**ВПЛИВ ЦИТОКІНІВ І ДЕЯКИХ МАКРО- ТА МІКРОЕЛЕМЕНТІВ НА СТАН ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ ВАГІТНИХ ЩУРІВ ЯКІ ЗНАХОДИЛИСЯ НА ГІПЕРКАЛОРІЙНІЙ ДИЄТІ ТА ЇХ ПОТОМСТВА**

**СІРЕНКО В.А.**

***аспірант кафедри патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна***

**КОВАЛЬЦОВА М.В.**

***кандидат медичних наук,***

***асистент кафедри патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна***

*Харківський національний медичний університет*

*м. Харків, Україна*

Патологія підшлункової залози (ПЗ) є однією з актуальних проблем медицини та займає значне місце в структурі захворюваності дітей і дорослих.

Відомо, що у відповідь на пошкодження різної природи (стрес, вагітність, порушення харчування) в організмі розвивається комплекс місцевих і системних захисних реакцій. Запалення як прояв місцевого пошкодження тканин, є основою неспецифічної компоненти системної імунної відповіді. Комунікативна взаємодія імунної та нейроендокринної систем забезпечується конкретними сигнальними механізмами. З боку імунної системи афферентація інформації забезпечується головним чином цитокінами, за допомогою яких можливо прослідкувати шлях реалізації імунної відповіді [3, 86с].

В регуляції більшості біохімічних реакцій в нашому організмі роль макро- і мікроелементів можна порівняти з регуляторної роллю гормонів. а наслідки їх хронічного дефіциту – з важкими гормональними порушеннями. Дисбаланс виникає як правило внаслідок незбалансованого харчування і сприяє розвитку патології ПЗ [1,19с; 5,69с].

Беручи до уваги розрізнені дані літератури, що присвячені вивченню проблем, пов'язаних з особливостями онтогенезу імунної системи і спрямованістю імунних реакцій, що виникають на тлі патологічних змін протягом перинатального і раннього постнатального періодів розвитку організму є важливим з'ясування ролі імунної системи і дисбалансу макро- та мікроелементів в механізмах пошкодження структури і функції ПЗ.

**Метою дослідження** було визначення особливостей морфофункціонального стану ПЗ, вмісту цитокінів ІЛ-12, ІЛ-4 у сироватці крові та кальцію, магнію, цинку в гомогенаті тканини ПЗ щурів-матерів які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту та у їх потомства.

**Матеріали та методи дослідження.** Об’єм досліджень включав експерименти на 20 нелінійних вагітних щурах (популяції WAG/G Sto) та їх потомстві (чоловічої статі) (60 голів). Морфологічне дослідження ПЗ включало в себе комплекс гістологічних, морфометричних, гістохімічних методів [6,39с].

Оцінка імунологічних порушень, пов'язаних із незбалансованим харчуванням проводилася на підставі вивчення в сироватці крові рівнів інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) та інтерлейкіну-12 (ІЛ-12) імуноферментним методом за допомогою наборів реактивів фірми «Вектор БЕСТ» (Новосибірськ, Російська Федерація) та наборів реактивів фірми (Elisa Kit) Ani Biotech Oy, Orgenium laboratories Business Unit (Finland) відповідно за прикладеними інструкціями.

Для оцінки статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами використовувався однофакторний дисперсійний аналіз.

Експериментальних самок поділено на 2 групи. На вагітних щурах 1-ї групи здійснено аліментарний експеримент. Згідно способу від початку експерименту щур-самки в раціоні харчування отримували незбалансовану дієту, серед аліментарних факторів якої базовими є вуглеводне та жирове навантаження, які підвищують загальний калораж раціону майже втричі. Таким чином один щур за добу отримував: білків 9,11 г; жирів 8,57 г; вуглеводів 50,6 г. Поживна цінність раціону складала 300,4 ккал на одного щура на добу [7, 3с]. Контрольна група тварин (2 група – група порівняння) протягом експерименту отримала фізіологічно збалансоване харчування (білків 4,13 г; жирів 2,4 г; вуглеводів 17,6 г; 104,5 ккал на одного щура на добу), що відповідає нормативу, встановленому для тварин. Було досліджено вагітних щурів (гр. 1 та 2) і щурят народжених від цих самок у трьох вікових групах: новонароджених (гр. 1.1 та 2.1), 1-місячних (гр. 1.2 та 2.2), 2-місячних (гр. 1.3 та 2.3). Всі щури, які були народжені від матерів вище означених груп (як основних, так і контрольної), після народження отримували фізіологічне (збалансоване) харчування. Всі процедури на тваринах, а також виведення щурів з експерименту шляхом декапітації проводилися під анестезією з використанням тіопенталового наркозу (2% розчин в дозі 50 мг/кг ваги) відповідно до національних «Загальних етичних принципів досліджень на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18.03.1986 р.), а також Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964–2000), Статутом Української асоціації з біоетики та нормами GLP (1992).

На відміну від досліджень, які проводилися раніше було проведено порівняльний аналіз особливостей морфофункціонального стану екзокринної та ендокринної частини ПЗ у щурів-матерів та їх потомства різного віку та з'ясовано участь імунних механізмів.

**Результати дослідження.** За результатами морфологічного дослідження у 100% вагітних щурів 1 гр. виявлені набряк сполучної тканини, у 40% тварин внутрішньочасточковий та міжчасточковий склероз і ліпоматоз, у 100% помірне повнокров'я капілярів, у 100% дистрофічні зміни та ектазія частини внутрішньо- та міжчасточкових вивідних протоків, у 100% щурів дистрофічні зміни в більшій частині екзокриноцитів та ендокриноцитів, у 100% новоутворення дрібних островків Лангерганса. У потомства щурів 1-ї гр. зміни у ПЗ виникають в періоді новонародженості, і є аналогічні таким у їх матерів. Також у щурят гр. 1.1 має місце незрілість паренхіми та строми (у 100%), запальна інфільтрація (у 40%), з’являються ознаки атрофії паренхіми (у 90%). Подібні структурні зміни у екзокринному та ендокринному апараті ПЗ посилюються і зберігаються до 2-місячного віку.

Відомо, що ІЛ-4 індукує проліферацію Т-хелперів 2-го типу (Th2), які опосередковують реакції гуморальної імунної відповіді (стимуляція B-лімфоцитів и продукція антитіл), також є антагоністом гамма - інтерферону і таким чином пригнічує проліферацію Т-хелперів 1-го (Th1) [3,121с], в той час як ІЛ-12 , підсилює проліферацію і дифференціювання Т-хелперів 1-го (Th1) які опосередковують реакції клітинного імунітету і в той же час пригнічує проліферацію Т-хелперів 2 -го типу (Th2) [3, 122с; 7, 312с; 8, 435 с]. У щурів - матерів, які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту середній рівень вмісту ІЛ-12, виявився збільшеним на 13,2% від такового в контролі (табл. 1), що достовірно відрізнялося від нормативного показника.

**Таблиця 1**

Вміст цитокінів у крові та макро- і мікроелементів в гомогенаті тканини ПЗ (М±m) у щурів-матерів які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту (у % від нормативу)

|  |  |
| --- | --- |
| Показники  | Щури-матері  |
| ІЛ-12  | 113,2±3,9\*  |
| ІЛ-4  | 108,8±9,7  |
| ІЛ-12/ІЛ-4  | 113,6±13,1  |
| Кальцій  | 148,8±3,5\*\*\*  |
| Магній  | 176,8±3,9\*\*\*  |
| Цинк  | 76±3\*\*\*  |

Примітка: \*\*\*p < 0,001, \*p < 0,05 (порівняння з групою контролю).

В той час як при дослідження вмісту ІЛ-4 не спостерігалося достовірного відхилення від даних контролю. За допомогою аналізу показника співвідношення ІЛ-12/ІЛ-4 визначили пропорційність змін вмісту ІЛ-12 і ІЛ-4, однак у щурів - матерів після гіперкалорійної дієти показник майже не відрізнявся від такого в групі контролю. Отримані дані вказують на тенденцію, через ІЛ-12, до розгортання реакцій клітинного типу через підсилення проліферації і дифференціювання Th1 і таким чином до залучення імунної системи до системної відповіді при ушкодженні ПЗ [2,41с; 3, 122с; 4, 63с].

Подальші дослідження були присвячені вивченню рівнів макро- і мікроелементів у гомогенаті тканини ПЗ тварин у щурів-матерів, що протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту. Було встановлено достовірне зниження рівня цинку і навпаки підвищення рівня кальцію та магнію відповідно. Таким чином відзначалась наявність (гіперкальціемії, гіпермагніемії, гіпоцинкемії) (див. табл. 1). Відомо, що висока концентрація іонів кальція в цитоплазмі клітин не є прогностично сприятливою тому що зазвичай призводить до надлишкової активації фосфоліпази А2, утворенню лізофосфоліпідів і їх прямої пошкоджуючої дії на клітинні мембрани. Крім того кальцій відноситься до факторів, спроможних індукувати апоптоз клітини [3,134с; 5,93с].

Таким чином дослідження вмісту макро- і мікроелементів в гомогенаті тканини ПЗ щурів – матерів, що були на гіперкалорийній дієті під час вагітності відображають наявність їх дисбалансу, що, ймовірно може впливати на метаболізм і функціональну активність клітин ПЗ, і обґрунтовують доцільність подальших досліджень спрямованих на з’ясування можливостей відновлення функціонального стану клітин ПЗ за допомогою препаратів магнію і цинку.

Проведений аналіз вмісту цитокінів у крові одно- і двомісячних щурят, що народились від щурів-матерів які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту також показав достовірно підвищений рівень ІЛ-12(1,6 і 2.0 рази відповідно) і суттєво знижений вміст ІЛ-4 (табл. 2) Отримані дані відображають наявність більш суттєвого дисбалансу цитокінів у щурят, порівняно з щурами - матерями. Показник співвідношення ІЛ-12/ІЛ-4 був достовірно – в 7 разів вище такого в контролі і у щурів - матерів, та ймовірно опосередковано здатен вказувати на підвищення функціональної активності макрофагів - клітин ефекторів і модуляторів імунної відповіді, джерела регуляторних цитокінів (один з них ІЛ-12) [6, 211с] який, як відомо, знаходяться в тісній кооперативний взаємодії з Тh потенціюючи

**Таблиця 2**

Вміст цитокінів в сироватці крові та макро- і мікроелементів в гомогенаті тканини ПЗ (М±m) у щурят народжених від матерів, які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту (у % від нормативу)

|  |  |
| --- | --- |
| Показники  | Вік (групи) щурят  |
|  1 місяць  | 2 місяці  |
| ІЛ-12  | 163,6±2,4\*\*\*  | 209,4±4,3 (*рХ<0,001)*  |
| ІЛ-4  | 23,7±1,1\*\*\*  | 23,1±4\*\*\*  |
| ІЛ-12 / ІЛ-4  | 706,6±40,9\*\*\*  | 610,7±66,7\*\*\*  |
| Кальцій  | 73,7±0,6\*\*\*  | 79,7±1\*\*\* (*рХ<0,001)*  |
| Магній  | 124±1,9\*\*\*  | 125,8±1\*\*\*  |
| Цинк  | 111±1,5\*\*\*  | 74,2±0,7\*\*\* (*рХ<0,001)*  |

Примітки. 1) \*\*\*p < 0,001, \*\* p < 0,01, \*p < 0,05 порівняння з групою контролю. 2) *рХ* – достовірність відміни при порівнянні груп 1-но та 2-місячних щурят.

диференціювання Тh 1 і в той же час пригнічуючи проліферацію Th2 що свідчать про переважання клітинної ланки специфічної і неспецифічної імунологічної реактивності над гуморальною у тварин пренатальний розвиток яких відбувався в умовах дефіциту поживних речовин, що і призвів до постнатального пошкодження тканини ПЗ.

Аналіз динаміки вмісту макро- і мікроелементів у гомогенаті тканини ПЗ показав, що у 1- місячних та 2-х місячних щурят спостерігалося зниження вмісту кальцію, на відміну від гіперкальціемії, що спостерігалася у їх матерів (див. табл. 2). Що стосується рівня магнію та цинку у гомогенаті тканини ПЗ щурят, у 1-місячних – спостерігалося відносне підвищення рівня цинку, в той час як у їх матерів визначалася гіпоцинкемія. У 2-місячних- встановлена наявність гіпермагніемії і гіпоцинкемії, (див. табл. 2). Зміни всіх перерахованих вище показників виявилися статистично достовірними. Вище наведені дані відображають різноспрямованість відхилень вмісту макро- і мікроелементів у 1- і 2-місячних щурят (у перших - гіперцинкемії, у останніх – гіпоцинкемії) від показників норми (див. табл. 2).

Таким чином суттєвий, довготривалий дисбаланс вмісту макро- і мікроелементів в гомогенаті тканини ПЗ щурят, що народились від матерів, що під час вагітності вживали гіперкалорийну дієту, ймовірно, спроможний впливати на метаболізм і функціональну активність клітин ПЗ і навіть призводити до її пошкодження. Вищенаведені дані обґрунтовують доцільність подальших досліджень спрямованих на з’ясування можливостей відновлення функціонального стану клітин ПЗ за допомогою препаратів магнію і цинку, які ймовірно необхідно включати до складу патогенетичної терапії пошкоджень ПЗ тому, що на відміну від різних органічних сполук макро- і мікроелементи в організмі не синтезуються [1,164 с.]. Отримані дані свідчать про те, що незбалансоване харчування з підвищеним вмістом вуглеводів та жирів у вагітних щурів є істотним чинником ризику розвитку органічної патології ПЗ з секреторною недостатністю не тільки у них самих, а й у їхнього потомства.

**Висновки**

1. У щурів які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту та їх різновікового потомства виявлені ознаки морфофункціональних змін як у екзокринному, так і у ендокринному апараті ПЗ.

2. У щурів-матерів які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту і їх потомства виявлені ознаки порушення імунологічної реактивності у вигляді дисбалансу регуляторних цитокінів з переважанням вмісту ІЛ-12, зниженим рівнем ІЛ-4, що свідчить про переважне залучення до патогенезу ушкодження підшлункової залози клітинної ланки імунітету.

3. Динаміка вмісту макро- і мікроелементів в гомогенаті тканини ПЗ щурів – матерів та їх потомства, відображає наявність дисбалансу з переважним зниженням рівня цинку – інгібітора апоптозу, що негативно позначається на функціональній активності клітин ПЗ і може сприяти розвитку хронічного панкреатита в майбутньому.

4. Дісбаланс макро- і мікроелементів у щурів потребує медикаментозної корекції, а саме включення магнію і цинку до складу патогенетичної терапії пошкоджень ПЗ тому, що на відміну від різних органічних сполук макро- і мікроелементи в організмі не синтезуються.

**Використана література:**

1. Горбачев В. В. Витамины. Макро- и микроэлементы: справочник / В. В. Горбачев, В. Н. Горбачева. − Москва : Мед. кн., 2011. – 428 с.

2. Дацюк О. І. Дисцитокінемія як предиктор ефективності стартової інфузійної терапії в комплексі передопераційної підготовки хворих на гострий панкреатит / О. І. Дацюк, Г. В. Бевз // Клінічна хірургія. − 2016. − № 5. − С. 41−44.

3. Клиническая иммунология и алергология с возрастными особенностями: учебное пособие / В.Е. Казамирчук, Л.В. Ковальчук, Д.В. Мальцев / - 2-е изд. – К. ВСИ «Медицина», 2012. - 520 с

4. Куц Л. В. Клінічна імунологія: первинні імунодефіцити : навчальний посібник / Л. В. Куц. − Суми : СДУ, 2014. – 154 с.

5. Макро-та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія / М. В. Погорєлов, В. І. Бумейстер, Г. Ф. Ткач [та ін.]; Сумський державний університет. − Суми: СумДУ, 2010. – 145 с.

6. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники / Г. А. Меркулов. – М.: Медицина, 1961. – 339 с.

7. Пат. 80979 UA, G09В 23/28 (2006.01) Спосіб моделювання надмірної ваги / Ніколаєва О.В., Ковальцова М.В., Євтушенко Т.Г. (UA); заявник Харківський національний медичний університет (UA). - № u 2013 01221, заявл. 01.02.2013; опубл. 10.06.2013. Бюл. № 11. – 4 с.

8. Interleukin-12 as a predictor of outcome in patients with severe acute pancreatitis / P. Gregorić, K. Doklestić, S. Stanković [et al.] // Hepatogastroenterology. – 2014. – Vol. 61, N 129. – P. 208−211.

9. T-cell populations in chronic pancreatitis / S. Mansour, C. D. Johnson, J. Sanderson [et al.] // Pancreatology. – 2015. – Vol. 15, N 4. – P. 311−312. − DOI: 10.1016/j.pan.2015.04.009.

10. T-helper cell-mediated islet inflammation contributes to β-cell dysfunction in chronic pancreatitis / R. Talukdar, M. Sasikala, P. Pavan Kumar [et al.]// Pancreas.– 2016. – Vol. 45, N 3. – P. 434−442. − DOI: 10.1097/MPA.0000000000000479.

**Вплив цитокінів і деяких макро- та мікроелементів на стан імунологічної реактивності вагітних щурів які знаходилися на гіперкалорійній диєті та їх потомства**

Харківський національний медичний університет

**Резюме**. При з'ясуванні ролі дисбалансу макро- і мікроелементів в гомогенаті тканини підшлункової залози і цитокінів крові в реалізації імунних реакцій у щурів на гіперкалорійних дієті та у їх потомства в порівнянні з контролем, встановлено: наявність дисбалансу цитокінів з переважним збільшенням вмісту ІЛ -12, зниженням - ІЛ-4, що свідчить про залучення в патогенез ушкодження підшлункової залози клітинної ланки імунітету, а так само наявність дисбалансу макро- і мікроелементів з зниженням рівня цинку - інгібітора апоптозу, що негативно позначається на функціональній активності клітин і може сприяти розвитку хронічного панкреатиту в майбутньому.

**Ключові слова:** імунологічна реактивність, цитокіни, підшлункова залоза, макро- і мікроелементи

**Влияние цитокинов и некоторых макро- и микроелементов на состояние иммунологической реактивности беременности крыс находившихся на гиперкалорийной диете и их потомства**

Харьковский национальный медицинский университет

**Резюме.** При выяснении роли дисбаланса макро- и микроелементов в гомогенате ткани поджелудочной железы и эффекторных цитокинов крови в реализации имунных реакций у находившихся на гиперкалорийной диете во время беременности крыс и у их потомства по сравнению с контролем, установлено: наличие дисбаланса регуляторних цитокинов с преимущественным увеличением содержания ІЛ-12, снижением - ІЛ-4, что свидетельствует о преимущественном вовлечении в патогенез повреждения поджелудочной железы клеточного звена иммунитета, а так же наличие дисбаланса макро- и микроэлементов с преимущественным снижением уровня цинка - ингибитора апоптоза, что негативно сказывается на функциональной активности клеток и может способствовать развитию хронического панкреатита в будущем. 194

**Ключевые слова** иммунологическая реактивность, цитокины, поджелудочная железа, макро- и микроелементы

**Influence of cytokines and some macro- and microelements on the state of immunological reactivity were on hypercaloric diet during pregnancy rats and their offspring.**

Kharkov National Medical University

In explaining the role of macro- and microelements imbalance in pancreatic tissue homogenates and blood effector cytokines in the implementation of immune responses in rats were on hypercaloric diet during pregnancy and in their offspring as compared with the control is established: the presence of an imbalance of the regulatory cytokine with a predominant increase in the content ІL-12, decrease - ІL-4, which indicates the preferential involvement in the pathogenesis of lesions of the pancreas cell immunity, as well as the presence of macro-imbalances i mіkroelementіv with mostly lower level of zinc - an inhibitor of apoptosis, which adversely affects the functional activity of the cells and may contribute to chronic pancreatitis in the future.

**Key words**: immunologic reactivity, cytokines, pancreas, macro- and microelements