATORY ACTION COMBINED USE OF IBUPROFEN ESTERS AND LOW- FREQUENCY ULTRASOUND

*Pristupa, B.V. Kravchenko I.A. ,
Snegur P.A., Lepih Ya. I ,*

We studied the anti-inflammatory activity of newly synthesized esters of ibuprofen transdermal dosage form with a soft combine the use of low-frequency ultrasound. The inflammatory process was induced by introducing solutions of histamine and trypsin in the hind limb in experimental animals. The dynamics of change in the inflammatory process determined by measuring the width and volume of the affected limbs.

Key words: anti-inflammatory activity, NSAIDs, histamine, trypsin, ibuprofen esters, low-frequency ultrasound, transdermal delivery.

*Впервые поступила в редакцию 29.01.2016 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

133

УДК 616-092.9:613.24/.25:613.65:612.015.11

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВІВ НЕЗБАЛАНСОВАНОГО ХАРЧУВАННЯ ТА ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА СТАН ЗДОРОВ'Я ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

*Ніколаєва О.В., Павлова О.О., Сіренко В.А., Ковальцова М.В.,
Сулхдост І.О.*

*Харківський національний медичний університет, Україна
e-mail: yamarinka@ukr.net*

У вагітних щурів встановлено, що незбалансоване харчування з підвищеним (гр. 1) чи зменшеним вмістом нутрієнтів (гр. 2), а також хронічний стрес (гр. 3) призводить до перебудови морфофункціонального стану підшлункової залози, у вигляді деструктивних змін у панкреоцитах (гр. 1, 2, 3), запальних змін (гр. 2), гемодінамічних порушень (гр. 3); визиває цитокіновий дисбаланс (підвищення інтерлейкіну-12), тим самим посилює пошкодження залози у всіх тварин.

Ключові слова: харчування, стрес, цитокіни, підшлункова залоза, щури.

Введення

В останні роки предметом комплексних фізіологічних, цитологічних, біохімічних досліджень, які освітлені у світовій науковій медичній літературі є вивчення значення збалансованого харчування та дії стресів на організм людини та тварини. Адже, регулярне надходження в організм з їжею поживних речовин (білків, жирів, вуглеводів, вітамінів і біоелементів), їх оптимальне співвідношення є складовою повноцінного живлення, яке забезпечує потреби організму у рості, розвитку й функціонування його органів і систем. Незбалансоване живлення призводить до розладів здоров'я, виникненню хвороб, у тому числі і патології підшлункової залози (ПЗ) [1]. У той же час, стресорний пошкодження організму все частіше спостерігається в наші дні. Як відомо, гострий чи хронічний стрес є джерелом органних і системних порушень, не виключення і розладів ПЗ [2].

Метою дослідження було визначити і порівняти зміни у морфофункціональному стані ПЗ та з'ясувати баланс про- і протизапальних цитокінів у щурів при незбалансованому харчуванні та при дії хронічного стресу.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконано на вагітних лабораторних щурах популяції WAG/G Sto, що утримувались у стандартних умовах віварію. Доступ до їжі та води *ad libitum*.

Дослідні тварини розподілені на чотири групи по 10 щурів у кожній:

- I група – основна, де тварини отримували гіперкалорійну дієту [3];
- II група – основна, в якій щури отримували гіпокалорійну дієту [4];
- III група – основна, щурсамки перебували в умовах стресу [5];
- IV група – контрольна, де щури перебували в зви-

чайних умовах віварію та одержували стандартний раціон харчування

В експериментальній роботі використовувалася оцінка маси тіла тварин. Морфологічне дослідження ПЗ проведено за загальноприйнятими методиками з використанням гістологічних і морфометричних методів [6]. Біохімічне дослідження проводилось імуноферментним методом на підставі вивчення в сироватці крові рівнів інтерлейкіну-4 («Вектор БЕСТ», Новосибірськ) та інтерлейкіну-12 (Elisa Kit, Ani Biotech Oy, Finland) за прикладеними інструкціями. Для перевірки гіпотези о рівності середніх величин використовувався однофакторний дисперсійний аналіз (критерій F). Статистичну обробку проводили з використанням пакету програми Biostat.exe-2008 [7].

Результати

Середньостатистичний рівень антропометричних показників щурів основних груп в порівнянні з такими у тварин груп контролю наведені в рисунку 1.

Порівняння показників маси тіла експериментальних тварин основних груп (1-ї, 2-ї і 3-ї) та групи контролю (4-ї) показало, що за початковою масою тіла щурів всі групи ідентичні, а за кінцевою – суттєво відрізняються. У тварин 1-ї і 4-ї груп протягом експерименту вага збільшується, але у перших достовірно більше, ніж у останніх, що свідчить про виникнення надлишкової маси тіла на тлі гіперкалорійної дієти під час вагітності. У тварин 2-ї і 3-ї груп протягом експерименту вага зменшується (більш суттєво у щурів 2-ї гр., які отримували гіпокало-

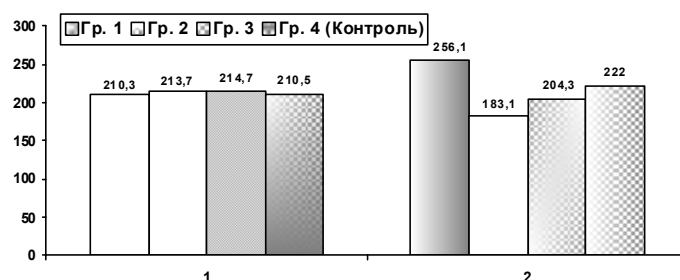


Рис. 1. Маса тіла щурів: на початку (1) та наприкінці (2) експерименту.

Порівняння морфометричних даних структурних елементів підшлункової залози (M ± m) у щурів 1-ї, 2-ї та 3-ї груп (у % від нормативу)

Структурні елементи	Щури-матері		
	Група 1	Група 2	Група 3
Паренхіма	112,9 ± 0,2	91,3 ± 0,8 ^x	99,3 ± 0,1 ^{xy}
Строма	67 ± 0,3	123,3 ± 2,1 ^x	99 ± 0,3 ^{xy}
Площа ацинусів	126,5 ± 0,2	79,9 ± 0,2 ^x	91,8 ± 0,1 ^{xy}
Площа острівців Лангерганса	120 ± 0,4	74,7 ± 0,4 ^x	91,8 ± 0,7 ^{xy}
Кількість β-клітин у острівці	109,6 ± 1,2	72,7 ± 1,2 ^x	92,2 ± 1,6 ^{xy}
Кількість α-клітин у острівці	108,8 ± 1,3	72 ± 1,3 ^x	92,9 ± 1,5 ^{xy}

Примітка. x – достовірність відміни при порівнянні з групою 1, y – достовірність відміни при порівнянні з групою 2.

рйну дієту) і після пологів є достовірно меншою ніж у тварин 1-ї гр. і групи контролю.

Аналіз морфометричних показників

Порівняння морфологічних змін підшлункової залози (у % від кількості тварин)

Структурні елементи	Щури-матері		
	Група 1	Група 2	Група 3
Стан паренхіми			
Атрофія паренхіми	0	80 ± 12,6 ^{xz}	0
Широкі сполучнотканинні про-шарки паренхіми	100 ^{yz}	0	0
Стан стромы			
Склероз внутр. і міжчасточ.	100 ^z	80 ± 12,6 ^z	0
Набряк сполучної тканини	100	80 ± 12,6	100
Ліпоматоз внутр. і міжчасточ.	40 ± 15,5 ^z	80 ± 12,6 ^z	0
Запальна інфільтрація	0	40 ± 15,5 ^{xz}	0
Повнокров'я сполучної тканини	0	0	100 ^{xy}
Повнокров'я гемодинаміки	100 ^y	0	100 ^y
Порушення гемодинаміки: стаз	0	0	100 ^{xy}
Дистрофічні зміни протоків	100 ^{yz}	0	0
Стан екзокринної частини ПЗ			
Дістрофія ци-топлазми:	гідропічна	100 ^{yz}	0
	вакуольна	0	0
Каріопікноз, каріорексис, каріолізис	0	100 ^x	40 ± 15,5 ^{xy}
Маргинація хроматину	0	0	40 ± 15,5 ^{xy}
Стан стромы			
Візуальне зменшення кільк. ОЛ	100	100	100
Неправильна форма ОЛ	100 ^y	0	100 ^y
Гіпертрофія ОЛ (крупні ОЛ)	100	100	100 ^{xy}
Гіперплазія ОЛ	100 ^z	100 ^z	0
Новоутворення дрібних ОЛ	100 ^z	100 ^z	0
Дегрануляція, вакуолізація ци-топлазми α- та β-клітин	100	100	100
Каріопікноз, — рексис α-клітин	0	100 ^{xz}	0
Каріопікноз, — рексис β-клітин	0	100 ^x	100 ^x
Каріоліз., гіперхром. ядра α-кл.	0	100 ^{xz}	0
Каріоліз., гіперхром. ядра β-кл.	0	100 ^x	100 ^x
Конденсація та маргинація хро-матину α- та β-клітин	100	100	100

Примітка: x – достовірність відміни при порівнянні з групою 1, y – достовірність відміни при порівнянні з групою 2, z – достовірність відміни при порівнянні з групою 3.

Таблиця 1 основних структурних елементів ПЗ (таблиця 1) свідчить про те, що у 100 % щурів 1-ї гр. відносний обсяг паренхіматозного компоненту суттєво більший, а стромального – менший, ніж у щурів основних груп. У всіх тварин 2-ї гр. виявлена

протилежна тенденція у порівнянні з іншими групами: мінімальний обсяг паренхіми і максимальний – стромы. У 100 % щурів 3 гр. показники обсягів паренхіматозного і стро-

Таблиця 2 мального компонентів не відрізняються від таких у тварин групи порівняння (4-ї) та мають проміжне значення між аналогічними показниками у щурів 1-ї та 2-ї гр. Морфометричний аналіз екзокринної частини ПЗ тварин основних груп показав, що у порівнянні з групою контролю середня площа ацинусів достовірно збільшена у щурів 1-ї гр. (на 26,5 %), а у тварин 2-ї та 3-ї гр. – зменшена (на 20,1 % та на 8,2 % відповідно) (див. табл. 1). Аналіз ендокринної частини ПЗ свідчить про те, що у щурів 1-ї, 2-ї та 3-ї груп мають місце протилежні

тенденції зміни середньої площі ОЛ та кількості в них ендокриноцитів, які обумовили достовірність відміни між групами (табл. 1): у тварин, що отримували гіперкокортикогенну дієту, площа ОЛ та кількість ендокриноцитів збільшені, у тварин, що мали аліментарний дефіцит поживних речовин та у тварин, що знаходилися в умовах хронічного стресу – зменшені.

Не дивлячись на різні варіанти впливу екзогенних факторів протягом вагітності на щурів різних груп, мікроскопічні зміни ПЗ у щурів 1-ї, 2-ї та 3-ї гр. майже ідентичні (таблиця 2). Слід зазначити, що ступінь патологічних змін у щурів 2-ї гр. дещо більший, ніж у тварин інших груп.

Результати зіставлення частоти та характеру варіантів зміни рівня цитокінів у крові у щурів 1-ї, 2-ї та 3-ї груп представлені у таблиці 3. З'ясовано, що підвищення вмісту ІЛ-12 має місце у всіх тварин 2-ї та 3-ї груп. Серед щурів 1-ї гр. також переважають такі, в яких рівень ІЛ-12 підвищений, але, на відміну від 2-ї і 3-ї групи, більш, ніж у третини тварин, його рівень не виходить за межі нормальних значень. Зміни ІЛ-4 виявилися більш різноманітними. У щурів 1-ї гр. однаково часто (у 40 %) має місце підвищення та зниження його рівня і вдвічі рідше – нормальний; у щурів 2-ї групи спостерігається лише один варіант зміни рівня ІЛ-4 – його підвищення; у щурів 3-ї гр., також, як і у тварин 1-ї гр. виявлено три варіанти змін, але, на відміну від останніх, в переважній кількості відзначається підвищення вмісту ІЛ-4 (див.

Таблиця 3

Порівняння частоти виникнення змін рівня цитокінів у крові щурів (у % від кількості тварин)

Показники	Динаміка зміни	Щури-матері		
		Група 1	Група 2	Група 3
ІЛ-12	Підвищення	60 ± 15,5*	100*** ($p_1 = 0,019$)	100*** ($p_1 = 0,019$)
	Зниження	0	0	0
	Норма	40 ± 15,5, $p_{2,3} = 0,019$	0	0
ІЛ-4	Підвищення	40 ± 15,5, $p_2 = 0,019$	0	10 ± 9,5
	Зниження	40 ± 15,5	100*** ($p_1 = 0,001$)	70 ± 14,5**
	Норма	20 ± 12,6	0	20 ± 12,6

Примітки.

1) * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, ***- $p < 0,001$ (внутрішньогрупове порівняння);

2) p_1 – порівняння з гр. 1, p_2 – порівняння з гр. 2, p_3 — порівняння з групою

Таблиця 4

Вміст цитокінів у сироватці крові ($M \pm m$) у щурів (у % від нормативу)

Показники	Щури-матері		
	Група 1	Група 2	Група 3
ІЛ-12	113,2 ± 3,9*	186,6 ± 9,1*** ($p_1 < 0,001$)	324 ± 17,4*** ($p_{1,2} < 0,001$)
ІЛ-4	108,8 ± 9,7	45,4 ± 6*** ($p_1 < 0,001$)	58,6 ± 13,9** ($p_1 = 0,008$)
ІЛ-12/ІЛ-4	113,6 ± 13,1	358 ± 26,4*** ($p_1 < 0,001$)	541,7 ± 24,7*** ($p_{1,2} < 0,001$)

Примітки. 1. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ (порівняння з групою контролю).

2. p_1 – порівняння з гр. 1; p_2 – порівняння з гр. 2

табл. 3).

Середній рівень ІЛ-12 виявився збільшеним у тварин всіх груп, але ступінь зміни показника суттєво відрізняється при міжгруповому порівнянні: якщо у тварин 1-ї гр. він підвищений всього на 13,2 %, то у тварин 2-ї гр. – майже у 2 рази, а у щурів 3-ї гр. – більш ніж у 3 рази (табл. 4). На відміну від ІЛ-12, середній рівень ІЛ-4 у тварин 2-ї і 3-ї групи суттєво знижений, а у щурів 1-ї гр. практично не відрізняється від нормативу, хоч і має тенденцію до збільшення. Для з'ясування ступеня пропорційності зміни рівня ІЛ-12 і ІЛ-4 ми визначили показник співвідношення ІЛ-12/ІЛ-4. Встановлено, що його рівень у щурів 1-ї гр. майже не відрізняється від такого у тварин групи контролю, а у щурів 2-ї і 3-ї груп мається суттєве підвищення цього показника відповідно у 3,6 рази і 5,4 рази. Це свідчить про те, що найбільш виражений цитокіновий дисбаланс має місце у щурів-матерів, які протягом вагітності перенесли хронічний стрес, оскільки рівень показника ІЛ-12/ІЛ-4 у них в 4,8 рази більший, ніж у тва-

рин 1-ї групи і в 1,5 рази більший, ніж у щурів 2-ї групи. Характер зміни рівня ІЛ-12 (підвищення) та ІЛ-4 (зниження) дає підстави зазначити, що шляхом реалізації імунної відповіді на ушкодження ПЗ у щурів-матерів 2-ї і 3-ї груп імунна відповідь на ушкодження ПЗ реалізується активацією реакцій клітинного імунітету на тлі зниження активності реакцій гуморальної відповіді. Така ситуація може обумовити збільшення ступеня пошкодження тканини ПЗ і обумовити хронізацію її патологічних змін, результатом чого з часом може бути розвиток у тварин хронічного панкреатиту. Таке припущення має сенс, бо при порівнянні рівня ІЛ-12 і ІЛ-4 у тварин 2-ї гр., в яких при морфологічному дослідженні були виявлені ознаки запалення у ПЗ (4 щури) і в яких їх не було (6 щурів), встановлені відміни характеру цитокинового дисбалансу. В тих та інших мається однаковий ступінь зниження рівня ІЛ-4 (у 2 рази), але рівень ІЛ-12 суттєво відрізняється: у щурів з наявністю запалення у ПЗ він підвищений ($195,3 \pm 17,2$ % від нормативу, $p < 0,001$) в той час як у тварин без ознак запалення – в межах нормальних значень ($100,1 \pm 2,3$ %).

Висновки:

1. Незбалансоване харчування та хронічний стрес під час вагітності щурів мають негативний вплив на показники їх фізичного розвитку та обумовлюють виникнення у щурів на гіперкалорійній дієті надлишкової ваги тіла, а у тварин на гіпокалорійній дієті та тих, які перенесли стрес – зменшення ваги тіла.
2. Морфологічні зміни екзо- та ендокринного апарату ПЗ у основних групах на тлі дії різноманітних патогенів у щурів носять стереотипний характер та проявляються сполученням дистрофічних, атрофічних і склеротичних, рідше – запальних змін (2 гр.), дисциркуляторних і гемореологічних порушень (3 гр.) ПЗ.
3. У щурів, які перебували в умовах гіпер- чи гіпокалорійної дієти, або

тварин, які перенесли хронічний стрес протягом вагітності спостерігається системна гуморальна відповідь у вигляді дисбалансу про- і протизапальних цитокинів з переважанням маркерного цитокіна Th1-лімфоцитів, що свідчить про переважне залучення в патогенез ушкодження ПЗ клітинної ланки імунітету.

4. Незбалансоване харчування з підвищеним чи зі зменшеним вмістом поживних речовин або вплив хронічного стресу під час вагітності в певних умовах можуть сприяти розвитку як функціональних розладів з боку різних органів і систем (у тому числі ПЗ), так і різноманітної органічної патології.

Література

1. Wang J. Y. Extracts of black bean peel and pomegranate peel ameliorate oxidative stress-induced hyperglycemia in mice // *Exp. Ther. Med.* – 2015. – № 9 (1). – P. 43-48.
2. Basha R.H. в-Caryophyllene, a natural sesquiterpene lactone attenuates hyperglycemia mediated oxidative and inflammatory stress in experimental diabetic rats / Basha R.H. // *Chem. Biol. Interact.* – 2016. – № 5 (245). – P. 50-58.
3. Пат. 80979 UA, G09B 23/28 Спосіб моделювання надмірної ваги / Николаєва О.В., Ковальцова М.В., Євтушенко Т.Г. (UA) — № у 2013 01221, опубл. 10.06.2013. Бюл. № 11. – 4 с.
4. Пат. 81453 UA, G09B 23/28, G09B 23/34 Спосіб моделювання аліментарної білкової недостатності / Николаєва О. В., Ковальцова М. В., Євтушенко Т. Г. (UA); — № у 2013 01910, опубл. 25.06.2013. Бюл. № 12. – 4 с.
5. Пат. 82414 UA, A61D 99/00, G09B 23/28 Спосіб моделювання хронічного іммобілізаційного стресу / Николаєва О.В., Ковальцова М.В., Євтушенко Т.Г. (UA); № у 2013 03868, опубл. 25.07.2013. Бюл. № 14. – 4 с.
6. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. – М.: Мед., 1961.–339 с.
7. Гланц, С. Медико-біологічна статистика / С. Гланц; пер. з англ. — М.: Практика, 1998. — 459 с.

References

1. Wang J. Y. 2015, «Extracts of black bean peel

and pomegranate peel ameliorate oxidative stress-induced hyperglycemia in mice», *Exp. Ther. Med.*, № 9 (1), pp. 43-48.

2. Basha R.H. 2016, «β-Caryophyllene, a natural sesquiterpene lactone attenuates hyperglycemia mediated oxidative and inflammatory stress in experimental diabetic rats», *Chem. Biol. Interact.*, № 5 (245), pp. 50-58.
3. Nikolaeva, O.V., & Kovaltsova, M.V., & Evtysenko T.G. (2013). Sposib modeluvannj overweight [Sposib modelyuvannya nadmirnoi vagu] *Pat. 80979 UA, G09B 23/28.* – *Bul.*, 11, 4 [in Ukrainian].
4. Nikolaeva, O.V., & Kovaltsova, M.V., & Evtysenko T.G. (2013). Sposib modeluvannj alimentarnoi bilkovoї nedostatnosti [Sposib modelyuvannya alimentarnoi bilkovoї nedostatnosti] *Pat. 81453 UA, G09B 23/28 (2006.01), G09B 23/34 (2006.01).* – *Bul.*, 12, 4 [in Ukrainian].
5. Nikolaeva, O.V., & Kovaltsova, M.V., & Evtysenko T.G. (2013). Sposib modeluvannj immobilization chronic stress [Sposib modelyuvannya chronichnogo imobilizacijnogo stresy] *Pat. 82414 UA, A61D 99/00, G09B 23/28.* – *Bul.*, 14, 4 [in Ukrainian].
6. Merculov, G.A. (1998) *Kyrs patologogistologicheskoy texniki [Course of patologogistologicheskoy technology]*. Moskov [in Russian].
7. Glans, S (1998). *Mediko-biologicheskay statistika [Of Biomedical Statistics]*. Moskov [in Russian].

Резюме

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ВЛИЯНИЯ НЕСБАЛАНСИРОВАННОГО
ПИТАНИЯ И ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА
НА СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ
ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС В
ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Николаева О.В., Павлова Е.А.,
Сиренко В.А., Ковальцова М.В.,
Сулхдост И.А.

У беременных крыс установлено, что несбалансированное питание с по-

вышенным (гр. 1) или сниженным содержанием нутриентов (гр. 2), а так же хронический стресс (гр. 3) приводят к перестройке морфофункционального состояния поджелудочной железы, в виде деструктивных изменений в панкреатитах (гр. 1, 2, 3), воспалительным изменениям (гр. 2), гемодинамическим нарушениям (гр. 3); вызывают цитокиновый дисбаланс (повышение интерлейкина-12), тем самым усиливают повреждение железы у всех животных.

Ключевые слова: питание, стресс, цитокины, поджелудочная железа, крысы.

Summary

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE EFFECT UNBALANCED DIET AND CHRONIC STRESS OF STATE OF THE HEALTH RATS DURING EXPERIMENT

Nikolayeva O., Pavlova E., Sirenko V.,
Kovaltsova M., Sulhdost I.

According to the study, we found that an unbalanced diet of pregnant rats with elevated (gr.1) or a reduced content of nutrients (gr.2) or chronic stress adversely affects the morphofunctional state of the pancreas: degenerative changes in the exocrine and endocrine cells (gr.1, 2, 3), inflammatory changes (gr. 2), violation of geodynamics (gr. 3); adversely affects the cytokines change – rise of interleukin-12 (gr.1, 2, 3), in these way increased risk factor for future chronic pathology of the pancreas.

Keywords: unbalanced diet, stress, cytokines, pancreas, pregnant rats.

Впервые поступила в редакцию 10.02.2016 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования