редкованою наприкінці вагітності при фізіологічно перебігаючий вагітності та вагітності ускладненої антигенним тиском.

Перспективи подальших досліджень. Передбачається подальше дослідження Т-хелперної ланки імунітету лімфоїдної тканини асоційованої з децидуальною тканиною матки з використанням імуногістохімічного методу дослідження.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Березовский Ю. С. Иммунокомпетентнные клетки в децидуальной ткани при нормальной беременности и раннем невынашивании / Ю. С. Березовский // Архив патологии. – 2001. – № 4. – С. 44–49.
2. Бондаренко Г. І. Особливості субпопуляційного складу імунокомпетентних клітин, віділених з децидуальної оболонки у першому триместрі фізіологічної вагітності / Г. І. Бондаренко, В. П. Чернишов, І. І. Слуквін // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 1993. – № 1. – С. 52–53.
3. Волошин М. А. Виявлення В–лімфоцитів у плаценті при резус–ізоімунному конфлікті матері та плоду / М. А. Волошин, О. Г. Кущ // Вісник морфології. – 2007. – № 13 (2). – С. 290–293.
4. Волошин М. А. Особливості будови лімфоїдної тканини асоційованої з плацентою у породіль при фізіологічно перебігаючий вагітності та при зміненій імунологічній реактивності материнського та плодового організмів / М. А. Волошин, О. Г. Кущ // Український морфологічний альманах. – 2008. –Т. 6, № 1. – С. 64–67.
5. Глуховец Б. И. Патология последа / Б. И. Глуховец, Н. Г. Глуховец – СПб. : ГРААЛЬ, 2002. – 448 с.
6. Значение субпопуляций децидуальных Т–хелперов в задержке внутриутробного развития плода / А. В. Кудряшова, Н. Ю. Сотникова, И. А. Панова, Н. Ю. Филинова // Иммунология репродкуции. – 2003. – Т.5. – С. 337–338.
7. Кущ О. Г. Особливості будови і реактивності лімфоїдної тканини, асоційованої з децидуальною тканиною / О. Г. Кущ, М. А. Волошин // Здобутки клін. і эксперим. медицини. – 2007. – № 2 (7). – С. 105–107.
8. Паращук Ю. С. Состояние фетоплацентарного комплекса при материнской инфекции / Ю. С. Паращук, С. В. Покрышко // Инфекционный контроль. – 2000. – № 1–2. – С. 13–14.
9. Expression of beta 1-6-branched N-linked oligosaccharides is associated with activation in human T4 and T8 cell populations / S. Lemaire, C. Derappe, J.C. Michalski [et al.] // J. Biol. Chem. – 1994. - Vol. 269, № 11. - P. 8069-8074.
10. No difference in natural killer or natural killer T–cell population, but aberrant T–helper cell population in the endometrium of women with repeated miscarriage / S. Shigeki, E. H. Kato, M. Morikawa [et al.] // Human Reproduction. – 2004. – Vol. 19, № 4. – P. 1018–1024.
11. Peptide and nucleotide sequences of rat CD4 (W3/25) antigen: evidence for derivation from a structure with four immunoglobulin-related domains // S. J. Clark, W. A. Jefferies, A. N. Barclay [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.- 1987. - № 84(6).- P. 1649–1653.
12. Synthesis of T helper 2-type cytokine at the maternal-fetal interface / H. Lin, T.R. Mosmann, L Guilbert [et al.] // J. Immunol.- 1993.- V 151.- P. 4562-4570.

УДК: 577.17+577.15:611.018.4
© Літовка І.Г., Весельський С.П., Березовський В.Я, Заморська Т.М., 2010

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ЛІПІДИ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ДОРОСЛИХ ЩУРІВ

Літовка І.Г., Весельський С.П., Березовський В.Я, Заморська Т.М.

*Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, *Інститут фізіології імені академіка Петра Богача Київського Національного університету імені Тараса Шевченка*

Літовка І.Г., Весельський С.П., Березовський В.Я, Заморська Т.М. Вплив мелатоніну на ліпіди кісткової тканини дорослих щурів // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 120-122.

Досліджували вплив 28-денного перорального введення екзогенного мелатоніну у дозі 1 мг/кг на ліпіди кісткової тканини 11- та 15-місячних щурів-самців лінії Вістар. У 11-міс. щурів спостерігали вірогідне підвищення концентрації фосфоліпідів на 19%, зниження вмісту загального холестерину і вільних жирних кислот відповідно на 22,4% і 23,0%. Тоді як у 15-міс. щурів вірогідно зростала лише концентрація фосфоліпідів. Такі зміни дозволяють висловити припущення, що екзогений мелатонін опосередковано впливає на кістковий метаболізм шляхом підвищення вмісту полярних ліпідів.

Ключові слова: щури, кістка, ліпіди, мелатонін.

Литовка И.Г., Весельский С.П., Березовский В.А, Заморская Т.М. Влияние мелатонина на липиды костной ткани взрослых крыс // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 120-122.

Исследовали влияние 28-дневного перорального введения экзогенного мелатонина в дозе 1 мг/кг на липиды костной ткани 11- и 15-месячных крыс-самцов линии Вистар. У 11-мес. крыс наблюдали достоверное повышение концентрации фосфолипидов на 19%, снижение содержания общего холестерина и свободных жирных кислот соответственно на 22,4% и 23,0%. Тогда как у 15-мес. крыс достоверно росла лишь концентрация фосфолипидов. Такие изменения позволяют выразить предположение, что экзогенный мелатонин опосредствовано влияет на костный метаболизм путем повышения содержания полярных липидов.

Ключевые слова: крысы, кость, липиды, мелатонин.

Litovka I.G., Vesel'skii S.P., Berezovskii V.A, Zamorska T.M. Influence of melatonin on lipids of bone tissue of the adult rats // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 120-122.

Investigation influence 28-day peroral introduction of exogenous melatonin in a dose 1 mg/kg on lipids of bone tissue of 11- and 15-month rats-males of the Vistar. In 11-month rats were looked reliable increase of concentration of phospholipids on the 19%, decrease of the total cholesterol and free fat acids accordingly on the 22,4% and 23,0%. Then in 15-month rats increase of the concentration phospholipids. Such changes allow to express supposition, that exogenous melatonin mediated influence on the bone metabolism by the increase of concentration of polar lipids.

Key words: rats, bone, lipids, melatonin.

Вступ. Відомо, що існує значна кількість ростових факторів та гормонів, які здійснюють різноспрямовані впливи на масу кісткової тканини та процеси її ремоделювання. Мелатонін – основний гормон епіфізу, що приймає участь у формуванні добових біоритмів, регулює активність ендокринних залоз, температуру тіла, вуглеводний та ліпідний обмін, активно впливає на фізіологічну регенерацію кісткової тканини [9, 10].

Показано, що мелатонін регулює циркадні ритми метаболізму в кістковій тканині. Він діє опосередковано, шляхом зміни концентрацій ендогенних факторів – паратиреоїдного та тиреоїдного гормону, інсуліноподібного фактора росту-1. Крім того, мелатонін модулює процес диференціації остеобластів та остеокластів [11], сприяє мінералізації матриксу у культурі тканин, посилює синтез колагенових та неколагенових білків органічного матриксу кісткової тканини [12].

Ліпіди є важливою складовою сполучної тканини. Проте, їх роль в мінералізації кісткової тканини вивчена недостатньо. Зокрема це стосується ролі білково-ліпідних комплексів у процесах остеогенезу. Ліпіди кісткової тканини відіграють важливу роль у формуванні ядер кристалізації при насиченні хряща солями кальцію, діючи як стабілізатори його аморфного стану [6]. Склад ліпідів органічного матриксу кісткової тканини достатньо різноманітний. До них входять фосфоліпіди, холестерин, тригліцериди, вільні жирні кислоти. Кожна з ліпідних фракцій виконує певну роль. Експериментально показано, що холестерин стегнової кістки бика знаходиться у вигляді нестійкого комплексного поєднання з колагеном [5]. Встановлена пряма залежність між вмістом кислих ліпідів і ступенем мінералізації кісткової тканини, що дає підстави припустити можливість прямої взаємодії між кислими ліпідами і мінеральними компонентами, а саме кальцієм та іншими катіонами [1, 6]. Однак механізм участі ліпідів у процесах мінералізації кісткової тканини залишається недостатньо вивченим.

Сучасними дослідженнями показано, що синтез мелатоніну і його вміст у крові людей і тварин регулюється добовим фотоперіодом [10]. Зміна рівня цього гормона в крові призводить до відповідних перебудов в обміні речовин у підконтрольних тканинах, у тому числі і в кістках.

Мета цієї роботи дослідити вплив екзогенного мелатоніну на якісний і кількістний склад ліпідів та їх фракції у кістковій тканині дорослих щурів.

Матеріали і методи. Досліди тривалістю 28 діб виконано у весняний період на 40 щурах-самцях лінії Вістар віком 11 та 15 місяців. Тварин розподілили по групам таким чином: II, IV групи – контроль, I і III групи – дослідні щури. Протягом експерименту всі тварини перебували в уніфікованих умовах зі стандартним раціоном харчування і мали вільний доступ до води. Природний цикл світло/темрява становив 11год/13 год.

Тваринам досліджуваних груп перорально у дозі 1 мг/кг маси тіла вводили 1 мл водної суспензії мелатоніну (Unipharm Inc., США) о 17.00, тобто у той час, коли його фізіологічна концентрація була мінімальною. Контрольним щурам у той самий час вводили еквівалентну кількість дистильованої води. Досліди проводили з виконанням міжнародних вимог про гуманне ставлення до тварин.

Матеріалом для досліджень були свіжовидалені стегнові кістки щурів, які одержували від декапітованих під рауш-наркозом тварин. Кістки ретельно очищали від м'язів і кісткового мозку. Діафізарну ділянку кістки обезжирювали та обезводнювали спирт-ацетоном (2:1) [7]. У кістковій тканині визначали основні фракції загальних ліпідів за допомогою тонкошарової хроматографії [4, 8].

Цифрові дані обробляли з використанням пакету програмного забезпечення Magellan 3.0, програми Microsoft Excell 2003. Для визначення вірогідності відмінностей між двома вибірками використовували t-критерій Стьюдента.

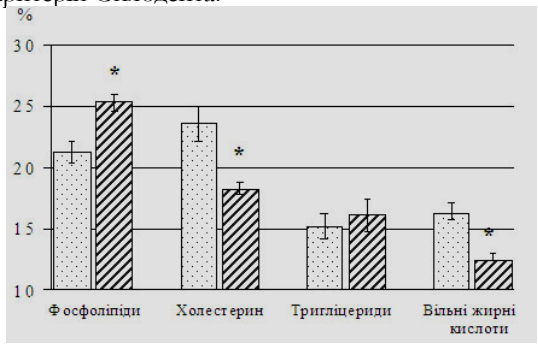

Рис. 1. Зміни ліпідних фракцій у контрольних і дослідних 11-місячних щурів. * P< 0,05-достовірність відмінностей порівняно з контролем

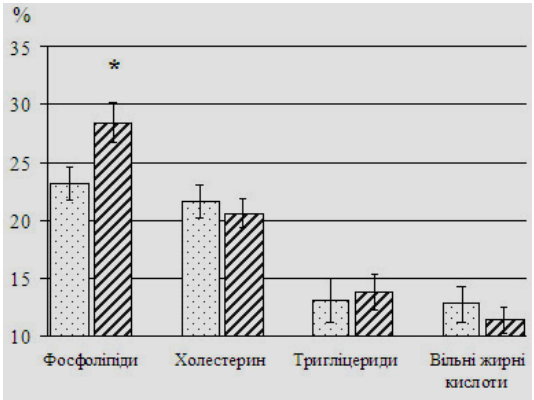

Рис. 2. Зміни ліпідних фракцій у контрольних і дослідних 15-місячних щурів. * P< 0,05-достовірність відмінностей порівняно з контролем

Результати досліджень та їх обговорення. Проведені експерименти показали, що у кістковій тканині контрольних 11-міс. щурів концентрація загальних ліпідів дорівнювала 76,44±3,698 мг/г сирої маси кістки. Із них 21,26±0,878 мг/г припадало на загальні фосфоліпіди, 23,56±1,374 мг/г на загальний холестерин, 15,16±0,953 мг/г на тригліцериди і 16,27±0,941 - вільні жирні кислоти (табл.1). Тобто, ліпідні фракції у стегновій кістці контрольних 11-міс. щурів розподілялися наступним чином: 28% припадало на загальні фосфоліпіди, 31% - на загальний холестерин, 20% - на тригліцериди і 21% - вільні жирні кислоти (рис.1). Співвідношення між цими фракціями у загальному пулі ліпідів дорівнювало 1,1:1,2:0,8:0,9.

При порівнянні даних контрольної і дослідної груп тварин цього віку було виявлено вірогідне підвищення концентрації фосфоліпідів на 19%, зниження вмісту загального холестерину і вільних жирних кислот відповідно на 22,4% і 23,0% (P<0,05, рис.2). Звертає на себе увагу той факт, що зміна вмісту загального холестерину відбувалася за рахунок вільного холестерину, концентрація якого знижувалася на 26% (P<0,05) відносно контрольних значень. Все це призвело до перерозподілу ліпідних фракцій у досліджуваній групі тварин. 35% припадало на за-

гальні фосфоліпіди, 25% - на загальний холестерин, 22% - на тригліцериди і 18% - вільні жирні кислоти. Відповідно змінювалося і співвідношення між ліпідними фракціями як 1,4:1,0:0,9:0,7.

Таким чином, введення екзогеного мелатоніну істотно впливало на структуру ліпідного пулу кісткової тканини.

Таблиця 1. Вплив мелатоніну на ліпідні фракції кісткової тканини дорослих щурів (мг/г сирої маси кістки, M±m, n=12)

Вік / Показники	11 міс			15 міс		
	Контроль	Мелатонін	Δ, %	Контроль	Мелатонін	Δ,%
Загальні фосфоліпіди	21,26±0,878	25,30±0,736*	+19	23,16±1,395	28,46±1,706*	+23
Холестерин вільний	11,45±0,477	8,47±0,275*	-26	11,75±0,797	8,73±0,528*	-26
Холестерин ефіри	12,30±1,490	9,82±0,481	-20	10,21±0,692	11,98±0,776	+17
Холестерин загальний	23,56±1,374	18,28±0,514*	-22	21,63±1,377	20,64±1,214	- 6
Тригліцериди	15,16±0,953	16,06±1,270	+ 6	13,12±1,948	13,85±1,536	+ 6
Жирні кислоти вільні	16,27±0,941	12,45±0,599*	-23	12,82±1,637	11,43±1,142	-11
Ліпіди загальні	76,44±3,698	72,36±3,010	- 5	71,06±5,508	74,38±5,147	+ 5

*P < 0,05 – достовірність відмінностей порівняно з контролем

У контрольних 15-міс. щурів вміст більшості досліджуваних ліпідних фракцій, за виключенням фосфоліпідів, був дещо нижчим за такий у 11-міс. контрольних тварин (табл.1). Розподіл відбувався наступним чином: 33% припадало на загальні фосфоліпіди, 30,4% - на загальний холестерин, 18,5% - на тригліцериди і 18,1% - вільні жирні кислоти або 1,3:1,2:0,8:0,7. Спрямованість змін ліпідних фракцій у 15-міс. щурів після впливу мелатоніну була такою ж, що і у 11 міс. тварин. Відмінність складалася в тому, що у 15-міс. досліджуваних щурів спостерігали лише тенденцію до зниження концентрації вільних жирних кислот, тоді як у 11-міс. цей показник змінювався достовірно (табл.1). Дещо по-іншому розподілялися ліпідні фракції у загальному пулі ліпідів, а саме: 38% припадало на загальні фосфоліпіди, 28% - на загальний холестерин, 19% - на тригліцериди і 15% - вільні жирні кислоти або 1,5:1,1:0,7:0,6.

Таким чином, зміни ліпідних фракцій і їх розподіл у загальному пулі ліпідів у дорослих 11 і 15-міс. щурів після впливу мелатоніну були односпрямованими, але мали свої особливості. Більш виражені зміни ліпідів відбувалися у 11-міс. тварин. У них вірогідні зміни проявлялися у підвищенні концентрації фосфоліпідів на 19%, зниженні вмісту загального холестерину і вільних жирних кислот відповідно на 22,4% і 23,0%. Такі зміни дозволяють висловити припущення, що екзогений мелатонін опосередковано впливає на кістковий метаболізм шляхом підвищення вмісту полярних ліпідів. Це підтверджується і літературними даними де показано, що мелатонін посилює синтез колагенових і неколагенових білків органічного матриксу кісткової тканини [10], стимулює процес її мінералізації [12]. Вірогідність саме такого механізму дії мелатоніну можно віднести за рахунок того, що саме полярні ліпіди, або, вірніше білок-ліпідні комплекси забезпечують зв'язок між органічним і нерганічним матриксом [3] . За останніми даними із компактної кістки бика було виділено супрамолекулярний комплекс, який складався з рівних долей колагена, кальційзв'язуючих білків і полярних ліпідів, стимулюючих преципітацію ортофосфатів кальцію і їх трансформацію в гідроксіапатит [2], який зумовлює жорсткість кістки.

Отримані нами дані свідчать, що після впливу екзогеного мелатоніну у 11- і 15-міс. тварин зростала концентрація загальних фосфоліпідів. Це забезпечує умови для підвищення здатності фосфоліпідів приєднувати кальцій та інші катіони, посилює зв'язок між полярними ліпідами і білком, забезпечує повноцінне функціонування кісткової тканини.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Григорьев А.И., Воложин А.И., Ступаков Г.П. Минеральный обмен у человека в условиях изменённой микрогравитации // Пробл. косм. биол. — М.: Наука, 1994.—Т.74.—214 с.
2. Десятниченко К.С., Леонтьев В.К. Супрамолекулярный комплекс внеклеточного матрикса костной ткани, инициирующий биологическую минерализацию//Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2009. - №8. – С.40-44.
3. Леонтьев В.К., Десятниченко К.С., Левченко В.Т. О роли белковой матрицы и других факторов в биологическом обызвествлении. – В кн.: Белки и ферменты в клинических и экспериментальных исследованиях. Омск, 1977. – С.46-49.
4. Петровский В.И., Регеранд Т.И., Лизенко Е.И. Экстракция, разделение и количественное определение липидных фракций сыворотки крови // Лаб.дело. - 1986. - № 6. - С.339.
5. Пикулев А.Т. Оссеоколлаген как холестерин-белковый комплекс//Український біохімічний журнал. – 1955. – Т.27, №4. – С.517-521.
6. Прохончуков А.А., Жижина Н.А., Тиранян Р.А. Гомеостаз костной ткани в норме и при экспериментальном воздействии // Пробл. косм. биол. — М.: Наука, 1984.—Т.49.—200 с.
7. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – Л.:Медицина, 1969. – 375 с.
8. Спосіб підготовки проб біорідин для визначення вмісту речовин ліпідної природи/Весельський С.П., Лященко П.С., Костенко С.І., Горенко З.А., Куровська Л.Ф.// Деклараційний патент на винахід №33564А, 15.02.2001р. (Україна), заявлено 11.03.1999р. - Бюл.№1, реєстрація 15.02.2001р.
9. Cardinali D.P., Ladizesky M.G., Boggio V. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives // J. Pineal Res.–2003.– N.34.– P.81-87.
10. Ostrowska Z., Wolkowska-Pokrywa K., Kos-Kudła B., Swietochowska E., Marek B., Kajdaniuk D. Melatonin and bone status // Pol. Merkur. Lekarski. – 2006. - V. 21, N 124. – P. 389-93.
11. Roth J. A., Byung-Gook Kim, Fei Song, Wen-Lang Lin, and Moon-Il Cho Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation // The J. of biological chemistry.–1999.–V.247, N 45.–P. 22041-22047.
12. Wolden-Hanson T., Mitton D. R., MCCants R. L., Yellon S. M., Wilkinson C. W., MatsumotoA. M., Rasmussen D. D. Daily melatonin administration to middle-Aged Male Rats Suppresses Body Weight, Intraabdominal Adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat // Endocrinology.–2000.–V.41,N2.–P.487-497.