

УДК 616-008.63:616.33-002.44: 612.6.057

В.В. Гнатюк,**Н.М. Кононенко**Національний фармацевтичний
університет, м. Харків**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА
РІВНЯ МЕЛАТОНІНУ В КРОВІ ТА
КІЛЬКОСТІ МЕЛАТОНІН-ПОЗИТИВНО-
МІЧЕНИХ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ
ШЛУНКА У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ТА ВІКУ
З ВИРАЗКАМИ НА ТЛІ ДЕСИНХРОНОЗУ****Ключові слова:** мелатонін, десинхроноз, виразка шлунка, мелатонін-продукуючі клітини, стать, вік.**Резюме.** Проведено вивчення впливу десинхронозу та виразкового ураження шлунка на рівень мелатоніну в крові та кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів різної статі та віку, а саме 9, 15 та 20 міс., що відповідає віку людини 29-30, 43-44 та 55-56 роки. Встановлено, що на тлі десинхронозу та виразкового ушкодження слизової оболонки шлунка відбувається зниження рівня мелатоніну в крові та кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин як у щурів-самців, так і у щурів-самок усіх досліджених вікових груп. При цьому рівень мелатоніну в крові та кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів-самців нижчі порівняно з цими показниками у щурів-самок. Найбільші зміни в досліджуваних показниках відбуваються у щурів-самців у віці 9 міс., що відповідає віку людини 29-30 років.**Вступ**

Історія вивчення мелатоніну нараховує понад 50 років, але інтерес до цього гормону 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 функціях організму: сон, діяльність серцево-судинної, ендокринної, імунної систем, шлунково-кишкового тракту [1, 7]. Центральним органом, де відбувається синтез мелатоніну є пінеальна залоза, а головним джерелом екстрапінеального мелатоніну, вважають ентерохромафінні клітини шлунково-кишкового тракту [8, 12, 17]. 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 у тканинах та захворювань внутрішніх органів [9, 10, 19]. Враховуючи високий рівень захворюваності на виразкову хворобу, особливо у чоловіків працездатного віку, увагу вчених приваблює дослідження ролі мелатоніну в патогенезі ерозивних та виразкових уражень шлунка [6, 11, 16, 22]. Існують поодинокі роботи, де відокремлено розглядаються зміни рівня мелатоніну в крові у хворих з виразками шлунка або дванадцятипалої кишки [18, 20, 21] та стан ентерохромафінних клітин слизової оболонки шлунка (СОШ) як головного джерела

синтезу екстрапінеального мелатоніну [4, 5]. При цьому наукових праць, де б одночасно досліджувалися рівень мелатоніну в крові та кількість мелатонін-продукуючих клітин СОШ у людини або тварин різної статі в умовах цілодобового освітлення та виразкового пошкодження СОШ, немає.

Мета дослідження

Вивчити вплив десинхронозу та виразкового ураження шлунка на рівень мелатоніну в крові та кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин СОШ у щурів різної статі та віку.

Матеріал і методи

Дослідження виконано на 72 щурах різної статі та віку 9, 15 та 20 міс., що відповідає віку людини 29-30, 43-44 та 55-56 роки, які були розподілені на 12 груп: 1-6-а групи - контрольні - щури різної статі (1-3-а щури-самці, 4-6-а - самки) та віку відповідно, 7-12-а групи - експериментальні - щури відповідної статі та віку з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу. Тварини контрольних груп протягом 2 тижнів утримувалися на стандартному харчовому раціоні та температурному режимі в умовах природного освітлення без впливу штучних джерел освітлення. Щури експериментальних груп протягом цього періоду знаходилися в умовах цілодобового освітлення з вільним доступом до їжі та води - стан десинхронозу [3]. На 15 добу експерименту тварини контрольних груп виводилися із експерименту із забо-

ром крові та зразків СОШ, а щурам експериментальних груп моделювали виразки шлунка методом спирто-преднізолонного ушкодження - внутрішньошлунково вводили преднізолон у дозі 20 мг/кг, що був розчинений в 80 % етиловому спирті в дозі 6 мл/кг [15]. Забір крові та зразків СОШ у тварин груп 7-12 проводили на 18-у добу експерименту. Визначення рівня мелатоніну в сироватці крові щурів виконували методом імуноферментного аналізу з використанням набору Melatonin ELISA ("IBL-International", Німеччина). Дослідження зразків СОШ виконано методом імуногістохімічного забарвлення з первинними антитілами до мелатоніну (Biorbyt, Великобританія) та вторинними Alexa Fluor 488 кон'югованими антитілами (Abcam, Великобританія). 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 та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986 р.) та першого Націо-

нального конгресу з біоетики (Київ, 2001). Статистичну достовірність оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу, достовірною вважали різницю при $p < 0,05$ [13]. Використовували програмне забезпечення "Statistica 7.0" та Excel.

Обговорення результатів дослідження

У ході проведеного дослідження встановлено, що під впливом цілодобового освітлення та виразкового ураження шлунка відбувається зниження рівня мелатоніну в крові в усіх експериментальних групах (табл.).

При цьому у самців він достовірно знижується відносно контролю у щурів віком 9 міс. на 67% ($p=1,2E-06$), 15 міс. - на 63% ($p=1,9E-06$) та на 67% ($p=4,7E-06$) у віці 20 міс., у щурів-самок це зниження було, відповідно, на 52% ($p=0,8E-06$), 47% ($p=0,001$) та 50% ($p=0,0003$).

Аналогічні зміни відбулися і в показниках кількості МПМК СОШ, а саме: на тлі десинхронозу та виразкового пошкодження шлунка кількість МПМК у щурів-самців відповідного

Таблиця

Рівень мелатоніну в крові у щурів різної статі з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу ($M \pm m$, пмоль/л, $n=6$)

Групи/вік	стать	9 міс.	15 міс.	20 міс
Контрольні	самці	286,8±8,9	292,8±10,3	249,5±13,5 ^{*/**}
	самки	289,5±10,0	258,6±21,2	183,2±13,1 ^{*/**/#}
Експериментальні	самці	93,9±16,3 [^]	109,1±15,7 [^]	83,3±13,1 [^]
	самки	137,6±9,8 ^{^/#}	138,2±16,3 [^]	92,1±10,8 ^{*/**/^}

Примітка: * $p < 0,05$ відносно щурів віком 9 міс., ** $p < 0,05$ відносно щурів віком 15 міс., ^ $p < 0,05$ відносно щурів контрольних груп, # $p < 0,05$ відносно щурів-самців

віку знизилася відносно показників контрольних груп на 61% ($p=2,4E-12$), 63% ($p=0,9E-10$) та 33% ($p=0,0002$) (рис. 1), у щурів-самок - на 48% ($p=0,4E-12$), 46% ($p=0,6E-10$) та 32% ($p=0,0006$), відповідно (рис. 2).

Таким чином, у ході проведеного дослідження було встановлено, що порушення ритму освітлення та пошкодження СОШ достовірно знижує рівень мелатоніну в крові як у самців, так і у самок. При цьому у щурів-самців експериментальних груп рівень мелатоніну в крові значно нижчий за рівень мелатоніну щурів-самок з різницею в 32% в віці 9 міс. ($p=0,04$), 21% ($p=0,2$) - в віці 15 міс. та 10% ($p=0,6$) у щурів віком 20 міс. Також звертає на себе увагу, що достовірна різниця, яка спостерігається між рівнями мелатоніну в контрольних групах, коли значення мелатоніну в сироватці крові старих щурів достовірно нижче, ніж у молодих та зрілих щурів, на тлі виразкового ура-

ження та десинхронозу зникає у щурів-самців, але зберігається у щурів-самок (табл.). І якщо відомості про віковий мелатонінодефіцит широко обговорюються в сучасній науковій літературі [2, 14], то отримані нами результати про відсутність такої достовірної вікової різниці в показниках мелатоніну в сироватці крові у щурів-самців на тлі виразкового пошкодження та десинхронозу дозволяють припустити розвиток нових механізмів взаємодії компонентів нейроендокринної системи саме у щурів-самців.

Вплив десинхронозу та виразкового ураження шлунка на кількість МПМК також відрізняється у щурів різної статі. У самців віком 9 та 15 міс. кількість МПМК достовірно нижча на 35% ($p=0,002$) та 30% ($p=0,01$) відносно кількості МПМК у самок відповідного віку.

Отже, у ході дослідження встановлено, що найбільш суттєві зміни рівня мелатоніну в крові

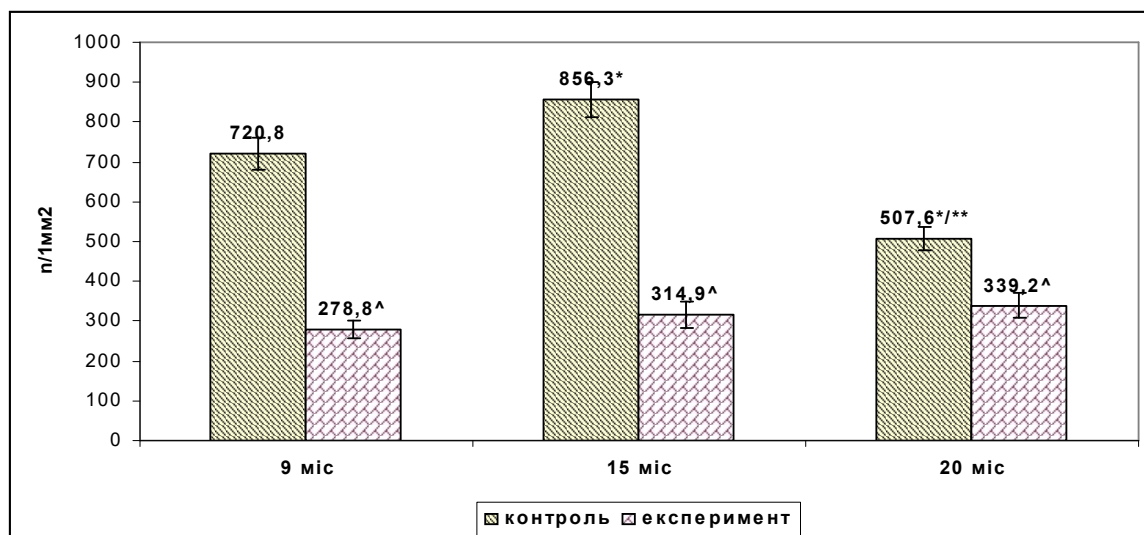


Рис. 1. Кількість МПМК у щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу
Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс., ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс., [^] $p \leq 0,05$ відносно щурів контрольних груп

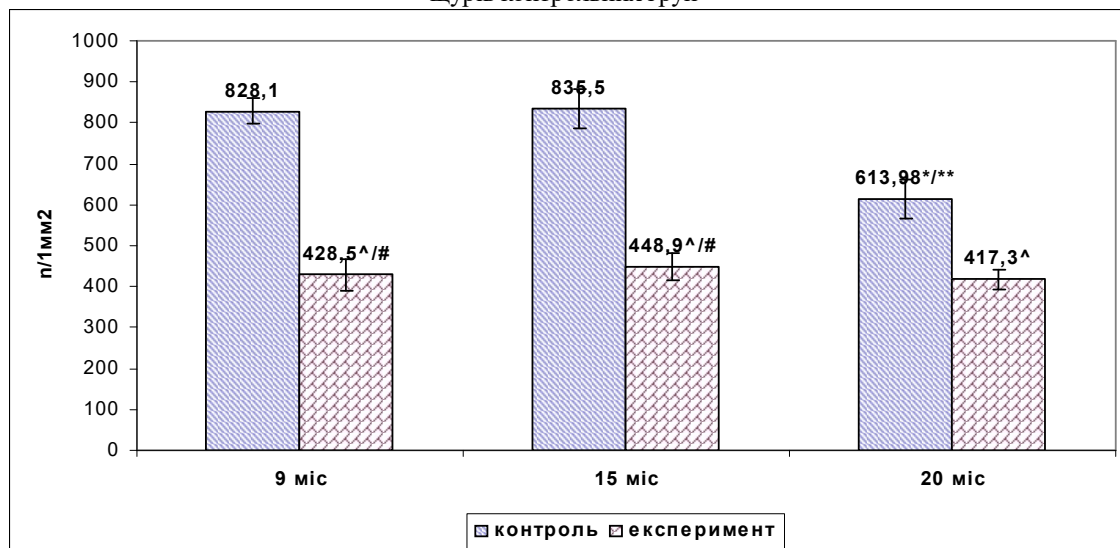


Рис. 2. Кількість МПМК у щурів-самок з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу
Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс., ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс., [^] $p \leq 0,05$ відносно щурів контрольних груп

та кількості МПМК спостерігаються у щурів-самців віком 9 міс., що відповідає віку людини 29-30 років. А наявність достовірної різниці відносно цих показників у щурів-самок дозволяє припустити участь чоловічих статевих гормонів, ймовірно тестостерону, в механізмах регуляції синтезу мелатоніну за певних умов.

Висновки

1. На тлі десинхронозу та виразкового ушкодження слизової оболонки шлунка відбувається зниження рівня мелатоніну в крові та кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин як у щурів-самців, так і у щурів-самок усіх досліджених вікових груп.

2. Рівень мелатоніну в крові та кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів-самців нижчі порівняно з цими показниками у щурів-са-

мок при впливі десинхронозу та виразкового ураження шлунка.

3. Найбільші зміни в досліджуваних показниках відбуваються у щурів-самців віком 9 міс., що відповідає віку людини 29-30 років.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується вивчити механізми взаємозв'язку між рівнями мелатоніну та тестостерону у щурів різної статі в різних експериментальних умовах - десинхроноз, виразкове ураження, виразкове ураження на тлі десинхронозу.

Література. 1. Арушанян Э.Б. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин - универсальный естественный адаптоген / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Успехи физиологических наук. - 2012. - Т. 43, № 3. - С. 82-100. 2. Бондаренко Л.А. Некоторые гормональные механизмы ускоренного старения при гипопинеализме / Л.А. Бондаренко [Материали наук.-прак. конф. "Чотирнадцяті Данилевські читання" // Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної

ендокринології - Харків, 2015. - С. 14-20. 3. Влияние экспериментального десинхроноза на органы иммунной системы у крыс WAG и НИСАГ / А.В. Шурлыгина, Е.В. Мельникова, Н.Г. Пантелеева [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и медицины. - 2013. - Т. 155, № 5. - С. 611-615. 4. Звягинцева Т.Д. Клетки APUD - системы слизистой оболочки желудка, их морфофункциональные особенности при хронических эрозиях / Т.Д. Звягинцева, Я.К. Гаманенко // Biomedical and Biosocial Anthropology. - 2008. - № 10. - С. 267-269. 5. Звягинцева Т.Д. Возникновение хронических эрозий желудка с позиции нарушения функциональной морфологии энтеромаффинных клеток диффузной эндокринной системы / Т.Д. Звягинцева, Я.К. Гаманенко // Сучас. гастроентерол. - 2011. - № 1(57). - С. 53-57. 6. Исламова Е.А. Возрастные особенности язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Е.А. Исламова // Саратов. науч.-мед. ж. - 2009. - Т. 5, № 4. - С. 569-571. 7. 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. 8. Кветной И.М. Экстрапинеальный мелатонин: роль в хрономедиологии и хрономедицине / И.М. Кветной // Вестн. РУДН. - 2012. - № 7. - С. 126. 9. Князькин И.В. Пинеальная железа и экстрапинеальные источники мелатонина в висцеральных органах при естественном старении человека / И. В. Князькин // Успехи геронтолог. - 2008. - Т. 21, № 1. - С. 83-85. 10. Костенко Е.В. Десинхроноз как один из важнейших факторов возникновения и развития цереброваскулярных заболеваний / Е.В. Костенко, Т.М. Малевич, Н.А. Разумов // Леч. дело. - 2013. - № 2. - С. 104-116. 11. Мелатонин и заболевания желудочно-кишечного тракта / А.А. Опарин, О.Е. Шаповалова, Ю.И. Двоязыкина, Н.В. Лаврова // Междунар. мед. ж. - 2010. - Т. 16, № 4. - С. 68-72. 12. Мендель В.Э. Мелатонин: роль в организме и терапевтические возможности. Опыт применения препарата Мелаксен в российской медицинской практике / В.Э. Мендель, О.И. Мендель // РМЖ. - 2010. - № 6. - С. 336-341. 13. 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. 14. Нормализующее влияние пептидов эпифиза на суточный ритм мелатонина у старых обезьян и людей пожилого возраста / О.В. Коркушко, Б.А. Лапин, Н.Д. Гончарова [и др.] // Успехи геронтолог. - 2007. - Т. 20, № 1. - С. 74-85. 15. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод, рекомендації / О.В. Стефанов. - К.: Видавничий дім "Авіцена", 2001. - С. 323. 16. Сырбу И.Ф. Дифференциальная диагностика гастродуоденальной язвы и острого панкреатита / И.Ф. Сырбу, Д.Ю. Рязанов, П.В. Новохатний // Запорож. мед. ж. - 2012. - № 1(70). - С. 35-36. 17. Федченко С. Н. Ультроструктурный анализ эндокриноцитов желудка крыс после ингаляционного воздействия парами толуола / С. Н. Федченко, Л. О. Галузина / Укр. морфол. альманах. - 2011. - Т. 9, № 1. - С. 135-138. 18. Bubenik G.A. Thrity four years the discovery of gastrointestinal melatonin / G.A. Bubenik // Journal of physiology and pharmacology. - 2008. - Vol.59, Supp. 2. - P. 23-51. 19. 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. 20. Konturek S.J. Melatonin in gastroprotection against stress-induced acute gastric lesions and in healing of chronic gastric ulcers / S.J. Konturek, P.C. Konturek, T. Brzozowski // Journal of physiology and pharmacology. - 2006. - Vol.57, Supp. 5. - P. 51-66. 21. Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (GIT) / S.J. Konturek, P.C. Konturek, I. Brzozowska [et al.] // Journal of physiology and pharmacology. - 2007. - Vol.58, Supp. 3. - P. 381-405. 22. 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, N 10. - P. 2650 - 2656.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЯ МЕЛАТОНИНА В КРОВИ И КОЛИЧЕСТВА МЕЛАТОНИН-ПОЛОЖИТЕЛЬНО-МЕЧЕННЫХ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА У КРЫС РАЗНОГО ПОЛА И ВОЗРАСТА С ЯЗВАМИ НА ФОНЕ ДЕСИНХРОНОЗА

В.В. Гнатюк, Н.Н. Кононенко

Резюме. Проведено изучение влияния десинхроноза и язвенного поражения желудка на уровень мелатонина в крови и количество мелатонин-положительно-меченных клеток слизистой оболочки желудка у крыс разного пола и возраста, а именно 9, 15 и 20 мес., что соответствует возрасту человека 29-30, 43-44 и 55-56 лет. Установлено, что на фоне десинхроноза и язвенного повреждения слизистой оболочки желудка происходит снижения уровня мелатонина в крови и количества мелатонин-положительно-меченных клеток как у крыс-самцов, так и у крыс-самок всех возрастных групп. При этом уровень мелатонина в крови и количество мелатонин-положительно-меченных клеток у крыс-самцов ниже в сравнении с этими показателями у крыс-самок. Наибольшие изменения в исследуемых показателях произошли у крыс-самцов в возрасте 9 мес., что соответствует возрасту человека 29-30 лет.

Ключевые слова: мелатонин, десинхроноз, язва желудка, мелатонин-продуцирующие клетки, пол, возраст.

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF MELATONIN LEVELS IN THE BLOOD AND THE AMOUNT OF MELATONIN-POSITIVE-LABELED CELLS IN THE GASTRIC MUCOSA IN RATS OF DIFFERENT SEX AND AGE WITH ULCERS AT DESYNCHRONOSIS

V.V. Hnatiuk, N.M. Kononenko

Abstract. We studied the influence of desynchronosis and ulcerative lesions of the stomach at the level of melatonin in the blood and the amount of melatonin-positive-labeled cells in the gastric mucosa in rats of different sex and age. The study was performed by the method of enzyme-linked immunosorbent and immunohistochemical staining in rats of different sexes and age - 9, 15 and 20 months corresponding to the human age of 29-30, 43-44, 55-56 years, respectively. It has been found that the level of melatonin in blood and amount of the amount of melatonin-positive-labeled cells decreases both male and female rats in all age groups at desynchronosis with gastric ulcer. The level of melatonin in the blood and the amount of melatonin-positive-labeled cells in male rats were lower in comparison with these parameters in female rats. The greatest changes in the studied parameters occurred in male rats at the age of 9 months corresponding to the age of a person 29-30 years.

Keywords: melatonin, desynchronosis, gastric ulcer, melatonin-producing cells, gender, age.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

Clin. and experim. pathol. - 2016. - Vol.15, №3 (57).-P.30-33.

Надійшла до редакції 1.08.2016

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

© В.В. Гнатюк, Н.М. Кононенко, 2016