

DOI: 10.21802/artm.2019.1.9.66.

УДК 616.438 + 546.47

ЗАЛЕЖНІСТЬ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТИМУСУ ВІД ВПЛИВУ БІОЕЛЕМЕНТА ЦИНКУ ЯК ФАКТОРА НЕСПЕЦИФІЧНОГО ІМУННОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ

А.О. Клименко¹, О.А. Струк^{2*}, Ю.А. Клименко³*Івано-Франківський національний медичний університет,*¹*кафедра біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка,*²*кафедра фармації,*³*кафедра хірургії № 2 та кардіохірургії, м. Івано-Франківськ, Україна,***ORCID ID: 0000-0003-4677-6894**e-mail: sanichka5@gmail.com*

Резюме. У статті представлено матеріали експериментального дослідження, що свідчать про залежність функціонального стану тимусу від впливу біоелемента цинку як фактора неспецифічного імунного захисту організму.

Метою дослідження було встановити взаємозв'язок між розвитком дефіциту цинку в організмі тварин, обумовленого споживанням харчового раціону з селективним виключенням цинку, на зміну маси тимусу, рівень лейкоцитів, лімфоцитів та активність цинкзалежних ферментів в крові.

Враховуючи вікові зміни ендокринної активності у тварин, для об'єктивної оцінки функції тимусу, як центрального органу імунної системи, в експерименті використовували білих безпородних щурів-самців віком 3-4 місяці та масою 180-200 г із найбільш активним періодом функції залози, які утримувалися на цинкдефіцитному раціоні, виготовленому за методом Г.О. Бабенко.

Аналіз отриманих результатів свідчить про розвиток в організмі дефіциту цинку, який встановлено на основі проведеного балансу досліджень.

Встановлено, що розвиток дефіциту цинку в організмі супроводжувався поступовим адекватним зниженням як маси тимусу, так і вмісту лейкоцитів, лімфоцитів та активності цинкзалежних ферментів.

Проведені дослідження вказують, що біоелемент цинк є одним із активних модуляторів клітинно-опосередкованої імунної відповіді, розвиток його дефіциту обумовлює порушення реакції клітинного і гуморального імунітету, що тісно пов'язано з функцією тимусу.

Ключові слова: біоелемент цинк, тимус, клітинний і гуморальний імунітет, цинкдефіцитний стан.

Вступ. Даними експериментальних досліджень і клінічних спостережень встановлено, що важливим фактором, моделюючим клініко-опосередковану імунну відповідь, є біоелемент цинк, який обумовлює активацію неспецифічного імунного захисту шляхом дозрівання специфічних імунних клітин, що проявляється в стимуляції фагоцитарної здібності макрофагів, моноцитів, поліморфоядерних нейтрофілів та продукуванні Т-лімфоцитами специфічних протеїн-цитокінів, які корегують імунну відповідь і діють як фактори активації для імунної системи, стимулюючи мітоген та антиген індукований синтез ДНК, зберігаючи співвідношення між Т і В лімфоцитами та рівнем імуноглобулінів [1].

У цей час досліджено багатогранний і значний вплив тимусу на розвиток і функціонування лімфоїдної тканини, що обумовлює синтез Т-лімфоцитів із стовбурових клітин кісткового мозку, що відповідають за клітинний імунітет та інтенсифікацію імунних реакцій в організмі, які полягають не тільки в забезпеченні диференціації імунних реакцій, а й у формуванні антигенного стимулу тимусзалежних лімфоцитів. Він є головним захисним механізмом при розвитку запальних процесів та проявів злоякісного росту [2].

Встановлено, що розвиток імунної відповіді значно падає у тварин з видаленням тимусу, оскільки тимус як центральний орган імунної системи виконує

не тільки цитокринну, але й ендокринну функції з виробленням специфічних гормонів, кількість яких може ритмічно змінюватись [8].

Тому важливо, що гормони тимусу впливають на процеси в імунній системі, які відповідають за міграцію, проліферацію, диференціацію лімфоїдних клітин, циркадні взаємовідносини яких визначають вміст лімфоцитів у її органах [1].

Метою дослідження було встановити взаємозв'язок між розвитком дефіциту цинку в організмі тварин, обумовленого споживанням харчового раціону з селективним виключенням цинку, на зміну маси тимусу, рівень лейкоцитів, лімфоцитів та активність цинкзалежних ферментів в крові.

Об'єкти і методи дослідження. Враховуючи зміни ендокринної активності з віком у щурів, для об'єктивної оцінки функції тимусу, як центрального органу імунної системи, в експерименті ми використовували білих безпородних щурів-самців віком 3-4 місяці та масою 180 – 200 г з найбільш активним періодом функції залози [3].

Експериментальну роботу проводили на базі навчально-експериментального комплексу «Віварій» ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет». Тварини були стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками і знаходилися в умовах віварію згідно з вимогами санітарно-гігієнічних норм.

Роботу з тваринами проводили згідно з міжнародними та вітчизняними вимогами про гуманне ставлення до тварин та з дотриманням вимог директиви 86/609/ЕЕС з питань захисту тварин «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» [1].

Тварини були розподілені на дві групи, одна з яких отримувала повноцінний харчовий раціон, а інша такий раціон, тільки з селективним виключенням цинку, виготовлений за методом Г.О. Бабенка [1].

В експерименті на 70 тваринах досліджували динаміку розвитку дефіциту цинку на основі визначення його балансу в організмі, зміну маси тимусу, показників вмісту лейкоцитів і лімфоцитів, а також активність цинкзалежних ферментів – лактатдегідрогенази та карбоангідрози в крові на протязі місяця.

Визначення вмісту цинку проводили на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 ПК з використанням комп'ютерної розшифровки. Активність лактатдегідрогенази проводили спектрофотометричним методом з використанням набору «Lachema» (Чехія), карбоангідрози – за методом В.Н. Вендта.

Балансові дослідження цинку в експерименті проводили за методом Г.О. Бабенка [1].

Вивчення біохімічних показників проводили на базі Центру біоеlementології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (атестат акредитації № 037/14 видано 29 квітня

2014р.). Фактичний матеріал опрацьовано методом варіаційної статистики з вирахуванням середнього арифметичного і його стандартної похибки, достовірність порівнюваних величин оцінювали за критерієм Стьюдента, Вілкінсона, Манна-Уїтні, рівень вірогідності – $p \leq 0,05$ на комп'ютері в програмі Statistica 6.0 та Word Exel [2].

Результати дослідження та їх обговорення.

Розроблена з нативних продуктів повноцінна дієта піддавалась аналізу на вміст біоеlementів-металів. Після обробки методом високовольтного електродіалізу, що обумовлювало втрату мінеральних компонентів, але зберігало свою харчову цінність, повертали макро- і мікроелементи до відповідного нормального рівня, з селективним виключенням біоеlementа цинку.

Утримання тварин на звичайному раціоні і на дієті з продуктів, підданих електродіалізу з поверненням усіх мінеральних компонентів зберігало нормальні ідентичні показники гомеостазу в організмі.

Дієта з селективним виключенням цинку містила набір усіх незамінних макро- і мікроелементів у концентраціях, подібних у харчовому раціоні з нативних харчових продуктів, і була адекватна за калорійністю, вмістом вітамінів і амінокислот.

Результати вмісту досліджуваних макро- та мікроелементів у досліджуваних дієтах представлені в табл. 1. Сольова суміш елементів складалася з особливо чистих солей (ОСЧ).

Таблиця 1

Вміст макро- і мікроелементів у досліджуваних дієтах (на сиру речовину)

№ п/п	Елементи	Біоеlementи в нативній дієті	Демінералізована дієта	Різниця
в мг%				
1.	Натрій	46,2	24,2	22,0
2.	Калій	274,9	123,5	151,4
3.	Кальцій	139,8	118,3	61,5
4.	Магній	28,5	18,2	10,3
5.	Фосфор	93,2	74,5	18,7
6.	Залізо	1,48	0,014	1,446
в мкг%				
7.	Мідь	239,5	0	239,5
8.	Цинк	619,7	0	619,7
9.	Кобальт	4,8	0	4,8
10.	Марганець	702,1	0	702,1
11.	Молібден	18,9	0	18,9
12.	Кремній	287,5	14,2	273,3
13.	Хром	22,4	0	22,4
14.	Ванадій	3,0	0	3,0
15.	Титан	18,4	0	18,4
16.	Алюміній	212,0	0	212,0

Для дослідження вмісту біоеlementа цинку при балансових дослідженнях шурів-самців поміщали на добу в окремі періоди у спеціальні плексигласові клітки для балансових досліджень, що давало можливість визначати спожитість кількості раціону та окремо забирати на дослідження вмісту цинку в сечі і калі. Виходячи з даних аналізу на вміст цинку в кількості спожитої дієти та виведеній з екскрементами в сечі та калі, вираховували добову кількість

поступлення та виведення цинку з організму і баланс цього біоеlementа.

Одночасно, через кожних 5 днів упродовж місяця проводили визначення зміни маси тимусу, кількості лейкоцитів, лімфоцитів та активності досліджуваних ферментів. Результати дослідження впливу розвитку дефіциту цинку в організмі на зміну маси тимусу, вміст лейкоцитів, лімфоцитів та активність цинкзалежних ферментів представлено в таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив розвитку дефіциту цинку в організмі на зміну маси тимуса, вміст лейкоцитів, лімфоцитів та активність цинкзалежних ферментів

Дні	Баланс, мкг	Маса тимусу, мг	% до маси тимусу	Лейкоцити, Г/л	Лімфоцити, %	ЛДГ, М.О.	Карбоангідраза, од. Кребса
Норма	+ 37,2	278,5 ± 2,33 n=10	0,136 %	13,2 ± 0,17 n=10	72 %	594,0 ± 11 n=10	1,33 ± 0,04 n=10
5	- 5,8	274,2 ± 2,50 n=8, >0,05	0,140 %	12,2 ± 0,31 n=8, >0,05	70 %	446,0 ± 18 n=8, <0,001	1,33 ± 0,03 n=8, >0,05
10	- 36,8	237,1 ± 2,20 n=8, <0,01	0,123 %	9,2 ± 0,12 n=8, <0,001	64 %	385,9 ± 19 n=8 <0,001	1,14 ± 0,03 n=8 <0,001
15	- 35,2	230,1 ± 2,18 n=8, <0,001	0,112 %	8,323 ± 0,40 n=8, <0,001	55 %	382,2 ± 12 n=8, <0,001	1,16 ± 0,03 n=8, <0,001
20	-28,5	206,2 ± 2,12 n=8, <0,001	0,108 %	8,8 ± 2,8 n=8, <0,001	56 %	376,6 ± 12 n=8, <0,001	0,98 ± 0,02 n=8, <0,001
25	-36,6	188,4 ± 2,40 n=8, <0,001	0,098 %	8,6 ± 0,26 n=8, <0,001	49 %	379,6 ± 15 n=8, <0,001	0,85 ± 0,02 n=8, <0,001
30	-31,6	178,8 ± 1,40 n=8, <0,001	0,083 %	7,5 ± 0,30 n=8, <0,001	48 %	346,2 ± 10 n=8, <0,001	0,78 ± 0,04 n=8, <0,001

Результат аналізу балансових досліджень цинку в організмі тварин, що утримувались на повноцінному раціоні, був позитивним і становив + 37,2 мкг/добу і при цьому маса тимусу в нормі становила 279,5 ± 2,33 мг або 0,136 % від маси тіла тварини.

У тварин, що отримували раціон з селективним виключенням цинку, баланс цього елемента поступово зменшувався упродовж усього експерименту і вже на 5-у добу досліджень становив 5,8 мкг при нормальній масі тимусу.

Розвиток дефіциту цинку в організмі на 10-й день становив 36,8 мкг, що обумовлювало достовірне зниження маси залози до 237 ± 2,5 мг або 0,123 % від маси тіла.

На 30-й день експерименту баланс недостачі цинку в організмі складав 31,6 мкг, а маса тимусу зменшувалася до 178,8 ± 3,4 мг, а щодо маси тіла становила 0,083%, що на 37,56% нижче цього показника від норми.

Утримання тварин на раціоні з селективним виключенням цинку не показувало суттєвого впливу на зміну показників вмісту гемоглобіну та кількості еритроцитів. Проте рівень лейкоцитів, та особливо лімфоцитів, достовірно знижувався, починаючи з 10-го дня експерименту до 9,20 ± 0,31 Г/л та 64%, при нормі 13,2 ± 0,45 Г/л та 72% відповідно.

Під кінець експерименту, на 30-й день дослідження, дефіцит цинку в організмі тварин обумовлював значне достовірне зниження кількості лейкоцитів до 7,5 ± 0,08 Г/л та лімфоцитів до 48 %.

Поряд з цим активність цинкзалежних ферментів лактатдегідрогенази і карбоангідрази поступово знижувалась адекватно розвитку дефіциту цинку в організмі і на кінець експерименту становила 364 ± 9,90 М.О. та 0,78 ± 0,04 од. Кребса при нормі 594 ± 11,0 М.О. і 1,35 ± 0,04 од. Кребса відповідно.

Висновки:

1. На основі проведених досліджень встановлено, що між розвитком дефіциту цинку в організмі, обумовленого утриманням тварин на

цинкдефіцитному раціоні і зниженням маси та функції тимусу, простежується чітко виражений корелятивний зв'язок.

2. Результати проведених досліджень дають можливість встановити, що біоелемент цинк є одним із активних модуляторів клітинно-опосередкованої імунної відповіді, дефіцит поступлення в організм якого обумовлює порушення реакції клітинного і гуморального імунітету, що тісно пов'язано з розвитком втрати маси і функції тимусу.

Перспективи подальших досліджень. Врахування ролі біоелемента цинку в активації імунного статусу, пов'язаного з впливом на функціональний стан тимусу, є важливою основою для розробки нових ефективних методів терапії у корекції порушеного імунного гомеостазу в організмі, що в комплексі з основними засобами лікування як запальних процесів, так і злоякісного росту, посилить їх ефективність.

References:

1. Bioloichna rol tsynku v orhanizmi liudyny i tvaryn / HD Antoniuk, VD Vazhenko, VD Bovt, OM Stefanyshyn, MYe Panas. *Bioloiiia tvaryn*. 2011; 13(1-2). P.17-30. (In Ukrainian).
2. Struk OA. Dotrymannia etnichnykh norm pry provedeni farmakoloichnykh doslidzhen. *Hileia: naukovyi visnyk, Zbirnyk naukovykh prats*. 2017; 117(2). P.177 - 180. (In Ukrainian).
3. Marushko YuV, Asonov AO. Rol defitsytu tsynka u klinichnii praktytsi (Ohliad literatury; osrbysti dani ta mirkuvkannia). *Nova medytsyna tysiacholittia*. 2011; 3. P.2-9. (In Ukrainian).
4. Tsynk i nanotsynk: vlastyvoli, zastosuvannia u klinichnii praktytsi. Chekman IS, Ulberh ZR., Rudenko AD. [ta in.] *Ukrainskyi medychnyi chasopys*. 2013; 2(94), III / IV. P.42-47. (In Ukrainian).
5. Zinc deficiency fnd IL-6 – 174G / C polymorphism in old people from different European countries; effect of zinc supplementation. ZINCAGE study / E Mocchegiani, R Giacconi, Consnfrelli et. al. *Exp. Gerolontol*. 2008; 43(5). P.433 - 444.
6. Prasad AS. Zinc; role inimmunity, oxidantive stress and chronic inflammation. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2009, 12(6). P. 646 - 652.

7. Prasad AS. Zinc in human health; effect of zinc on immune cells. *Mol. Med.* 2008; 14(5-6). P.353 - 357.
8. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. / Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». 2-e vyd. Kh.: Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv», 2015; 1:1128.

УДК 616.438+546.47

ЗАВИСИМОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТИМУСА ОТ ВЛИЯНИЯ БИОЭЛЕМЕНТА ЦИНКА КАК ФАКТОРА НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИМУННОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА

А.О. Клименко¹, О.А. Струк^{2*}, Ю.А. Клименко³

Ивано-Франковский национальный медицинский университет,

¹*кафедра биологической и медицинской химии*

имени академика Г.А. Бабенко,

²*кафедра фармации,*

³*кафедра хирургии № 2 и кардиохирургии,*

г. Ивано-Франковск, Украина,

** ORCID ID: 0000-0003-4677-6894,*

e-mail: sanichka5@gmail.com

Резюме. В работе представлены материалы исследования, что свидетельствуют о зависимости функционального состояния тимуса от влияния биоэлемента цинка как фактора неспецифической иммунной защиты организма.

Учитывая изменения эндокринной активности с возрастом крыс, для объективной оценки функции тимуса, как центрального органа иммунной системы, в эксперименте использовали белых беспородных крыс-самцов возрастом 3-4 месяца и массой 180-200 г с наиболее активным периодом функции железы, которые содержались на цинкдефицитном рационе, приготовленном по методу Г.А. Бабенко.

Анализ полученных результатов исследований свидетельствует о развитии дефицита цинка в организме, установленного на основании проведенного баланса исследований.

Установлено, что развитие дефицита цинка в организме сопровождалось постепенным адекватным снижением массы тимуса, количества лейкоцитов, лимфоцитов и активности цинкзависимых ферментов.

Проведенные исследования дают возможность заключить, что биоэлемент цинк является одним из активных модуляторов клеточно-опосредованного иммунного ответа, развитие дефицита которого в организме обуславливает нарушение реакции клеточного и гуморального иммунитета, что тесно связано нарушением функции тимуса.

Ключевые слова: биоэлемент цинк, тимус, клеточный и гуморальный иммунитет, цинкдефицитное состояние.

UDC 616.438 + 546.47

THE INFLUENCE OF ZINC ON THE THYMUS GLAND FUNCTIONING AS THE FACTOR OF NON-SPECIFIC IMMUNE DEFENSE OF THE ORGANISM

A.O. Klymenko¹, O.A. Struk^{2*}, Yu.A. Klymenko³

Ivano-Frankivsk National Medical University,

¹*Department of Biological and Medical Chemistry named after Academician G.O. Babenko;*

²*department of pharmacy;*

³*department of surgery № 2 and cardiosurgery;*

Ivano-Frankivsk, Ukraine,

** ORCID ID: 0000-0003-4677-6894,*

e-mail: sanichka5@gmail.com

Abstract. The article presents the results of experimental studies of the influence of zinc on the thymus gland functioning as the factor of non-specific immune defense of the organism.

It has been determined that the development of the immune response is slowed down significantly in animals with thymus gland removal, because thymus gland is the central organ of the immune system and it produces not only cytokines but also performs endocrine functions with the production of specific hormones, the amount of which may vary rhythmically.

The aim of the study was to establish the relationship between the development of zinc deficiency in the body of animals due to dietary intake with selective zinc exclusion, and the thymus gland mass, level of leukocytes, lymphocytes and the activity of zinc-dependent enzymes in the blood.

Taking into account age-related changes in endocrine activity of animals, for the objective evaluation of the thymus gland function in the experiment white non-breeding male rats 3-4 months of age weighing 180-200 g were used, with the most active period of the gland function, which were kept on the zinc deficient diet according to G. Babenko's method.

The analysis of the results shows the development of zinc deficiency in the body, that is set based on the research. The daily amount of zinc for diet consumed and the amount of zinc excreted were identified every 5 days within a month. At the same time, we determined the thymus gland mass, the number of leukocytes, lymphocytes and zinc-dependent enzymes. The received data indicate on the correlation between these parameters.

It has been found out that the development of zinc deficiency in the body was accompanied by a gradual adequate decrease of the mass of the thymus gland and the content of leukocytes, lymphocytes and zinc-dependent enzymes activity.

Experiments indicate that zinc is one of the active modulators of the cell-mediated immune response. The development of zinc deficiency causes a violation of the reaction of cellular and humoral immunity, which is closely related to the thymus gland function.

Keywords: zinc, thymus gland, cellular and humoral immunity, zinc deficiency.

Стаття надійшла в редакцію 20.12.2018 р.