

УДК 616.37-091.8-092.9:613.24

*О.В. Ніколаєва, О.О. Павлова, В.А. Сіренко, М.В. Ковальцова, І.О. Сулхдост**Харківський національний медичний університет*

## ДИНАМІКА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗРУШЕНЬ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ПОТОМСТВА ЩУРІВ ВНАСЛІДОК ДІЇ НЕЗБАЛАНСОВАНОГО ХАРЧУВАННЯ

У підшлунковій залозі щурят від матерів, які отримали незбалансоване харчування, виявлені морфофункціональні зміни: збільшення обсягу паренхіми, площі ацинусів і острівців Лангерганса у щурят, які народжені від щурів на гіперкалорійній дієті; зменшення обсягу паренхіми, площі ацинусів та острівців Лангерганса, збільшення строми у щурят, які народжені від щурів на гіпокалорійній дієті; у тварин всіх груп також виявлено незрілість паренхіми, набряк, фіброз та ліпоматоз строми, її запальна інфільтрація, дистрофічні зміни ядер і цитоплазми екзо- та ендокриноцитів; у щурят також спостерігався дисбаланс цитокінів з переважанням маркерного цитокіну Th1-лімфоцитів (ІЛ-12). Подібні зміни підшлункової залози у тварин свідчать про те, що незбалансоване харчування вагітних щурів є чинником ризику розвитку хронічної патології підшлункової залози у їх потомства.

**Ключові слова:** *гіпер- та гіпокалорійна дієта, морфофункціональний стан підшлункової залози, щурята, цитокіни.*

На сучасному етапі розвитку суспільства захворювання підшлункової залози у дітей залишаються однією з найважливіших медичних проблем [1]. Відомо, що незбалансоване харчування з підвищеним вмістом жирів призводить до гіперглікемії, гіперхолестеринемії, підвищення рівня тригліцеридів, дисліпідемії, інсулінорезистентності [2], підвищення рівнів ІЛ-1, ІЛ-6, ФНО [3], а дієта зі зниженою кількістю білка у щурів призводить до гіперглікемії, гіперінсулінемії, гіперкортикостеронемії, інсулінорезистентності у нащадків [4]. Незважаючи на велику кількість досліджень розладів підшлункової залози, механізми формування патології підшлункової залози, особливо у дітей, що виникли внаслідок дії незбалансованого харчування на систему мати-плід, практично не вивчені та становлять актуальну медико-біологічну проблему.

Метою дослідження було вивчення динаміки змін морфофункціонального стану підшлункової залози і балансу про- і проти-запальних цитокінів у потомства, обумовлених порушенням харчування самки під час вагітності.

**Матеріал і методи.** Для вивчення дії пренатального незбалансованого харчування

на стан підшлункової залози потомства в раціон харчування самок-щурів вводили гіперкалорійну (1-ша група) або гіпокалорійну (2-га група) їжу [5, 6]. Контрольні тварини отримували збалансоване харчування (3-тя група).

Матеріал для гістологічного та біохімічного дослідження брали у потомства в динаміці: у новонароджених щурят, у 1- та 2-місячному віці.

Комплекс гістологічних, морфометричних, гістохімічних методів було використано у морфологічному дослідженні підшлункової залози [7]. Оцінка імунологічних порушень, пов'язаних із незбалансованим харчуванням, проводилась на підставі вивчення в сироватці крові рівнів інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) («Вектор БЕСТ», Новосибірськ) та інтерлейкіну-12 (ІЛ-12) (Elisa Kit, Finland) імуноферментним методом за прикладеними інструкціями.

**Результати.** Пренатальне незбалансоване харчування самок щурів негативно впливає на морфофункціональний стан підшлункової залози потомства у постнатальному онтогенезі (табл. 1): у 100 % новонароджених щурят 1-ї групи у порівнянні з тваринами групи контролю (3-тя група) спостерігається збіль-

© О.В. Ніколаєва, О.О. Павлова, В.А. Сіренко та ін., 2016

Таблиця 1. Порівняння морфометричних даних структурних елементів підшлункової залози у щурят 1-ї і 2-ї груп, ( $M \pm m$ ) у % від нормативу

Показник	Вік (групи) щурят					
	новонароджені		1-місячні		2-місячні	
	1-ша група	2-га група	1-ша група	2-га група	1-ша група	2-га група
Відносний обсяг паренхіми	104,5±2,4	81,5±1,7*	90,4±3,0	88,1±1,4	85,2±2,9	70,9±1,2*
Відносний обсяг стромы	90,0±5,6	141,4±3,8*	126,9±8,2	131,6±4,1	208,3±21,5	311,6±9,0*
Площа ацинусів	127,8±0,7	92,3±0,3*	95,2±0,3	81,5±0,2*	89,3±0,3	71,7±0,3*
Площа острівців Лангерганса	137,0±2,3	89,2±0,2*	97,2±0,3	79,0±0,5*	59,6±0,2	48,7±0,2*
Кількість $\beta$ -клітин в острівці	139,0±0,4	78,4±0,4*	117,9±0,5	71,0±0,3*	104,2±0,3	69,4±0,3*
Кількість $\alpha$ -клітин в острівці	132,9±0,7	75,0±0,7*	118,0±0,4	71,6±0,4*	105,4±0,4	68,5±0,4*

Примітка. \* достовірність відмін при порівнянні потомства щурів 1-ї та 2-ї груп.

шення обсягу паренхіми, ацинусів, острівців Лангерганса і зменшення обсягу стромальної частини підшлункової залози, тоді як у щурят 2-ї групи виявлені протилежні зміни. Подальше спостереження показало, що протягом наступних двох місяців життя у щурят спостерігається негативна динаміка розвитку: і в щурів, розвиток яких в пренатальному періоді відбувався в умовах аліментарного білкового дефіциту в матерів, і в щурів, які розвивалися в умовах аліментарного надлишку вуглеводів і жирів, відбувається зменшення площі ацинусів, відносного обсягу паренхіми, площі острівців Лангерганса та збільшення стромальної частини підшлункової залози. Також звертає на себе увагу те, що зменшення площі острівців Лангерганса, на відміну від потомства щурів 1-ї групи, у щурят від матерів 2-ї групи відбувається за рахунок зменшення кількості ендокриноцитів.

Порівняння частоти виникнення морфологічних змін екзо- і ендокринної частини підшлункової залози у щурят від матерів 1-ї та 2-ї груп (табл. 2) показало, що характер морфологічних змін підшлункової залози і частота їх виникнення принципово не відрізняються в групах щурів, матері яких отримували різні варіанти незбалансованого харчування, що спричиняли різні умови пренатального розвитку тварин. Встановлені міжгрупові відмінності нечисленні і не мають принципової різниці у віковому аспекті.

Відомо, що пошкодження тканин, яке виникає внаслідок дії «подразника» (яким може з'явитися порушення харчування, особливо під час вагітності), призводить до системної гуморальної відповіді організму, основу якої складає активація експресії та підвищення

вмісту в крові різних біологічно активних речовин, насамперед цитокінів [8]. Враховуючи напрямок диференціювання Т-лімфоцитів з CD4<sup>+</sup>-Т-клітин з утворенням Т-хелперів 1-го (Th1) та 2-го (Th2) типів, ми дослідили у сироватці крові ІЛ-12 та ІЛ-4, які є маркерними цитокінами Th1- і Th2-лімфоцитів, що дозволило нам оцінити шляхи реалізації імунної відповіді на пошкодження тканини. Відомо, що реакції клітинного імунітету опосередковують Th1-клітини, які засновані на взаємодії антиген-Т-лімфоцит, а реакції гуморальної імунної відповіді опосередковують Th2-клітини, які пов'язані зі стимуляцією В-лімфоцитів і виробленням антитіл [9].

Порівняння частоти виникнення змін рівня цитокінів у крові щурят від матерів 1-ї та 2-ї груп показало їх ідентичність у тварин усіх груп (табл. 3), і полягають вони у сполученні збільшення вмісту ІЛ-12 і зниження вмісту ІЛ-4. Виняток складають показники у 1-місячних щурів від матерів 2-ї групи. В них має місце не тільки низький рівень ІЛ-4, як і в усіх інших групах, а й зниження рівня ІЛ-12. Це свідчить про недостатність імунної відповіді на пошкодження тканини підшлункової залози у щурів, пренатальний розвиток яких відбувався в умовах дефіциту поживних речовин. Показники середнього вмісту цитокінів цілком узгоджуються з частотою і характером змін їх рівня у експериментальних тварин: у одно- і двомісячних щурів всіх груп має місце суттєве зменшення показника ІЛ-4 і суттєве збільшення показника ІЛ-12 (за винятком тварин 2-ї групи, у яких рівень ІЛ-12 значно знижений).

Зіставлення середнього рівня цитокінів у одно- і двомісячних щурят показало, що

Таблиця 2. Порівняння морфологічних змін підшлункової залози (ПЗ) у щурят 1-ї та 2-ї груп у % від кількості тварин

Показник	Вік (групи) щурят					
	новонароджені		1-місячні		2-місячні	
	1-ша група	2-га група	1-ша група	2-га група	1-ша група	2-га група
<i>Стан паренхіми</i>						
Атрофія паренхіми	70,0±14,4	100*	70,0±14,4	100*	90,0±9,5	100
Ліпоматоз	30,0±14,5	50,0±15,8	30,0±14,5	50,0±15,8	10,0±9,5	0
<i>Стан строми</i>						
Незрілість строми	100	100	100	100	100	100
Склероз внутр. і міжчаст.	40,0±15,5	100*	40,0±15,5	100*	40,0±15,5	20,0±12,6
Набряк строми	40,0±15,5	100*	40,0±15,5	100*	40,0±15,5	100*
Ліпоматоз	0	0	100	50±15*	0	50±15*
Запальна інфільтрація	40,0±15,5	100*	40±15*	0	40±15*	0
Повнокров'я капілярів	0	100*	0	100*	0	100*
Дистрофія протоків	0	0	0	100*	0	100*
<i>Стан екзокринної частини ПЗ</i>						
Дистрофія цитоплазми	100	100	100	100	0	100*
Каріопікноз, -рексис, -лізис	100	100	100	100	100	100
Ядерний поліморфізм, мітози	100*	0	100*	0	100*	0
<i>Стан ендокринної частини ПЗ</i>						
Зменшення кількості ОЛ	100	100	100	100	0	100*
Зміни форми ОЛ (стріч-коподібна, неправильна)	100	100	100	100	100	100
Гіпертрофія ОЛ (крупні ОЛ), гіперплазія ОЛ	100	100	100*	0	80,0±12,6*	0
Новоутворення дрібних ОЛ	0	100*	0	0	100*	0
Дегрануляція, вакуолізація цитоплазми	100	100	100	100	100	100
Каріопікноз, -рексис, -лізис, гіперхроматоз ядра	100	100	100	100	100	100
Конденсація та маргінація хроматину	100	100	100	100	100	100
Одиничні мітози	0	100*	0	0	0	0

Примітки: 1. ОЛ – острівці Лангерганса.

2. \* достовірність відміни при порівнянні між групами потомства щурів 1-ї (на гіперкалорійному харчуванні) і 2-ї (на гіпокалорійному харчуванні) груп.

Таблиця 3. Вміст цитокінів у сироватці крові у щурят від матерів 1-ї та 2-ї груп ( $M \pm m$ ) у % від нормативу

Показник	Вік (групи) щурят			
	1-місячні		2-місячні	
	1-ша група	2-га група	1-ша група	2-га група
ІЛ-12	163,6±2,4*	55±1,5* ( $p_1 < 0,001$ )	209,4±4,3 ( $p_x < 0,001$ )	156±3,3* ( $p_1 < 0,001$ , $p_y < 0,001$ )
ІЛ-4	23,7±1,1*	25,6±3,4*	23,1±4,0*	28,7±2,4*
ІЛ-12 / ІЛ-4	706,6±40,9*	264,1±45,7* ( $p_1 < 0,001$ )	610,7±66,7*	575,7±42,8* ( $p_1 = 0,036$ , $p_y < 0,001$ )

Примітка. \* $p < 0,001$  – порівняння з групою контролю;  $p_1$  – достовірність відміни при порівнянні з групами потомства щурів 1-ї групи;  $p_x$  – достовірність відміни при порівнянні груп 1- та 2-місячних щурят від матерів 1-ї групи;  $p_y$  – достовірність відміни при порівнянні груп 1- та 2-місячних щурят від матерів 2-ї групи.

у останніх відбувається достовірне збільшення вмісту ІЛ-12 в порівнянні з таким у 1-місячних щурят в усіх основних групах: у

1-місячних тварин 1-ї групи на 45,4 %, у 1-місячних щурят 2-ї групи – на 101 %. Середній вміст ІЛ-4 у 2-місячних тварин від матерів 1-

ї і 2-ї груп не відрізнявся від такого у 1-місячних, залишаючись зниженим порівняно з групами контролю майже в 4 рази.

Таким чином, отримані результати дослідження маніфестують наявність у потомства всіх експериментальних груп системної гуморальної відповіді у вигляді дисбалансу про- і протизапальних цитокінів з переважанням маркерного цитокіну Th1-лімфоцитів (ІЛ-12), що свідчить про переважне залучення в патогенез ушкодження підшлункової залози клітинної ланки імунітету. Це, безумовно, негативно позначається на внутрішньоклітинному метаболізмі панкреатитів, їх екзо- та ендокринній секреторній активності, що може ще більше посилити пошкодження підшлункової залози як у експериментальних тварин з морфологічними ознаками запалення, так і у щурів без ознак запалення, оскільки імунопатологічні реакції, які тривало зберігаються, а саме специфічна алергічна реакція уповільненого типу, з часом можуть сприяти розвитку хронічного панкреатиту і панкреатичної недостатності [8, 9].

#### Висновки

1. У всіх щурят, народжених від тварин, які знаходилися на гіпер- або гіпокалорійній дієтах, мають місце морфофункціональні зміни в підшлунковій залозі, які можуть бути в основі її екзо- або ендокринної недостатності.

2. У потомства щурів, які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту (1-ша група), має місце гіперплазія екзокринної паренхіми, спостерігаються незрілість паренхіми та строми (у 100 % щурят), запальна інфільтрація (у 40 %), дистрофічні

зміни в екзокриноцитах, набряк та внутрішньо- й міжчасточковий склероз (у 40 %), збільшення площі островців Лангерганса і кількості в них  $\alpha$ - і  $\beta$ -клітин з посиленням дистрофічних змін (у 100 %), новоутворення дрібних островців Лангерганса (у 100 %).

3. У 100 % потомства щурів, які протягом вагітності отримували гіпокалорійне харчування (2-га група), виявлені морфофункціональні зміни підшлункової залози, аналогічні таким у тварин 1-ї групи, причому виразність цих порушень більша. Однак на відміну від останніх у 100 % щурів 2-ї групи спостерігалися атрофія паренхіми та збільшення обсягу строми підшлункової залози, зменшення площі ацинусів і островців Лангерганса, зниження в частині островців Лангерганса кількості ендокриноцитів; при цьому виявлено порушення з боку гемокапілярів.

4. У 100 % потомства всіх експериментальних груп має місце системна гуморальна відповідь на пошкодження підшлункової залози у вигляді дисбалансу про- і протизапальних цитокінів. Суттєве підвищення в сироватці крові рівня маркерного цитокіну Th1-лімфоцитів (ІЛ-12) і зниження рівня маркерного цитокіну Th2-лімфоцитів (ІЛ-4) свідчить, що імунна відповідь на ушкодження підшлункової залози реалізується активацією реакцій клітинного імунітету на тлі зниження активності реакцій гуморальної відповіді.

5. Отримані дані свідчать про те, що незбалансоване харчування вагітних щурів є істотним чинником ризику розвитку органічної патології підшлункової залози їхнього потомства.

#### Література

1. Chronic fetal hyperglycemia as a predictor of neuroendocrine imbalance development with metabolic disturbances / Yu.M. Kolesnik, O.V. Gancheva, Yu.I. Varodeeva, et al. // *Клінічна фармація*. – 2013. – Т. 17, № 4. – С. 52–55.
2. Khan S. Valproic acid reduces insulin-resistance, fat deposition and FOXO1-mediated gluconeogenesis in type-2 diabetic rat / S. Khan, S. Kumar, G. Jena // *Biochimie*. – 2016. – № 9084 (16). – P. 30001–30003.
3. Therapeutic effects of quercetin on early inflammation in hypertriglyceridemia-related acute pancreatitis and its mechanism / J. Zheng, J. Wu, J. Chen, et al. // *Pancreatology*. – 2016. – № 16 (2). – P. 200–210.
4. Protein-restriction during the last third of pregnancy malprograms the neuroendocrine axes to induce metabolic syndrome in adult male rat offspring / Cezar de Oliveira, J.R. Gomes, R. Miranda, et al. // *Endocrinology*. – 2016. – № 23. – P. 1883.
5. Пат. 80979 UA, G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання надмірної ваги / Ніколаєва О.В., Ковальцова М.В., Євтушенко Т.Г. (UA) – № у 2013 01221, заявл. 01.02.2013; опубл. 10.06.2013. Бюл. № 11. – 4 с.

6. Пат. 81453 UA, G09B 23/28 (2006.01), G09B 23/34 (2006.01). Спосіб моделювання аліментарної білкової недостатності / Ніколаєва О.В., Ковальцова М.В., Євтушенко Т.Г. (UA); – № u 2013 01910; заявл. 18.02.2013; опубл. 25.06.2013. Бюл. № 12. – 4 с.

7. Меркулов Г.А. Курс патолого-гистологической техники / Г.А. Меркулов. – М.: Медицина, 1961. – 339 с.

8. Болевич С.Б. Молекулярные механизмы в патологии человека: Руководство для врачей / С.Б. Болевич, В.А. Войнов – М.: Мед. информ. агентство, 2012. – С. 8–10.

9. Тотолян А.А. Клетки иммунной системы / А.А. Тотолян. – СПб.: Наука, 2000. – 231 с.

**О.В. Николаева, Е.О. Павлова, В.А. Сиренко, М.В. Ковальцова, И.А. Сулхдост**  
**ДИНАМИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**  
**ПОТОМСТВА КРЫС ВСЛЕДСТВИЕ ДЕЙСТВИЯ НЕСБАЛАНСИРОВАННОГО ПИТАНИЯ**

В поджелудочной железе крысят от матерей, получивших несбалансированное питание, выявлены морфофункциональные изменения: увеличение объема паренхимы, площади ацинусов и островков Лангерганса у крысят, рожденных от крыс на гиперкалорийной диете; уменьшение объема паренхимы, площади ацинусов и островков Лангерганса, увеличение стромы у крысят, рожденных от крыс на гипокалорийной диете; у животных всех групп также выявлены незрелость паренхимы, отек, фиброз и липоматоз стромы, ее воспалительная инфильтрация, дистрофические изменения ядер и цитоплазмы экзо- и эндокриноцитов; у крысят также наблюдался дисбаланс цитокинов с преобладанием маркерного цитокина Th1-лимфоцитов (ИЛ-12). Подобные изменения поджелудочной железы у животных свидетельствуют о том, что несбалансированное питание беременных крыс является фактором риска развития хронической патологии поджелудочной железы у их потомства.

**Ключевые слова:** гипер- и гипокалорийная диета, морфофункциональное состояние поджелудочной железы, крысята, цитокины.

**O.V. Nikolayeva, O.O. Pavlova, V.A. Sirenko, M.V. Kovaltsova, I.O. Sulhdost**  
**DYNAMICS OF THE MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF OFFSPRING-RATS' PANCREASES**  
**RESULTING FROM AN ACTION OF THE UNBALANCED FEEDING**

The pancreas of offspring-rats' that was born rats treated with unbalanced feeding revealed morphological changes: increased parenchymal area, acini and islets of Langerhans from babe-rats' was born of pregnant rats treated with hypercaloric diet; reduced parenchymal area, acini and islets of Langerhans from babe-rats' was born of pregnant rats treated with hypocaloric diet; the offspring-rats' all groups have immaturity parenchymal area, edema, fibrosis and lipomatosis stroma, its inflammatory infiltration, degenerative changes in the nuclei and cytoplasm exocrine and endocrine cells; young rats also presented pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines imbalance with marker cytokine Th1-lymphocytes (interleukin-12) domination. Such morphological changes of the pancreas of animals suggest that unbalanced feeding in pregnant rats is a significant risk factor for chronic diseases of the pancreas in their rats-progeny'.

**Key words:** hyper- and hypocaloric diet, morphology and function of pancreas, offspring-rats', cytokines.

Поступила 28.03.16