

similar areas compared with the normal.

The results of the study showed the reduction in calcium, phosphorus, sodium, chlorine levels. The tendency to increase in silicon, zinc, sulfur, potassium levels was also determined. The overall level of mineralization of devitalized teeth enamel coated with the stamped crowns decreased.

Based on the study results, the use of jacket stamped crowns accompanied by statistically significant changes in micro-hardness. The overall level of mineralization of enamel and dentin in the devitalized teeth is lower in the teeth coated with the stamped crowns.

УДК 616-076:616.43-008.6:616.3

Гнатюк В.В.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ МЕЛАТОНІН-ПОЗИТИВНО-МІЧЕНИХ КЛІТИН ШЛУНКА У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ НА ТЛІ ДЕСИНХРОНОЗУ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Функціонально усі клітини, що продукують мелатонін, відносяться до дифузної нейроендокринної системи, універсальної системи адаптації та підтримки гомеостазу організму. Одним із головних джерел екстрапінеального мелатоніну є ентерохромафінні клітини шлунково-кишкового тракту. Метою роботи було вивчення стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів різної статі на тлі десинхронозу. Дослідження виконано на зрізах слизової оболонки пілоричного відділу шлунка щурів різної статі віком 9 міс. методом імуногістохімічного забарвлення. В ході проведеної роботи було встановлено, що мелатонін-позитивно-мічені клітини представлені трьома типами клітин. При десинхронозі загальна кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин достовірно зменшується як у щурів-самців, так і щурів-самок. При цьому у щурів-самців зниження відбувається за рахунок великих клітин з грануляцією, в той час як у самок рівень цих клітин підвищується і разом з великими клітинами без грануляції складає основний пул мелатонін-позитивно-мічених клітин. Отримані дані дозволяють припустити, що саме великі клітини з грануляцією мелатонін-позитивно-мічених клітин за рахунок великої кількості в гранулах мелатоніну виконують захисну функцію слизової оболонки шлунка при десинхронозі.

Ключові слова: імуногістохімія, мелатонін, стать, шлунок, десинхроноз.

Дана робота є фрагментом НДР «Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці», № держ. реєстрації 0103U000478.

Вступ

Історія вивчення мелатоніну нараховує більш 50 років, але інтерес до нього не зменшується, а навпаки збільшується у зв'язку з тим, що з кожним роком з'являються усе нові дані про участь мелатоніну практично в усіх процесах життєдіяльності, його участі у багатьох функціях організму: сон, діяльність серцево-судинної системи, ендокринної та імунної систем [1]. Здатність організму адекватно реагувати на різні стимули шляхом перебудови біоритмів забезпечує стабільність та здоров'я організму людини. Здатність мелатоніну виконувати корекцію ендогенних ритмів організму відносно екзогенних ритмів навколишнього середовища є найбільш важливою фізіологічною функцією [8]. Функціонально усі клітини, що продукують мелатонін, відносяться до дифузної нейроендокринної системи, універсальної системи адаптації та підтримки гомеостазу організму. Одним із головних джерел екстрапінеального мелатоніну є ентерохромафінні клітини шлунково-кишкового тракту – основні клітини-депо серотоніну – попередника мелатоніну [2]. Існує припущення, що екстрапінеальний мелатонін може грати ключову роль в якості паракринної сигнальної молекули взаємодії клітин і локальної координації клітинних функцій, однак остаточно роль його до цього часу

на визначена. Як і не визначено, чи існує залежність між синтезом екстрапінеального мелатоніну та статтю, незважаючи на те, що є достатньо доказів про вплив епіфізу на статевий розвиток та репродукцію [1, 7].

Мета роботи

Вивчення стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів різної статі на тлі десинхронозу.

Об'єкт і методи дослідження

Робота виконана на 250 зрізах слизової оболонки пілоричного відділу шлунка щурів різної статі віком 9 міс., що відповідає віку людини 29-30 років. Зразки були отримані від тварин, які були розподілені на 4 групи: 1 і 2 – інтактний контроль відповідно статі, 3 і 4 – тварини, що знаходилися в умовах цілодобового освітлення на протязі 14 днів [6]. Дослідження виконано методом імуногістохімічного забарвлення з первинними антитілами до мелатоніну (Biorbyt, Великобританія) та вторинними Alexa Fluor 488 кон'югованими антитілами (Abcam, Великобританія). Ядра були забарвлені пропідію йодидом (Sigma, США). Флуоресценцію спостерігали на флуоресцентному мікроскопі Olympus IX-71 (Японія) при довжині хвилі для Alexa Fluor 488 – 519 нм, пропідію йодиду – 617

нм. Підрахунок клітин в зразках був здійснений при збільшенні: окуляр 10, об'єктив 40. Аналіз серійних зрізів виконували за допомогою програми для аналізу та обробки зображення ImageJ 1.48a (NIH) та перераховано на 1 мм². Усі втручання та евтаназію тварин проводили згідно з вимогами комісії з біоетики НФаУ та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) та П'ятого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2013). Статистичну достовірність оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу, достовірними вважали різницю при $p \leq 0,05$ [3]. Використовували програмне забезпечення «Statistica 7.0» та Excel.

Результати досліджень та їх обговорення

При дослідженні мелатонін-позитивно-мічених клітини (МПМК) були представлені трьома типами клітин: 1 тип – дрібні клітини діаметром 3,8-7,6 мкм, що знаходяться переважно в базальному відділі шлункової залози, 2 тип – великі клітини діаметром від 11 до 17 мкм без гранул в цитоплазмі та 3 тип – великі клітини з гранулами в цитоплазмі, які займають базальний та середній відділ залози. За результатами підрахунку кількості клітин встановлено, що кількість МПМК в слизовій оболонці у самців складає $720,8 \pm 49,4$ на 1 мм², що на 13% менше ніж у самок – $830,7 \pm 52,9$ ($p \geq 0,05$). При цьому значних відмінностей в співвідношенні різних типів клітин не виявлено (табл.).

Таблиця
Кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різної статі

Групи	Самці	Самки
Контроль		
1 тип	40%	51%
2 тип	47%	35%
3 тип	13%	14%
Всього клітин	720,8±49,4	828,1±44,5
Десинхроноз		
1 тип	86%	45%
2 тип	11%	30%
3 тип	3%	25%
Всього клітин	508,1±47,3*	644,2±33,2[^]

Примітка: * $p \leq 0,05$ – відносно контролю; [^] $p \leq 0,05$ – відносно групи самців.

На тлі десинхронозу відбувається зниження МПМК як у самців, так і самок на 30% та 22% відповідно ($p \leq 0,05$). Зміни у самців і самок відбуваються за рахунок усіх типів клітин. У самців при десинхронозі кількість великих клітин без грануляції та з грануляцією достовірно знижується на 36 та 10% відповідно і складає 11% та 3%. При цьому кількість дрібних клітин збільшується в 2,2 рази ($p \leq 0,05$). У самок навпаки кількість великих клітин з грануляцією підвищується на 11% ($p \leq 0,05$), а дрібних та великих клітин без грануляції знижується на 5-6%, що не є достовірним.

Найвніші клітин відмінних за морфологічною будовою дозволяє припустити можливість різної їх функції в захисті СОШ при пошкодженнях різної етіології. Так, згідно даним літератури [9], чоловіки у віці 29-30 років складають групу ризику за виразковою хворобою шлунка та 12-палої кишки. Також відомо, що однією із причин розвитку виразкової хвороби вважають порушення світових ритмів, котре призводить до дефіциту мелатоніну [4, 5]. Нами встановлено, що при десинхронозі в слизовій оболонці шлунка самців відповідного віку достовірно знижується рівень великих клітин з грануляцією до 3% проти 13% у контролі, в той час як у самок рівень цих клітин підвищується до 25% (14% в контролі) і разом з великими клітинами без грануляції складає основний пул МПМК. Отримані дані, дозволяють припустити,

що саме великі клітини з грануляцією мелатонін-позитивно-мічених клітин за рахунок великої кількості в гранулах мелатоніну виконують захисну функцію слизової оболонки шлунка при десинхронозі, що може пояснювати низький рівень захворюваності на виразкову хворобу у жінок віком 29-30 років.

Висновки

1. На тлі десинхронозу відбувається зменшення мелатонін-позитивно-мічених клітин в слизовій оболонці шлунка щурів різної статі.
2. Зниження кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у самців при десинхронозі відбувається за рахунок великих клітин з грануляцією, які мають гастропротекторні властивості.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується провести дослідження рівня мелатоніну в сироватці крові у щурів різної статі та віку на тлі десинхронозу.

Література

1. Каладзе Н.Н. Итоги и перспективы изучения физиологических, патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина / Н.Н. Каладзе, Е.М. Соболева, Н.Н. Скромная // Здоровье ребенка. – 2010. – № 2 (23). – С. 156–166.
2. Кветной И.И. Энтерохромаффинные клетки – основной источник мелатонина в организме / И.И. Кветной, Н.Т. Райхлин, В.В. Южаков, И.Э. Ингель // Биолетень эксл. биол. и мед. – 1999. – Т. 127, № 4. – С. 366–370.
3. Методы статистической обработки медицинских данных: метод. рек. для ординаторов и аспирантов мед. учеб. заведений, науч. работников / [А. Г. Кочетов, О.В. Лянг., В.П. Масенко и др.]. – М.: РКНПК, 2012. – 42 с.

- Опарин А.А. Мелатонин и заболевания желудочно-кишечного тракта / А.А. Опарин, О.Е. Шаповалова, Ю.И. Двожашкина, Н.В. Лаврова // Международный медицинский журнал. – 2010. – № 4. – С. 68–72.
- Опарин А.А. Влияние препарата мелатонина на коррекцию эндотелиальной дисфункции при дуоденальной язве / А.А. Опарин, С.А. Триполька // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 4 (90). – С. 123–126.
- Шурлыгина А.В. Влияние экспериментального десинхроноза на иммунотоксичность бенз(а)пирена у мышей (СВАХС57BL)F1 / А.В. Шурлыгина, С.В. Мичурина, Л.В. Вербицкая [и др.] // Бюллетень эксп. биол. и мед. – 2005. – № 2. – С. 223–226.
- Srinivasan Venkatramanujam. Melatonin and human reproduction: Shedding light on the darkness hormone / Venkatramanujam Srinivasan, Warren D. Spence, Seithikurippu R. Pandi-Perumal [et al.] // Gynecological Endocrinology. – 2009. – Vol. 25, № 12. – P. 779–785.
- Waterhouse J. Jet lag: trends and coping strategies / J. Waterhouse, T. Reilly, G. Atkinson, B. Edwards // Lancet. – 2007. – Vol. 369, № 9567. – P. 1117–1129.
- Wu H.C. Prevalence of peptic ulcer in dyspeptic patients and the influence of age, sex, and Helicobacter pylori infection / H.C. Wu, B.G. Tuo, W.M. Wu [et al.] // Digestive diseases and sciences – 2008. – Vol. 53, Issue 10. – P. 2650–2656.
- Kaladze N.N. Itogi i perspektivy izucheniya fiziologicheskikh, patogenicheskikh i farmakologicheskikh jeffektov melatonina / N.N. Kaladze, E.M. Soboleva, N.N. Skromnaja // Zdorov'e rebenka. – 2010. – № 2 (23). – S. 156–166.
- Kvetnoj I.I. Jenterohromaffinnye kletki – osnovnoj istochnik melatonina v organizme / I.I. Kvetnoj, N.T. Rajhlin, V.V. Juzhakov, I.Je. Ingel' // Bjuulleten' jeksp. biol. i med. – 1999. – T. 127, № 4. – S. 366–370.
- Metody statisticheskoy obrabotki medicinskih dannyh: metod. rek. dlja ordinatov i aspirantov med. ucheb. zavedenij, nauch. rabotnikov / [A. G. Kochetov, O.V. Ljang., V.P. Masenko i dr.]. – M.: RKNPK, 2012. – 42 s.
- Oparin A.A. Melatonin i zabolevanija zheludochno-kishechnogo trakta / A.A. Oparin, O.E. Shapovalova, Ju.I. Dvojashkina, N.V. Lavrova // Mezhdunarodnyj medicinskij zhurnal. – 2010. – № 4. – S. 68–72.
- Oparin A.A. Vlijanie preparata melatonina na korekciju jendotelial'noj disfunkcii pri duodenal'noj jazve / A.A. Oparin, S.A. Tripolka // Visnik problem biologii i medicini. – 2011. – Vip. 4 (90). – S. 123–126.
- Shurlygina A.V. Vlijanie jeksperimental'nogo desinhronoza na immunotoksichnost' benz(a)pirena u myshej (SVAHS57BL)F1 / A.V. Shurlygina, S.V. Michurina, L.V. Verbickaja [i dr.] // Bjuulleten' jeksp. biol. i med. – 2005. – № 2. – S. 223–226.
- Srinivasan Venkatramanujam. Melatonin and human reproduction: Shedding light on the darkness hormone / Venkatramanujam Srinivasan, Warren D. Spence, Seithikurippu R. Pandi-Perumal [et al.] // Gynecological Endocrinology. – 2009. – Vol. 25, № 12. – P. 779–785.
- Waterhouse J. Jet lag: trends and coping strategies / J. Waterhouse, T. Reilly, G. Atkinson, B. Edwards // Lancet. – 2007. – Vol. 369, № 9567. – P. 1117–1129.
- Wu H.C. Prevalence of peptic ulcer in dyspeptic patients and the influence of age, sex, and Helicobacter pylori infection / H.C. Wu, B.G. Tuo, W.M. Wu [et al.] // Digestive diseases and sciences – 2008. – Vol. 53, Issue 10. – P. 2650–2656.

References

Реферат

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ МЕЛАТОНИН-ПОЛОЖИТЕЛЬНО-МЕЧЕННЫХ КЛЕТОК ЖЕЛУДКА У КРЫС РАЗНОГО ПОЛА НА ФОНЕ ДЕСИНХРОНОЗА

Гнатюк В.В.

Ключевые слова: иммуногистохимия, мелатонин, желудок, десинхроноз.

Функционально все клетки, продуцирующие мелатонин, относятся к диффузной нейроэндокринной системе, универсальной системе адаптации и поддержания гомеостаза организма. Одним из главных источников экстрапинеального мелатонина являются энтерохромоафинные клетки желудочно-кишечного тракта. Целью работы было изучение состояния мелатонин-позитивно-меченых клеток слизистой оболочки желудка у крыс разного пола на фоне десинхроноза. Исследование выполнено на срезах слизистой оболочки пилорического отдела желудка крыс разного пола в возрасте 9 мес. методом иммуногистохимического окрашивания. В ходе проведенной работы было установлено, что мелатонин-позитивно-меченые клетки представлены тремя типами клеток. При десинхронозе их общее количество достоверно уменьшается как у крыс-самцов, так и крыс-самок. При этом у крыс-самцов снижение происходит за счет больших клеток с грануляцией, в то время как у самок уровень этих клеток повышается и вместе с большими клетками без грануляции составляет основной пул мелатонин-позитивно-меченых клеток. Полученные данные позволяют предположить, что именно крупные клетки с грануляцией мелатонин-позитивно-меченых клеток за счет большого количества в гранулах мелатонина выполняют защитную функцию слизистой оболочки желудка при десинхронозе.

Summary

COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF THE STATE OF MELATONIN-POSITIVE-LABELLED CELLS OF THE STOMACH IN RATS OF DIFFERENT SEX UNDER DESYNCHRONOSIS

Hnatiuk V.V.

Key words: immunohistochemistry, melatonin, sex, stomach, desynchronosis.

Functionally, all of the cells, that produce melatonin, relate to diffuse neuroendocrine system, which is a universal system of adaptation and maintenance of homeostasis. Enterochromaffin cells of the gastrointestinal tract are the main source of extra-pineal melatonin. The aim of the work was to study the state of the melatonin-positive-labelled cells of the gastric mucosa in rats of different sex under desynchronosis. The study was performed on sections of the mucous membrane of the pyloric region taken from the stomach of rats of different sex in the age of 9 months using method of immunohistochemical staining. In the course of the work it was found that the melatonin-positive-labelled cells were represented by three types of cells. The total number of cells was significantly reduced in both male and female rats under desynchronosis. Male rats' reduction occurs due to large cells of granulation, while in females the level of these cells increases with larger cells without granulation, while main pool includes melatonin-positive-labelled cells. These data suggest that these large cells with large amount of melatonin in the granules provide the protection for gastric mucosa under desynchronosis.