

inflammatory diseases, including gout. However, nowadays more and more attention of researchers is paid to the role of uric acid in the pathogenesis of several diseases that have no clinical manifestations similar to that of gout. The objective of the research was to determine the morphological changes of endothelial cells in 4 and 12 month old rats in experimental hyperuricemia. The study involved white male rats of two age categories, which were kept in hyperuricemia diet for 15, 30 and 45 days. We determined uric acid level and carried out quantitative analysis of circulating endothelial cells in the blood of the animals and also conducted histological study of myocardium. It was found experimental hyperuricemia was associated with the damage of endothelial lining of blood vessels that was manifested by swelling of cytoplasm and pyknosis of endothelial cells with focal desquamation. The level of circulating endothelial cells in the blood of experimental animals was significantly increased. Intensity of these phenomena depended on the age of the animals and the duration of the experimental model.

УДК 616-076:616.43-008.6:616.3-055.1

*Гнатюк В.В., Кононенко Н.М., Божок Г.А.*

### **ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ МЕЛАТОНІН-ПОЗИТИВНО-МІЧЕНИХ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ДЕСИНХРОНОЗІ У ЩУРІВ-САМЦІВ РІЗНОГО ВІКУ**

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

*Відомо, що мелатонінодефіцит призводить до розвитку морфофункціональних змін в тканинах та захворювань внутрішніх органів. Метою нашого дослідження було вивчення стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу. Результати, представлені в роботі, виконані на зразках пілоричного відділу слизової оболонки шлунка щурів-самців віком 9, 15 та 20 міс. методом імуногістохімічного забарвлення. В ході проведеної роботи було встановлено, що мелатонін-позитивно-мічені клітини переважно розташовані в базальних та середніх відділах трубчатих залоз слизової оболонки шлунка та представлені трьома типами клітин. За результатами підрахунку клітин встановлено, що при десинхронозі загальна кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин достовірно зменшується у щурів-самців усіх вікових груп. У щурів віком 9 та 15 міс. зменшення кількості МТ-позитивно-мічених клітин відбувається за рахунок зменшення кількості клітин 2 та 3 типу – великі клітини з грануляцією та без неї, а у щурів 20 міс. переважно за рахунок дрібних клітин з незначним підвищенням кількості великих клітин з грануляцією.*

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

*Дослідження виконано в рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ держ. реєстр. 0103U000478).*

#### **Вступ**

Відомо, що фотоперіод грає певну роль в синхронізації циркадних, циркадіаних, циркануальних світових ритмів функціонування живих істот, забезпечуючи усім органам та системам умови для проявлення максимальної активності удень та відпочинку вночі [1]. Центральним органом, що забезпечує організм інформацією про зміни світового режиму є пінеальна залоза, яка синтезує унікальний нейропептид – мелатонін [2] з відомими на сьогодні антиоксидантними [3], протипухлинними [4], імуногенними [5] властивостями. Окрім епіфізу, синтез гормону відбувається клітинами дифузної нейроендокринної системи, які присутні в сітківці ока, тимусі, крові, гонадах, шлунково-кишковому тракті [6, 7, 8].

Разом з тим останнім часом, а саме після появи електрики та її повсюдного використання, уклад життя сучасної людини дуже змінився. Зміни викликані, перш за все, штучним збільшенням тривалості світлового дня, що неминуче впливає на спосіб життя усіх верств населення,

починаючи від маленьких дітей та закінчуючи людьми похилого віку. Більш того, деякі особи (переважно репродуктивного віку) значну частину свого життя проводять в умовах цілодобового освітлення. Це відноситься не тільки до тих, хто працює у вечірні та нічні години, але і зайнятих в індустрії нічного відпочинку (нічні клуби, дискотеки та інше), хто регулярно дивиться нічні телепередачі, або хворіють на безсоння [9]. Різноманітні зміни синтезу мелатоніну, що виходять за рамки фізіологічних коливань, здатні призвести до порушення як власних біологічних ритмів організму між собою (внутрішній десинхроноз), так і ритмів організму з навколишнім середовищем (зовнішній десинхроноз). Обидва десинхронози призводять до розвитку морфофункціональних змін в тканинах та захворювань внутрішніх органів [10, 11, 12]. На сьогодні існує багато морфологічних досліджень стану тканин різних органів під впливом мелатонінодефіциту [13, 14, 15, 16]. Значна частина їх присвячена дослідженню стану слизової оболонки шлунка (СОШ) [17, 18, 19, 20] та навіть ентерохромафінних клі-

тин (ЕС-клітин) СОШ [21]. Але ж ми не зустріли робіт, де були представлені дані імуногістохімічного дослідження мелатонін-позитивно-мічених (MT-позитивно-мічених) клітин СОШ у людини або тварин різного віку в умовах десинхронозу.

**Мета дослідження**

Вивчення стану MT-позитивно-мічених клітин СОШ у щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу.

**Матеріали та методи дослідження**

Дослідження, представлені в роботі, виконані на 447 зрізах пілоричного відділу СОШ щурів-самців 9, 15 та 20 міс., що відповідає віку людини 29-30, 43-44, 55-56 років відповідно. Тварини були розподілені на 6 груп: 1 – 3 групи – інтактний контроль відповідно віку, 4 – 6 групи – тварини, які знаходилися в умовах цілодобового освітлення на протязі 14 днів [22]. Дослідження виконано методом імуногістохімічного забарвлення з первинними антитілами до мелатоніну (Biorbyt, Великобританія) та вторинними Alexa Fluor 488 кон'югованими антитілами (Abscam, Великобританія). Ядра були забарвлені пропідію йодидом (Sigma, США). Флюоресценцію спостерігали на флюоресцентному 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). Підрахунок клітин виконаний на 1 поле зору площиною 0,06 мм<sup>2</sup>. Усі втручання та евтаназію тварин проводили згідно з вимогами комісії з біоетики НФаУ та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», що узго-

джуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) та першого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Статистичну достовірність оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу, достовірними вважали різницю при  $p < 0,05$  [23]. Використовували програмне забезпечення «Statistica V.8.0» та Excel.

**Результати дослідження та їх обговорення**

В ході проведеної роботи було встановлено, що MT-позитивно-мічені клітини переважно розташовані в базальних та середніх відділах трубчатих залоз СОШ, що співпадає з даними літератури щодо розташування ентерохромафінних клітин (ЕС-клітин) [24] та 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. Наявність клітин відмінних за морфологічною будовою дозволяє припустити можливість різної їх функції в захисті СОШ при пошкодженнях різної етіології.

За результатами підрахунку клітин (табл.) в групі контролю нами виявлено достовірне ( $p \leq 0,05$ ) зниження кількості MT-позитивно-мічених клітин у щурів-самців віком 20 міс. на 30% в порівнянні з 9 міс. та на 41% відносно щурів-самців віком 15 міс. При цьому кількість великих клітин з грануляцією (3 тип) у щурів-самців віком 20 міс збільшилась на 30% відносно до 9 та 15 місячних самців.

Таблиця  
Кількість MT-позитивно-мічених клітин у щурів-самців різного віку

Групи	Вік тварин		
	9 міс. (n=76)	15 міс. (n=69)	20 міс. (n=83)
Контроль			
1 тип	40%	27%	50%
2 тип	47%	60%	7%
3 тип	13%	13%	43%
Всього клітин	<b>43,25±2,96</b>	<b>51,38±2,71*</b>	<b>30,45±1,36*/^</b>
Десинхроноз			
	9 міс. (n=64)	15 міс. (n=106)	20 міс. (n=56)
1 тип	86%	76%	41%
2 тип	11%	15%	8%
3 тип	3%	9%	51%
Всього клітин	<b>30,48±2,84*</b>	<b>33,01±1,93*</b>	<b>22,09±1,51*/^*</b>

Примітка: \*  $p \leq 0,05$  – відносно самців віком 9 міс.;

^  $p \leq 0,05$  – відносно самців віком 15 міс.; \*  $p \leq 0,05$  – відносно групи контролю; n – кількість полей зору.

Отримані дані можуть свідчити що з віком можливе зниження вмісту мелатоніну в загальному пулі за рахунок чисельного зменшення популяції ентерохромафінних клітин, а не за рахунок зменшення його вмісту в самих ентерохромафінних клітинах. Також звертає на себе увагу достовірно нижчий рівень MT-позитивно-мічених

клітин у щурів віком 9 місяців, які, як відомо, мають вищий рівень статевої активності, в порівнянні з 15 місячними щурами-самцями. Дані спостереження дозволяють припустити, що зменшення кількості клітин, в яких синтезується мелатонін в період високої статевої активності, створює умови для формування принципово ін-

ших взаємовідносин дифузної нейроендокринної системи та гіпоталамо-гіпофізарно-гонадного комплексу, які супроводжують посилення гормонопродуруючої активності гонад, що співпадає з даними літератури про вплив мелатоніну на статевий розвиток і репродукцію [25].

При десинхронозі загальна кількість МТ-позитивно-мічених клітин достовірно ( $p \leq 0,05$ ) зменшується у щурів усіх вікових груп на 30%, 36% та 27% відповідно. При цьому зменшення кількості клітин в віковій групі 9 міс. відбувається за рахунок клітин 2 та 3 типів на 36% та 10% відповідно. Кількість клітин 1 типу при десинхронозі у щурів 9 міс. збільшується більш ніж в 2 рази і складає 86%. Подібні зміни спостерігаються у щурів віком 15 міс., а саме зменшення клітин 2 типу на 45%. Достовірно в 2,8 рази збільшується кількість дрібних клітин. Навпаки у щурів віком 20 міс. на тлі десинхронозу виявлено збільшення кількості клітин 3 типу на 8% відсотків відносно контролю.

Згідно даних літератури [2] порушення світових ритмів є пусковим моментом, який призводить на початкових етапах до виникнення десинхронозу, а згодом до органічної патології: виразкових уражень шлунка, бронхіальної астми, депресії та інших. Підвищення кількості МТ-позитивно-мічених клітин типу 3 у щурів віком 20 міс, та навпаки їх значне зниження у щурів віком 9 та 15 міс. дозволяє припустити, що саме ці клітини виконують місцеву захисну функцію СОШ шляхом паракринного вивільнення мелатоніну на її поверхню та може бути причиною більш високого рівня захворюваності на виразкову хворобу у чоловіків віком від 20 до 40 років [26].

### Висновки

1. На основі проведеного імуногістохімічного дослідження СОШ у щурів-самців різного віку встановлено, що десинхроноз призводить до зменшення загальної кількості МТ-позитивно-мічених клітин у щурів усіх вікових груп.

2. У щурів віком 9 та 15 міс. зменшення кількості МТ-позитивно-мічених клітин відбувається за рахунок зменшення кількості клітин 2 та 3 типу – великі клітини з грануляцією та без неї, а у щурів 20 міс. переважно за рахунок дрібних клітин з незначним підвищенням великих клітин з грануляцією.

### Перспективи подальших наукових досліджень

В подальшому планується провести дослідження рівнів мелатоніну в плазмі крові на тлі десинхронозу у щурів різних вікових груп.

### Література

- Семичева Т.В. Эпифиз: современные данные о физиологии и патологии / Т.В. Семичева, А.Ю. Гарибашвили // Проблемы эндокринологии – 2000. – № 4. – С. 38–45.
- Анисимов В.Н. Мелатонин роль в организме, применение в клинике / В.Н. Анисимов – СПб. : Изд-во «Система», 2007. – 40 с.
- Арутюнян А.В. Полифункциональное антиоксидантное действие мелатонина / А.В. Арутюнян, Л.С. Козина // 50 лет мелатонину:

итоги и перспективы исследований : всерос. науч.-практ. конф. : мат. конф. – СПб, 2008. – С 4–5.

- Anisimov V.N. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen / V.N. Anisimov, I.G. Popovaich, M.A. Zabezhinski [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta. – 2006. – Vol. 1757, N 5 – 6. – P. 573–589.
- Литвиненко Г.И. Хронофармакологические свойства мелатонина / Г.И. Литвиненко // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30, № 6. – С. 82–88.
- Князькин И.В. Нейроэндокринология мужской половой системы, плаценты и эндометрия / И.В. Князькин, И.М. Кветной, П.Н. Зезюлин, С.В. Филиппов. – СПб. : Деан, 2007. – 191 с.
- Опарин А.А. Мелатонин и заболевания желудочно-кишечного тракта / А.А. Опарин, О.Е. Шаповалова, Ю.И. Двояшкина, Н.В. Лаврова // Международный медицинский журнал. – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 68–72.
- Кветной И.М. Экстрапинеальный мелатонин: роль в хронобиологии и хрономедицине / И.М. Кветной // Вестник РУДН. – 2012. – № 7. – С. 126.
- Бондаренко Л.А. Некоторые гормональные механизмы ускоренного старения при гипопинеализме / Л.А. Бондаренко // Достижения та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології : наук.-практ. конф. Чотирнадцять Данилевські читання : мат. конф. – Харків, 2015. – С. 14–20.
- Костенко Е.В. Десинхронизация как один из важнейших факторов возникновения и развития цереброваскулярных заболеваний / Е.В. Костенко, Т.М. Малевич, Н.А. Разумов // Лечебное дело. – 2013. – № 2. – С. 104–116.
- Князькин И.В. Пинеальная железа и экстрапинеальные источники мелатонина в висцеральных органах при естественном старении человека / И. В. Князькин // Успехи геронтологии. – 2008. – Т. 21, № 1. – С. 83–85.
- Jain P. Melatonin and its correlation with testosterone in polycystic ovarian syndrome / P. Jaine, M. Jain, C. Haldar [et al.] // Journal of Human Reproductive Sciences. – 2013. – Vol. 6, N 4. – P. 253 – 258.
- Губина-Вакулик Г.И. Длительное круглосуточное освещение как фактор ускоренного старения пинеальной железы / Г.И. Губина-Вакулик, Л.А. Бондаренко, Н.Н. Сотник // Успехи геронтологии. – 2007. – Т. 20, № 1. – С. 92–95.
- Князькин И.В. Мелатонин, старение и опухоли предстательной железы / И.В. Князькин // Успехи геронтологии. – 2008. – Т. 21, № 1. – С. 74–79.
- Анисимов В.Н. Старение женской репродуктивной системы и мелатонин / В.Н. Анисимов, И.А. Виноградова. – СПб. : Изд-во «Система», 2008. – 44 с.
- Шурлыгина А.В. Влияние экспериментального десинхронизации на органы иммунной системы у крыс WAG и HISAГ / А.В. Шурлыгина, Е.В. Мельникова, Н.Г. Пантелеева [и др.] // Бюллетень эксл. биол. и мед. – 2013. – Т. 155, № 5. – С. 611–614.
- Bubenik G.A. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance / G.A. Bubenik // Digestive Diseases and Sciences. – 2002. – Vol. 47, N 10. – P. 2336–2348.
- Laine L. Gastric mucosal defens and cytoprotection: bench to bedside / L. Laine, K. Takeuchi, A. Tamawski // Gastroenterology. – 2008. – N 135. – P. 41–60.
- Осадчук М.А. Роль агуд-системы желудка в прогрессировании хронического хеликобактерного гастрита / М.А. Осадчук, А.А. Сибиряев, Н.В. Киреева, И.М. Кветной // Клиническая медицина. – 2013. – Т. 91, № 5. – С. 42–45.
- Осадчук А.М. Совершенствование терапии ГЭРБ: клинические, эндоскопические и иммунохимические особенности вмешательства / А.М. Осадчук, М.Г. Палушкина, И.Л. Давыдкин, И.М. Кветной // Медицинский альманах. – 2013. – № 1 (25). – С. 32–36.
- Звягинцева Т.Д. Возникновение хронических эрозий желудка с позиции нарушения функциональной морфологии энтерохромаффинных клеток диффузной эндокринной системы / Т.Д. Звягинцева, Я.К. Гаманенко // Сучасна гастроентерологія. – 2011. – № 1(57). – С. 53–57.
- Шурлыгина А.В. Влияние экспериментального десинхронизации на иммунотоксичность бенз(а)пирена у мышей (СВАХС57BL)F1 / А.В. Шурлыгина, С.В. Мичурина, Л.В. Вербицкая [и др.] // Бюллетень эксл. биол. и мед. – 2005. – № 2. – С. 223–226.
- Методы статистической обработки медицинских данных: метод. рек. для ординаторов и аспирантов мед. учеб. заведений, науч. работников / А.Г. Кочетов, О.В. Лянж., В.П. Масенко [и др.]. – М. : РКНПК, 2012. – 42 с.
- Гистология, цитология и эмбриология / [Ю.И. Афанасьев, Н.А. Юрина, Е.Ф. Котовский и др.]; под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – М. : «Медицина», 2002. – 744 с.
- Srinivasan V. Melatonin and human reproduction: Shedding light on the darkness hormone / V. Srinivasan, W.D. Spence, S.R. Pandi-Perumal [et al.] // Gynecological Endocrinology. – 2009. – Vol. 25, N 12. – P. 779–785.
- Клинические рекомендации. Гастроэнтерология / под ред. В.Т. Ивашкина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 208 с.

**References**

1. Semicheva T.V. Jepifiz: sovremennye dannye o fiziologii i patologii / T.V. Semicheva, A.Ju. Garibashvili // Problemy jendokrinologii – 2000. – № 4. – S. 38–45.
2. Anisimov V.N. Melatonin rol' v organizme, primenenie v klinike / V.N. Anisimov – SPb.: Izd-vo «Sistema», 2007. – 40 s.
3. Arutunjan A.V. Polifunktional'noe antioksidantnoe dejstvie melatonina / A.V. Arutunjan, L.S. Kozina // 50 let melatoninu: itogi i perspektivy issledovanij : vseros. nauk.-prakt. konf. : mat. konf. – SPb, 2008. – S 4–5.
4. Anisimov V.N. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen / V.N. Anisimov, I.G. Popovaich, M.A. Zabezhinski [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta. – 2006. – Vol. 1757, N 5 – 6. – P. 573–589.
5. Litvinenko G.I. Hronofarmakologicheskie svojstva melatonina / G.I. Litvinenko // Bjuleten' SO RAMN. – 2010. – T. 30, № 6. – S. 82–88.
6. Knjaz'kin I.V. Nejrojendokrinologija muzhskoj polovoj sistemy, placenty i jendometrija / I.V. Knjaz'kin, I.M. Kvetnoj, P.N. Zezuljin, S.V. Filippov. – SPb.: Dean, 2007. – 191 s.
7. 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. – T. 16, № 4. – S. 68–72.
8. Kvetnoj I.M. Jekstrapineal'nyj melatonin: rol' v hronobiologii i hronomedicine / I.M. Kvetnoj // Vestnik RUDN. – 2012. – №.7. – S. 126.
9. Bondarenko L.A. Nekotorye gormonal'ne mehanizmy uskorenogo starenija pri gipopinealizme / L.A. Bondarenko // Dosjagnennja ta perspektivi eksperimental'noi i klinichnoi endokrinologii : nauk.-prakt. konf. Chotirnadjati Danilevs'ki chitannja : mat. konf. – Harkiv, 2015. – S. 14–20.
10. Kostenko E.V. Desinhronoz kak odin iz vazhnejshih faktorov vzniknovenija i razvitija cerebrovaskuljarnyh zabolevanij / E.V. Kostenko, T.M. Malevich, N.A. Razumov // Lechebnoe delo. – 2013. – № 2. – S. 104–116.
11. Knjaz'kin I.V. Pineal'naja zheleza i jekstrapineal'nye istochniki melatonina v visceral'nyh organah pri estestvennom starenii cheloveka / I. V. Knjaz'kin // Uspehi gerantologii. – 2008. – T. 21, № 1. – S. 83–85.
12. Jain P. Melatonin and its correlation with testosterone in polycystic ovarian syndrome / P. Jaine, M. Jain, C. Haldar [et al.] // Journal of Human Reproductive Sciences. – 2013. – Vol. 6, N 4. – P. 253 – 258.
13. Gubina-Vakulik G.I. Dlitel'noe kruglosutochnoe osveshhenie kak faktor uskorenogo starenija pineal'noj zhelezy / G.I. Gubina-Vakulik, L.A. Bondarenko, N.N. Sotnik // Uspehi gerontologii. – 2007. – T.20, № 1. – S. 92–95.
14. Knjaz'kin I.V. Melatonin, starenie i opuholi predstatel'noj zhelezy / I.V. Knjaz'kin // Uspehi gerontologii. – 2008. – T. 21, № 1. – S. 74–79.
15. Anisimov V.N. Starenie zhenskoi reproduktivnoj sistemy i melatonin / V.N. Anisimov, I.A. Vinogradova. – SPb.: Izd-vo «Sistema», 2008. – 44 s.
16. Shurlygina A.V. Vlijanie jeksperimental'nogo desinhronoza na organy immunoj sistemy u kryz WAG i NISAG / A.V. Shurlygina, E.V. Mel'nikova, N.G. Panteleeva [i dr.] // Bjulleten' jeksp. biol. i med. – 2013. – T. 155, № 5. – S. 611–614.
17. Bubenik G.A. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance / G.A. Bubenik // Digestive Diseases and Sciences. – 2002. – Vol. 47, N 10. – P. 2336–2348.
18. Laine L. Gastric mucosal defens and cytoprotection: bench to bedside / L. Laine, K. Takeuchi, A. Tamawski // Gastroenterology. – 2008. – N 135. – P. 41–60.
19. Osadchuk M.A. Rol' apud-sistemy zheludka v progressirovanii hronicheskogo helikobakter'nogo gastrita / M.A. Osadchuk, A.A. Sibirjaev, N.V. Kireeva, I.M. Kvetnoj // Klinicheskaja medicina. – 2013. – T. 91, № 5. – S. 42–45.
20. Osadchuk A.M. Sovershenstvovanie terapii GJeRB: klinicheskie, jendoskopicheskie i immunohimicheskie osobennosti vmeshatel'stva / A.M. Osadchuk, M.G. Palushkina, I.L. Davydkin, I.M. Kvetnoj // Medicinskij al'manah. – 2013. – № 1 (25). – S. 32–36.
21. Zvjaginceva T.D. Vozniknovenie hronicheskijh jerozij zheludka s pozicii narushenija funkcional'noj morfologii jenterohromaffinnyh kletok diffuznoj jendokrinnoj sistemy / T.D. Zvjaginceva, Ja.K. Gamanenko // Sucasna gastroenterologija. – 2011. – № 1(57). – S. 53–57.
22. Shurlygina A.V. Vlijanie jeksperimental'nogo desinhronoza na immunotoksichnost' benz(a)pirena u myshej (SVAHS57BL)F1 / A.V. Shurlygina, S.V. Michurina, L.V. Verbitskaja [i dr.] // Bjulleten' jeksp. biol. i med. – 2005. – № 2. – S. 223–226.
23. Metody statisticheskoi obrabotki medicinskijh dannyh: metod. rek. dlja ordinatorov i aspirantov med. ucheb. zavedenij, nauch. rabotnikov / A.G. Kochetov, O.V. Ljang., V.P. Masenko [i dr.]. – M.: RKNPK, 2012. – 42 s.
24. Gistologija, citologija i jembiologija / [Ju.I. Afanas'ev, N.A. Jurina, E.F. Kotovskij i dr.]; pod red. Ju.I. Afanas'eva, N.A. Jurinoj. – M.: «Medicina», 2002. – 744 s.
25. Srinivasan V. Melatonin and human reproduction: Shedding light on the darkness hormone / V. Srinivasan, W.D. Spence, S.R. Pandi-Perumal [et al.] // Gynecological Endocrinology. – 2009. – Vol. 25, N 12. – P. 779–785.
26. Klinicheskie rekomendacii. Gastrojenterologija / pod red. V.T. Ivashkina. – M.: GJeOTAR-Media, 2008. – 208 s.

**Реферат**

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ МЕЛАТОНИН-ПОЛОЖИТЕЛЬНО-МЕЧЕНЫХ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ДЕСИНХРОНОЗЕ У КРЫС-САМЦОВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Гнатюк В.В., Кононенко Н.Н., Божок Г.А.

Ключевые слова: иммуногистохимия, мелатонин, желудок, десинхроноз, возраст.

Известно, что мелатониндефицит приводит к развитию морфофункциональных изменений в тканях и заболеваниям внутренних органов. Целью нашего исследования было изучение состояния мелатонин-положительно-меченых клеток слизистой оболочки желудка у крыс-самцов разного возраста на фоне десинхроноза. Результаты, представленные в работе, выполнены на образцах пилорического отдела слизистой оболочки желудка крыс-самцов в возрасте 9, 15 и 20 мес. методом иммуногистохимического окрашивания. В ходе проведенной работы было установлено, что мелатонин-положительно-меченые клетки преимущественно расположены в базальных и средних отделах трубчатых желез слизистой оболочки желудка и представлены тремя типами клеток. По результатам подсчета клеток установлено, что при десинхронозе общее количество мелатонин-положительно-меченых клеток достоверно уменьшается у крыс-самцов всех возрастных групп. У крыс в возрасте 9 и 15 мес. уменьшение количества МТ-положительно-меченых клеток происходит за счет уменьшения количества клеток 2 и 3 типа – большие клетки с грануляцией и без нее, а у крыс 20 мес. в основном за счет мелких клеток с незначительным повышением количества крупных клеток с грануляцией.

**Summary**

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF THE STATE OF MELATONIN-POSITIVELY-LABELED CELLS IN GASTRIC MUCOSA OF MALE RATS OF DIFFERENT AGES UNDER DESYNCHRONOSIS

Hnatiuk V.V., Kononenko N. N., Bozhok G. A.

Key words: melatonin-positively-labeled cells, gastric mucosa, male rats, desynchronization.

It is known that melatonin deficiency leads to morphofunctional alterations in tissues and to diseases of internal organs. The aim of our study was to assess the state of the melatonin-positively-labeled cells in the gastric mucosa of male rats of different ages under desynchronization. The results presented in the work were performed on samples of pyloric gastric mucosa of male rats aged 9, 15 and 20 months by immunohistochemical staining. The results of the investigation demonstrated that the melatonin-positively-labeled cells

were located primarily in the basal and middle sections of the tubular glands of gastric mucosa and represented by three types of cells. The cell count showed the total number of melatonin-positively-labeled cells was reliably reduced in male rats of all age groups under desynchronization. In rats aged 9 and 15 months, the number of MT-positively-labeled cells reduced due to a decrease in the number of the cells of the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> types – large cells with and without granulation; and in rats aged of 20 months this occurred mainly due to small cells with little increase in the number of large cells with granulation.

УДК: 616.379-008.64-091.8

**Головацький А.С., Борис Р.Я.**

## **МІКРОСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ШКІРИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ**

Ужгородський національний університет

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

*З метою встановлення особливостей структури шкіри в динаміці перебігу експериментального цукрового діабету проведено дослідження на 32 статевозрілих білих щурах-самцях. Гістологічні зрізи шкіри фарбували гематоксиліном і еозином за загальноприйнятою методикою. Для фотографування мікропрепаратів використовували комп'ютерну систему «Aver Media». Результати дослідження свідчать, що на тлі експериментального цукрового діабету у шкірі досліджуваних тварин відбуваються закономірні морфологічні зміни структурних компонентів шкіри та її похідних, посилення кератинізації, стоншення гіподерми, згладження сосочкового шару та його інфільтрація поліморфноядерними лейкоцитами, деструктивні зміни у волосяних фолікулах та сальних залозах. Дані проведеного дослідження можуть бути використані у практичній медицині при діагностиці та лікуванні патології шкіри при цукровому діабеті.*

Ключові слова: шкіра, мікроструктура, цукровий діабет, експеримент.

*Робота є фрагментом НДР «Структура органів та їх кровоносного русла в онтогенезі, під дією лазерного опромінення та фармацевтичних засобів, при порушеннях кровопостачання, реконструктивних операціях та цукровому діабеті» (номер державної реєстрації 0110U001854).*

Цукровий діабет залишається базовою патологією для розвитку складних супутніх захворювань та ускладнень, ранньої інвалідності та смертності [1, 3–5, 11, 12]. У 2000 році кількість хворих на діабет становила 175 млн., згідно з прогнозом міжнародного інституту діабету (Мельбурн) та інших дослідників на 2030 рік ця цифра складатиме 300 млн. чол. [9, 10]. Щодо України, захворюваність на цукровий діабет, як і в інших країнах світу, щорічно зростає [8].

За даними літератури, ураження шкірних покривів та, на пізніх стадіях, діабетична стопа – одне із найбільш важких проявів цукрового діабету, що діагностується заздалегідь [2, 3, 13]. Проблема морфологічних змін шкіри при цукровому діабеті до сьогодні залишається відкритою, актуальною та важливою як для морфологів так і для практикуючих дерматологів [6, 7, 14, 15].

### **Мета дослідження**

Встановлення особливостей структурних змін шарів шкіри за умов цукрового діабету в експерименті.

### **Матеріали та методи дослідження**

У білих щурів інсулінзалежну форму цукрового діабету I типу моделювали одноразовим внутрішньоочередним введенням стрептозоцину фірми «Sigma» з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла тварини (приготованому на 0,1М цитратному буфері, рН = 4,5). Розвиток цукрового діабету впродовж 8 тижнів контролювали, спо-

стерігаючи за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили на тваринах з рівнем глюкози 13,00 ммоль/л і вище. Матеріал для дослідження при експериментальній формі інсулінзалежного цукрового діабету забирали через 2, 4, 6, 8 тижнів від початку експерименту. Інтактні тварини відповідного віку складали контрольні групи.

Усіх тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, експерименти проведені у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЄЕС (1986), Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Тварин виводили з досліду шляхом передозування внутрішньоочередним наркозу з використанням тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/кг маси тіла тварини).

Як матеріал для гістологічного дослідження використовували некропрати шкіри із присередньої поверхні стегна та спини 32 статевозрілих білих щурів. Перед фіксацією матеріал промивали у теплому фізіологічному розчині. Фіксували матеріал у 10% розчині нейтрального формаліну впродовж 24 годин. Після фіксації матеріал промивали у проточній воді. Пронумеровані і зашиті у марлеві мішечки шматочки тканини промивали під водопровідною водою впродовж