

DOI: 10.26565/2075-5457-2024-43-12
УДК: 616.37+615.874.24

Вікові відмінності впливу переривчастого голодування на морфофункціональні показники підшлункової залози щурів

Р.В. Янко

Ефективність застосування переривчастого голодування (ПГ) для активації функції підшлункової залози (ПЗ) не є однозначним. Одними з причин цього можуть бути відмінності у використанні режиму ПГ, тривалості дослідів, а також залучення до експерименту тварин різного віку. Також залишається відкритим питання про те, наскільки вираженим є ефект застосування ПГ для підвищення функціональної активності ПЗ у осіб похилого віку. Метою роботи було дослідити і порівняти морфофункціональні зміни ПЗ щурів різного віку після впливу ПГ і оцінити перспективність його використання в якості засобу для корекції виражених вікових знижень функції залози. Експерименти були виконані на 40 щурах-самцях 3- і 15-міс віку. Піддослідні тварини зазнавали впливу ПГ, а саме – 1 доба повне голодування / 2 доби стандартний віварний раціон. Доступ до води був вільний. Тривалість дослідів становила 28 діб. З тканини ПЗ виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою. Гістоморфометрію здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Image J». Дослідження проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Виявлено, що вплив ПГ протягом 28-ми діб призводив до появи чітко виражених морфофункціональних ознак підвищення активності ПЗ у дорослих щурів. Особливо зростала ендокринна функція залози, про що свідчило вірогідне збільшення відносної площі ендокринної частини (на 108%), середньої кількості островців Лангерганса (на 44%), розмірів островців, кількості розміщених у них ендокриноцитів (на 20%) та зниження концентрації глюкози в крові. У молодих тварин, навпаки, ПГ знижувала активність як екзо-, так і ендокринної (більшою мірою) частини залози. Вплив ПГ знижував кількість сполучної тканини в ПЗ щурів різного віку. Отримані дані можуть бути використані для підвищення функції ПЗ у дорослих і осіб похилого віку, а також при профілактиці вікових хронічних захворювань залози, що супроводжуються появою фіброзу. Тоді як використання ПГ у молодому віці не бажане.

Ключові слова: переривчасте голодування, підшлункова залоза, вік, гістоморфологія, щури

Цитування: Янко Р.В. Вікові відмінності впливу переривчастого голодування на морфофункціональні показники підшлункової залози щурів. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія «Біологія»*, 2024, 43, с. 136-142. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2024-43-12>

Про автора:

О Р.В. Янко – Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, Київ, Україна, 01024, biolag@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0002-0397-7517>

Подано до редакції: 10.03.2024 / **Прорецензовано:** 06.09.2024 / **Прийнято до друку:** 01.10.2024

Вступ

Загальновідомо, що тривале переривчасте голодування (ПГ) здатне зменшувати масу тіла, подовжувати тривалість життя, знижувати серцево-судинні фактори ризику та запальний стан організму (шляхом регулювання метаболічних сигнальних шляхів), збільшувати чутливість до інсуліну, стимулювати функцію мітохондрій, тощо (Duregon et al., 2021; Song et al., 2023; Brandhorst et al., 2017). При ПГ в організмі активуються різноманітні механізми, які призводять до покращення та оновлення його різних систем (Jaramillo et al., 2023).

Проте, літературних даних щодо впливу ПГ на морфофункціональну активність підшлункової залози (ПЗ) недостатньо, а отримані результати часто неоднозначні (Munhoz et al., 2020; Test et al., 2023). Це може бути пов'язано з різним режимом застосування ПГ, тривалістю проведення дослідів, а також використання тварин різного віку. Адже відомо, що з віком ПЗ (як і більшість органів) по-різному реагує на різні стресогенні фактори. Вікова деструкція ПЗ полягає в розвитку змін судин органу з їх звуженням, склерозі стінок протоків, їх обструкції, проліферації епітелію, заміщення секретуючих клітин сполучною тканиною. Загальна кількість ацинарної тканини ПЗ знижується до 30-40%. Інволюційні зміни призводять до зниження ферментативної активності ПЗ та обсягу панкреатичного соку. Погіршується інтенсивність та якість травлення: відбувається неповне перетравлення білків, жирів, вуглеводів (Löhr et al., 2018). Крім того, з віком спостерігається зменшення кількості та активності β -клітин острівцевого апарату ПЗ та числа рецепторів до інсуліну, що призводить до розвитку інсулінорезистентності з подальшим порушенням обміну речовин (Kehm

et al., 2018). Тому, пошук методів і шляхів, які могли б у разі потреби стимулювати активність (втрачену з віком) ПЗ є актуальним напрямком досліджень.

Більшість робіт присвячена впливу голодування на ендокринну функцію ПЗ (Cheng et al., 2017; Munhoz et al., 2020). Тоді, як змінюється екзокринна активність залози при ПГ та як впливає на отримані результати вік тварин не відомо.

Мета роботи – дослідити і порівняти морфофункціональні зміни у ПЗ щурів 3 і 15 міс віку після впливу 28-ми добового ПГ і оцінити перспективність його використання в якості засобу для корекції виражених вікових знижень функції залози.

Матеріали та методи дослідження

В досліді було використано 40 щурів лінії Вістар віком 3 та 15 міс, отриманих з віварію Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України. Щурів утримували при температурі 21°C і вологості 40-60% з 12-годинним циклом світло/темрява. Тварини знаходилися окремо в клітках із сітчастими перегородками, щоб мінімізувати стрес від соціальної ізоляції. Усі протоколи погоджені Комітетом з біомедичної етики догляду та використання тварин Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під ізофлурановою анестезією відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

Щури були розподілені на 4 групи (по 10 тварин у кожній): I і III – контрольні тварини 3- і 15-міс віку відповідно, II і IV – дослідні щури молодого та дорослого віку, які перебували на ПГ, а саме – 1 доба повне голодування / 2 доби стандартний віварний раціон. Доступ до води був вільний. Тривалість досліді становила 28 діб. Адаптація до нових умов існування, активність метаболічних процесів стабілізується на новому рівні, а отримані результати стають більш вираженими.

Були використані гістологічні, морфометричні, статистичні методи дослідження, а також визначення глюкози в крові. З тіла ПЗ кожного щура брали 5 зразків тканини, з яких виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою: фіксували в рідині Буена, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, заливали в парафін. На санному мікромомі (MC-2) робили парафінкові зрізи, товщина яких становила 5-6 мкм. Забарвлення зрізів здійснювали гематоксиліном Бемера і еозинном, а також по методу Ван-Гізону (Rehfeld et al., 2017). З використанням цифрової камери мікропрепарати фотографували на мікроскопі «Nicon ECLIPSE E100» (Японія). Морфометрію здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Image J» (Yanko., 2023).

На гістологічних зрізах ПЗ проводили гістоморфометричний аналіз. У екзокринній частині залози вимірювали діаметр і площу поперечного перерізу ацинусів, висоту епітелію, площу екзокриноцитів, їх ядер і цитоплазми, підраховували кількість ядерців в ядрах екзокриноцитів і кількість клітин в ацинусі. В ендокринній частині залози рахували кількість островців Лангерганса на одиницю площі (0,25 мм²) і кількість розміщених у них клітин, вимірювали площу і діаметр поперечного перерізу островців, визначали щільність розташування клітин. Методом накладання точкових морфометричних сіток вираховували відносну площу екзо- і ендокринної частини, а також сполучної тканини в залозі (Hossain et al., 2014; Yanko et al., 2020).

За допомогою стандартних наборів реактивів ("Філісит-Діагностика", Україна) на біохімічному аналізаторі ("Sinnova", КНР) в сироватці крові визначали концентрацію глюкози.

Отримані дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення "Statistica 6.0 for Windows" (StatSoft, USA) та "Excel 2010" (Microsoft, USA). Дані представлені як середнє $\pm$ SEM при нормальному розподілі. Достовірність відмінностей між групами оцінювали за t-критерієм Стюдента. Значення $p < 0,05$ вважали вірогідним. Групи також аналізували за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу.

Результати та обговорення

Гістоморфометричні відмінності в ПЗ контрольних щурів різного віку

При порівнянні гісто-морфометричних показників ПЗ контрольних щурів виявлено зниження її активності з віком. Так, у екзокринній частині залози 15-міс щурів спостерігали меншу площу ацинусів на 27% ($p < 0,05$) та площу екзокриноцитів на 13%, ніж у 3-міс тварин (табл. 1; рис). Ендокринна частина ПЗ зазнавала ще більших вікових змін. Так, у дорослих тварин відмічали вірогідно меншу відносну площу ендокринної частини (на 32%), меншу середню кількість островців Лангерганса (на 22%), їх площу (на 31%) та кількість розміщених у них ендокриноцитів (на 18%) порівняно з молодими щурами (табл. 2; рис). Також у ПЗ дорослих щурів спостерігали більшу кількість сполучної тканини, а саме: вірогідно більшу відносну площу стромы на 20% та стромально-паренхіматозний індекс на 28%, більшу ширину прошарків міжчасточкової та міжацинусної сполучної тканини на 21 і 30% відповідно, ніж у молодих тварин (табл.1). Це відповідає загальній закономірності зниження активності ПЗ з віком (Kehm et al., 2018; Löhr et al., 2018).

Таблиця 1. Морфометричні показники екзокринної частини підшлункової залози ($M \pm m$; $n=10$)
Table 1. Morphometric indicators of the exocrine pancreas ($M \pm m$; $n=10$)

Показники \ Indicators	3-міс щури \ 3-month-old rats		15-міс щури \ 15-month-old rats	
	Контроль \ Control	Переривчасте голодування \ Intermittent fasting	Контроль \ Control	Переривчасте голодування \ Intermittent fasting
Відносна площа екзокринної частини, % \ Relative area of the exocrine part, %	76,1 $\pm$ 1,5	78,9 $\pm$ 1,3	73,2 $\pm$ 1,7	75,6 $\pm$ 1,9
Відносна площа строми, % \ Relative area of the connective tissue, %	20,1 $\pm$ 0,9	17,4 $\pm$ 0,3	24,2 $\pm$ 1,5**	19,0 $\pm$ 1,5*
Стромально-паренхіматозний індекс \ Stromal-parenchymal index	0,25 $\pm$ 0,03	0,21 $\pm$ 0,02	0,32 $\pm$ 0,02**	0,23 $\pm$ 0,03*
Ширина прошарків сполучної тканини, мкм \ Width of the connective tissue layers, μ m: міжчасточкова \ interlobular міжацинусна \ interacinus	3,16 $\pm$ 0,11 0,74 $\pm$ 0,02	2,63 $\pm$ 0,15 0,70 $\pm$ 0,03	3,81 $\pm$ 0,12** 0,96 $\pm$ 0,02**	2,76 $\pm$ 0,15* 0,63 $\pm$ 0,02*
Діаметр ацинуса, мкм \ Diameter of the acinus, μ m	30,3 $\pm$ 0,9	29,5 $\pm$ 0,6	27,7 $\pm$ 0,7	28,9 $\pm$ 0,5
Площа поперечного перерізу ацинуса, мкм ² \ Cross-sectional area of the acinus, μ m ²	952 $\pm$ 26	831 $\pm$ 13	692 $\pm$ 16**	784 $\pm$ 19
Площа, мкм ² \ Area, μ m ² : екзокриноцита \ exocrinocyte ядра \ nucleus	139,2 $\pm$ 3,7 19,1 $\pm$ 1,0 120,1 $\pm$ 3,7	111,0 $\pm$ 3,0* 19,5 $\pm$ 0,4 91,5 $\pm$ 2,9*	120,6 $\pm$ 2,5 17,6 $\pm$ 0,1 103,0 $\pm$ 2,6**	121,3 $\pm$ 4,9 19,8 $\pm$ 0,2 101,5 $\pm$ 4,3
цитоплазми \ cytoplasm Ядерно-цитоплазматичне співвідношення \ Nuclear-cytoplasmic ratio	0,160 $\pm$ 0,003	0,211 $\pm$ 0,004*	0,170 $\pm$ 0,006	0,201 $\pm$ 0,006*
Кількість ядерців в екзокриноциті, шт \ Number of nucleoli in an exocrinocyte, pcs	1,57 $\pm$ 0,02	1,77 $\pm$ 0,03	1,48 $\pm$ 0,05	1,91 $\pm$ 0,07*
Висота епітелію ацинуса, мкм \ Height of the epithelium of the acinus, μ m	12,4 $\pm$ 0,1	10,7 $\pm$ 0,1	11,2 $\pm$ 0,2	11,9 $\pm$ 0,4
Кількість екзокриноцитів в ацинусі, шт \ Number of exocrinocytes in the acinus, pcs	8,7 $\pm$ 0,2	7,6 $\pm$ 0,2	7,8 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,2

Примітка: тут і в таблиці 2 * $p < 0,05$ – вірогідність порівняно з контролем; ** $p < 0,05$ – вірогідність порівняно з контролем 3-міс щурів.

Note: here and in Table 2 * $p < 0.05$ – significant compared with the control; ** $p < 0.05$ – significant compared with the control 3-month old rats.

Структурні відмінності в екзокринній частині ПЗ щурів різного віку, які зазнавали впливу ПГ

Паренхіма ПЗ щурів, які знаходилися на ПГ, зберігала фізіологічну структуру. Зовні залоза покрита тонкою сполучнотканинною капсулою. Паренхіма органу розділена на часточки, між якими розташовуються сполучнотканинні перегородки з кровоносними судинами, нервами та вивідними протоками. Екзокринна частина представлена структурно-функціональними одиницями – ацинусами, а також системою протоків. Ацинуси мали переважно округлу форму і складалися з 7-10 екзокриноцитів пірамідальної форми (рис.).

У 15-міс щурів, які перебували на ПГ, площа ацинусів ПЗ була на 13% більшою, ніж у контрольних тварин. Тенденцію до зростання (на 13%) мала також площа ядер екзокриноцитів, що призвело до зростання ядерно-цитоплазматичного співвідношення на 18% ($p < 0,05$). Гіпертрофія ядра і збільшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення свідчить, перш за все, про підвищення функціональної активності клітини (Koda et al., 2006). Кількість ядерців в ядрах екзокриноцитів у цих

дослідних щурів була вірогідно більшою на 29%, ніж у контролі (табл. 1). Оскільки до основних функцій ядерця відносять синтез рРНК, з якої утворюються субодиниці рибосом, вважають, що гіперплазія ядерця вказує на підвищення білоксинтетичної активності екзокриноцитів (Dubois et al., 2016).

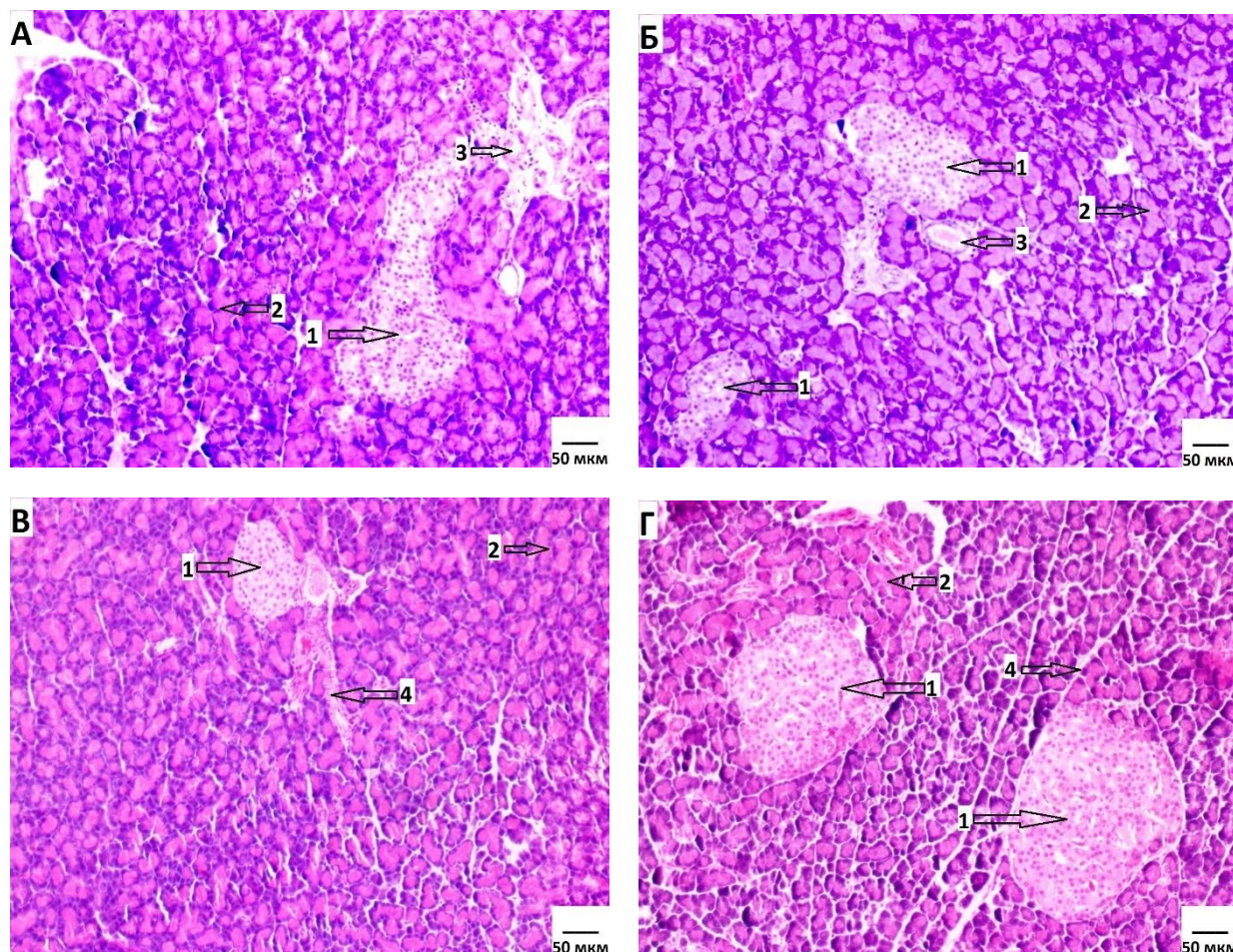


Рисунок. Мікрофотографія підшлункової залози щура контрольної групи (А – 3-міс, В – 15-міс) і після впливу переривчастого голодування (Б – 3-міс, Г – 15-міс).

Примітка: 1 – острівцеві Лангерганса; 2 – ацинус; 3 – вивідний проток; 4 – міжчасточкова сполучна тканина. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Figure. Photomicrograph of the rat's pancreas of the control group (A – 3 months old, B – 15 months old) and after exposure to intermittent fasting (Б – 3 months old, Г – 15 months old).

Note: 1 – Langerhans islet; 2 – acinus; 3 – pancreatic duct; 4 – interlobular connective tissue. Hematoxylin-eosin staining. $\times 200$.

У екзокринній частині ПЗ 3-міс щурів, які зазнавали впливу ПГ, спостерігали гістоморфометричні ознаки зниження її активності. Так, про це свідчило менша площа ацинусів (на 13%), площа екзокриноцитів (на 20%; $p < 0,05$) та їх цитоплазми (на 24%; $p < 0,05$), менша висота епітелію ацинусів (на 14%) та кількість екзокриноцитів у них (на 13%) порівняно з контролем. Проте, кількість ядерця у цих тварин була більшою на 13% (табл. 1). Таким чином, характер і ступінь вираженості змін досліджених морфометричних показників ПЗ, після впливу ПГ, може свідчити про зростання активності її екзокринної частини у 15-міс тварин, і зниження – у 3-міс щурів.

Результати наших досліджень показали зниження кількості сполучної тканини як у 3-міс, так і в 15-міс (в більшій мірі) щурів, які перебували на ПГ. Так, у тканині ПЗ дослідних дорослих щурів площа строми і стромально-паренхіматозний індекс були достовірно меншими, ніж у контрольних, відповідно на 21 і 28%. Ширина прошарків міжчасточкової і міжацинусної сполучної тканини у цих тварин була достовірно меншою відповідно на 28 і 34%. У 3-міс дослідних тварин також відмічали зниження відносної площі строми (на 13%), стромально-паренхіматозного індексу (на 16%) та

ширини прошарків міжчасточкової сполучної тканини (на 17%) порівняно з контролем (табл. 1). Зменшення кількості сполучнотканинних елементів у тканині ПЗ можна розглядати як одну з ознак активації її функції і підвищення регенераторних можливостей, а також як один з важливих факторів, що сприяє поліпшенню обміну речовин між ацинусами.

Таблиця 2. Морфометричні показники ендокринної частини підшлункової залози ($M \pm m$; $n=10$)
Table 2. Morphometric indicators of the endocrine pancreas ($M \pm m$; $n=10$)

Показники \ Indicators	3-міс щури \ 3-month-old rats		15-міс щури \ 15-month-old rats	
	Контроль \ Control	Переривчасте голодування \ Intermittent fasting	Контроль \ Control	Переривчасте голодування \ Intermittent fasting
Відносна площа, % \ Relative area, %	3,8 $\pm$ 0,7	3,7 $\pm$ 0,4	2,6 $\pm$ 0,5**	5,4 $\pm$ 0,7*
Кількість островців (на 0,25 мм ²), шт \ Number of islets (by 0.25 mm ²), pcs	1,15 $\pm$ 0,11	1,26 $\pm$ 0,13	0,90 $\pm$ 0,05**	1,3 $\pm$ 0,1*
Площа поперечного перерізу островка, мкм ² \ Cross-sectional area of the islet, μ m ²	13816 $\pm$ 121	9027 $\pm$ 132*	9538 $\pm$ 92**	12543 $\pm$ 103*
Діаметр островка, мкм \ Islet diameter, μ m	114,1 $\pm$ 3,1	87,6 $\pm$ 2,7*	93,8 $\pm$ 4,9**	111 $\pm$ 7*
Кількість ендокриноцитів в островці, шт \ Number of endocrinocytes in the islet, pcs	145,9 $\pm$ 4,3	113,8 $\pm$ 19,3*	119,8 $\pm$ 10,8**	144,2 $\pm$ 7,6*
Щільність розміщення ендокриноцитів в островці, шт/1000 мкм ² \ Density of placement of endocrinocytes in the islet, units/1000 μ m ²	11,0 $\pm$ 0,7	13,1 $\pm$ 0,5*	13,0 $\pm$ 0,1**	11,1 $\pm$ 0,3*

Морфофункціональні відмінності в ендокринній частині ПЗ щурів різного віку після впливу ПГ

Ендокринна частина представлена островцями Лангерганса, що лежать між ацинусами. Форма островців округла або овальна, але також вони зустрічалися стрічкоподібною та зірчастою форми (рис.).

Виявлено вікові відмінності у гістоморфометричних показниках активності ендокринної частини ПЗ щурів, які знаходилися на ПГ. У 15-міс дослідних тварин спостерігали суттєве зростання активності ендокринної функції залози. Про це свідчило вірогідне зростання відносної площі ендокринної частини (на 108%), середньої кількості островців Лангерганса (на 44%), більша площа поперечного перерізу островців (на 32%) і їх діаметр (на 18%) та більша кількість розміщених у них ендокриноцитів (на 20%) порівняно з контролем. У 3-міс дослідних щурів, навпаки, спостерігали ознаки зниження активності ендокринної функції залози. Про це свідчили вірогідно менші розміри островців (площа – на 35%, діаметр – на 23%) і кількість розміщених у них клітин (на 22%), ніж у контролі (табл. 2; рис.).

Про зростання функціональної активності ендокринної частини ПЗ дорослих дослідних щурів вказує вірогідне зниження концентрації глюкози в сироватці крові на 20% порівняно з вихідним рівнем. У 3-міс щурів концентрація глюкози, навпаки, була більшою на 10%. Такий характер змін морфофункціональних показників може свідчити про активацію ендокринної частини ПЗ у дорослих тварин, і зниження її активності у молодих щурів після перебування їх на ПГ.

Порівняння результатів з літературними даними

З літератури відомо, що обмежене харчування викликає фізіологічні зміни ендокринної частини ПЗ, а саме – зміни в секреції інсуліну, метаболізмі островців Лангерганса та редокс-стані β -клітин (Bonassa et al., 2018). В дослідях на мишах з цукровим діабетом, які перебували на аліментарній депривації, виявлено зниження симптомів даної патології, активувалася проліферація β -клітин, відновлювалася секреція інсуліну і гомеостаз глюкози (Cheng et al., 2017). В іншій роботі виявлено, що щури, які отримували раціон знижений по калорійності на 30%, мали більшу активність β -клітин, про що свідчить рання секреція інсуліну при внутрішньочеревному тесті толерантності до глюкози. При цьому зростали розміри β -клітин і їх кількість у островцях Лангерганса (He et al., 2012). Досліджено, що обмеження харчування запобігає розвитку новоутворень в залозі (Lanza-Jacoby et al., 2013). Також виявлено, що ПГ має значно більший протипухлинний ефект у ПЗ, ніж постійна дія

голодування (Chen et al., 2016). Показано, що обмеження харчування на 40% впливає на β -клітинну дисфункцію і резистентність до інсуліну, відновлює гомеостаз глюкози, активує аутофагію β -клітин у мишей (Gao et al., 2015). Досліджено, що ПГ підвищує виживання β -клітин і стимулює маркери регенерації при діабеті, викликаному ожирінням (Liu et al., 2017). Також виявлено і негативний ефект від ПГ. Так, ПГ в режимі 1 день повне голодування / 1 день звичайний раціон, протягом 12 тижнів, зменшує масу ПЗ, збільшує продукцію активних форм кисню, активує апоптоз в острівцях Лангерганса та сприяє дисфункції β -клітин (Munhoz et al., 2020). Проте механізм, за допомогою якого ПГ впливає на функцію β -клітин, досі залишається нез'ясованим. Тому, доцільність проведення подальших досліджень в даному напрямку є актуальною.

Таким чином, аналіз літератури ще раз підтверджує про неоднозначність даних стосовно морфофункціонального стану ендокринної частини ПЗ тварин, які отримували обмежене харчування. Це може бути пов'язано з різним типом голодування, тривалості проведення експериментів, віку та статі тварин тощо. Все це обумовлює продовження досліджень у даному напрямку та розкриття механізмів впливу голодування на активність ПЗ.

Висновки

Таким чином вплив ПГ протягом 28-ми діб призводив до появи виражених морфофункціональних ознак підвищення активності ПЗ у дорослих щурів. У молодих тварин, навпаки, ПГ знижувало активність як екзо-, так і ендокринної (більшою мірою) частини залози. Вплив ПГ знижував кількість сполучної тканини в ПЗ щурів, незалежно від їх віку. Отримані дані потенційно можуть бути використані для корекції виражених вікових знижень функції ПЗ у дорослих і осіб похилого віку, а також при профілактиці вікових хронічних захворювань залози, що супроводжуються появою фіброзу. В той же час використання ПГ у молодому віці не бажане

Список використаних джерел / References

- Bonassa A.M., Carpinelli A.R. (2018). Intermittent fasting for three months decreases pancreatic islet mass and increases insulin resistance in Wistar rats. *Endocrine Abstracts*, 56, 519. <https://doi.org/10.1530/endoabs.56.P519>
- Brandhorst S., Harputlugil E., Mitchell J.R., Longo V.D. (2017). Protective effects of short-term dietary restriction in surgical stress and chemotherapy. *Ageing Res Rev*, 39, 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.02.001>
- Chen Y., Ling L., Su G. et al. (2016). Effect of intermittent versus chronic calorie restriction on tumor incidence: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *Scientific Reports*, 6, 33739. <https://doi.org/10.1038/srep33739>
- Cheng C.W., Villani V., Buono R. et al. (2017). Fasting-Mimicking diet promotes Ngn3-Driven b-cell regeneration to reverse diabetes. *Cell*, 168(5), 775–788. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.040>
- Dubois M.L., Boisvert F.M. (2016). The Nucleolus: Structure and function. *The Functional Nucleus*, 23, 29–49. https://doi.org/10.1007/978-3-319-38882-3_2
- Duregon E., Pomatto-Watson L.C.D., Bernier M., et al. (2021). Intermittent fasting: from calories to time restriction. *Geroscience*, 43(3), 1083–1092. <https://doi.org/10.1007/s11357-021-00335-z>
- Gao X., Yan D., Zhao Y. et al. (2015). Moderate calorie restriction to achieve normal weight reverses β -cell dysfunction in diet-induced obese mice: involvement of autophagy. *Nutrition Metabolism*, 12, 34. <https://doi.org/10.1186/s12986-015-0028-z>
- He X.Y., Zhao X.L., Gu Q. et al. (2012). Calorie restriction from a young age preserves the functions of pancreatic β cells in aging rats. *Tohoku J Exp Med*, 227(4), 245–252.
- Hossain M.A., Mostofa M., Awal M.A. et al. (2014). Histomorphological and morphometric studies of the pancreatic islet cells of diabetic rats treated with aqueous extracts of *Momordica charantia* (karela) fruits. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2), S698–S704. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60710-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60710-6)
- Jaramillo A.P., Castells J., Ibrahimli S., et al. (2023). Time-restricted feeding and intermittent fasting as preventive therapeutics: A systematic review of the literature. *Cureus*, 15(7), e42300. <https://doi.org/10.7759/cureus.42300>
- Kehm R., König J., Nowotny K., et al. (2018). Age-related oxidative changes in pancreatic islets are predominantly located in the vascular system. *Redox Biol*, 15, 387–393. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.12.015>
- Koda M., Takemura G., Okada H., et al. (2006). Nuclear hypertrophy reflects increased biosynthetic activities in myocytes of human hypertrophic hearts. *Circ J*, 70(6), 710–718. <https://doi.org/10.1253/circj.70.710>
- Lanza-Jacoby S., Yan G., Radice G. et al. (2013). Calorie restriction delays the progression of lesions to pancreatic cancer in the LSL-KrasG12D; Pdx-1/Cre mouse model of pancreatic cancer. *Exp Biol Med* (Maywood), 238(7), 787–797. <https://doi.org/10.1177/1535370213493727>

- Liu H., Javaheri A., Godar R.J., et al. (2017). Intermittent fasting preserves beta-cell mass in obesity-induced diabetes via the autophagy-lysosome pathway. *Autophagy*, 13(11), 1952–1968. <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1368596>
- Löhr J.M., Panic N., Vujasinovic M., Verbeke C.S. (2018). The ageing pancreas: a systematic review of the evidence and analysis of the consequences. *J Intern Med*, 283(5), 446–460. <https://doi.org/10.1111/joim.12745>
- Munhoz A.C., Vilas-Boas E.A., Panveloski-Costa A. C. et al. (2020). Intermittent fasting for twelve weeks leads to increases in fat mass and hyperinsulinemia in young female Wistar rats. *Nutrients*, 129(4), 1029. <https://doi.org/10.3390/nu12041029>
- Rehfeld A., Nylander M., Karnov K. (2017). Histological Methods. In: *Compendium of Histology*. Springer, Cham. 11–24. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41873-5_2
- Song D.K., Kim Y.W. (2023). Beneficial effects of intermittent fasting: a narrative review. *J Yeungnam Med Sci*, 40(1), 4–11. <https://doi.org/10.12701/jyms.2022.00010>
- Test B., Shubrook J.H. (2023). Prevention of type 2 diabetes: The role of intermittent fasting. *Diabetology*, 4(4), 507–518. <https://doi.org/10.3390/diabetology4040044>
- Yanko R. (2023). Age-related differences in the effect of L-methionine on histo-morphometric indicators of pancreas activity in rats. *Acta Scientific Gastrointestinal Disorders*, 6(12), 02–08.
- Yanko R., Levashov M., Chaka E., Safonov S. (2020). Histomorphological changes in the rat pancreas after methionine administration. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 35, 117–123. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2020-35-13> (in Ukrainian)

Age-related differences in the effect of intermittent fasting on the morphofunctional parameters of the rat's pancreas

R.V. Yanko

The effectiveness of using intermittent fasting (IF) to activate pancreas function is not clear. One of the reasons for this may be differences in the use of IF mode, the duration of the experiment, as well as the involvement of animals of different ages in the experiment. Also, the question of how pronounced is the effect of the use of IF to increase the functional activity of the pancreas in the elderly remains open. The aim of the work was to investigate and compare the morphofunctional changes in the pancreas of rats of different ages after exposure to IF and to evaluate the prospects of its use as a means to correct pronounced age-related decreases in gland function. Experiments were performed on 40 male rats aged 3 and 15 months. Experimental animals were exposed to IF, namely, 1 day – complete fasting / 2 days – standard diet. Access to water was free. The duration of the experiment was 28 days. Histological preparations were made from pancreas tissue according to the standard method. Histomorphometry was carried out using the computer program "Image J". Research was conducted in accordance with the provisions of the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986). It was found that exposure to IF for 28 days led to the appearance of clearly expressed morphofunctional signs of increased activity of the pancreas in adult rats. The endocrine function of the gland increased in particular, as evidenced by a probable increase in the relative area of the endocrine part (by 108%), the average number of Langerhans islets (by 44%), the size of the islets, the number of endocrinocytes located in them (by 20%), and a decrease in the concentration of glucose in the blood. In young animals, on the contrary, IF reduced the activity of both exo- and endocrine (to a greater extent) part of the gland. The effect of IF reduced the amount of connective tissue in the pancreas of rats of different ages. The obtained data can be used to improve the function of the pancreas in adults and the elderly, as well as in the prevention of age-related chronic diseases of the gland accompanied by the appearance of fibrosis. At the same time, the use of IF at a young age is not desirable.

Key words: *intermittent fasting, pancreas, age, histomorphology, rats*

Cite this article: Yanko R.V. (2024). Age-related differences in the effect of intermittent fasting on the morphofunctional parameters of the rat's pancreas. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series Biology*, 43, p. 136-142. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2024-43-12> (in Ukrainian)

About the author:

R.V. Yanko – Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Bogomoletz Str., 4, Kyiv, Ukraine, 01024, biolag@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-0397-7517>

Received: 10.03.2024 / Revised: 06.09.2024 / Accepted: 01.10.2024