

Д. О. Якименко

ВПЛИВ ОЛІЇ АМАРАНТА НА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН СЛИННИХ ЗАЛОЗ І ІМУННОЇ СИСТЕМИ У ТВАРИН З МОДЕЛЛЮ СИНДРОМА ШЕГРЕНА

Одеський національний медичний університет

Summary. Yakimenko D. O. **AMARANTH OIL INFLUENCE ON INTERRELATION OF STRUCTURAL - AND- FUNCTIONAL CHANGES OF SALIVARY GLANDS AND IMMUNE SYSTEM OF EXPERIMENTAL ANIMALS WITH MODEL OF SJOGREN'S SYNDROME.** – *Odessa National medical University, e-mail: ivv25@ukr.net.* **Introduction.**

Sjogren's syndrome is an organ-specific autoimmune disease characterized by polyclonal activation of B-lymphocytes and production of a wide spectrum of auto antibodies. Correction of immune system disorders is included in the guideline for treatment of Sjogren's syndrome. The long use of drugs may be accompanied by undesirable side effects. The search of side-effects free natural factors is urgent. One of the natural substances used with this purpose is amaranth oil. **The objective:** to establish the relationship between the severity of structural changes in the salivary glands and the activity of autoimmune reactions in simulated Sjogren's syndrome and justify the possibility of internal use of amaranth oil for these disorders correction. **Materials.** 49 Vistar line white rats of outbred breeding with simulated Sjogren's syndrome. The latter was reproduced by insertion into the right parenchyma gland of 0.5 ml of BCG solution in a mixture of water and glycerin, the relationship between the intensity of autoimmune reactions, structural damages of immune system organs and degenerative-dystrophic processes in the salivary gland. **Results.** It has been established that degenerative-dystrophic changes in the salivary gland tissue are increased with the enlargement of the period of pathological process. Directly it correlates with increasing of auto antibodies levels to the salivary gland and involution changes in the spleen, that is, the violation of the state of regulatory component of the immune system plays a significant role in the pathogenesis of the Sjogren's syndrome. Application of amaranth oil in experimental animals prevents the destruction of the salivary gland, the structure of the spleen is preserved and the activity of autoimmune reactions slows. **Conclusion.** Immuno - modulating effect of amaranth oil positively affects the restraint of the degenerative-dystrophic processes in the tissue of the salivary gland in Sjogren's syndrome.

Key words: Sjogren's syndrome, experimental model, antibodies to salivary glands, amaranth oil

Реферат. Якименко Д. О. **ВЛИЯНИЕ МАСЛА АМАРАНТА НА ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ И ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЖИВОТНЫХ С МОДЕЛЬЮ СИНДРОМА ШЕГРЕНА.**

Синдром Шегрена (СШ) – органоспецифическое аутоиммунное заболевание, характеризующееся поликлональной активацией В-лимфоцитов и продукцией широкого спектра аутоантител. Коррекция нарушений деятельности иммунной системы входит в протокол лечения СШ. Применение медикаментозных средств на протяжении длительного времени может сопровождаться появлением нежелательных побочных реакций. Это выдвигает вопрос о необходимости применения природных факторов, которые таких побочных действий не имеют. Одним из природных средств, применяющихся в настоящее время, является масло амаранта. **Цель:** установить взаимосвязи выраженности структурных

изменений слюнных желез и активности аутоиммунных реакций при моделировании СШ и обосновать возможность внутреннего применения масла амаранта для коррекции этих нарушений. **Материал.** 49 белых крыс линии Вистар аутбредного разведения, у которых воспроизвели модель СШ путем введения в правую околоушную слюнную железу 0,5 мл раствора БЦЖ на смеси воды и глицерина. Определяли взаимосвязь между интенсивностью аутоиммунных реакций, нарушениями структуры органов иммунной системы и дегенеративно-дистрофическими процессами в слюнной железе. **Результаты.** Установлено, что дистрофически – дегенеративные изменения ткани слюнной железы усиливаются с увеличением срока патологического процесса, напрямую коррелируют с увеличением содержания аутоантител к слюнной железе и инволюционными изменениями в селезенке, то есть нарушение состояния регуляторной компоненты иммунной системы играет существенную роль в патогенезе СШ. Применение у подопытных животных масла амаранта предотвращает разрушение слюнной железы, одновременно сохраняется структура селезенки и сдерживается активность аутоиммунных реакций. **Вывод.** Масло амаранта оказывает иммуномодулирующее влияние на дистрофически – дегенеративные процессы в тканях слюнной железы при СШ, сдерживая их.

Ключевые слова: синдром Шегрена, экспериментальная модель, антитела к слюнным железам, масло амаранта

Реферат. Якименко Д. О. **ВПЛИВ ОЛІЇ АМАРАНТА НА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН СЛИННИХ ЗАЛОЗ І ІМУННОЇ СИСТЕМИ У ТВАРИН З МОДЕЛЛЮ СИНДРОМА ШЕГРЕНА.** Хвороба Шегрена – органоспецифічне аутоімунне захворювання, що характеризується поліклональною активацією В-лімфоцитів та продукцією широкого спектру аутоантитіл. Корекція порушень діяльності імунної системи входить до протоколу лікування хвороби Шегрена. Застосування медикаментозних засобів на протязі тривалого часу може супроводжуватись появою небажаних побічних реакцій. Це висуває питання про необхідність застосування природних факторів, що таких побічних дій не мають. Одним з природних засобів, що застосовують в останній час, є олія амаранта. Мета дослідження: встановити взаємозв'язок вираженості структурних змін слинних залоз і активності аутоімунних реакцій при моделюванні синдрому Шегрена і обґрунтувати можливість внутрішнього застосування олії амаранта для корекції цих порушень. На підставі комплексного дослідження 49 білих щурів лінії Вистар аутобредного розведення, у яких відтворювали модель синдрому Шегрена шляхом введення в праву привушну слинну залозу 0,5 мл розчину БЦЖ на суміші води та гліцерину, визначали взаємозв'язок між інтенсивністю аутоімунних реакцій, порушень структури органів імунної системи та дегенеративно-дистрофічних процесів в слинній залозі. Встановлено, що дистрофічно-дегенеративні зміни тканини слинної залози посилюються зі збільшенням терміну патологічного процесу. Напрям корелюють зі зростанням вмісту аутоантитіл до слинної залози та інволюційними змінами в селезінці, тобто порушення стану регуляторної компоненти імунної системи відіграє суттєву роль в патогенезі синдрому Шегрена. Застосування піддослідним щурам олії амаранта запобігає руйнуванню слинної залози, водночас зберігається структура селезінки та стримується активність аутоімунних реакцій. Імуномодулюючий вплив олії амаранта позитивно впливає на стримання дистрофічно-дегенеративних процесів в тканині слинної залози при синдромі Шегрена.

Ключові слова: синдром Шегрена, експериментальна модель, антитіла до слинних залоз, олія амаранта

Актуальність. Синдром Шегрена – системне захворювання залоз зовнішньої секреції з переважним ураженням слинних і слізних залоз. У випадках, коли характерні риси і діагностичні критерії ураження слинних залоз спостерігаються на фоні системного захворювання сполучної тканини, говорять про вторинний синдром або хворобу Шегрена [1]. Однак суттєві прояви ураження залоз в обох випадках аналогічні. Суб'єктивними проявами захворювання є ураження слинних залоз (зниження продукції слини аж до її повної відсутності) і ураження очей (сухий кератокон'юнктивіт) [2, 3]. До цих основних проявів хвороби можуть приєднатися ураження потових залоз та залоз шлунково-

кишкового тракту.

Серед проявів системних змін при розвитку хвороби Шегрена слід відзначити посилену продукцію антитіл до тканини слинних залоз і ті прояви, що характерні для активації аутоімунних реакцій (гіперв'язкість слини наявність кріоглобулінів, антинуклеарні антитіла SSA/Ro таSSB/La) [4]. Наявність виражених проявів аутоімунних реакцій дозволило віднести їх до важливих патогенетичних механізмів даної хвороби. Корекція порушень діяльності імунної системи входить до визнаного протоколу лікування хвороби Шегрена, однак здійснюється вона переважно медикаментозними засобами. Застосування медикаментозних засобів на протязі тривалого часу може супроводжуватись появою парадоксальних реакцій з боку організму, алергічних реакцій і збоїв в діяльності функціональних систем. Це висуває питання про необхідність застосування природних факторів, що таких побічних дій не мають. Одним з природних засобів, що застосовують в останній час, є олія амаранта.

Мета дослідження: встановити взаємозв'язк вираженості структурних змін слинних залоз і активності аутоімунних реакцій при моделюванні синдрому Шегрена і обґрунтувати можливості внутрішнього застосування олії амаранта для корекції цих порушень.

Матеріали і методи. Матеріалом дослідження послужили дані, одержані при дослідженні 49 білих щурів-самців лінії Вістар аутбредного розведення. Всі тварини трималися в умовах віварію, що відповідають рекомендаціям ЄС та закону Українидотриманням «Правил виконання робіт з використанням експериментальних тварин» Наказ МОЗ України № 249 від 01. 03. 2012 року та Закону України № 3447-IV «Про захисттваринвіджорстокогоповодження» від 21.02.2006 (зі змінами від 15.12 2009 та 16.10.2012).

У відповідності з задачами роботи тварин було розділено на три групи:

I група – (7 тварин) інтактні щури, які не отримували ніяких впливів; дані, отримані при їхньому дослідженні, використовували як контроль.

II група – (21 тварина) щури, яким моделювали СШ. Для цього у праву привушну слинну залозу вводили одноразово 0,5 мл розчину БЦЖ, розведеного на суміші гліцерину з дистильованою водою.

III група – (21 тварина) щури, які на фоні моделі СШ отримували масло амаранта щоденно в кількості 1мл (з окремою порцією корму для кожної тварини).

Тварин виводили з досліду на 14, 21 та 28 добу після введення БЦЖ декапітацією під легким ефірним наркозом. При виведенні тварин з досліду у них забирали 3,0 мл крові, праву привушну слинну залозу і селезінку. Забрану кров використовували для проведення імунологічних досліджень: визначали вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), гетерогенних антитіл (ГА), а також вміст антитіл до тканини слинних залоз.

Забрані кусочки привушної слинної залози та селезінки фіксували 24 години в 4% розчині параформальдегіду, проводили крізь спирти зростаючої концентрації, заливали в целоїдин за загальноприйнятою методикою. З одержаних блоків готували гістологічні зрізи товщиною 8-10 мкм, які фарбували гематоксилін-еозином. Отримані препарати досліджували під світловим мікроскопом для оцінки змін структури досліджуваних органів.

Результати та їх обговорення

Дослідження одержаного матеріалу показало, що в слинних залозах при відтворенні моделі СШ мали місце дистрофічні зміни у вигляді поширення та фіброзування нових перегородок, наявності в них скупчень лімфоцитів, зморщування кінцевих секреторних відділів залози (рис.1) поява включень з гомогенних сіруватих напівпрозорих мас; порушення розподілення секретуючих клітин з пікнотичними ядрами. Одночасно в селезінці визначались зміни у вигляді: уширення міжсекторальних прошарків, зменшення кількості фолікул в кожному секторі (рис. 2), розподіл лімфоїдних елементів в гермінативному центрі сильно розріджено, ядра елементів набухлі з нечіткими межами, в лімфомедулярних просторах кількість лімфоїдних елементів суттєво зменшена.

Результати імунологічних досліджень показали суттєві зміни показників імунної відповіді (таблиця 1). Згідно з даними таблиці 1 розвиток СШ супроводжується достовірним зменшенням вмісту ГА у тварин з СШ. Оскільки рівень ГА в крові відображає стан неспецифічної резистентності, можна припустити, що у піддослідних тварин вона знижена, можливо, це пов'язано з дистрофічними змінами, виявленими у цих тварин в селезінці. В той же час рівень ЦІК залишається близьким до даних контролю. Оскільки ЦІК

не є регуляторами і активаторами запальних реакцій, можна припустити, що потенціал відповідної типової реакції (запалення) на дію ксенобіотиків у тварин з СШ зберігається. У піддослідних тварин фіксується поява і в подальшому різке зростання вмісту аутоантитіл до тканини слинних залоз, що на фоні зниження неспецифічної резистентності може привести до розвитку дистрофічно - дегенеративних змін в тканинах цієї залози.

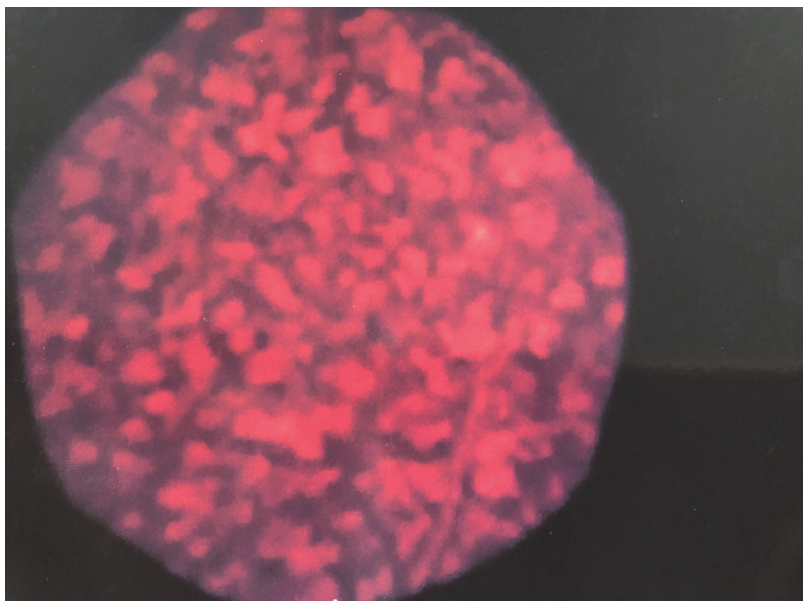


Рис. 1. Привушна слинна залоза щура з моделлю синдрому Шегрена, 21 день дослідю.
Зморщені секреторні ацинуси, цитоплазма світла, ядра пікнотичні
Забарвлення: гематоксилін-еозин, збх100

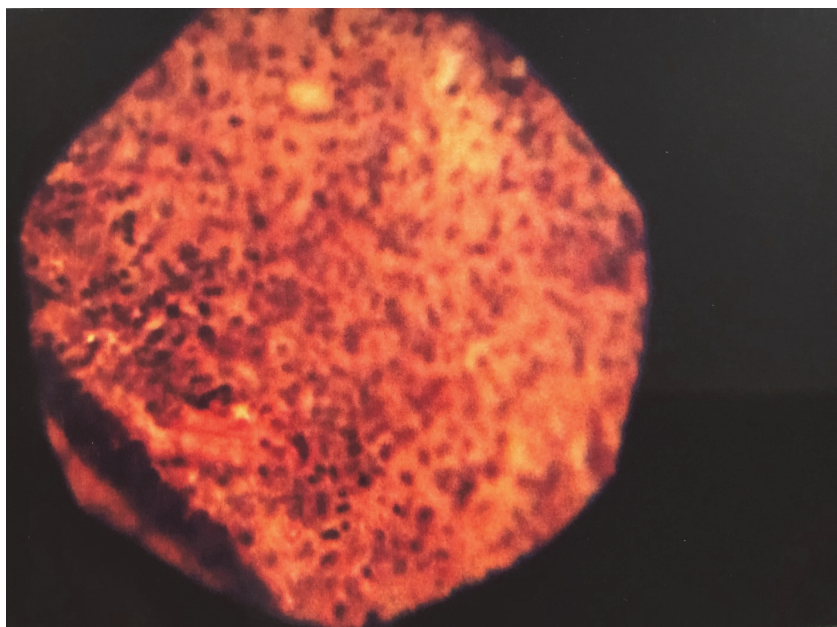


Рис. 2. Модель синдрому Шегрена, 21 день дослідю. Селезінка з залишками
фолікулів, розріджене розташування лімфоїдних елементів.
Забарвлення: гематоксилін-еозин, збх100

Таблиця 1.

Динаміка показників імунної відповіді у щурів з моделлю СШ, що одержували олію амаранта

Групи/показники	контроль	28 день модель СШ	28 день модель СШ, курс амаранта
ГА , у.о.	6,0± 0,8)	3,25± 0,57 P<0,001	3,50± 1,50 P>0,5
ЦІК, у.о.	5,7± 0,20	5,17± 0,12 P<0,001	5,71± 0,27 P<0,5
Антитіла до тканини слинної залози, у. о.	0	50,0± 9,26 P<0,001	22,50 ±6,29 P<0,001

Таким чином, одержані в першій частині дослідження результати дозволяють говорити про тісний зв'язок дистрофічно – дегенеративних змін в тканинах слинних залоз зі змінами імунної відповіді, зокрема, з активацією аутоімунних реакцій і послабленням неспецифічної резистентності. Останні зміни, в свою чергу, пов'язані з дистрофією в органах імунної відповіді (селезінка).

Проведення на тлі моделі СШ тваринам курсу внутрішнього прийому олії амаранта призвело до позитивних змін стану піддослідних тварин. Дослідження слинних залоз після закінчення курсу корекції показало, що фіброз потовщених міжсекторальних перегородок зберігається, внутрідолькові перегородки потоншуються і зникає їх лімфоцитарна інфільтрація. Більшість кінцевих секреторних відділів відновлюють свою звичайну структуру. Однак зберігається частина дольок, в яких епітеліоцити зібрані в неупорядковані скупчення (рис.3), частина з них містить пікнотичні ядра. Між такими скупченнями визначаються включення однорідних еозинофільних мас. В просвіті вивідних протоків дольок визначаються напівпрозорі сіруваті маси. В цілому можна говорити про відновлення структури слинної залози при збереженні частини дольок в дистрофічно- дегенеративному стані.

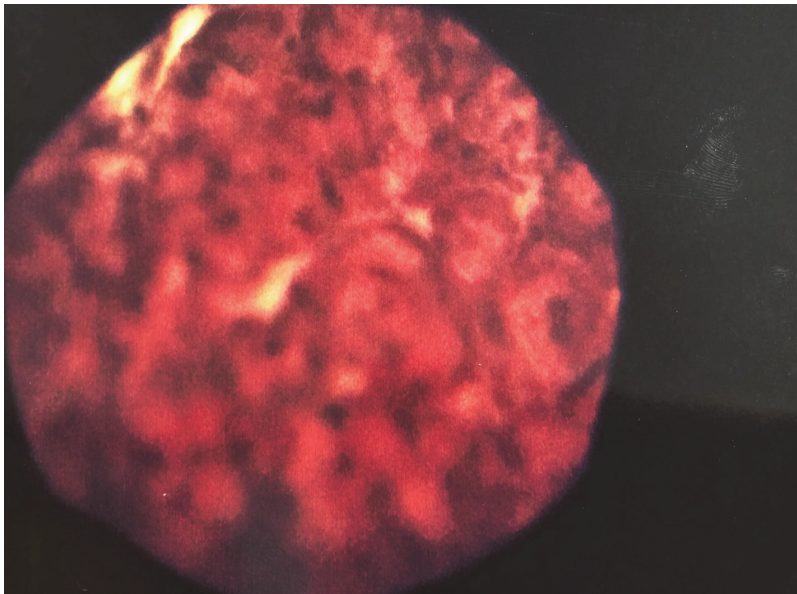


Рис.3. Привушна слинна залоза щура, закінчення курсу прийому олії амаранта на тлі синдрому Шегрена. Неупорядочені скупчення епітеліоцитів, ядра в частини клітин великі, соковиті.

Забарвлення: гематоксилін-еозин, збх160

В цей же час в селезінці відзначається збереженість сегментарної організації. Міжсегментарні перегородки зберігають фіброзну щільність, однак товщина їх візуально знижена. В кожній дольці збільшується кількість лімфоїдних фолікулів, тобто їх більше

одного. Структура кожного з фолікулів приближається до норми, відмінність від контролю полягає в тому, що в ряді фолікулів визначаються окремі однорідні еозинофільні включення. В міжфолікулярних просторах візуально кількість лімфоцитів збільшено (рис.4). Крім того, визначаються скупчення лімфоцитів, можливо це нові фолікули, що формуються.

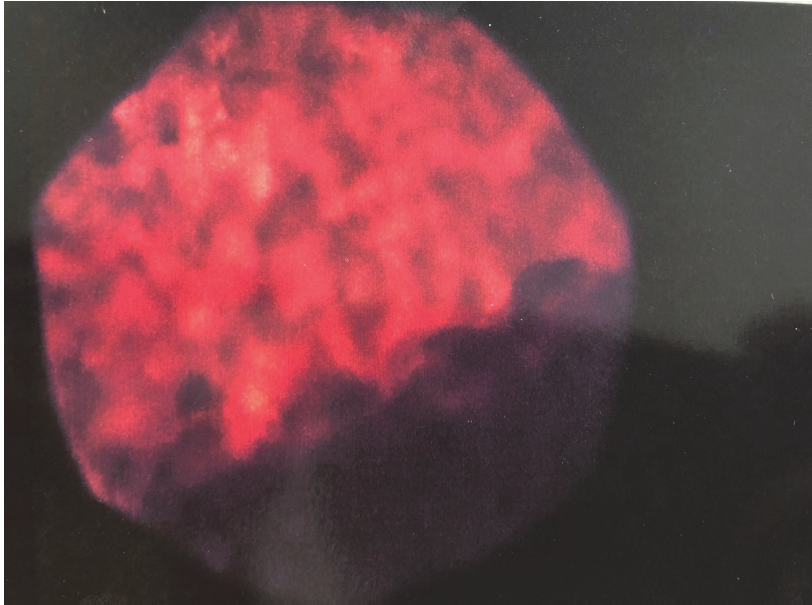


Рис.4. Селезінка щура, що отримував олію амаранта на тлі синдрому Шегрена. Збільшення щільності розподілу лімфоцитів в між альвеолярному просторі.

Забарвлення: гематоксилін-еозин, 36х160

Що стосується стану імунної відповіді, то у піддослідних тварин цієї групи згідно даних таблиці 1 мають місце позитивні зрушення. Вміст ГА залишається близьким до до даних нелакованих щурів з моделлю СШ, тобто неспецифічна резистентність піддослідних тварин залишається зниженою. Вміст ЦІК нормалізується, тобто потенціал типових реакцій організму на несприятливі дії збільшується в поєднанні з відсутністю морфологічних ознак запалення (лімфоцитозу і набряку) можливо припустити, що організм тварин може протистояти ксенобіотичному впливу без розвитку гострих запальних реакцій. Одночасно практично вдвічі знижується вміст антитіл до тканини слинної залози. Це дозволяє припустити, що інтенсивність аутоімунних реакцій різко слабшає, що з однієї сторони сприяє відновленню структурно-функціональної організації слинної залози, а з другої знижує можливість гострих запальних реакцій.

Таким чином, результати наших досліджень свідчать про взаємозв'язок інтенсивності дистрофічно-дегенеративних процесів в тканині слинної залози і інтенсивності аутоімунних реакцій, а також зі ступенем інволюції органів імунного захисту, яка корелює з інтенсивністю аутоімунних реакцій.

Проведення курсового прийому олії амаранта тваринами з моделлю СШ приводило до зменшення інтенсивності аутоімунних реакцій, відповідно до відновлення структурної організації органів імунної відповіді. Такі позитивні зрушення в стані імунної системи супроводжувались значним відновленням структурно-функціональної організації слинних залоз.

Література/References:

1. Національний підручник з ревматології / За ред В. М. Коваленка, Н. М. Шуба.- К.: Моріон, 2013. – 671 с. [Natsionalnyi pidruchnik z revmatologi / Za red V. M. Kovalenka, N. M. Shuba.- K.: Morion, 2013. – 671 s.] -. National Text Book on Rheumatology / Ed. V. M. Kovalenko, N. M. Shuba. - K.: Morion, 2013. - 671 s [in Ukrainian]
2. Kassan S. S. Clinical manifestations and early diagnosis of Sjogren's syndrome. / Kassan S. S., Moutsopoulos H. M. // Arch.Intern.Med. - 2004. - Vol. 164. - P. 1275–1284.

3. Ramos–Casals M. Primary Sjogren’s syndrome: new clinical and therapeutic concepts. /Ramos–Casals M., Tzioufas A., Font J.// Ann.Rheum.Dis.- 2005.- Vol. 64, № 1. - PP. 347 – 354.
4. Goldblatt F., O’Neil S.C. Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases// Lancet.- 2013.–Vol. 382. – PP. 797-807.

Робота надійшла в редакцію 19.10.2018 року.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування