

типні, гіперхромні, мітози в невеликій кількості. Відносною ознакою злоякісності є наявність 12 ± 3 кальцинатів на 1 см^2 тканини молочної залози. При карциномі *in situ* мікрокальцинати, як правило, мали різну щільність, розміри і форму. Вони або тісно згруповані, або розсіяні по паренхімі органа. Однак слід підкреслити, що вогнища мікрокальцифікації при DCIS в більшості випадків не відображають істинне поширення пухлини і ступінь її злоякісності.

Існує велике число імуноморфологічних маркерів прогнозу раку молочної залози, однак, на думку провідних спеціалістів, необхідна подальша робота зі стандартизації всіх етапів досліджень і розробка кількісних оцінок тих чи інших реакцій. У пацієнток з інвазивними карциномами молочної залози, за даними проведеного дослідження, експресія HER-2/NEU, ER, PR, PCNA значно вища, ніж у пацієнток з протоковим раком *in situ*, звичайною епітеліальною та атиповою протоковою гіперплазією. Експресія HER-2/NEU не пов'язана з гістологічним типом, розміром пухлини і лімфосудинною інвазією. У складі клітинних інфільтратів протокового раку *in situ* та інвазивних карцином молочної залози імуногістохімічно була виражена імунореактивність до CD45R0 (Т-лімфоцити), CD45RA, CD20 (В-лімфоцити) та CD68 (макрофаги); при інвазивних карциномах молочної залози домінуючим пулом є клітини з CD45R0+. Серед імуногістохімічних маркерів, що відображають функціональний стан пухлинних клітин і дозволяють оцінити перебіг, результат захворювання і ймовірну відповідь на лікувальні впливи, на першому місці стоять маркери ампліфікації онкогенів, насамперед – це онкоген HER-2/NEU і маркер мутації генів-супресорів (p53). Кі67 – маркер проліферативної активності, корелював з виразністю ангиогенезу. Оптимальним маркером проліферативної активності є реакції на антиген Кі67, який відображає величину проліферативного пулу. У всіх вивчених випадках позитивна реакція чітко корелювала зі ступенем катаплазії пухлини і обернено пропорційно з рецепторами естрогену і прогестерону. Мала місце також позитивна кореляція рецепторного статусу пухлини: так, наприклад, при позитивності до рецепторів естрогену (ER+) пухлинах діагностовані високодиференційовані форми раку молочної залози, навпаки, низькодиференційований рак, як правило, характеризувався відсутністю рецепторів.

ВИСНОВКИ 1. Мікрокальцинати при карциномі *in situ* (DCIS) є відносною ознакою злоякісності при щільності їх

розподілу, який дорівнює 12 ± 3 кальцинатів на 1 см^2 тканини молочної залози і не відображають істинне поширення пухлини і ступінь її злоякісності. 2. Оптимальним маркером проліферативної активності при карциномі *in situ* є реакції на антиген Кі67, який відображає величину проліферативного пулу, а також маркери ампліфікації онкогенів (онкоген HER-2/NEU) і маркер мутації генів-супресорів (p53). 3. При карциномі *in situ* має місце позитивна кореляція між рецепторним статусом пухлини: при позитивних до рецепторів естрогену (ER+) пухлинах частіше діагностовані високодиференційовані форми раку молочної залози, а низькодиференційований рак характеризувався відсутністю рецепторів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бондар Г.В., Сєдаков І.Є., Шлопов В.Г. Первинно-неоперабельний рак молочної залози. – Донецьк: "Каштан", 2005. – 346 с.
2. Adepoju L.J., Symmans W.F., Babiera G.V. et al. Impact of concurrent proliferative high-risk lesions on the risk of ipsilateral breast carcinoma recurrence and contralateral breast carcinoma development in patients with ductal carcinoma *in situ* treated with breast-conserving therapy // *Cancer*. – 2006. – Vol.106, № 1. – P. 42-50.
3. Auvinen P., Tammi R., Tammi M. et al. Expression of CD 44 s, CD 44 v 3 and CD 44 v 6 in benign and malignant breast lesions: correlation and colocalization with hyaluronan // *Histopathology*. – 2005. – Vol.47, № 4. – P. 420-428.
4. Davis W.G., Hennessy B., Babiera G. et al. Metaplastic Sarcomatoid Carcinoma of the Breast With Absent or Minimal Overt Invasive Carcinomatous Component: A Misnomer // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2005. – Vol. 29, № 11. – P. 1456-1463.
5. Garcia-Caballero T., Menendez M.D., Vazquez-Boquete A. et al. HER-2 status determination in breast carcinomas. A practical approach // *Histol. Histopathol.* – 2006. – Vol. 21, N3. – P.227-236.
6. Prati R., Apple S.K., He J. et al. Histopathologic characteristics predicting HER-2/neu amplification in breast cancer // *Breast J.* – 2005. – Vol. 11, № 6. – P. 433-439.
7. Shiraishi A., Kurosaki Y., Maehara T. et al. Extension of ductal carcinoma *in situ*: histopathological association with MR imaging and mammography // *Magn. Reson. Med. Sci.* – 2003. – Vol. 2, №4. – P. 159-163.
8. Tse G.M., Tan P.N., Ma T.K. et al. CD44s is useful in the differentiation of benign and malignant papillary lesions of the breast // *J. Clin. Pathol.* – 2005. – Vol. 58, № 11. – P. 1185-1188.
9. Van de Vijver M.J. Biological variables and prognosis of DCIS // *Breast*. – 2005. – Vol.14, № 6. – P. 509-519.
10. Vogl G., Dietze O., Hauser-Kronberger C. Angiogenic potential of ductal carcinoma *in situ* (DCIS) of human breast // *Histopathology*. – 2005. – Vol. 47, №6. – P. 617-624.

Заячківська О.С., Гаврилюк О.М., Нектегаєв І.О., Терлецька О.І., Ковальчук С.М., Паніна Л.В., Гжегоцький М.Р.

ФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ ЯК ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ЗА УМОВ СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ

Львівський національний медичний університет

ФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ ЯК ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ЗА УМОВ СТЕРС-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ – Показані експериментальні дослідження про вплив мелатоніну на стрес-індуковані ушкодження печінки у щурів залежно від індивідуальних патологічних особливостей поведінки, попередньо тестованих в тесті "відкрите поле", як високостресрезистентні (ВСП) і низькостресрезистентні (НСР) групи; використані гістологічні і біохімічні параметри оксидативного стресу і при введенні мелатоніну. Результати досліджень свідчать, що мелатонін здійснює гепатопротекцію через апоптотичні і NO_2 медіюваний мембраностабілізуючий вплив.

ФІЗІОЛОГІЧЕСКІЕ МЕХАНІЗМЫ ВЛИЯНИЯ МЕЛАТОНИНА КАК ГЕПАТОПРОТЕКТОРА В УСЛОВИЯХ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ – Представлены экспериментальные исследования о влиянии мелатонина на стресс-индуцированное повреждение печени у крыс в зависимости от индивидуальных-типологических особенностей поведе-

ния, предварительно тестированных в тесте „открытое поле“, как высокостресрезистентные (ВСП) и низкостресрезистентные (НСР) группы; использованы гистологические и биохимические параметры оксидативного стресса без и при введении мелатонина. Результаты исследований свидетельствуют, что мелатонин оказывает гепатопротекцию через проапоптотическое и NO_2 медируемое мембраностабилизирующее влияние.

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF MELATONIN EFFECT AS HEPATOPROTECTOR IN CONDITIONS OF STRESS-INDUCED INJURY – The aims of the present study were to evaluate the effect of melatonin on the stress-induced liver injury, and to indicate profound differences in the susceptibility for stress to the development of injury via individuals' genotypes. Rats were tested by "open field test" for high (HRG) and low resistant groups (LRG); histological method for rat liver biopants and biochemical parameters of oxidative stress were used under stress without and with melatonin pretreatment. Our results suggest that

melatonin promoted protection against stress-induced liver injury may be mediated by upregulation of apoptosis and cytoprotection via increased activity of protective antioxidative enzymatic systems.

Ключові слова: стрес, цитопротекція, NO_2 , ліпопероксидація, антиокислювальна система.

Ключевые слова: стресс, цитопротекция, NO_2 , липопероксидация, антиокислительная система.

Key word: stress, cytoprotection, NO_2 , lipoperoxidation, antioxidative enzymatic system.

ВСТУП Упродовж останніх років в Україні стійко утримується висока захворюваність на гастроентерологічну патологію, яка, не зважаючи на високі стандарти лікування, набуває ознак хронічного перебігу. Еволюція медичних знань засвідчила появу захворювань, які пов'язані з молекулярними і функціональними порушеннями, більшість з яких спричинена екзогенними факторами, що залучують *over-* чи *under-*експресію нормальних генів або мутаціями, які генерують аномальні генні продукти. Це сприяє появі уражень всередині клітин та клітинних мембран, модифікуванню мікросередовища, що включає клітини стромы, судин та крові, створення важливого підґрунтя для особливостей перебігу, розвитку та появи хвороби. Головним механізмом, що визначає цитопротекторні властивості організму є функціонування природної стрес-лімітуючої системи, що характеризується багатокомпонентністю і є основою онтогенетичного функціонального резерву організму. Невпинне збільшення випадків ураження печінки внаслідок дії екстремальних факторів, поява неалкогольної жирової хвороби печінки (стеатоз, стеатогепатит, фіброз і цироз) робить актуальним дослідження функціонування гепатоцитів за різних умов. Відомо, що гострий стрес різної природи характеризується надмірним вільнорадикальним окисненням, за рахунок утворення активних форм кисню (АФК), що стають сигнальними індукторами молекулам захисних систем організму [2, 13]. Важливим питанням в галузі фізіології є дослідження активаторів локальної стрес-лімітуючої системи (ЛСЛС) з метою розширення діапазону засобів для профілактичної та терапевтичної модуляції [14, 39, 40]. Особлива роль належить системі антиоксидантного захисту (АОЗ) та ендотеліозалежній активності, яка визначає виділення й утилізацію оксиду азоту – важливого універсального ендогенного регулятора кровотоку, клітинного дихання та енергогенезу, апоптозу, що є альтернативою від деструктивних змін некрозу.

Нині велика увага приділяється природному біорегулятору мелатоніну, що синтезується окрім епіфізу, також клітинами шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [18, 29], слизових залоз, сітківки [27] та циліарного тіла, нирки [34], дихальних шляхів, лейкоцитами [26] та тромбоцитами [30]. Плейотропна дія мелатоніну реалізується через мембранні (MT1 та MT2) та нуклеарні рецептори, внутрішньоклітинні сайти чи хімічну взаємодію. Відомий фізіологічний вплив мелатоніну на регулювання циклу сон/будьористість та інших циркадних [1, 3] та сезонних ритмів [5], терморегуляцію та репродуктивні функції людини [36]. Новітні дані свідчать про антиоксидантну [20, 21, 23], антигіпоксичну [19, 20, 31], проапоптичну [41], онкостатичну [31], геропротекторну [5], ліполітичну [15, 16] та імуномодельючу [35] дії мелатоніну [26], що робить його потенційним активатором локальної стрес-лімітуючої системи.

Підтверджено даними імунохімічних досліджень, що мелатонін знаходиться в ентерохроматофільних (ЕС) клітинах слизової оболонки ШКТ [28] у значно більшій кількості, ніж концентрація цього індолу в циркулюючій крові [24]. Велика кількість мелатоніну виявлена в жовчі [29]. Проте не дивлячись на відому цитопротекторну роль мелатоніну в стрес-індукованих ураженнях ШКТ [17, 37], його гепатопротекторна дія *in vivo* остаточно не з'ясована.

Метою нашої роботи було дослідження морфофункціонального стану печінки за умов експериментального стресу у відповідь на дію мелатоніну з урахуванням ключового аспекту - схильності та опірності до цього процесу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Досліди проведені на білих лабораторних дорослих щурах – самцях масою 180-220 г згідно з міжнародними вимогами щодо гуманного відношення до тварин у стандартних умовах віварію. Вони одержували збалансований раціон і воду за потребою, перед відтворенням гострого стресу застосовували харчову депривацію, не обмежуючи тварин водою. Для оцінки індивідуальної спадкової стресрезистентності тварин попередньо типували за поведінковими реакціями в тесті „відкрите поле” протягом 10 хв за орієнтувально-дослідницьким суматційно-пороговим показником, що включав обрахування рухової активності (спонтанну та орієнтувальну), ґрумінг (число умивань різного типу) „норковий рефлекс”, число актів уречності та дефекації (болюсів). Протестовані тварини були розділені на високорезистентні (ВСР) на низькорезистентні (НСР), з яких було виділені інтактні та сформовані 6 експериментальних груп по 8-10 щурів в кожній [8, 11]. Для моделювання стресу використовували стандартну методику – 3,5 годинний водно-імобілізацій стрес за Takagi et al. [38]. ВСР щури склали I-III групи, а НСР тварини – IV – V групи. Тваринам I та IV групи моделювали стрес, тваринам II і V груп вводили 1мл фізіологічного розчину per os, а III та VI групи – вводили мелатонін (віта-мелатонін, ЗАТ “Київський вітамінний завод” Україна) per os в дозі 20,0 мг/добу.

Для верифікації ступеня структурних уражень печінки застосовували гістологічні дослідження печінки, матеріал фіксували у 10% розчині формаліну. Для візуалізації клітинних та тканинних компонентів печінки проводили виготовлення серійних гістологічних зрізів товщиною 5 мкм з наступним фарбуванням гематоксиліном та еозином. Дослідження проводились за допомогою мікроскопа Olympus BX 41 при збільшенні x200 та x400.

У крові тварин контрольної та дослідних груп визначали вміст метаболіту оксиду азоту нітриту визначали за ідентифікацією нітрит-іона за специфічною кольоровою реакцією Грісса [22], кількість продуктів ліпопероксидації (малонового діальдегіду, МДА) [4], активність основних ензимів АОЗ – супероксиддисмутази (СОД) [7], каталази (КАТ) [6]. Для розрахунку відповідності мобілізації антиоксидантних систем ступеню активації реакцій ліпопероксидації розраховували коефіцієнт контролю пероксидації, $K = \text{СОД}/\text{МДА}$; $K = \text{СОД} \cdot \text{КАТ}/\text{МДА}$, які мають універсальний характер і є високоінформативними [10]. Всі вищеперелічені параметри визначали спектрофотометрично на мікроаналізаторі PV 125 1C SOLAR.

Результати досліджень опрацьовували за допомогою програмного забезпечення STATISTICA for Windows 5.0 за допомогою процедури множинного порівняння – апостеріорні порівняння середніх з використанням критерію Newman-Keuls. Значення $p < 0,05$ вважали достовірними.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Показано, що дослідження поведінки щурів після тесту „відкрите поле”, розташування у незнайомому відкритому просторі, втеча з якого неможлива, викликає збільшення латентного періоду і часу перебування в центрі поля, змінює горизонтальну активність, збільшує вертикальну активність і посилює вегетативні реакції. Тварини, в яких СПП складав 0-15 балів відносили до ВСР, а 15-30 – до НСР груп. Оцінка ефективності стреспротекторної дії виконується на основі кластерного аналізу (кількісної оцінки різниці об'єктів дослідження з урахуванням багатьох параметрів). Тому попереднє типування тварин дозволяє одержати більш стабільні показники по окремих експериментальних групах і водночас уможливило виявлення співвідношення ефектів стресу на активацію обмежуючих систем та засобів корекції стосовно до спадкових особливостей тварин. Донедавна було відомо, що активність ЛСЛС у протидії АФК багатофункціональна, залучення вільнорадикальних пероксидних перетворень підтверджує участь АОЗ та системи оксиду азоту. Згідно з отриманими результатами [табл. 1], для тварин різних експериментальних груп характерні істотні зміни вмісту нітрит-іону у крові. Незаперечним є незначне збільшення вмісту NO_2^- у ВСР щурів порівняно до НСР у інтакт-

тних групах (Рис.1). Судячи з наростання концентрації NO_2^- , стрес-відповідь спричинила мобілізацію системи оксиду азоту у тварин II та V груп, що є наслідком нормального фізіологічного процесу, причому суттєвої відмінності між ВСР та НСР тваринами не відмічено. Вплив мелатоніну збільшив вміст NO_2^- , особливо, у тварин III та, в меншій мірі, у VI групі, що можна пояснити дисфункцією вазодилаторних ендотелій-залежних факторів регуляції судинного тону у НСР щурів. Концентрація МДА у інтактних ВСР та НСР щурів була дуже низькою (Рис.2). Виявлено, що після дії 3,5 годинного стресу у ВСР (II група) тварин спостерігалось значне збільшення вмісту МДА в 2,48 раза, а для НСР (V група) в 1,7 разів порівняно з інтактними групами тварин. Отримані результати можна пояснити особливостями дії екстремальних чинників та активацією оксигеназних реакцій за рахунок зниження потужності аеробних енергопродуруючих систем і формуванням неспецифічної опірності до стресу (39). Введення мелатоніну спричинувало зменшення МДА до $66,50 \pm 1,61$ мкмоль/мл у тварин III групи і до $83,19 \pm 1,49$ мкмоль/мл у VI групі. Однак, середні значення у цих групах достовірно різняться між собою, відповідно становлячи 79,93% для НСР тварин проти показників ВСР групи, що можна узагальнити як специфічне метаболічне підтвердження зниження резистентності попередньо визначених поведінкових реакцій тварин. Як показано на Рис.3, вміст СОД для щурів I групи складав $269,83 \pm 1,58$ од.акт./мл×хв, що було відмінним від тварин IV групи. Після моделювання стресу характерним було зменшення активності антиоксидантних ензимів. Зареєстровано збільшення вмісту СОД в крові у щурів II групи на 131%, тоді як для IV групи лише на 89%, після введення мелатоніну порівняно з аналогічними параметрами у інтактних тварин. Післястресова каталазна активність у крові для ВРТ тварин після введення мелатоніну перевищувала контрольні значення II групи у 1,87 раза, сягаючи найвищих значень, що свідчить про активну мобілізацію антиоксидантних реакцій, тоді як для тварин VI групи у 1,25 разів порівняно

із значеннями IV групи (Рис.4). Для об'єктивної оцінки отриманих результатів у системі про- та антиоксидантних перетворень, а, отже, оцінки впливу АФК використані коефіцієнти, за якими оцінюється мобілізація антиоксидантних систем стосовно ступеня активації реакцій ліпопероксидації (Табл.1).

При дослідженні тканини печінки були виявлені значні альтеративні зміни та гемодинамічні розлади у тварин II і V груп (Рис.5), яким індукували стрес порівняно із інтактними ВСР (I група) та НСР (IV група) тваринами (Рис.6). Ураження паренхіми включали дистрофічні зміни та загибель гепатоцитів шляхом некрозу та апоптозу. Практично у всіх випадках виявлялись ознаки нерівномірно вираженої великовакуольної жирової дистрофії, що спричинені молекулярними медіаторами ураженням печінки (23). Причому у тварин V групи визначались ділянки некрозу – множинні дрібні вогнища, що включали 3-5 уражених гепатоцитів та більш за розміром ділянки, які захоплювали значні зони дисконкомплексації балок. Некротизовані гепатоцити виявляли посилену еозинофілію та гомогенізацію цитоплазми, але найбільш вираженими були зміни ядер – каріопікноз, каріорексис та каріолізис. Клітинна реакція навколо зон некрозу була виражена мінімально і проявлялась наявністю поодиноких лейкоцитів у прилягаючих синусоїдах. Виявлялись також окремі гепатоцити з початковими ознаками апоптозу. Зауважено, що ступінь стрес-індукованого пошкодження гепатоцитів є більшим у групі НСР тварин.

У разі використання мелатоніну (III та VI групи) комплексна будова часточок була збережена, але частина гепатоцитів характеризувалась досить однотипними ядерними змінами – виражена периферійна конденсація хроматину з просвітленням центральної зони. Цитоплазма в таких клітинах була еозинофільна та дещо зморщена. Місцями спостерігались дрібні еозинофільні округлі апоптозні тільця, розташовані у просторах Діссе. Фокуси некрозу у цих випадках

Таблиця 1. Зміни вмісту нітрит-іона (NO_2^-) та показників інтенсивності процесів ПОЛ і системи АОЗ у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (Mean \pm Std.Dev, n=8-10).

	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
NO_2^- , мкМ	$7,59 \pm 0,16^{**\alpha\beta}$	$9,25 \pm 0,37^{**}$	$9,71 \pm 0,15^{**\alpha\beta}$	$6,91 \pm 0,11^{**\alpha\beta}$	$9,13 \pm 0,18^{**}$	$8,98 \pm 0,10^{**}$
МДА, мкмоль/мл	$56,74 \pm 7,08^{**\alpha\beta}$	$141,43 \pm 10,79^{**\alpha\beta}$	$66,50 \pm 1,61^{**\alpha\beta}$	$55,63 \pm 2,36^{**\alpha\beta}$	$99,58 \pm 0,99^{**\alpha\beta}$	$83,19 \pm 1,49^{**\alpha}$
СОД, од.акт./мл×хв	$269,83 \pm 1,58^{**\alpha}$	$400,68 \pm 29,29^{**\alpha\beta}$	$194,69 \pm 4,60^{**\alpha\beta}$	$244,76 \pm 2,66^{**\alpha\beta}$	$333,27 \pm 6,22^{**\alpha\beta}$	$279,07 \pm 4,05^{**\alpha\beta}$
КАТ, мкмоль H_2O_2 /мл×год	$29,80 \pm 5,41^{**\alpha\beta}$	$48,08 \pm 3,71^{**\alpha\beta}$	$90,22 \pm 1,15^{**\alpha\beta}$	$22,07 \pm 1,39^{**\alpha\beta}$	$57,34 \pm 1,68^{**\alpha\beta}$	$71,89 \pm 0,80^{**\alpha}$
СОД/МДА	$4,82 \pm 0,58^{**\alpha\beta}$	$2,84 \pm 0,24^{**\alpha\beta}$	$2,94 \pm 0,10^{**\alpha}$	$4,47 \pm 0,21^{**\alpha\beta}$	$3,35 \pm 0,07^{**}$	$3,36 \pm 0,07^{**}$
СОД×КАТ/МДА	$143,62 \pm 31,04^{**\alpha\beta}$	$137,04 \pm 19,22^{**\alpha\beta}$	$265,62 \pm 9,63^{**\alpha\beta}$	$98,1 \pm 7,31^{**\alpha\beta}$	$192,04 \pm 6,60^{**\alpha\beta}$	$241,72 \pm 5,96^{**\alpha}$

Примітки: * $p < 0,05$ порівняно з II групою; † $p < 0,05$ порівняно з III групою; ‡ $p < 0,05$ порівняно з IV групою; ° $p < 0,05$ порівняно з V групою; β $p < 0,05$ порівняно з VI групою

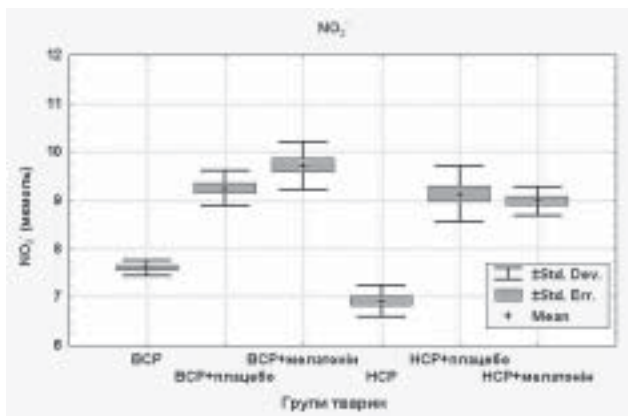


Рис.1. Динаміка вмісту нітрит-іону (NO_2^-) у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (20,0 мг/добу).

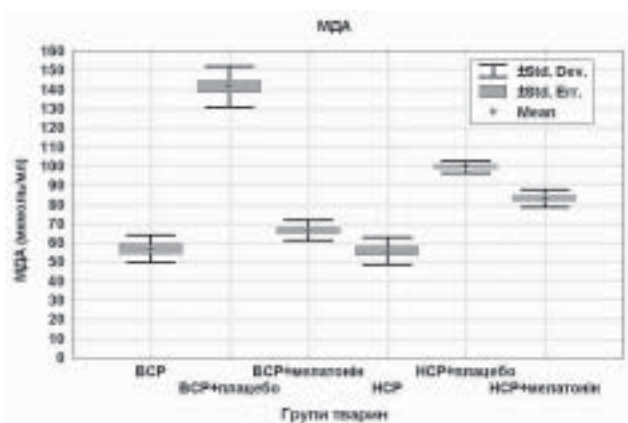


Рис.2. Динаміка вмісту малонового діальдегіду у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (20,0 мг/добу).

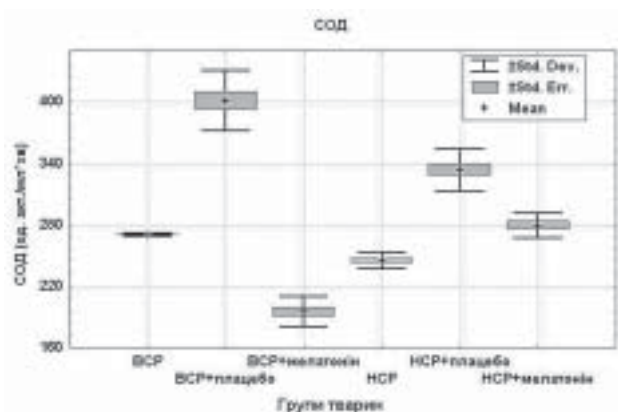


Рис.3. Динаміка вмісту супероксиддисмутази у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (20,0 мг/добу).

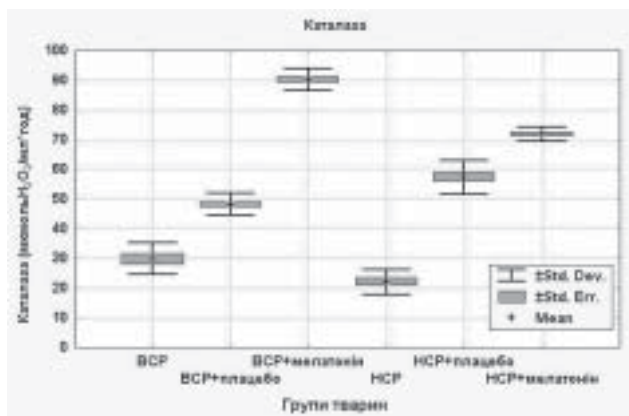


Рис.4. Динаміка вмісту каталази у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (20,0 мг/добу).

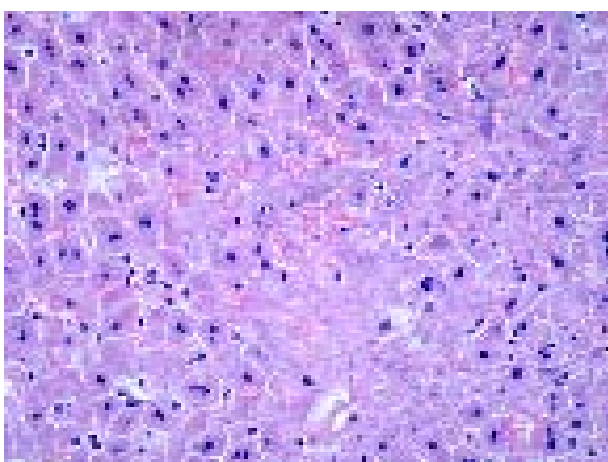


Рис.5. Гістологічний зріз печінки (HCP щур, випадок 4 з групи V). Ділянка некрозу з повним лізисом ядер та геморагічною інфільтрацією. В прилеглих гепатоцитах ядра з ознаками фрагментації. Гематоксилін –еозин x 400.

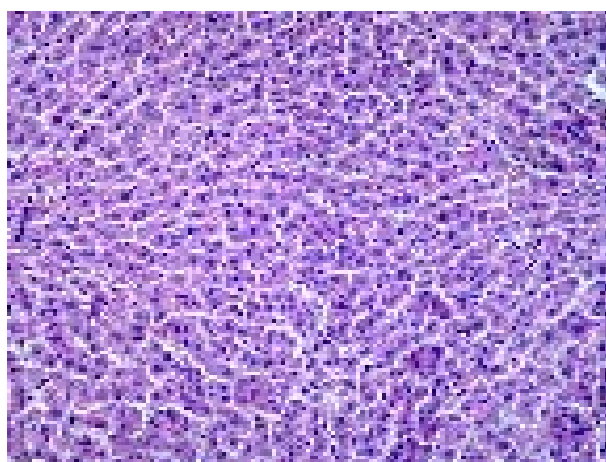


Рис.6. Гістологічний зріз печінки (HCP щур, випадок 7 з групи IV). Збережена балкова структура часточок. Гепатоцити без ознак пошкодження. Гематоксилін –еозин x 400.

були поодинокими, дрібними і проявлялись фрагментацією ядер (Рис.7). Одночасно виявлені гемодинамічні розлади, що супроводжували альтеративні зміни, практично у всіх випадках і були неспецифічними: розширення синусоїдів, гіперемія центральних вен, дрібні геморагії у ділянках не-

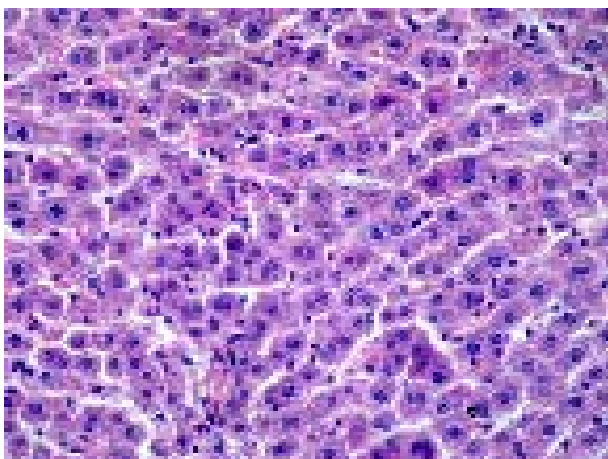


Рис.7. Гістологічний зріз печінки (HCP щур, випадок 6 з групи VI). Ядра частини гепатоцитів з ознаками вираженої периферійної конденсації хроматину, що характерно для апоптозу. Окремі гепатоцити з ознаками каріолізу. Гематоксилін –еозин x 400.

крозу. Зареєстровані зміни паренхіматозних структур часточок печінки свідчать про цитопротекторний вплив мелатоніну, який можна пояснити зменшенням незворотних змін клітини та залученням фізіологічного механізму апоптозу, індукованого стресреакцією (Рис.8).

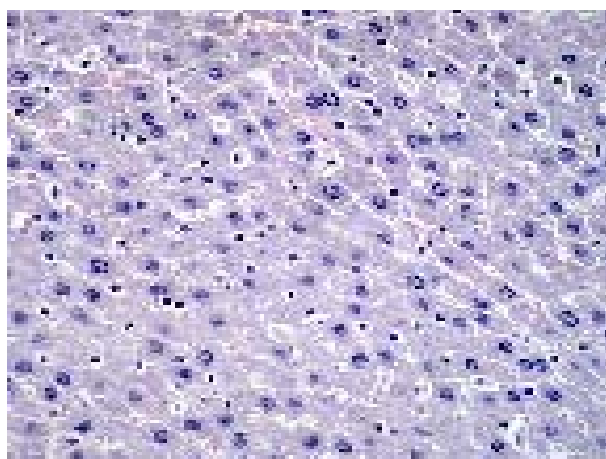


Рис.8. Гістологічний зріз печінки (BCP щур, випадок 7 з групи III). Більшість гепатоцитів з чіткими ядрами, в поодиноких клітинах початкові ознаки апоптозу. Гематоксилін –еозин x 400.

ВИСНОВКИ Отримані дані можна пояснити тим, що індивідуальні-типологічні особливості поведінкових реакцій зумовлюють специфіку метаболічних процесів і відмінність у дисбалансі про- та антиоксидантних процесів. Стрес-індуковані зміни супроводжуються активуванням ЛСЛС з односпрямованими змінами вмісту нітрит-іонів продуктів та ПОЛ, що підтверджує участь ендотеліязалежної системи оксиду азоту в регуляції вільнорадикальних процесів, клітинного дихання, а, відповідно, і мембранозалежного окисного метаболізму в цілому. Введення мелатоніну, як демонструють результати, окрім прямої дії, як скавенджера радикалів, є ефективним для активування ЛСЛС за рахунок NO-шляху та *up*-регулювання антиоксидантних і *down*-регулювання прооксидантних ензимів, ендотеліязалежної активності, покращення клітинного метаболізму та проапоптичної цитопротекторної дії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Байда О.А., Мастягин С.С., Арушанян Є.Б., Попов А.В. Изменение вариабельности сердечного ритма у здоровых людей разного хронотипа под воздействием мелатонина // Экспериментальная и клиническая фармакология.–2005.– 68 (5).–С. 23–25.
2. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-восстановительный гомеостаз в норме и патологии/ Под общ.ред. Ю.А. Зозули.- К.: Наук. Думка, 1997.–20 с.
3. Бутенко Г.М., Лабунец І.Ф., Коркушко О.В., Терезина О.П. и др. Коррекция нарушений циркануальных ритмов функционального состояния иммунной и эндокринной систем пептидным фактором эпифиза эпителином у больных хронической ишемической болезнью сердца пожилого и старческого возраста // Журн. АМН України.- 2005.- 11 (1).–С. 105-116.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекиси липидов в плазме крови // Лаб. дело.–1983.– № 3. – С. 33 – 35.
5. Коркушко О.В., Шатило В. Б. Шишковидная железа: физиологическая роль в организме, функциональная недостаточность в пожилом возрасте, возможные пути коррекции // Медицинский всевіт.–2003.–2.– С.84-93.
6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело.– 1988. –1.– С.16 - 19.
7. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии.– 1990.– 2.– С.88-91.
8. Маркель А.Л., Хусаинов Р.А. Метод комплексной регистрации поведенческих и вегетативных реакций у крыс при проведении теста „открытое поле” // Журн. высш.нerv.деят.–1976.–Т.26 (6).–С.1314-1318.
9. Мартынюк В.Б., Ковальчук С.М., Тимочко М.Ф., Панасюк Е.Н. Индекс антиокислительной активности биологического материала // Лаб. дело. – 1991. - 3. - С. 19 - 22.
10. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело.–1986.–6.– С.724-727.
11. Пивина С.Г., Акулова В.К., Орден Н.Є. Характеристика поведения и стрессорреактивности гипофизарно-адренортикальной системы у крыс с пренатальным нарушением метаболизма тестостерона // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.–2005.–91 (9).– С.1071–1079.
12. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело.– 1981.– 4.– С. 209 - 211.
13. Bolukbas C. et al. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection // BMC Infect. Dis. –2005. – Vol. 5, № 1. – P. 95.
14. Bonior J., Jaworek J., Konturek S.J., Pawlik W.W. Increase of heat shock protein gene expression by melatonin in AR42J cells // J. Physiol. Pharmacol. – 2005. – Vol. 56, № 3. – P. 471-481.
15. Bongiorno D. et al. Localization and interactions of melatonin in dry cholesterol/lecithin mixed reversed micelles used as cell membrane models // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 38, № 4. – P. 292–298.
16. Borges-Silva C.N. et al. Reduced lipolysis and increased lipogenesis in adipose tissue from pinealectomized rats adapted to training // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 178–184.
17. Brzozowski T. et al. Importance of the pineal gland, endogenous prostaglandins and sensory nerves in the gastroprotective actions of central and peripheral melatonin against stress-induced damage // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 4. – P. 375-385.
18. Bubenik G.A. Gastrointestinal melatonin, localization, function and clinical relevance // Dig. Dis. Sci. – 2002. – Vol. 10. – P. 2336-2348.
19. Chang H.M. et al. Melatonin restores the cytochrome oxidase reactivity in the nodose ganglia of acute hypoxic rats // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 206-214.
20. Esparza J.L. et al. Melatonin reduces oxidative stress and increases gene expression in the cerebral cortex and cerebellum of aluminum-exposed rats // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 129-136.
21. Gitto E. et al. Melatonin reduces oxidative stress in surgical neonates // J. Pediatr. Surg. – 2004. – Vol. 39. – P. 184-189.
22. Green L.C., Wagner D.A., Glogovski J.G. Analysis of nitrate, nitrite and 15N-nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131-138.
23. Janovic N. et al. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 34. – P. 282-287.
24. Jaworek J. et al. Melatonin and its precursor; L-tryptophan: influence on pancreatic amylase secretion in vivo and in vitro // J. Pineal Res. – 2004. – Vol. 36. – P. 156-164.
25. Browning J. D., Horton J. D. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol. 114, № 2. – P. 147–152.
26. Kuhlwein E., Irvin M. Melatonin modulation of lymphocyte proliferation and Th1/Th2 cell cytokine expression // J. Neuroimmunol. – 2001. – Vol. 117. – P. 51-57.
27. Liang F.O. et al. Melatonin protects human retinal pigmental epithelial (RPE) cells against oxidative stress // Exp. Eye. Res. – 2004. – Vol. 78. – P. 1069-1075.
28. Malinovskaya N.K. et al. Gastrointestinal melatonin: cellular identification and biological role // Neur. Endocrinol. Lett. – 2002. – Vol. 23, № 2. – P. 121-132.
29. Messner M. et al. Presence of melatonin in the human hepatobiliary –gastrointestinal tract // Life Sci. – 2001. – Vol. 69, № 5. – P. 543-551.
30. Morera A.L., Abreu P. Existence of melatonin in human platelets // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 4. – P. 432-433.
31. Muc-Wierzgon M. et al. Circadian fluctuations of melatonin, tumor necrosis factor-alpha and its soluble receptors in the circulation of patients with advanced gastrointestinal cancer // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2003. – Vol. 22, № 2. – P. 171-178.
32. Ohta Y. et al. Successively postadministered melatonin prevents disruption of hepatic antioxidant status in rats with bile duct ligation // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 4. – P. 367-374.
33. Pan M. et al. Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol. 113. – P. 1277–1287.
34. Reiter R.J., Tan D.X., Maldonado M.D. Melatonin as an antioxidant: physiology versus pharmacology // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 215-216.
35. Rodrigues M.R. et al. Interferon-gamma independent oxidation of melatonin by macrophages // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 34, № 1. – P. 69–74.
36. Secreto G. et al. Soy isoflavones and melatonin for the relief of climacteric symptoms: a multicenter, double-blind, randomized study // Maturitas. – 2004. – Vol. 20–47(1). – P. 11-20.
37. Song G.H., Gwee K.A., Moochhala S.M., Ho K.Y. Melatonin attenuates stress-induced defecation: lesson from a rat model of stress-induced gut dysfunction // Neurogastroenterology and Motility. – 2005. – Vol. 17, № 5. – P. 744.
38. Takagi K.Y., Kayuya Y. Watanabe K. Studies on drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats // Chem. Pharm. Bull. – 1964. – Vol. 12. – P. 465-472.
39. Taysi S. et al. Effect of melatonin on lipid peroxidation, glutathione and glutathione-dependent enzyme activities in experimental otitis media with effusion in guinea pigs // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 3. – P. 283-286.
40. Tomas-Zapico C., Coto-Montes A. A proposed mechanism to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 99-104.
41. Trubiani O. et al. Melatonin provokes cell death in human B-lymphoma cells by mitochondrial-dependent apoptotic pathway activation // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 4. – P. 425-431.