

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ**

**Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису**

ГНАТЮК Валерія Валеріївна

УДК: 616.831.45:612.6.057:616.33-002

**ДИСЕРТАЦІЯ
ЦИРКАДУАЛЬНІ, ВІКОВІ ТА СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ
ЕПІФІЗАРНОГО ТА ЕКСТРАПІНЕАЛЬНОГО МЕЛАТОНІНУ
ПРИ ГАСТРАЛЬНИХ ВИРАЗКАХ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ В. В. Гнатюк

Науковий консультант:

Кононенко Надія Миколаївна,
доктор медичних наук, професор,
завідувач кафедри патологічної
фізіології НФаУ

Харків – 2017

АНОТАЦІЯ

Гнатюк В.В. Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну при гастральних виразках. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія» (011 – медицина). – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2017.

На сьогодні виразкова хвороба є найбільш поширеною недугою, на яку страждають від 5 до 15 % (в середньому 7–10 %) дорослого населення, вона займає третє місце після серцево-судинних і онкологічних захворювань. В Україні від виразкової хвороби страждає близько 12–15 % населення, причому 62–74 % з них – це люди працездатного віку. Виразкова хвороба – захворювання соціальне. В основі її виникнення та розвитку лежать різні фактори: від інфікування *Helicobacter pylori* до пов'язаних з професійною діяльністю людини чинників (робота в нічній час), напруження нервової та гормональної систем (стреси, негативні емоції), перевтомлення, порушення ритму сну та ін. В етіології та патогенезі виразкової хвороби дотепер залишаються питання, на які не дає відповіді жодна з існуючих теорій. В останнє десятиріччя сформувався новий погляд на розвиток виразкової хвороби, який важливу роль у патогенезі цієї недуги відводить порушенням біологічних ритмів різних фізіологічних процесів організму людини. При цьому важливе значення надається мелатоніну – основному гормону епіфіза, що має стосунок до регуляції багатьох фізіологічних та нейроендокринних функцій організму. Окрім шишкоподібної залози цей гормон синтезується клітинами дифузної нейроендокринної системи, а тому таку сполуку називають екстрапінеальним мелатоніном. Мелатонін епіфіза є основним водієм ритму, який визначає циркадні функції організму. Через це різноманітні зміни його секреції, що виходять за межі фізіологічних коливань, здатні призводити до неузгодженості як власних біологічних

ритмів організму між собою, так і ритмів організму з ритмами навколишнього середовища. Як внутрішній, так і зовнішній десинхронози можуть бути причинами різних патологічних процесів і супроводжувати хвороби органів шлунково-кишкового тракту, серцево-судинної, нервової, репродуктивної та імунної систем. Незважаючи на тривале вивчення мелатоніну науковцями світу, наукових праць, присвячених дослідженню статевих та вікових особливостей його синтезу при ураженнях шлунка, украй мало. Це стосується і праць у яких визначалися циркануальні рівні епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну та проводився аналіз його участі в механізмах розвитку різних патологічних процесів у внутрішніх органах, зокрема у шлунку. А тому, метою нашого дослідження стало з'ясування особливостей синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну та обґрунтування його ролі в гормональних та імунних механізмах розвитку виразкової хвороби шлунка у щурів різної статі та віку. Об'єктом дослідження були механізми розвитку та патогенетична корекція експериментальної виразки шлунка, а предметом – участь епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну і тестостерону в патогенезі виразкової хвороби шлунка у щурів різної статі та віку. Для досягнення поставленої мети і виконання необхідних для цього завдань застосовувалися патофізіологічні, морфометричні, гістологічні, біохімічні, імуноферментні, імуногістохімічні та статистичні методи наукових досліджень.

Експерименти були виконані на 552 нелінійних білих щурах різної статі та віку, а саме 3, 9, 15 та 20 міс, що відповідає віку людини 14, 29–30, 43–44, 55–56 років. Дослідження були проведені у 5 етапів.

На першому етапі вивчали вміст мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів різного віку та статі при різних експериментальних впливах – десинхронозі, виразковому ураженні слизової оболонки шлунка, виразковому ураженні на тлі десинхронозу. Також було проведено визначення циркануальних ритмів секреції мелатоніну та тестостерону. За результатами дослідження описано циркануальний ритм секреції мелатоніну

у щурів обох статей різного віку. Найменший рівень мелатоніну в крові припадав на осінь і весну, що свідчило про розвиток сезонного фізіологічного десинхронозу. Разом з тим найбільший вміст мелатоніну в крові був характерний для літнього і зимового періоду. Серед усіх досліджених вікових груп найвищий рівень мелатоніну в крові в усі сезони року як у самців, так і в самок виявляли у тварин 3-місячного віку, а найменший – у щурів віком 20 міс. Установлено, що на тлі світлового десинхронозу відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей усіх вікових груп. Максимальне зниження рівня мелатоніну при десинхронозі виявлене у щурів-самців віком 9 міс – на 31 % ($p \leq 0,05$) та у щурів обох статей віком 20 міс – на 23 % у самців та на 24 % у самок ($p \leq 0,05$) відносно контролю. При виразковому ураженні рівень мелатоніну в сироватці крові усіх вікових груп знизився у щурів-самців на 22–43 %, а у щурів-самок – на 21–23% щодо контролю ($p \leq 0,05$). При цьому найбільше зниження вмісту мелатоніну виявлене у щурів-самців віком 9 та 20 міс – на 39 % та 43 % відповідно ($p \leq 0,05$). Поєднання виразкового ураження слизової оболонки шлунка з десинхронозом призводить до зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові усіх вікових груп щурів відносно інтактних тварин, а також тварин з десинхронозом та тварин з виразковим ураженням слизової оболонки шлунка, особливо у щурів-самців віком 9 та 15 міс. Визначено циркануальний ритм секреції тестостерону у щурів-самців: в усіх вікових групах високий вміст гормону був характерний для осені, а низький – для зими. У щурів-самців найвищий рівень тестостерону встановлено в групах тварин віком 9 та 15 міс в осінній період ($7,57 \pm 0,53$ нмоль/л і $6,77 \pm 0,48$ нмоль/л), що збігається з періодом фізіологічного десинхронозу. При світловому десинхронозі та виразковому ураженні слизової оболонки шлунка відбувається достовірне підвищення вмісту тестостерону у щурів усіх вікових груп різної статі при максимальному рівні тестостерону у щурів-самців віком 9 та 15 міс (десинхроноз – $4,81 \pm 0,37$ нмоль/л і $5,09 \pm 0,33$ нмоль/л; виразкове ураження

5,95±0,76 нмоль/л і 5,81±0,40 нмоль/л відповідно). При виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу відбувається достовірне підвищення вмісту тестостерону відносно контролю у щурів-самців віком 3, 9 та 15 міс на 60 %, 82 %, 69 % відповідно, а у щурів-самок віком 9 міс – на 18 % ($p \leq 0,05$) з достовірною відмінністю між самцями та самками, що мали вік 9 та 15 міс.

На другому етапі нашого дослідження було проведено вивчення екстрапінельного джерела синтезу мелатоніну – мелатонін-продукуючі клітини слизової оболонки шлунка – методом імуногістохімічного забарвлення у щурів різного віку та статі, у різні сезони року, в різних відділах шлунка та при різних патологічних станах і процесах – десинхронозі, виразковому ураженні шлунка, виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу. Установлено, що мелатонін-позитивно-мічені клітини розташовані в базальних і середніх відділах трубчастих залоз слизової оболонки шлунка, вони представлені трьома типами клітин та знаходяться переважно у фундальному відділі. Кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різної статі восени нижча за кількість клітин узимку, при цьому кількість клітин у щурів-самців достовірно менша за кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів-самок в обидва сезони. При десинхронозі, виразковому ураженні шлунка та їх одночасному впливі відбувається достовірне зменшення загальної кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у різних відділах слизової оболонки шлунка у щурів різної статі та віку, з найбільшим зменшенням кількості таких клітин у групах самців віком 9 та 15 міс. При цьому переважають дрібні клітини в пілоричному відділі (1-й тип), клітини 1-го та 2-го типів – у фундальному на тлі зменшення кількості клітини 3-го типу в усіх відділах шлунка. Кількість апудоцитів фундального відділу у щурів-самців більш ніж на 20 % перевищує чисельність апудоцитів пілоричного відділу як у інтактних тварин, так і у щурів з пінеалектомією. Остання зумовлює компенсаторне підвищення кількості мелатонін-продукуючих клітин на 39 % у фундальному та на 35 % у пілоричному відділах шлунка.

На наступному етапі визначали кореляційний зв'язок між вмістом

мелатоніну і тестостерону при різних патологічних процесах та оцінювали його якісні і кількісні характеристики. За результатами досліджень встановлено негативний зворотний зв'язок між рівнем мелатоніну та тестостерону у статевозрілих щурів-самців у всі сезони року. Дуже сильну негативну кореляцію виявлено восени у щурів-самців віком 9 міс, сильну – у самців віком 15 міс. Світловий десинхроноз та виразкове ураження шлунка окремо та їх поєднання впливали на зв'язок між рівнями мелатоніну і тестостерону. Так, у щурів різної статі всіх вікових груп з'являлася негативна кореляція між цими показниками, при цьому вона була дуже сильною у щурів-самців віком 9 і 15 міс.

Відомо, що в патогенезі онкологічних, серцево-судинних захворювань, виразкової хвороби та багатьох інших недуг важливу роль відіграє окиснювальний стрес. Не менш важливе значення для адаптації організму та розвитку компенсаторних процесів має імунна система, діяльність якої підпорядкована принципу ритмічності протікання біологічних процесів. На сьогодні відомостей про те, як змінюються показники вільнорадикального окиснення та імунокомпетентні клітини при порушеннях синтезу мелатоніну залежно від віку та статі, у сучасній науковій літературі обмаль. Зважаючи на це, наступним етапом нашого дослідження стало вивчення стану вільнорадикального окиснення та імунокомпетентних клітин крові при десинхронозі та експериментальній виразці шлунка. Установлено, що десинхроноз є суттєвим чинником порушення окиснювального гомеостазу в організмі щурів різного віку та статі, але особливо у щурів-самців віком 9 міс. При десинхронозі підвищується рівень ТБК-реактивних (в 1,3 раза) при зниженні активності супероксиддисмутази та каталази крові (в 1,6 раза). Десинхроноз призводить до змін імунологічної реактивності організму, що підтверджується зниженням в крові відсоткового вмісту Т-лімфоцитів за рахунок Т-супресорів (в 1,3 раза) і підвищенням кількості В-лімфоцитів (в 1,2 раза). Це може свідчити про посилення гуморальної ланки імунної відповіді на антигени різної природи. При виразковому ураженні шлунка показники, що

характеризують субпопуляції лімфоцитів крові, мали протилежну спрямованість: при загальному зниженні рівня Т-лімфоцитів відбувалося підвищення кількості Т-супресорів (в 1,2 раза) зі зниженням рівня Т-хелперів (в 1,9 раза) та В-лімфоцитів (в 2 раза). Це свідчило про порушення як клітинної, так і гуморальної ланок імунітету експериментальних тварин.

Таким чином, результати попередніх етапів нашої роботи довели вплив дефіциту мелатоніну на розвиток гастральних виразок. Беручи до уваги той факт, що останнім часом збільшується число випадків *Helicobacter pylori*-негативних виразок, доцільним було дослідити стан слизової оболонки шлунка з виразковим ураженням при лікуванні відомим інгібітором протонної помпи омепразолом та екзогенним мелатоніном. Було проведено дослідження показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах слизової оболонки шлунка, виконано гістологічні, морфологічні та імуногістохімічні дослідження у тварин, яким вводили зазначені вище препарати на тлі експериментальної гастральної виразки. Установлено, що додавання до стандартної терапії омепразолом екзогенного мелатоніну веде до суттєвого покращення динаміки показників окиснювального гомеостазу, послаблює розвиток оксидативного стресу, пригнічує цитоліз, зменшує кількість і глибину виразкових дефектів за рахунок стимуляції процесів проліферації мелатонін-продукуючих клітин, мукоїдного синтезу та нормалізації місцевого кровотоку.

За результатами досліджень уперше кількісно оцінено вміст епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну і тестостерону в щурів різної статі та віку в різні сезони року, при гастральних виразках і десинхронозі. Уперше досліджено синтез епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну та чоловічого статевого гормону у щурів різного віку та статі з виразками шлунка на тлі десинхронозу та пінеалектомії. Вивчено функціональну морфологію мелатонін-імунопозитивних клітин слизової оболонки шлунка в нормі, при десинхронозі, гастральній виразці та пінеалектомії. Експериментально доведено позитивний вплив екзогенного мелатоніну на

динаміку репаративних процесів та патогенетично обґрунтовано доцільність його застосування при комплексній терапії виразкової хвороби.

За матеріалами дисертації опубліковано 34 наукові роботи, зокрема 21 стаття, з яких 3 статті – у виданнях, внесених до наукометричної бази SCOPUS, 14 статей – у наукових фахових виданнях України, 4 статті – у наукових зарубіжних виданнях медичного напрямку, 13 тез – у матеріалах конференцій, конгресів.

Ключові слова: мелатонін, епіфіз, біоритми, виразка шлунка, тестостерон, стать, вік.

Список публікацій здобувача.

1. Кононенко Н. М. Гістологічне та морфометричне дослідження слизової оболонки шлунка щурів після пінеалектомії / Н. М. Кононенко, В. В. Гнатюк // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2013. – № 2, т. II (32-II). – С. 99–101.

2. Гнатюк В. В. Особенности синтеза иммунокомпетентных клеток у крыс с гастральными язвами при световом десинхронозе / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вестник КАЗНМУ. – 2013. – № 5 (1). – С. 81–83

3. Гнатюк В. В. Гендерні та вікові особливості вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту при десинхронозі / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2014. – Т. 18, № 2. – С. 363–366.

4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в щурів-самців різного віку при виразкових ураженнях шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Патологія. – 2015. – № 2 (34). – С. 31–34.

5. Гнатюк В. В. Дослідження циркануальних ритмів синтезу мелатоніну в сироватці крові щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2015. – № 3, т. 1 (41-I). – С. 117–123.

6. Гнатюк В. В. Порівняльна характеристика стану мелатонін-позитивно-мічених клітин шлунка у щурів різної статі на тлі десинхронозу /

В. В. Гнатюк // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стомат. академії. – 2015. – Т. 15, № 3 (51), Ч. 1. – С. 165–167.

7. Гнатюк В. В. Імуногістохімічне дослідження стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка при десинхронозі у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стомат. академії. – 2015. – Т. 15, № 4 (52). – С. 216–220.

8. Гнатюк В. В. Дослідження рівнів мелатоніну в сироватці крові у щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Світ медицини та біології. – 2015. – № 4 (54). – С. 106–108.

9. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.

10. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronosis in rats / V. Hnatiuk, N. Kononenko, T. Kozub, V. Chikitkina, L. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – No 6 (255). – P. 99–104.

11. Гнатюк В. В. Рівень мелатоніну у щурів-самців різного віку з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2016. – № 3 (45). – С. 132–137.

12. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

13. Гнатюк В. В. Дослідження кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різного віку та статі з виразковим ураженням шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Експериментальна і клінічна медицина. – 2016. – № 3(72). – С. 14–17.

14. Гнатюк В. В. Дослідження екстрапінеального джерела синтеза мелатоніну у щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі

десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Медицина сегодня и завтра. – 2016. – № 1 (70). – С. 10–14.

15. Hnatiuk V. V. The study of the relationship between the levels of melatonin in the blood serum and melatonin-positive-labeled cells in ulcerative lesions of the stomach in male rats of different age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol.6, № 9. – P. 524–530.

16. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу на рівень мелатоніну крові та екстра-пінеальні джерела синтезу мелатоніну у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник морської медицини. – 2016. – № 3 (72). – С. 41–47.

17. Гнатюк В. В. 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 / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2016. – Т. XV, №3 (57). – С. 30–33.

18. Гнатюк В. В. Дослідження рівня тестостерону у щурів різної статі та віку на тлі десинхронозу та виразкового ураження шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, №4 (56), Ч. 3. – С. 35–38.

19. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, No 10. – P. 534–546.

20. Hnatiuk V. V. Characteristics of melatonin-positive-labeled cells of gastric mucosa amount in rats of different sexes in autumn and winter / V. V. Hnatiuk // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 11. – P. 622–628.

21. Kononenko N. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age /

N. Kononenko V. Hnatiuk, // *Malaysian Journal Pathology*. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.

22. Гнатюк В. В. Стан системи пероксидації ліпідів та антиоксидантного захисту в слизовій оболонці шлунка при виразках на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // *Бюллетень XIII чтений им. Подвысоцкого : тези доп.*, 25–26 трав. 2014 р – Одесса, 2014. – С. 69.

23. Гнатюк В. В. Дослідження мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунка у щурів різного віку та статі / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // *Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю*, 2–3 берез. 2015 р. – Харків, 2015. – С. 44–45.

24. Гнатюк В. В. Порівняльна характеристика рівнів мелатоніну у щурів різної статі та віку в осінньо-весняний період / В. В. Гнатюк // *Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю*, 10–11 берез. 2016 р. – Харків, 2016. – С. 22–23.

25. Гнатюк В. В. Циркануальний ритм синтезу тестостерону у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк // *Бюллетень XV чтений им. Подвысоцкого: тези доп.*, 26–27 мая 2016 г. – Одесса, 2016. – С. 52–53.

26. Гнатюк В. В. Рівень мелатоніну у сироватці крові щурів за умов виразкового ураження шлунка / В. В. Гнатюк // *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2016 : всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю*, 12–13 травня 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С.15–16.

27. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу та виразкового ураження шлунка на рівень мелатоніну в сироватці крові у щурів-самок різного віку / В. В. Гнатюк // *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції : тези доповідей VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю*, 5–7 жовтня 2016 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2016. – С. 59.

28. Гнатюк В. В. Визначення рівнів тестостерону у щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // *Медична наука в практику*

охорони здоров'я : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених, 9 грудня 2016 р. – Полтава, 2016. – С. 88.

29. Гнатюк В. В. Визначення рівня тестостерону у щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк // Ендокринна патологія у віковому аспекті : матеріали XIV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 24–25 листопада 2016 р. – Харків, 2016. – С. 19–20.

30. Гнатюк В. В. Кореляційний зв'язок вмісту мелатоніну та тестостерону у статевозрілих щурів різної статі на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Актуальні питання медичної теорії та практики : матеріали міжнар. науково-практ. конф., 9–10 грудня 2016 р. – Дніпро, 2016 – С. 22–24.

31. Гнатюк В. В. Зміни вмісту мелатоніну та кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів-самок під впливом світлового десинхронозу / В. В. Гнатюк // Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії : матеріали міжнарод. наук.-практ. конф., 16–17 грудня 2016 р. – Одеса, 2016. – С. 111–113.

32. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу та виразкового ураження шлунка на вміст тестостерону в сироватці крові щурів різної статі / В. В. Гнатюк // Актуальні питання біології та медицини : матеріали XIV Міжрегіональної наукової конференції, 22–23 грудня 2016 р. – Старобільськ, 2017. – С. 68–70.

33. Гнатюк В. В. Циркануальні ритми синтезу тестостерону у статевозрілих щурів різної статі / В. В. Гнатюк // Актуальні питання біології та медицини : матеріали XIV Міжрегіональної наукової конференції, 22–23 грудня 2016 р. – Старобільськ, 2017. – С. 71–73.

34. Гнатюк В. В. Морфо-біохімічне дослідження стану слизової оболонки шлунка з виразковим ураженням при лікуванні екзогенним мелатоніном / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Бюллетень XVI чтений им. Подвысоцкого : тези доп., 18–19 мая 2017 г. – Одесса, 2017. – С. 80–82.

ABSTRACT

Hnatiuk V. V. Circannual, age and sexual peculiarities of synthesis of epiphyseal and extrapineal melatonin in gastric ulcers. – A manuscript copyright.

The thesis for a degree of Doctor of Medicine in speciality 14.03.04 – Pathological Physiology. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2017.

Today peptic ulcer (PU) disease is the most common disease, which affects 5 to 15 % (on average 7–10 %) of the adult population, and takes the third place after cardiovascular and oncological diseases. In Ukraine, approximately 12–15% of the population suffer from ulcer disease, and 62–74 % of them are people of the working age. Peptic ulcer is a social disease. The basis of its origin and development is various factors from *Helicobacter pylori* infection to such factors related to the human professional activities as night work, tension of nervous and hormonal systems (stress, negative emotions), fatigue, the sleep rhythm disorders and others. In the etiology and pathogenesis of PU the obscure questions that any of the existing theories cannot answer still remain so far. In the last decade a new view on development of peptic ulcer disease was formed. It prioritizes disorders of the biological rhythms of various physiological processes in the human body in the pathogenesis of this disease. The leading role is given to melatonin, which is the main epiphysis hormone that regulates most physiological and neuroendocrine functions of the body. In addition to the pineal gland, this hormone is synthesized by cells of the diffuse neuroendocrine system, thus, it is called extrapineal melatonin. Melatonin of the epiphysis is the main pacemaker, which determines the body circadian functions. Therefore, various changes in its secretion outside the physiological range can lead to inconsistency of the own biological rhythms of the body among themselves, and the body rhythms with the rhythms of the environment. Both internal and external desynchronoses can cause different pathological conditions and accompany diseases of organs in the gastrointestinal tract, the cardiovascular, nervous, as well as reproductive and immune systems. Despite the long study of melatonin by the world scientists there are practically no

works in the scientific literature devoted to the study of sex and age characteristics of its synthesis in the pathology of the stomach. This also concerns works, in which circannual levels of epiphyseal and extrapineal melatonin were determined, and the analysis of its participation in the mechanisms of development of different pathological processes in the internal organs, in particular in the stomach, was conducted. Therefore, the aim of our work was to determine the peculiarities of the synthesis of epiphyseal and extrapineal melatonin and substantiate its role in the hormonal and immune mechanisms of gastric ulcer in rats of different sex and age. The study object was the mechanisms of development and pathogenetic correction of the experimental gastric ulcer, and the subject of the study was participation of epiphyseal and extrapineal melatonin and testosterone in the pathogenesis of gastric ulcer in rats of different sex and age. During the study the pathophysiological, morphometric, histological, biochemical, ELISA, immunohistochemical, and statistical methods of research were used.

Experiments were performed on 552 nonlinear white rats of different sex and age, namely aged 3, 9, 15 and 20 months, corresponding to the human age of 14, 29–30, 43–44, 55–56, respectively. The study was conducted in five stages.

At the first stage the content of melatonin and testosterone in the blood serum in rats of different ages and sex was studied in various experimental states – desynchronosis, ulcerative lesions of the gastric mucosa, and ulcerative lesions on the background of desynchronosis. The circannual rhythms of secretion of melatonin and testosterone were also determined. According to the results of the study the circannual rhythm of secretion of melatonin in rats of both sexes of all ages was described. The lowest level of melatonin in the blood was in autumn and spring, indicating development of seasonal physiological desynchronosis, and the highest content of melatonin levels was in summer and winter.

In all age groups studied the highest level of melatonin in the blood of both males and females in all seasons was determined at age of 3 months, the lowest level was in rats at the age of 20 months. It was found that on the background of desynchronosis there was a significant reduction of the melatonin content in the

blood of rats of both sexes and all ages. The maximum decrease of melatonin in desynchronosis was found in male rats aged 9 months – by 31 % ($p \leq 0.05$), as well as in rats of both sexes aged 20 months – by 23 % in males and 24 % in females ($p \leq 0.05$) compared to the intact control. In ulcerative lesions the melatonin levels in the blood serum of all age groups decreased in male rats by 22–43 %, and in female rats by 21–23 % compared to the control ($p \leq 0.05$). The greatest reduction of the melatonin level was revealed in male rats aged 9 and 20 months – by 39 % and 43 %, respectively ($p \leq 0.05$). The combination of ulcerative lesions of the mucous membrane of the stomach with desynchronosis led to the reduction of the melatonin content in the blood serum in rats of all age groups compared to the intact animals, animals with desynchronosis and animals with ulcerative lesions of the gastric mucosa, especially in male rats aged 9 and 15 months.

The circannual rhythm of secretion of testosterone in male rats was also determined. In all age groups it was high in autumn and low in winter. In male rats the highest testosterone level was determined in animals aged 9 and 15 months in autumn (7.57 ± 0.53 nmol/l and 6.77 ± 0.48 nmol/l) corresponding to the period of physiological desynchronosis. In light desynchronosis and ulcerative lesions of the gastric mucosa there was a significant increase in the testosterone content in rats of all age groups and sexes at the maximum level of testosterone in male rats aged 9 and 15 months (desynchronosis – 4.81 ± 0.37 nmol/l and 5.09 ± 0.33 nmol/l; ulcerative lesions 5.95 ± 0.76 nmol/l and 5.81 ± 0.40 nmol/l, respectively) ($p \leq 0.05$) compared to the intact control. In ulcerative lesions of the gastric mucosa against the background of desynchronosis there was a significant increase in the testosterone content compared to the control in male rats aged 3, 9 and 15 months by 60 %, 82 % and 69 %, respectively, in female rats aged 9 months – by 18 % ($p \leq 0.05$) compared to the control with significant differences between males and females aged 9 and 15 months.

At the second stage of our research the study of extrapineal source of the melatonin synthesis – melatonin-producing cells of the gastric mucosa – was conducted by the immunohistochemical staining in rats of different sex and age, in

different seasons, in different parts of the stomach and, in various pathological conditions – desynchronosis, ulcerative lesions of the stomach, ulcerative lesions of the stomach against the background of desynchronosis. It was found that melatonin-positive-labeled cells were located in the basal and middle sections of tubular glands of the gastric mucosa, they were presented by three types of cells and were mainly in the fundic part rather than in the pyloric one. The number of melatonin-positive-labeled cells in rats of both sexes was lower than the number of cells in winter; moreover, the number of cells in male rats was significantly lower than the amount of melatonin-positive-labeled cells in female rats in both seasons. In desynchronosis, ulcerative lesions of the stomach and their simultaneous effects there was a significant reduction in the total amount of melatonin-positive-labeled cells in different parts of the gastric mucosa in rats of different sex and age, the greatest reduction of these cells was observed in the groups of males aged 9 and 15 months. Moreover, small cells in the pyloric part (type 1), the cells of types 1 and 2 in the fundus dominated against the background of decreased cells of type 3 in all parts of the stomach. The number of apudocytes in the fundus in male rats was more than 20 % of the number of apudocytes of the pyloric part both in intact animals and in rats with pinealectomy causing the compensatory increase in the number of melatonin-producing cells by 39 % in the fundus and by 35 % in the pyloric part of the stomach.

At the next stage the correlation between the content of melatonin and testosterone in different pathological conditions was determined, and its qualitative and quantitative characteristics were assessed. According to the results of the study a negative feedback between the levels of melatonin and testosterone in mature male rats in all seasons was found. A very strong negative correlation between the content of melatonin and testosterone was determined in autumn in male rats aged 9 months, and a strong correlation was in males aged 15 months. Light desynchronosis and ulcerative lesions of the stomach alone, and their combination affected the relationship between melatonin and testosterone levels and led to a

negative feedback in rats of both sexes of all ages, in male rats aged 9 and 15 months this correlation was very strong.

It is known that the oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of cancer, cardiovascular diseases, peptic ulcer and many other diseases. The immune system subordinated to the principle of the rhythmic flow of biological processes is equally important for adaptation of the body and development of compensatory processes. At present, the information how parameters of free radical oxidation and immunocompetent cells change in disorders of the melatonin synthesis according to age and sex is insufficient in contemporary scientific literature. Taking it into account the next stage of our research was to study the state of free radical oxidation and immunocompetent cells in desynchronosis and the experimental gastric ulcer. It has been found that desynchronosis is a significant factor in the oxidative homeostasis disorder in rats of different age and sex as a result of oxidative stress, especially in male rats aged 9 months. In desynchronosis the levels of TBA-reagents (by 1.3 times) increased reducing the activity of SOD and catalase in the blood (by 1.6 times). Desynchronosis led to changes in the immunological reactivity of the organism, and it was confirmed by the decrease of the percentage of T-lymphocytes in the blood due to T-suppressors (by 1.3 times), and the increase of the level of B-lymphocytes (by 1.2 times). It may indicate intensification of the humoral immune response to antigens of different nature. In ulcerative lesions of the stomach the indicators characterizing subpopulations of blood lymphocytes had the opposite direction: in the total decrease of T-lymphocytes there was an increase of T-suppressors (by 1.2 times) with a decrease in T-helpers (by 1.9 times) and B-lymphocytes (by 2 times), indicating a disorder of both cellular and humoral immunity in the experimental animals.

Therefore, the results of the previous stages of our work proved the impact of melatonin deficiency on development of gastric ulcers. Considering the fact that recently an increasing number of cases of *Helicobacter pylori* negative ulcers appeared it was appropriate to study the state of the gastric mucosa with ulcerative

lesions when treating with the known proton pump inhibitor – omeprazol and exogenous melatonin. The study of indicators of lipid peroxidation and the antioxidant system in homogenates of the gastric mucosa was conducted. The histological, morphological and immunohistochemical studies were performed in animals treated the above drugs on the background of the experimental gastric ulcers. It has been found that addition of exogenous melatonin to the standard therapy with omeprazol leads to a significant improvement of the dynamics of oxidative homeostasis indicators, reduces development of the oxidative stress, inhibits cytolysis, reduces the number and depth of ulcers due to the stimulation of proliferation processes of melatonin-producing cells, mucoid synthesis and normalization of the local blood flow.

According to the research results for the first time the quantitative assessment of the content of epiphyseal and extrapineal melatonin, testosterone in rats of different sex and age in different seasons with gastric ulcers and desynchronosis was carried out. For the first time formation of epiphyseal and extrapineal melatonin and the male sex hormone in rats of different age and sex with gastric ulcers on the background of desynchronosis and pinealectomy has been investigated. The functional morphology of melatonin-immunopositive cells of the gastric mucosa under normal conditions, in desynchronosis, gastric ulcer and pinealectomy has been studied. The positive effect of exogenous melatonin on the dynamics of reparative processes has been experimentally proven, and the expediency of its use in the complex therapy of peptic ulcer has been pathogenetically substantiated.

Based on the results of the thesis 34 scientific papers were published, including 21 articles, among them 3 articles in peer-reviewed professional journals included in Scientometrics database SCOPUS, 14 articles in professional scientific journals of Ukraine, 4 articles in foreign medical scientific journals, 13 abstracts in proceedings of conferences and congresses.

Key words: melatonin, the pineal gland, biorhythms, gastric ulcer, testosterone, sex, age.

The list of publications of the doctoral candidate.

1. Kononenko N. M. Histological and morphometric study of the gastric mucosa of rats after pinealectomia / N. M. Kononenko, V. V. Gnatiuk // Actual Problems of Transport Medicine. – 2013. – Vol. II (32-II), № 2. – P. 99–101.
2. Hnatiuk V. V. Features of the immunocompetent cells synthesis in rats with gastric ulcer in light desynchronosis / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko // Vestnik KAZNMU. – 2013. – № 5 (1). – P. 81–83
3. Hnatiuk V. V. Gender and age features of free radical oxidation and antioxidant protection under desynchronosis / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Reports of Vinnytsia National Medical University. – 2014. – Vol. 18, № 2. – P. 363–366.
4. Hnatiuk V. V. The relationship between the levels of melatonin and testosterone in male rats of different ages with ulcer of the stomach / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Pathologia. – 2015. – № 2 (34). – P. 31–34.
5. Hnatiuk V. V. Research of circannual rhythms of synthesis melatonin in blood serum of male rats different ages / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Actual Problems of Transport Medicine. – 2015. – Vol. 1 (41-I), № 3. – P. 117–123.
6. Hnatiuk V. V. Comparative characteristic of the state of melatonin-positive-labelled cells of the stomach in rats of different sex under desynchronosis / V. V. Hnatiuk // Actual Problems of the Modern Medicine. – 2015. – Vol. 15, № 3 (51), pats. 1. – P. 165–167.
7. Hnatiuk V. V. Immunohistochemical study of the state of melatonin-positively-labeled cells in gastric mucosa of male rats of different ages under desynchronosis / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko, G. A. Bozhok // Actual Problems of the Modern Medicine. – 2015. – Vol. 15, № 4 (52). – P. 216–220.
8. Hnatiuk V. V. The study of melatonin levels in the blood serum of male rats of different ages on the background of desynchronosis / V. V. Hnatiuk // World of Medicine and Biology. – 2015. – № 4 (54). – P. 106–108.
9. Hnatiuk V. The study of the relationship between the activity of epiphysis

and gonads in male rats in different seasons / V. Hnatiuk, N. Kononenko // *Fiziologichnyi Zhurnal*. – 2016. – Vol. 62, № 6. – С. 96–102.

10. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronosis in rats / V. Hnatiuk, N. Kononenko, T. Kozub, V. Chikitkina, L. Galiy // *Georgian medical news*. – 2016. – No 6 (255). – P. 99–104.

11. Hnatiuk V. V. Level of melatonin in the male rat of different age with ulcer of the stomach on the background desynchronosis / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Actual Problems of Transport Medicine*. – 2016. – № 3 (45). – P. 132–137.

12. Hnatiuk V. V. Research of level in melatonin rats of different sex and age with ulcerative lesion of the stomach / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Gastroenterology*. – 2016. – № 4 (62). – P. 72–76.

13. Hnatiuk V. V. The study of number of melatonin-positivelabeled cells in rats of different age and sex with gastric ulcer / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, G. A. Bozhok // *Experimental and Clinical Medicine*. – 2016. – № 3(72). – С. 14–17.

14. Hnatiuk V. V. The study of extrapineal source of mealtonin synthesis in male rats with gastric ulcer in desynchronosis / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, G. A. Bozhok // *Medicine Today and Tomorrow*. – 2016. – № 1 (70). – P. 10–14.

15. Hnatiuk V. V. The study of the relationship between the levels of melatonin in the blood serum and melatonin-positive-labeled cells in ulcerative lesions of the stomach in male rats of different age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2016. – Vol.6, № 9. – P. 524–530.

16. Hnatiuk V. V. Influence of desynchronosis on level blood melatonin and ekstrapinealne sources of melatonin synthesis in male rats of different ages / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Vestnik of Marine Medicine*. – 2016. –№ 3 (72). – P. 41–47.

17. Hnatiuk V. V. 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 // *Clinical & Experimental Pathology*. – 2016. – Vol. XV, №3 (57). – P. 30–33.

18. Hnatiuk V. V. The study of the testosterone levels in rats of different gender and age in desynchronosis and ulcerative lesions of the stomach / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Actual Problems of the Modern Medicine*. – 2016. – Vol. 16, № 4 (56), part 3. – P. 35–38.

19. Hnatiuk V. V. The relationship between the levels of melatonin and testosterone in the blood serum in ulcerative lesions of the stomach and desynchronosis in male rats / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2016. – Vol. 6, No 10. – P. 534–546.

20. Hnatiuk V. V. Characteristics of melatonin-positive-labeled cells of gastric mucosa amount in rats of different sexes in autumn and winter / V. V. Hnatiuk // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2016. – Vol. 6, № 11. – P. 622–628.

21. Kononenko N. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / N. Kononenko, V. Hnatiuk // *Malaysian Journal Pathology*. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.

22. Hnatiuk V. V. The state of the system of lipid peroxidation and antioxidant protection in the gastric mucosa with ulcers in desynchronosis / V. V. Hnatiuk // *Bulletin of the XIII Reading of Podvysotsky : theses of reports, 25–26 May in 2014*. – Odessa, 2014. – P. 69.

23. Hnatiuk V. V. The study of melatonin-positive-labeled cells in the gastric in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Achievements and prospects of experimental and clinical endocrinology : materials scient.-pract. conf. with intern. particip., 2–3 March in 2015*. – Kharkiv, 2015. – P. 44–45.

24. Hnatiuk V. V. Comparative characteristics of the levels of melatonin in

rats of different sex and age in the autumn-spring period / V. V. Hnatiuk // Achievements and prospects of experimental and clinical endocrinology : materials scient.-pract. conf. with intern. particip., 10–11 March in 2016. – Kharkiv, 2016. – P. 22–23.

25. Hnatiuk V. V. The circannual rhythm of the synthesis of testosterone in male rats of different ages / V. V. Hnatiuk // Bulletin of the XV Reading of Podvysotsky : theses of reports, 26–27 May in 2016. – Odessa, 2016. – P. 52–53.

26. Hnatiuk V. V. The level of melatonin in blood serum of rats in conditions of ulcerous stomach lesion / V. V. Hnatiuk // Modern Aspects of Medicine and Pharmacy – 2016 : all-Ukrainian scient.-pract. conf. of young scientists and students with intern. particip., 12–13 May in 2016. –Zaporozhye, 2016. – P.15–16.

27. Hnatiuk V. V. Influence of desynchronosis and gastric ulcer on the level of melatonin in serum in females of different ages / V. V. Hnatiuk // Pathophysiology and Pharmacy: ways of integration : theses of reports VII National Congress of Pathophysiologicals of Ukraine with intern. particip., 5–7 October in 2016. – Kharkiv, 2016. – P. 59.

28. Hnatiuk V. V. Research of testosterone levels in male rats of different ages in desinchrosis / V. V. Hnatiuk // Medical Science in Practice of Health protection : materials all-Ukrainian scient.-pract. conf. of young scientists, 9 December in 2016 . – Poltava, 2016. – P. 88.

29. Hnatiuk V. V. Research of the levels of testosterone in rats of different ages and sex with gastric ulcer / V. V. Hnatiuk // Endocrine pathology in the age aspect : materials XIV scient.-pract. conf. with intern. particip., 24–25 November in 2016. – Kharkiv, 2016. – P. 19–20.

30. Hnatiuk V. V. Correlation of between melatonin and testosterone in sexually mature rats of different sex in desynchrosis / V. V. Hnatiuk // Actual Questions of Medical Theory and Practice : materials intern. scient.-pract. conf., 9–10 December in 2016. – Dnipro, 2016. – P. 22–24.

31. Hnatiuk V. V. Changes of the content of melatonin and the number of

melatonin-positively labeled cells of gastric mucosa in female rats under the influence of light desynchronosis / V. V. Hnatiuk // *Medical Science and Medical Practice in Ukraine: Problems of Development and Interaction : materials intern. scient.-pract. conf.*, 16–17 December in 2016. – Odesa, 2016. – P. 111–113.

32. Hnatiuk V. V. Influence of desynchronosis and gastric ulcer on level of testosterone in serum in rats of different sex / V. V. Hnatiuk // *Topical Issues of Biology and Medicine : materials XIV Inter-regional scient. conf.*, 22–23 December in 2016. – Starobilsk, 2017. – P. 68–70.

33. Hnatiuk V. V. The circannual rhythms of synthesis of testosterone in sexually mature rats of different sex / V. V. Hnatiuk // *Topical Issues of Biology and Medicine : materials XIV Inter-regional scient. conf.*, 22–23 December in 2016. – Starobilsk, 2017. – P. 71–73.

34. Hnatiuk V. V. Morpho-biochemical study of the state of gastric mucosa with ulcer in the treatment of exogenous melatonin / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Bulletin of the XVI Reading of Podvysotsky : theses of report*, 18–19 May in 2017. – Odessa, 2017. – P. 80–82.

ЗМІСТ

ВСТУП	29
РОЗДІЛ 1. РОЛЬ МЕЛАТОНІНУ У РОЗВИТКУ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ (Аналіз існуючих досягнень з даної наукової проблеми)	36
1.1. Сучасні погляди на етіологію та патогенез виразкової хвороби	36
1.2. Роль мелатоніну у розвитку захворювань внутрішніх органів	48
1.2.1. Ритми продукції та секреції епіфізарного мелатоніну.....	48
1.2.2. Секреція екстрапінеального мелатоніну в клітинах дифузної нейроендокринної системи.....	56
1.2.3. Біологічні ефекти мелатоніну	60
1.3. Десинхроноз як основа розвитку гастральних виразок	73
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	85
РОЗДІЛ 3. ВИВЧЕННЯ СТАТЕВИХ І ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ СИНТЕЗУ МЕЛАТОНІНУ У ЩУРІВ	103
3.1. Дослідження циркануальних ритмів секреції мелатоніну у щурів різної статі та віку	103
3.2. Визначення вмісту мелатоніну в сироватці крові у щурів різного віку та статі при світловому десинхронозі	107
3.3. Вміст мелатоніну в сироватці крові щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка	110
3.4. Статеві та вікові особливості вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу	113
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ СТАТЕВИХ І ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ СИНТЕЗУ ТЕСТОСТЕРОНУ У ЩУРІВ.....	121
4.1. Вивчення циркануальних ритмів секреції тестостерону у щурів різної статі та віку	121
4.2. Статеві та вікові особливості вмісту тестостерону в сироватці крові у щурів різного віку та статі при світловому десинхронозі.....	124

4.3.	Визначення вмісту тестостерону в сироватці крові щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка ...	127
4.4.	Вміст тестостерону в сироватці крові щурів при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу	129
4.5.	Визначення кореляційного зв'язку між умістом мелатоніну і тестостерону в щурів різного віку та статі ...	132
РОЗДІЛ 5.	МОРФОЛОГІЧНЕ ВИВЧЕННЯ СТАНУ МЕЛАТОНІН-ПРОДУКУЮЧИХ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА	145
5.1.	Визначення кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різної статі в різні сезони року	145
5.2.	Імуногістохімічне дослідження стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів різного віку та статі на тлі десинхронозу	150
5.3.	Визначення кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка	158
5.4.	Дослідження мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка при світловому десинхронозі та виразці шлунка	164
5.5.	Порівняльна характеристика вмісту мелатонін-позитивно-мічених клітин у різних відділах шлунка при різних патологічних станах	170
5.6.	Гістологічне та морфометричне дослідження слизової оболонки шлунка щурів після пінеалектомії.....	177
РОЗДІЛ 6	СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН КРОВІ ПРИ ДЕСИНХРОНОЗІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА.....	185
6.1.	Статеві та вікові особливості вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту при десинхронозі	185
6.2.	Особливості синтезу імунокомпетентних клітин у щурів з гастральними виразками на тлі світлового десинхронозу...	189
РОЗДІЛ 7.	ПАТОФІЗІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	

ЗАСТОСУВАННЯ ЕКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНІНУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ГАСТРАЛЬНИХ ВИРАЗОК	194
7.1. Біохімічне дослідження крові щурів із виразковим ураженням слизової оболонки шлунка при лікуванні екзогенним мелатоніном	194
7.2. Морфологічне вивчення слизової оболонки шлунка з виразковим ураженням при лікуванні екзогенним мелатоніном	196
7.2.1. Вплив екзогенного мелатоніну на макроскопічний та гістологічний стан слизової оболонки шлунка при лікуванні виразкового ураження	196
7.2.2. Визначення кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів з виразковим ураженням шлунка при лікуванні екзогенним мелатоніном	206
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	211
ВИСНОВКИ	252
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	255
ДОДАТКИ	286

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АлАТ	- аланінамінотрансфераза
АМФ	- аденозінмонофосфат
АОС	- антиоксидантна система
АсАТ	- аспартатамінотрансфераза
АФК	- активні форми кисню
ВКП	- вазоактивний кишечний пептид
ВНС	- вегетативна нервова система
ВХ	- виразкова хвороба
ВХШ	- виразкова хвороба шлунка
ГАГ	- глікозаміноглікани
ГАМК	- гамма аміномасляна кислота
ГнРГ	- гонадотропін-релізінг гормон
ГП	- глутатіонпероксидаза
ГТ	- глутатіонтрансфераза
ДК	- дієнові кон'югати
ДНЕС	- дифузна нейроендокринна система
ДНК	- дезоксирибонуклеїнова кислота
ДПК	- дванадцятипала кишка
ЛГ	- лютеїнізуючий гормон
ЛДГ	- лактатдегідрогеназа
МПМК	- мелатонін-позитивно-мічені клітини
НПЗЗ	- нестероїдні протизапальні засоби
НР	- <i>Helicobacter pylori</i>
ПОЛ	- перекисне окиснення ліпідів
СДГ	- сукцинатдегідрогеназа
СОД	- супероксиддисмутаза
СОШ	- слизова оболонка шлунка
СХЯ	- супрахіазматичні ядра гіпоталамуса

ТБК-реактанти	- продукти, що реагують з тіобарбітуровою кислотою
ТСФ	- тимічний сироватковий фактор
ФНП	- фактор некрозу пухлин
ФСГ	- фолікулостимулюючий гормон
ЦОГ	- циклооксигеназа
ШКТ	- шлунково-кишковий тракт
APUD-система	- Amine Precursor Uptake and Decarboxylation
ІЛ	- інтерлейкин
NAT	- N-ацетилтрансфераза
NO	- монооксид азоту
РТ	- pars tuberalis

ВСТУП

Актуальність теми. В Україні спостерігається найвищий рівень депопуляції в Європі. Українці, особливо чоловіки працездатного віку, не тільки помирають у ранньому віці, але й живуть менше років здоровим життям порівняно з чоловіками інших Європейських країн. Зміни у вікових групах і гендерному розподілі населення України мають серйозні соціальні та економічні наслідки. Неінфекційні та хронічні хвороби є основними причинами смертності в Україні, особливо серед чоловіків працездатного віку [129]. До цього типу захворювань належить виразкова хвороба (ВХ) шлунка та дванадцятипалої кишки.

Поширеність ВХ в Україні та країнах ближнього і дальнього зарубіжжя, як і раніше, не має тенденції до зниження, а виникаючі ускладнення часто загрожують життю хворого і вимагають хірургічної корекції. На сьогодні ВХ можна віднести до найбільш поширених хвороб, на яку страждають від 5 до 15 % (в середньому 7–10 %) дорослого населення, вона займає третє місце після серцево-судинних і онкологічних захворювань [57, 133, 240]. У країнах Західної Європи розповсюдженість ВХ у середньому становить 8,2 % населення, в США – 7–10 %, в Японії – 11 %, в Індії – 25 % [159, 186]. У США кожен рік реєструють близько 350 тис. нових випадків захворювання. У Західній Європі протягом життя хоча б один раз на ВХ хворіють 10–15 % чоловіків і 4–15 % жінок [90, 174, 194]. За даними Центру медичної статистики України, захворюваність на виразкову хворобу в нашій країні за останні 10 років зросла на 38,4 % [132]. В Україні від виразкової хвороби страждає близько 12–15 % населення, причому 62–74 % з них – це люди працездатного віку [163]. Часті рецидиви та залучення до патологічного процесу суміжних органів травлення, тяжкість ускладнень, тривала непрацездатність хворих, а також великі економічні витрати зумовлюють актуальність проблеми ВХ та її медико-соціальне значення

[162]. Характерною особливістю виразкової хвороби у наш час є статевий диморфізм: загально визнано, що чоловіки хворіють частіше за жінок [65]. При цьому співвідношення чоловіків і жінок, що страждають на ВХ, коливається залежно від віку пацієнтів. Так, чоловіки в молодому віці хворіють у 3–5 разів частіше, ніж жінки [90, 159, 216].

ВХ – захворювання соціальне. В основі його виникнення та розвитку лежать різні фактори: від інфікування *Helicobacter pylori* до пов'язаних з професійною діяльністю людини (робота в нічний час), напруження нервової та гормональної систем (стреси, негативні емоції), перевтомлення, порушення ритму сну та ін. Ще М.П. Кончаловський (1922) говорив, що «...виразка не є місцевою хворобою слизової оболонки, а є захворюванням усього організму» [182].

В етіології та патогенезі ВХ дотепер залишаються нез'ясовані питання, на які не дає відповіді жодна з існуючих теорій. На сучасному етапі знань виникнення ВХ розглядається як наслідок порушення рівноваги між захисними механізмами слизової оболонки гастродуоденальної зони та факторами агресії з перевагою на користь останніх [182]. Виразковий процес у шлунку або дванадцятипалій кишці є кінцевим етапом складного багатопланового захворювання, до патогенезу якого залучені центральна і вегетативна нервові системи, біогенні аміни, пептидні гормони травного тракту, мікробна експансія *Helicobacter pylori*. Етіологічна значимість *Helicobacter pylori* в розвитку ВХ має незаперечне значення. Однак в останні роки почали говорити про Н. *pylori*-негативну ВХ, не пов'язану з зараженням *Helicobacter pylori* [128, 199, 203]. Нечисленні дослідження показали, що перебіг Н. *pylori*-негативної ВХ відрізняється від перебігу Н. *pylori*-асоційованої. Так, Н. *pylori*-негативні виразки розвиваються в молодому віці (до 40 років), відрізняються коротким періодом передвиразкового стану (у середньому близько півроку), нечастими рецидивами виразок (не більше 1 разу на 2 роки), частими ускладненнями (виникають у 3 рази частіше, ніж при Н. *pylori*-асоційованих виразках) [162]. Таким чином, незважаючи на

загальноновизнану провідну роль інфікування *Helicobacter pylori* в ульцерогенезі, ВХ шлунка є складним і багатофакторним за патогенезом гастроентерологічним захворюванням, а багато патогенетичних ланок ульцерогенезу залишаються дискутабельними й до кінця не вивченими [81, 182, 183].

Зважаючи на вищесказане, в останнє десятиріччя сформувався новий погляд на розвиток ВХ з позиції порушення біологічних ритмів різних фізіологічних процесів організму людини. Провідна роль у цьому відводиться мелатоніну [101, 148].

Мелатонін – основний гормон епіфіза, що регулює більшість фізіологічних та нейроендокринних функцій організму. Окрім шишкоподібної залози цей гормон синтезується клітинами дифузної нейроендокринної системи – екстрапінеальний мелатонін [71, 76, 206]. Мелатонін епіфіза є основним ритмоводієм, який визначає циркадні функції організму. Таким чином, різноманітні зміни його секреції, що виходять за межі фізіологічних коливань, здатні призвести до неузгодженості як власних біологічних ритмів організму між собою, так і ритмів організму з ритмами навколишнього середовища. Як внутрішній, так і зовнішній десинхронози можуть бути причинами різних патологічних станів і супроводжувати захворювання органів шлунково-кишкового тракту (ШКТ), серцево-судинної, нервової, репродуктивної та імунної систем [12, 67, 83, 189]. Попередніми дослідженнями визначено порушення рівня і ритміки (добової і сезонної) продукції мелатоніну у хворих на ВХ [92, 94, 97]. Авторами показано, що ступінь порушень продукції мелатоніну прямо корелює з тяжкістю клінічного перебігу захворювання [173], та подані гастропротекторні ефекти мелатоніну. Цілком ймовірно, що мелатонін має важливу роль у патогенезі виникнення та рецидивів ВХ [256]. При цьому об'єктом дослідження переважно є ВХ дванадцятипалої кишки [92, 94].

Незважаючи на досить тривале вивчення мелатоніну науковцями світу, ми не зустріли в науковій літературі достатньої кількості праць, присвячених

дослідженню статевих та вікових особливостей його синтезу при патології шлунка; не розглядалося і визначення циркануальних рівнів епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну з подальшим аналізом їх участі в механізмах розвитку різних патологічних станів внутрішніх органів, зокрема виразкової хвороби.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень Національного фармацевтичного університету МОЗ України. Вона є самостійним фрагментом науково-дослідних тем «Фармакологічне дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (№ держ. реєстрації 0103U000478) та «Клітинні та молекулярні механізми розвитку і корекції патологічних станів» (№ держ. реєстрації 0115U000966). Тему дисертації погоджено проблемною комісією МОЗ і НАМН України «Нормальна та патологічна фізіологія» (протокол № 3 від 25 квітня 2013 р.) та затверджено і уточнено на засіданнях Вченої ради Національного фармацевтичного університету МОЗ України (протокол № 10 від 3 червня 2013 р. та протокол № 1 від 30 вересня 2016 р.).

Мета дослідження – з'ясування особливостей синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну і обґрунтування його ролі в гормональних та імунних механізмах виразкової хвороби шлунка у щурів різної статі та віку.

Для досягнення поставленої мети необхідно було виконати **такі завдання:**

1. Дослідити циркануальні особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну в щурів різного віку та статі.
2. Вивчити секрецію епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну в щурів різної статі та віку при десинхронозі, гастральних виразках та пінеалектомії.
3. Дослідити синтез тестостерону у щурів різної статі та віку в різні сезони року, при десинхронозі та виразковому ураженні шлунка та

встановити наявність кореляційного зв'язку між синтезом мелатоніну і тестостерону.

4. Провести морфологічне дослідження мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунка при світловому десинхронозі, гастральній виразці та пінеалектомії у щурів різної статі та віку.

5. Вивчити стан вільнорадикального окиснення та імунокомпетентних клітин крові при десинхронозі та експериментальній виразці шлунка.

6. Визначити гастропротекторну дію екзогенного мелатоніну при експериментальному виразковому ураженні шлунка.

Об'єкт дослідження – механізми розвитку та патогенетична корекція експериментальної виразки шлунка.

Предмет дослідження – участь епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну і тестостерону в патогенезі виразкової хвороби шлунка у щурів різної статі та віку.

Методи дослідження – патофізіологічні, морфометричні, гістологічні, біохімічні, імуноферментні, імуногістохімічні та статистичні методи наукових досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше дано кількісну оцінку вмісту епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну, тестостерону в щурів різної статі та віку в різні сезони року, при гастральних виразках і десинхронозі.

Уперше проведено дослідження синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну та чоловічого статевого гормону у щурів різного віку та статі з гастральними виразками на тлі десинхронозу та пінеалектомії і встановлено кореляційний зв'язок між синтезом мелатоніну і тестостерону, визначено напрямок та силу цього зв'язку.

Уперше за результатами імуногістохімічного дослідження мелатонін-імунопозитивних клітин слизової оболонки шлунка встановлено наявність 3-х типів клітин, які відрізняються за своєю морфологічною будовою та функцією; визначено зміни їх загальної кількості та співвідношення різних

типів клітин при десинхронозі, гастральній виразці, виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу і пінеалектомії.

Експериментально доведено позитивний вплив екзогенного мелатоніну на динаміку репаративних процесів, патогенетично обґрунтовано доцільність його застосування при комплексній терапії виразкової хвороби.

Практичне значення одержаних результатів. Робота є фундаментальним дослідженням. Її результати розширюють наукові уявлення про участь мелатоніну і тестостерону в патогенезі виразкової хвороби шлунка, дають пояснення особливостей виникнення виразкової хвороби саме у чоловіків репродуктивного віку. Показано можливість застосування екзогенного мелатоніну як ефективного компонента у складі комбінованої терапії для лікування виразкової хвороби та профілактики її ускладнень.

Одержані результати впроваджено в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Запорізького державного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава), Івано-Франківського національного медичного університету, Одеського державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету (м. Харків), Харківського національного медичного університету, Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України.

Особистий внесок дисертанта. Автор разом із науковим консультантом висунула та обґрунтувала ідею роботи. Нею особисто проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз актуальності та ступеня вивчення проблеми; сформульовано мету та завдання роботи, відпрацьовано дослідні моделі, виконано всі експериментальні дослідження, сформульовано висновки і пропозиції щодо подальших наукових досліджень та використання одержаних результатів у клінічній практиці. Автор дисертації самостійно провела статистичний аналіз здобутих результатів, підготувала до

друку статті та написала текст дисертації.

Апробація результатів дисертації. Результати наукових досліджень, що увійшли до дисертації, оприлюднені та обговорені на VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 2016); XIII, XIV, XV, XVI Читаннях ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 2013, 2014, 2016, 2017); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (Харків, 2015, 2016); всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2016» (Запоріжжя, 2016); всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2016); XIV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ендокринна патологія у віковому аспекті» (Харків, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Питання медичної теорії та практики» (Дніпро, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії» (Одеса, 2016); XIV міжрегіональній науковій конференції «Актуальні питання біології та медицини» (Старобільськ, 2016).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 34 наукові роботи, зокрема 21 стаття, з яких 3 статті – у виданнях, внесених до наукометричної бази SCOPUS, 14 статей – у наукових фахових виданнях України, 4 статті – у наукових зарубіжних виданнях медичного напрямку, 13 тез – у матеріалах конференцій, конгресів.

РОЗДІЛ 1

РОЛЬ МЕЛАТОНІНУ У РОЗВИТКУ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ

(Аналіз існуючих досягнень з даної наукової проблеми)

1.1. Сучасні погляди на етіологію та патогенез виразкової хвороби

Бурхливий розвиток клінічної медицини в останні десятиріччя, відкриття нових причин і механізмів виникнення захворювань органів травлення дозволили істотно змінити уявлення про цілу низку хвороб шлунково-кишкового тракту, а також і кардинально змінити тактику їх лікування. Яскравим прикладом є ВХ шлунка та дванадцятипалої кишки – одне з найпоширеніших захворювань органів травлення у всіх країнах світу. Виразкова хвороба – це хронічне захворювання з поліциклічним перебігом, що характеризується виникненням виразкового дефекту в слизовій оболонці шлунка або дванадцятипалої кишки (ДПК). У своєму перебігу ВХ не обмежується ураженням шлунка або ДПК, порушуючи їх структуру та функцію – спочатку моторну, а потім і травну. З плином часу, рецидиви хвороби, що повторюються, призводять до вторинних змін у підшлунковій залозі, гепатобіліарній системі, тонкій та товстій кишці, стравоході, що негативно впливає на стан усього травного тракту, призводячи до існування порушення травного гомеостазу [183].

ВХ належить до числа патологій, що найбільш часто зустрічаються серед захворювань ШКТ, а вибір адекватних схем її лікування – до числа найбільш актуальних проблем сучасної гастроентерології [90, 159].

За даними ВООЗ, до 10–15 % дорослого населення розвинутих країн упродовж життя хворіють на ВХ, що робить це захворювання соціально значущим. Результати патологоанатомічних досліджень дають більш високі

показники, що свідчить про те, що у деяких хворих захворювання протікає латентно. За отриманими даними [68], не розпізнані за життя виразки шлунка та ДПК, що були виявленні тільки на секційному столі, зустрічаються у 28,8 % випадків. Захворюваність ВХ найбільш часто маніфестує в молодому віці (до 30 років), і чоловіки страждають на це захворювання в 3–5 разів частіше ніж жінки. Останнє десятиріччя характеризується зниженням частоти планових операцій з приводу гастродуоденальних виразок, але кількість невідкладних операцій, виконаних у зв'язку з ускладненнями ВХ – перфорацією або кровотечею – збільшилася в 2–5 разів [37, 281].

Етіологічно ВХ є захворюванням мультифакторіального генезу, а патогенетично – гетерогенним.

Незважаючи на велику кількість досліджень, присвячених проблемі виникнення ВХ, дотепер суто специфічні причини не встановлені. На сьогодні основними етіологічними факторами вважають: інфікування *Helicobacter pylori* (НР), прийом нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), спадковість, що є фоном, на якому реалізується дія різних патогенетичних факторів розвитку хвороби тощо. [186].

Вважається, що відкриття у 1982 році НР стало початком нової епохи в розумінні етіології ВХ та методів її лікування [91, 200, 221, 241, 269].

Епідеміологічними дослідженнями встановлено, що НР-інфекція широко розповсюджена в світі: до 60 % популяції всіх континентів планети у всіх етнічних групах населення інфіковані НР, починаючи з дитячого віку. В економічно розвинених країнах цей показник складає 50–60 %, у слабо розвинених – більше 80 %. При цьому майже 70 % інфікованих є здоровими (безсимптомними) носіями бактерії. На виразкову хворобу страждають від 12 до 15 % інфікованих НР [223, 283].

Вивчення НР-інфекції протягом останніх 25–30 років дозволило встановити такі беззаперечні факти [90, 119, 223]:

- *Helicobacter pylori* – це неінвазивний мікроорганізм, життєдіяльність якого обмежена шлунковим компартментом. НР колонізує

шар надепітеліального слизу, зовнішню поверхню епітеліоцитів слизової оболонки (між ворсинками) та здатна проникати в міжклітинний простір, порушуючи міжклітинні контакти. У підепітеліальний простір, у тому числі в парієтальні клітини шлункових залоз, НР, як правило, не проникає. НР не здатна також колонізувати слизові оболонки сусідніх органів: багат шаровий епітелій стравоходу та циліндричний епітелій кишківника, в тому числі дванадцятипалої кишки.

- На одному кінці НР розташовані 4–5 джгутиків, за допомогою яких вона має можливість швидко переміщатися в надепітеліальному слизі у пошуках оптимальних умов для існування в шлунку (рівень рН, осмолярність та ін.). Найчастіше НР колонізує антральний відділ шлунка, але в певних умовах здатна розповсюджуватися в антропокардіальному напрямку, колонізуючи і фундальний відділ.

- НР виробляє уреазу, що перетворює сечовину, яка потрапляє до шлунка крізь стінки капілярів шляхом пропотівання, на аміак і CO_2 , які нейтралізують соляну кислоту, утворюючи навколо кожної бактеріальної клітини «хмару» аміаку, який робить лужним навколишнє середовище. Одночасно протеаза (муциназа), яку також утворює НР, ефективно руйнує муцин шлункового слизу, що призводить до локального зниження його в'язкості. Глікосульфатна активність НР знижує в'язкість слизу шляхом розщеплення сульфатованих глікопротеїнів, які відіграють роль механічного бар'єра, захищаючого слизову від інфекційних агентів. Протеазна та фосфоліпазна активність НР також призводить до порушення цілісності надепітеліального слизу, що дозволяє мікробам вільно розповсюджуватися по слизовій оболонці шлунка.

- НР має унікальний тканинний тропізм до шлункового епітелію, а точніше – до слизоутворюючих клітин, на поверхні яких існують специфічні молекулярні структури, що є рецепторами до адгезинів НР. Адгезія до клітин шлунка відбувається за допомогою адгезивних факторів, що включають пектини та S-подібні адгезини.

- Окрім токсичних ферментів штами бактерії синтезують цитотоксини, дія яких визначає ступінь патогенності НР, особливості запальної реакції, що виникає, та здатність до ульцеро- та канцерогенезу. Такими факторами вірулентності є вакуолізуючий цитотоксин (vacA), цитотоксин-асоційований білок (cagA), мембранний запальний протеїн (oipA), білок адгезії (babA2), ген епітелія (iceA). VacA стимулює вакуолізацію цитоплазми в еукаріотичних клітинах та сприяє проникненню НР в цитоплазму епітеліоцитів. Білок cagA вважають відповідним за порушення цілісності епітелію слизової оболонки шлунка (СОШ), індукцію неконтрольованої проліферації епітеліальних та лімфоїдних клітин, секрецію прозапальних цитокинів (інтерлейкіну-8) та виникнення запальної реакції СОШ [226, 261, 262].

Таким чином, завдяки високій рухливості НР, зміні середовища з кислого на лужне, зниженню в'язкості та порушенню структури надепітеліального шлункового слизу, забезпечується безперешкодне проникнення бактерії в шлунковий епітелій [90].

Прихильники інфекційної теорії походження виразкової хвороби вважають головним принципом її лікування ерадикацію НР-інфекції. Американський гастроентеролог D.Y. Graham (1989) вирішив протиставити відомому постулату австрійського хірурга K. Schwartz «Нет кислоты – нет язвы» інший «Нет НР – нет язвы». Вони вважають, що тільки НР набула здатності до існування в різко кислому середовищі шлунка, у випадку виявлення в СОШ іншої мікрофлори вони вважають її транзиторною. Однак ця точка зору була спростована дослідженнями мікробіологів та клініцистів. Було виявлено, що у здорових людей та у хворих на ВХ, окрім НР, СОШ колонізує інша мукозна мікрофлора, що має адгезивні властивості та інвазивність (на відміну від НР) та високу вірулентність – наприклад, різні види стрептокока, стафілокока, мікрокока, гриби роду *Candida* та ін. Також все частіше стали з'являтися відомості про можливість розвитку ВХ без участі НР, так звана НР-негативна виразкова хвороба.

На сьогодні деякі автори розглядають НР-інфекцію не як етіологічну причину, а як фоновий та патогенетичний фактор, що впливає на перебіг ВХ [56, 181, 182].

Другим за значущістю етіопатогенетичним фактором утворення виразок у гастродуоденальній зоні по праву вважають безконтрольний прийом лікарських засобів, в першу чергу НПЗЗ [211, 224].

Нині в усьому світі безперервно зростає призначення знеболювальних, жарознижувальних препаратів, антиагрегантів, які належать до тих чи інших поколінь НПЗЗ. Так, щорічно в світі НПЗЗ приймають більше 300 млн. людей. При цьому дві третини цих препаратів купуються та приймаються пацієнтами без рецепта та без контролю лікаря [80, 211, 274].

Патогенез гастро- та дуоденопатій на фоні прийому НПЗЗ заснований на основному механізмі дії даних лікарських засобів – зниженні синтезу простагландинів внаслідок блокади ферменту циклооксигенази (ЦОГ), ключового ферменту метаболізму арахідонової кислоти – попередника простагландинів. Саме пригнічення синтезу простагландинів викликає протизапальний, жарознижувальний та знеболювальний ефекти, одночасно супроводжуючись побічним ефектом ураження ШКТ, де простагландини є необхідним компонентом функціонування захисного бар'єру СОШ. У подальшому було встановлено, що основні позитивні клінічні ефекти НПЗЗ пов'язані з блокадою ізоферменту ЦОГ-2, а побічна дія – з пригніченням ізоферменту ЦОГ-1. При цьому є відомості, що небажані побічні ефекти НПЗЗ можуть залежати і від ступеня пригнічення ізомеру ЦОГ-2 [47, 222].

У цілому неселективні НПЗЗ, що блокують обидва ізоферменти, діють на всі три рівні захисту кишкового бар'єру – преепітеліальний, епітеліальний та постепітеліальний. Вплив на захисну функцію слизового бар'єру пов'язаний із порушенням НПЗЗ продукції епітеліоцитами слизу та бікарбонатів, що перешкоджають агресивній дії на клітини іонів водню (кислотного фактора). Пошкодження слизової оболонки відбувається під час всмоктування НПЗЗ, при системній дії препарату після його всмоктування, а

також після повторного потрапляння активних метаболітів, які виділяються внаслідок печінкової екскреції в ДПК. До шлунка в даному випадку метаболіти НПЗЗ потрапляють внаслідок дуоденогастрального рефлюксу [90].

Особливе значення протягом перших днів прийому НПЗЗ має їх локальний токсичний ефект, пов'язаний із безпосереднім впливом на СОШ і ДПК протизапальних засобів як слабких органічних кислот, якими і є більшість НПЗЗ. Прояви ефекту в даному випадку залежать від розчинності та константи іонізації конкретного НПЗЗ. Під дією препарату гідрофобність слизової оболонки знижується та дані ксенобіотики набувають можливості проникати (шляхом дифузії) крізь фосфоліпідну мембрану в цитоплазму епітеліальних клітин СОШ, де вони іонізуються при високих значеннях рН, накопичуються у великих концентраціях, що призводить до пошкодження клітин [90, 170].

Особливе місце серед етіологічних факторів відводиться спадковій схильності. Установлено, що поширеність ВХ у родичів пробандів у 5–10 разів вища, порівняно з родичами здорових людей. «Спадкові» виразки частіше призводять до загострень та кровотеч. Виділяють такі генетичні маркери ВХ: збільшена кількість обкладочних клітин у залозах шлунка та внаслідок цього стійкий високий рівень соляної кислоти в шлунковому соку, підвищена секреція пепсиногену-1, гіперчутливість обкладочних клітин шлунка до гастрину та гістаміну, порушена мікроциркуляція та моторика в гастродуоденальній зоні, дефіцит синтезу імуноглобуліну-А [50, 126].

Однією з причин виникнення виразок вважають нервово-психічний фактор (стрес, неспокій, психічна дезадаптація та ін.) [24, 172, 183, 263]. Як відомо, на ВХ страждає тільки людина, а кількість хворих та ускладнень ВХ багаторазово збільшуються під час військових конфліктів, економічних криз тощо. Тривалий вплив психогенного фактора викликає збудження центральної нервової системи, яке порушує взаємодію кори та підкіркових структур, приводить до дисфункції вегетативної нервової системи (ВНС) та

гормональних змін, викликаючи певні соматичні зміни, порушення нейрогуморальної та нейром'язової активності шлунка. Психоемоційні порушення при ВХ проявляються присутністю емоційної лабільності, песимізму, іпохондрії, розвитком депресивних синдромів та підвищенням рівня тривожності. Таким чином, неадекватні реакції, що виникли під впливом стресу, реалізуються нервовим шляхом через передній гіпоталамус та ВНС, а також гормональним шляхом через задній гіпоталамус, гіпофіз, кору наднирникових залоз і тимус [88, 140, 225, 259].

Моторної функції шлунка та ДПК відводиться роль фактора, що забезпечує фізіологічну діяльність клапанних механізмів ШКТ, підтримання сталості рН-середовища, своєрідність хімічного, ферментативного та мікробного складу, а отже і захист слизової оболонки. Ослаблення тонуусу та перистальтичної активності шлунка, що призводить до стазу кислого вмісту та подовження експозиції кислотно-пептичного впливу на СОШ, хронічне порушення дуоденальної прохідності (дуоденостаз), особливо в умовах гіперацидності та/або зниження визолювальної активності пілородуоденальної зони, часто супроводжують ВХШ та ВХ ДПК. У хворих, що страждають на ВХШ, має місце різке пригнічення скорочувальної діяльності шлунка, порушення ритму шлункових скорочень, гіпокінезія органа, що призводить до вираженого уповільнення шлункової евакуації. При ВХ ДПК основним типом моторної діяльності шлунка є гіперкінетичний та гіпертонічний тип його моторики та тонуусу. У 100 % випадків у хворих на ВХ ДПК з гіпотонуусом та гіпокінезом шлунка спостерігався тяжкий перебіг хвороби. Таким чином, порушення моторики та тонуусу призводить спочатку до функціональних, а потім і органічних уражень шлунка і ДПК [90, 172].

Роль аліментарних факторів у виникненні ВХ на сьогодні розглядається як данина традиції, в основі якої лежить переконаність більшості пацієнтів у тому, що першопричиною ВХ є неправильне харчування.

Ще одним фактором виникнення ВХ вважають вплив шкідливих звичок на організм. Відомо, що 80–95 % людей, що страждають на ВХ, палять. Механізм впливу паління пов'язується із основною складовою тютюнового диму – нікотином – та зводиться до звуження судин шлунка, гіперплазії парієтальних клітин і гіперацидності шлункового соку, пригнічення синтезу гістаміну та бікарбонатів у шлунку та підшлунковій залозі, слизоутворення в СОШ і ДПК внаслідок зниження синтезу простагландинів і кровотоку, підвищення концентрації пепсиногену-1 в крові, а також стимуляції виділення цитокінів. Крім того, нікотин сприяє порушенню моторної функції шлунка, зниженню тиску в пілоричному сфінктері та підвищенню тиску в ДПК, що призводить до виникнення дуоденогастрального рефлюксу. Більшість із перелічених ефектів нікотину головним чином пов'язана із порушенням мікроциркуляції крові, підвищенням тонуусу вагуса та дисфункцією ВНС [137].

Вплив алкоголю та його сурогатів полягає у стимуляції кислотоутворюючої функції шлунка, внаслідок чого посилюються агресивні властивості шлункового соку, знижується резистентність слизової оболонки, порушується слизово-бікарбонатний бар'єр шлунка через посилення зворотної дифузії іонів водню. Високі концентрації алкоголю викликають гострі пошкодження СОШ (ерозії, виразки, гострий гастрит), пригнічують шлункову секрецію [90].

Як в етіології, так і в патогенезі виразкової хвороби постійно з'являються гіпотези, які відображають окремі ланки єдиної багатокомпонентної системи.

На сьогодні відомо близько 30 теорій патогенезу ВХ: від механічної теорії Ашофа (1912) та судинної теорії Вірхова (1852) до ацидотичної теорії С.С. Зимницького (1926) та нервово-гормональної теорії (Рисс С.М., Рисс Є.С., Радбиль О.С., Боянович К., 1963). Необхідно також згадати існування психо-соматичної теорії патогенезу ВХ (Alexander, 1934), інфекційної і алергічної теорій, теорій, що вказують на порушення обміну

речовин: зменшення гістаміну, збільшення гістаміну крові, ацетилхоліну, нестача вітамінів, зміни білкового обміну. До гормональних теорій належить також вивчення ролі паратиреоїдного, гонадотропного фактора, щитоподібної залози, інсулярного апарату, ентерогаstrону, гастрину, антигаstrину. Вивчався вплив блукаючого нерва і симпатичної іннервації, з'ясовували також вплив спадковості, проблеми конституційної готовності. При цьому одні теорії намагаються звести патогенез до одного вирішального фактора (унітарні), інші претендують на звання синтетичних теорій, які об'єднують безліч механізмів і факторів, взаємообумовлюючих і взаємовизначаючих [183].

У міру становлення медицини як науки, розвитку науково-технічного процесу, розробки нових, більш точних, високоспеціалізованих технологій з'являються і нові етіопатогенетичні гіпотези виникнення і розвитку виразкової хвороби.

Однією із сучасних теорій розвитку ВХ є така, що розглядає виразкову хворобу як апудопатію, хворобу, в розвитку якої важливу роль має порушення функції дифузної нейроендокринної системи [170]. Гастроінтестинальні гормони – пептиди – регулюють різні функції ШКТ. Ендокринні клітини локалізуються переважно навколо нервових закінчень та судин слизової оболонки, що дозволяє говорити про нейроендокринний комплекс. На щільний зв'язок та взаємний вплив нервової та гормональної систем вказує присутність пептидних гормонів ШКТ (гастрин, бомбезин, вазоактивний кишечний пептид (ВКП) у структурах головного мозку та, навпаки, гормони, які були вперше знайдені в клітинах мозку (соматостатин, нейротензин, субстанція Р, енкефаліни), а також гіпофізарні гормони знайдені в ендокринних клітинах та нервових волокнах ШКТ. Шлунково-кишковим гормонам притаманний широкий спектр дії на різноманітні функції шлунка та ДПК, порушення яких має певне значення в патогенезі виразкової хвороби. Поліпептидні гормони стимулюють (гастрин, бомбезин) або гальмують (соматостатин, ВКП) секрецію соляної кислоти, збуджують

(секретин, субстанція Р) або гальмують (соматостатин, нейротензин) активну секрецію панкреатичних бікарбонатів, контролюють моторну активність ШКТ (мотилін), збільшують продукцію шлункового слизу (соматостатин, бомбезин), активують кровотік та регенерують процеси в СОШ (гастрин) [26]. Оцінка ролі нейроендокринних порушень у патогенезі ВХ суперечливі. В.М. Успенський (1982) надає великого значення змінам співвідношення різних гормонопродуруючих клітин шлунка та ДПК у формуванні виразкової хвороби. За думкою П.К. Клімова (1987), отримані відомості про роль нейропептидів в регулюванні функції травної системи підтверджують та доповнюють новим вмістом кортико-вісцеральну теорію патогенезу Бикова–Курціна (1949).

У 1994 році з'явилася нова концепція патогенезу виразкової хвороби, основою якої стала теорія функціональних систем [179, 180]. За визначенням К.В. Судакова (1987) «функціональна система – это динамическая центрально-периферическая саморегулирующаяся организация, объединенная нервными и гуморальными регуляторными механизмами, все компоненты которой взаимодействуют с целью обеспечения полезного для организма адаптивного результата» [165].

Однією із таких функціональних систем організму є гастродуоденохолангіопанкреатична система саморегуляції. Важливо підкреслити, що усі функціональні системи організму діють за механізмом саморегуляції та на основі принципу ієрархії, послідовної взаємодії. Функціональні системи можуть мати спадково-детерміноване походження або утворюються протягом життєдіяльності людини. Порушення їх діяльності виникають внаслідок різних зовнішніх впливів: психоемоційного стресу, інфекції, травми та ін. Розвиваючи вчення про функціональні системи організму, Г.Н. Крижанівський (2002) вказував на їх важливу особливість: на кожному рівні структурно-функціональної організації, що побудована за ієрархічним принципом, діють регуляторні механізми, які забезпечують «меру реакції» та здатні розрізнити фізіологічну реакцію від патологічної

[49]. З огляду на ці положення і була сформульована нова концепція патогенезу виразкової хвороби. При ВХ на кожному рівні структурно-функціональної організації діє система адаптивної саморегуляції. На місцевому рівні вона представлена інтрамуральною та пептидергічною нервовою системами, гастроінтестинальними регуляторними пептидами гормональної природи (гастрин, соматостатин, секретин та ін), опіоїдними пептидами (ендорфіни, енкефаліни), біогенними амінами (гістамін, серотонін), калікреїн-кініновою системою, факторами імунної системи та ін. У фізіологічних умовах вони забезпечують синхронність, послідовність, гармонічну взаємодію, інтеграцію та самоконтроль діяльності органів, що входять до системи (шлунок, ДПК, підшлункова залоза, жовчні шляхи та сфінктери). Використовуючи властивості саморегульованої системи, вони визначають «меру реакції» на різні зовнішні подразники. При одночасному впливі на організм людини комплексу шкідливих зовнішніх факторів (психоемоційний стрес, НР-інфекція, різкі зміни метеорологічних умов, характерні для осені та весні, тощо) відбувається зрив механізмів місцевої (гастроудоденальної) системи саморегуляції. При цьому порушується секреторна та моторна діяльність шлунка та ДПК, погіршується регіонарне кровопостачання та трофіка тканин, що сприяє ацидопептичній «агресії» на певну ділянку слизової шлунка та/або ДПК зі зниженою резистентністю, яка обумовлена місцевими причинами (порушення мікроциркуляції, мікротромбоз, ішемія, Н. pylori, посилена ретродифузія H^+ -іонів та ін.) [96, 183].

Таким чином, відповідно до сучасної точки зору гастроудоденальна виразка формується в результаті значного впливу комплексу різних екзо- та ендогенних етіологічних факторів: психоемоційних, психосоціальних, генетичних, конституціональних і багатьох інших. При цьому відбувається порушення співвідношення між корою головного мозку та підкірковими центрами, порушення електролітного обміну та функцій вегетативної нервової системи, дискортицизм, «зрив» механізмів, що забезпечують

автоматизм функції та координацію дій автономної гастродуоденопанкреатичної системи саморегуляції, порушуються внутрішні взаємозв'язки та синхронізація їх секреторної і рухової діяльності, що створює сприятливі умови для «агресії» кислотно-пептичного фактора на обмеженій ділянці СОШ або ДПК зі зниженою резистентністю, внаслідок дії місцевих патогенетичних факторів (рис. 1.1).

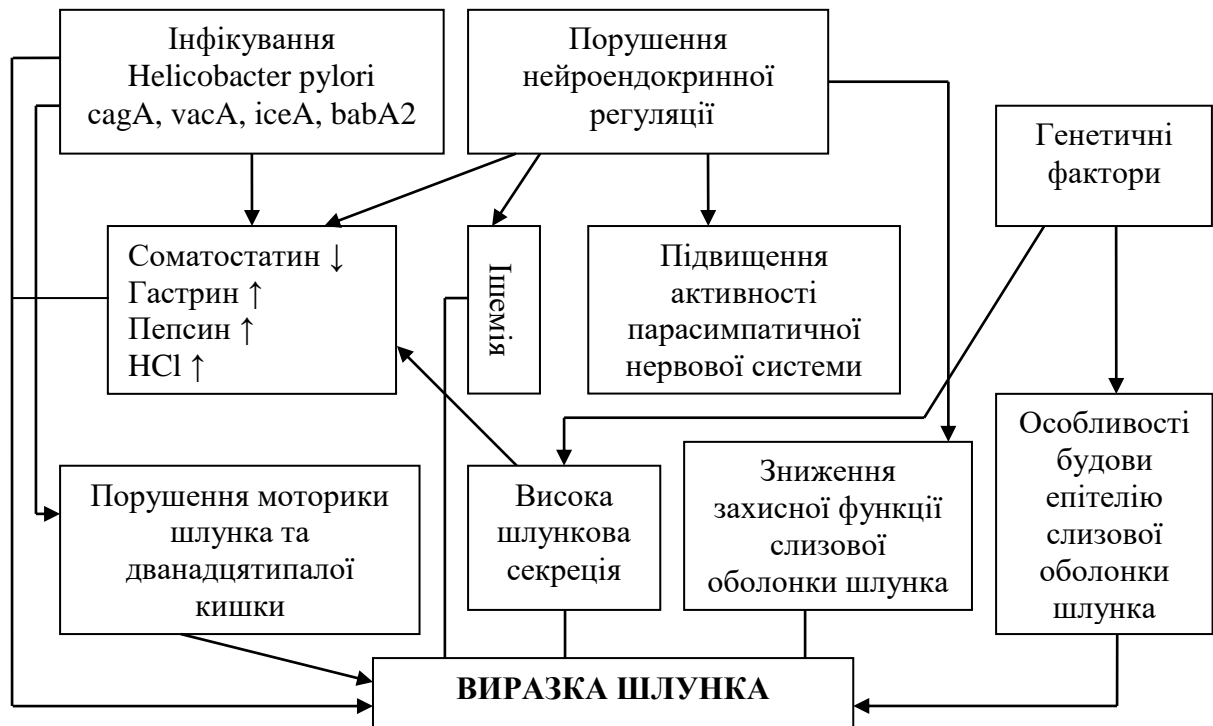


Рисунок 1.1. Схема етіопатогенезу виразкової хвороби шлунка

Отже, виразкова хвороба шлунка і дванадцятипалої кишки є поліетіологічним (багатофакторним) і поліпатогенетичним (гетерогенним) захворюванням. На сьогодні її вважають не лише переважно місцевим (локальним) деструктивним процесом у слизовій оболонці шлунка та дванадцятипалої кишки інфекційної природи, а загальним системним захворюванням, що обумовлене порушенням регуляторних систем організму. І жодна унітарна теорія етіології та патогенезу виразкової хвороби не є єдино правильною, ізольованою від інших етіопатогенетичних причин.

1.2. Роль мелатоніну у розвитку захворювань внутрішніх органів

1.2.1. Ритми продукції та секреції епіфізарного мелатоніну

Життєдіяльність організму можна представити як чітко скоординовану систему біологічних ритмів, починаючи з субклітинного і до організменого рівня. Дана система постійно коригується змінами, що відбуваються як у самому організмі, так і в навколишньому середовищі. Саме здатність відповідати на різні ендогенні та екзогенні стимули шляхом перебудови біоритмів характеризує стабільність здоров'я людського організму [204].

Шишкоподібне тіло (епіфіз, пінеальна залоза) – це невелике овальне залозисте утворення, яке належить до проміжного мозку і розташовується в неглибокій борозді між верхніми горбками середнього мозку і над таламусом. Маса залози досягає 125 мг у чоловіків та 110 мг у жінок, довжина 10–12 мм, ширина 5–8 мм, товщина 4–5 мм. Розміри та вага змінюються з віком. У паренхімі епіфіза розрізняють клітини двох типів – секретуючі пінеалоцити і підтримуючі гліальні, або інтерстиціальні, клітини. Пінеалоцити розташовуються в центральній частині часточок. Вони трохи крупніше від опорних нейрогліальних клітин [66, 134, 189].

У людини епіфіз досягає максимального розвитку у 5–6 років, після чого, незважаючи на тривале функціонування, починається його вікова інволюція. До 10–15 років життя в клітинах епіфізу утворюється пігмент (ліпохром), а до періоду статевого дозрівання розміри епіфіза зазвичай зменшуються. Певна кількість пінеалоцитів зазнає атрофії, а строма розростається, в ній збільшується відкладення фосфатних і карбонатних солей у вигляді слоїстих кульок – мозковий пісок [113, 244, 257]. Паренхіма залози зберігається до глибокої старості [169]. У пінеалоцитах синтезуються пептидні гормони, найважливіші з яких аргінін-вазотонин, вазоактивний інтерстиціальний пептид, аргінін-вазопресин, тироліберин,

антигонадотропін, люліберин, тиротропін та біогенні аміни (серотонін і мелатонін) [17, 134].

Епіфіз не має світлочутливої функції і тому інформацію про зовнішню освітленість отримує складним нервовим шляхом, головну роль у якому відіграють супрахіазматичні ядра гіпоталамуса (СХЯ), які є генераторами циркадіанного ритму, або «біологічним годинником» [134, 210, 273].

Зорова інформація від сітківки через відгалуження зорового нерва потрапляє в СХЯ, що знаходяться в глибині півкуль над зоровим перехрестом. Потім ці сигнали низходять через гіпоталамус по провідникових шляхах уздовж стовбура головного мозку в шийний відділ спинного мозку, звідки по симпатичних нервах через отвори в черепі повертаються назад у головний мозок і, нарешті, досягають епіфіза (рис. 1.2) [189, 275].

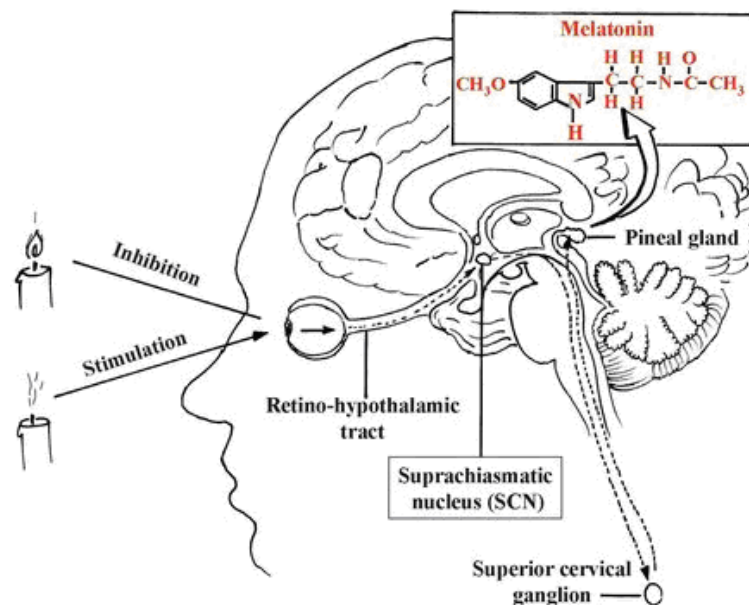


Рисунок 1.2. Нервові шляхи регуляції процесів синтезу мелатоніну в епіфізі [118]

Гормоном, що доносить інформацію про ритми, які генеруються в СХЯ, до органів і тканин, та синтезується пінеалоцитами епіфіза є мелатонін [12, 176].

Мелатонін утворюється з триптофану, що надходить в організм з їжею. Потрапивши з кровотоком в епіфіз, L-триптофан перетворюється в серотонін за участю ферментів триптофангідроксилази і 5-окси-триптофандекарбоксилази. Потім за допомогою ферментів N-ацетилтрансферази і гідроксііндол-О-метилтрансферази утворюється мелатонін (N-ацетил-5-метокситриптамін), який виділяється в кров і ліквор (рис. 1.3).

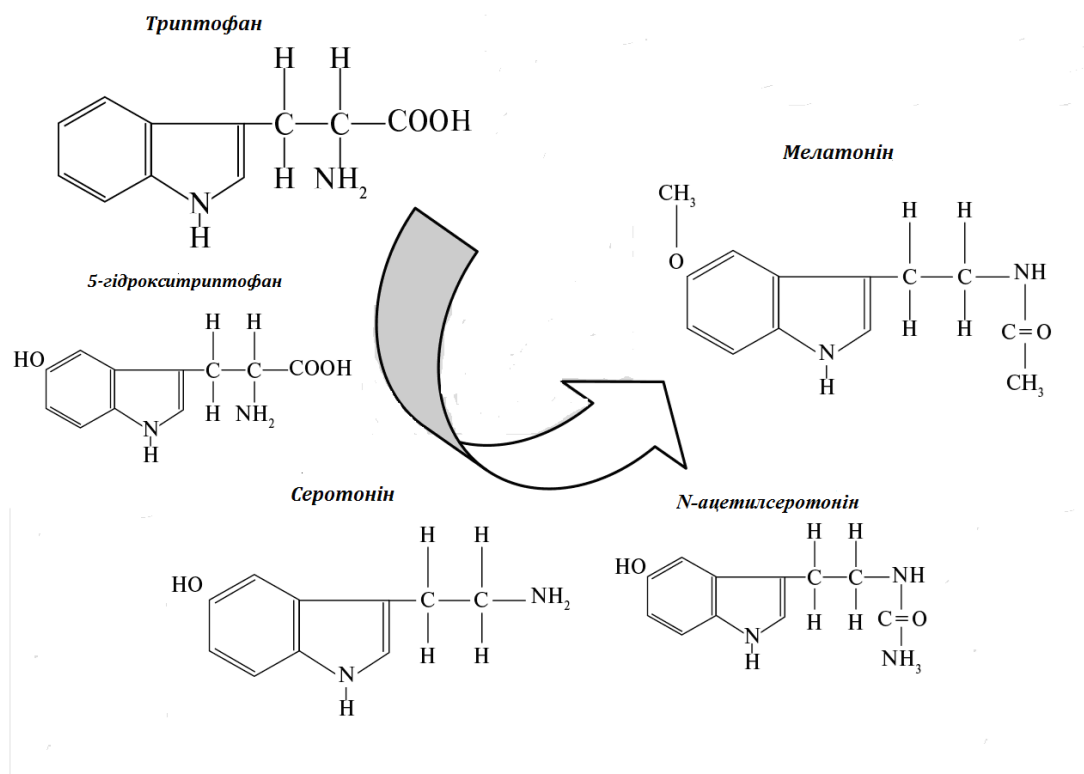


Рисунок 1.3. Основні етапи біосинтеза мелатоніну в епіфізі [131]

Рівень активності ферментів триптофангідроксилази та N-ацетилтрансферази в епіфізі регулюється інтенсивністю іннервації аксонами СХЯ, тобто сигналами, які несуть внутрішню інформацію про фотоперіоду. Протягом темної фази доби електричні сигнали, що надходять від СХЯ, викликають збільшення синтезу та вивільнення норадреналіну із симпатичних нервових закінчень, який діє первинно на альфа- і, меншою мірою, на бета-адренорецептори на мембрані пінеалоцитів [17, 145]. Навпаки, в денний час активність нейронів СХЯ пригнічена, і

норадреналін із терміналей не вивільняється. Відповідно синтез мелатоніну знижується, а серотоніну – збільшується. При взаємодії нейромедіатора з адренорецепторами пінеалоцитів підвищується активність внутрішньоклітинної аденілатциклази, що веде до збільшення продукції циклічного АМФ та активації цАМФ-залежної протеїнкінази в пінеалоциті. У свою чергу протеїнкіназа активує як специфічний білок, що зв'язується з відповідним елементом цАМФ, який збільшує транскрипцію гена, що кодує N-ацетилтрансферазу (NAT), так і фактора транскрипції FRA-2. Останній фактор здійснює негативний зворотний зв'язок, пригнічуючи свою власну транскрипцію та транскрипцію NAT. Накопичення NAT в пінеалоциті підвищує перетворення серотоніну в мелатонін, який шляхом пасивної дифузії потрапляє із пінеалоцитів у кровотік та лімфу [12, 145, 154, 176]. Це пов'язано з маленьким розміром молекули мелатоніну та наявністю у нього гідрофільних та ліпофільних властивостей. Більша частина мелатоніну в крові зв'язується з альбуміном, таким чином гормон захищається від швидкого розпаду та транспортується до клітин-мішеней. За різними відомостями, період його напівжиття становить від 30 до 50 хвилин. Свою активність мелатонін втрачає в печінці, де окиснюється до 6-сульфатоксимелатоніну, а потім виводиться із організму із сечею [78, 250].

Взаємодія мелатоніну з клітинами організму може відбуватися різними шляхами. Мелатоніну притаманні амфіфільні властивості, тобто він розчиняється як у воді, так і в жирах, завдяки цьому він вільно проходить крізь клітинні мембрани. Може впливати на внутрішньоклітинні процеси, як оминаючи систему рецепторів та сигнальних молекул, так і шляхом взаємодії з ядерними та мембранними рецепторами [97, 145].

Дія мелатоніну здійснюється за допомогою активації мембранних високоафінних рецепторів, пов'язаних з G-білками: MT₁ (Mel1a) та MT₂ (Mel1b). Ці рецептори мають різну молекулярну структуру, фармакологічні характеристики і хромосомну локалізацію. Рецептори MT₁ і MT₂ є білками, що складаються з 350 і 362 амінокислот відповідно, з молекулярною масою

39-40 кДа [12, 231]. Ці рецептори несуть сайт глікозилювання на N-кінці, сайти фосфорилування для протеїнкінази С, казеїнкінази 1 і 2 та протеїнкінази А, які можуть брати участь у регуляції функцій рецепторів, що підтверджено і для інших рецепторів, пов'язаних з G-білками. Рецептори мелатоніну MT_1 і MT_2 складають відокремлену групу всередині суперсімейства рецепторів, пов'язаних з G-білками, тому що мають NRY-мотив, а не DRY (або ERY), який міститься в усередині клітинної петлі II усіх рецепторів, пов'язаних з G-білками. Ця ділянка MT_1 -рецепторів бере участь у рецепторному транспорті та клітинному сигналінгу [99, 280].

Передача сигналу за допомогою рецепторів мелатоніну MT_1 і MT_2 відбувається за рахунок зв'язування гетеротримерних G_i -білків, що складаються з α , β і γ -субодиниць [48]. Активація цих рецепторів призводить до дисоціації G-білка на α -субодиницю і $\beta\gamma$ -димер, який взаємодіє з різними ефекторними молекулами, що беруть участь у клітинному сигналінгу. Ефекторна система, на яку діє мелатонін через рецептори MT_1 і MT_2 , включає аденілатциклазу, фосфоліпазу С, фосфоліпазу А2, калієві канали і потенційно гуанілатциклазу і кальцієві канали. Тканини, в яких знайдені і повністю охарактеризовані MT_1 і/або MT_2 -рецептори, – сітківка, СХЯ, хребетні та периферичні артерії, нирки, підшлункова залоза, кора наднирникових залоз, сім'яники, імунні клітини, шлунково-кишковий тракт [176]. У людини та приматів виявлений ще один тип мембранних рецепторів до мелатоніну – MT_3 , який був ідентифікований як хінон-редуктаза 2. Вважають, що за допомогою цього ферменту мелатонін бере участь у підтримці окиснювально-відновного статусу клітини [280]. Активація цих типів рецепторів призводить до розвитку швидких та короткострокових ефектів мелатоніну. Ядерні рецептори належать до родини ретиноїдних рецепторів RZR/ROR, вони виявляються в сітківці, СХЯ та епіфізі. Активація ядерних рецепторів призводить до більш віддалених та тривалих ефектів [160].

Зміна рівня мелатоніну в крові впродовж доби («мелатонінова крива») типова для всіх людей. Концентрація гормону, мінімальна вдень (1–3 пг/мл),

починає зростати за 2 години до звичного часу засинання. Уночі концентрація мелатоніну в крові в 5–10 разів вище денного рівня і досягає свого піку до 3-ї години ночі, потім його кількість знижується до 7-ї години ранку і до вечора залишається дуже низькою. У людини на нічні години припадає 70 % добової продукції мелатоніну, що складає приблизно 30 мкг. Зміни концентрації денного/нічного ритмів також виявлено у слині, жіночому молоці, амніотичній рідині та сечі [17, 154].

Для кожної людини мелатонінова крива стабільна і має відмінності у різних людей. Наприклад, у сліпих виявлена ритмічна секреція гормону, але з періодами, що вільно змінюються, на кілька годин відрізняючись від добового. Ритм секреції мелатоніну має вид циркадіанної мелатонінової хвилі, яка «вільно біжить» при відсутності зміни циклів «світло-темрява» [281].

Світло є потужним фізичним фактором, який, діючи навіть короткий час, гальмує продукцію і секрецію мелатоніну. Так, встановлено, що короткий імпульс, отриманого світла, навіть у нічний час пригнічує продукцію гормону, причому вплив світлового імпульсу залежить від багатьох його фізичних складових – довжини хвилі, потужності світлового потоку і навіть спектра [271].

Показано, що світлові імпульси ефективно пригнічують продукцію мелатоніну, однак при цьому відзначаються видові відмінності. Так, для білих щурів досить $0,5 \text{ мкВ/см}^2$ потужності світлового потоку, щоб достовірно знизити продукцію гормону, в той час як для земляних білок для досягнення подібного ефекту рівень світлового опромінення повинен бути не менше 1850 мВ/см^2 . Гальмуючий ефект світла на продукцію мелатоніну залежить також і від його спектра. Освітлення в $1,3\text{--}4,0 \text{ Лк}$ монохромним синім світлом або в 100 Лк білим світлом пригнічує продукцію мелатоніну епіфізом. Для зменшення його секреції у хом'яків найбільш ефективним є блакитне світло, на щурів найефективніше діє біле світло у поєднанні із зеленим, блакитним і червоним [4, 154].

На рівень мелатоніну в крові впливають і інші фактори: вік, стать, температура навколишнього середовища, дія електромагнітних полів тощо [209]. Відзначено вплив харчування на секрецію мелатоніну. Після двох днів голодування було відзначено зниження рівня мелатоніну в крові на 19 %. Легка вечеря підвищує вміст мелатоніну в крові, а продукти, до складу яких входить кофеїн (кава, чай, напої типу кока-коли), навпаки, знижують його [3]. Установлено, що фізичні вправи також впливають на рівень мелатоніну в організмі. Вони збільшують рівень метаболіту мелатоніну – 7 гідроксимелатонінсульфату в сечі та компенсують сезонне зниження його рівня навесні [198].

Зміни рівня секреції мелатоніну протягом доби отримало назву циркадіанного ритму. Циркадіанний ритм продукції мелатоніну виявляється відразу після народження плода. У внутрішньоутробному періоді денний/нічний ритм не існує, оскільки циркадіанна система ритму, як доведено у спеціальних дослідженнях, не формується до народження, а дозріває поступово після народження. У новонароджених рівень продукції низький, і «орієнтуватися» у часі, скоріш за все, їм допомагає мелатонін, який вони отримують з молоком матері. Однак вже 3-місячні немовлята переходять на тривалий нічний сон, а вдень у них збільшуються періоди неспанья, що пов'язане з більш налагодженим синтезом мелатоніну [3, 12]. У здорової дитини рівень мелатоніну поступово збільшується до року та зберігається на високому рівні до пубертатного віку. У маленької дитини мелатонін виконує дві функції: збільшує тривалість сну та пригнічує секрецію статевих гормонів. Його нічний рівень у 40 разів вищий за денний. У період статевого формування кількість гормону в крові знижується, причому найбільш явно це відбувається в період полової зрілості [99].

Протягом життя спостерігається стійке зниження продукції мелатоніну. У людини вікової групи 60–74 роки більшість фізіологічних показників має фізіологічний зсув циркадіанного ритму приблизно на 1,5–2 години вперед [99]. Так, за даними Duffy J. et al. (2002) [258] у людини віком 53–65 роки

нічний пік секреції мелатоніну припадає на більш ранні години (3 год 49 хв) відносно молодих у віці 20–30 років (4 год 47 хв).

Основними причинами зниження синтезу та зсуву фази секреції мелатоніну з віком можуть бути вікова дегенерація клітин СХЯ; вікова ретинопатія; захворювання кришталика (вікова ретинопатія, катаракта), при якому з віком відбувається зниження чутливості рецепторів сітківки до світла; вікова кальцифікація та дегенерація епіфіза зі зниженням абсолютної кількості пінеалоцитів; вікові зміни бета-адренорецепторів, що модулюють сигнали норадреналіну, який дає імпульси до синтезу мелатоніну епіфізом [6].

Регулюючий вплив мелатоніну на репродуктивну функцію та секрецію статевих гормонів через систему «гіпоталамус-гіпофіз-гонади» досліджений та підтверджений багатьма дослідженнями [3, 6, 22, 141]. При цьому є поодинокі праці, де обговорюються питання можливого існування зв'язку між секрецією статевих гормонів та мелатоніну [158, 175], що, враховуючи відомості про гальмівний вплив чоловічого статевого гормону тестостерону на трансляцію мРНК N-ацетилтрансферази дає можливість обговорювати вплив статі на продукцію мелатоніну [145].

На сьогодні відомі також сезонні ритми коливання рівня мелатоніну – циркануальні. Тривалість нічного підвищення рівня мелатоніну більше в зимовий період, ніж у літній [79]. За даними G. Hildenbrandt [227], максимумами синтезу мелатоніну припадають на зиму та літо зі зниженням ритмів секреції навесні та восени. У той же час праць, де б вивчалися циркануальні зміни синтезу мелатоніну в чоловіків та жінок різних вікових груп обмаль [86, 214].

Таким чином, на сьогодні визначена роль мелатоніну як регулятора біологічних ритмів і універсального адаптогена. Кількісні та якісні порушення ритму його продукції під впливом різноманітних факторів як зовнішнього, так і внутрішнього середовища можуть призводити на початкових етапах до дезадаптації організму, а в подальшому до виникнення

різноманітної органічної патології – епілепсії, депресивних станів, виразкової хвороби шлунка та ДПК, захворювань серцево-судинної системи та ін. [18, 83, 252].

1.2.2. Секреція екстрапінеального мелатоніну в клітинах дифузної нейроендокринної системи

Мелатонін – гормон, присутній практично у всіх організмах, що населяють нашу планету. Він відомий як одна з найбільш консервативних речовин-регуляторів. Єдиним джерелом мелатоніну у людини, що виконує функцію фоторегулятора біоритмів всього організму, є епіфіз. Однак мелатонін виробляється не тільки в епіфізі. Його синтез виявлений майже у всіх органах людського організму. Клітини, що продукують мелатонін, було знайдено в сітківці ока, гардеріановій залозі, шлунково-кишковому тракті, тимусі, імунних клітинах, серці, статевих залозах, клітинах крові, епітелії бронхів, передміхуровій залозі та ін. [62, 70, 73, 78].

Відомості про існування позаепіфізарних, так званих екстрапінеальних, джерел синтезу мелатоніну прямо пов'язані з виникненням та розвитком концепції про дифузну нейроендокринну систему, яка об'єднує нейроендокринні клітини, що розсіяні в різних органах та тканинах і здатні синтезувати біогенні аміни та пептидні гормони, біохімічні властивості яких визначають гомеостаз як окремих систем, так і організму в цілому [26, 142].

Припущення про існування в організмі особливих, можливо, ендокринних клітин вперше висказав у 1938 році Фейртер. Однак тільки в 1968–1969 роках відомий англійський гістолог A.G. Pearse обґрунтував наявність в організмі спеціалізованої високоорганізованої клітинної системи, головною рисою якої є здатність її клітин виробляти пептидні гормони та біогенні аміни. У ході досліджень було визначено, що клітини різних типів, широко розповсюджені по всьому організму, мають загальну здатність поглинати попередники моноамінів (5-гідрокситриптофан та L-

дигідроксифенілаланін) із подальшим їх декарбоксілюванням та синтезом біогенних амінів, отримали назву APUD-клітин – від словосполучення «Amine Precursor Uptake and Decarboxylation». У подальшому було з'ясовано, що властивості клітин APUD-системи притаманні і пептидергічним нейронам. На сьогодні доведено, що цілий спектр пептидних гормонів представляють собою єдину групу фізіологічно активних речовин, які присутні в типових ендокринних клітинах Фейртера, віднесених Пірсом до APUD-системи, а також у нейронах центрального та автономного відділів нервової системи. Отримані дані свідчать на користь того, що основні механізми біологічної регуляції перебувають у тісній функціональній взаємодії між ендокринною та нервовою системами, базуючись на загальному типі отримання та перенесення інформації на субклітинному, клітинному та тканинному рівнях. Відомості про біологічно активні речовини, які діють всередині нервової системи як нейротрансміттери та нейрогормони, а також локально або дистанційно як гормони всередині ендокринної APUD-системи, дали можливість об'єднати ці дві системи в універсальну дифузну нейроендокринну систему (ДНЕС) [26, 193]. На сьогодні доведено, що ДНЕС включає більше 100 типів клітин, які локалізовані в ШКТ, підшлунковій залозі, епітелії дихальних шляхів, щитоподібній залозі, тимусі та ін. Клітини ДНЕС крупніші за сусідні епітеліальні клітини, які не мають ендокринної функції, округлої форми, часто із відростками. Ознакою, що відрізняє апудоцити від інших клітин, є присутність у цитоплазмі численних специфічних секреторних гранул, які є місцем зберігання пептидних гормонів і біогенних амінів. Факт існування в одних і тих же клітинах пептидних гормонів і біогенних амінів, утворення двох і більше регуляторних пептидів в одній клітині спростовує принцип «одна клетка – один гормон» [22, 71, 82, 110, 271].

Найбільш активною та дослідженою частиною ДНЕС є ендокринний апарат травної системи. Ендокринні клітини ШКТ синтезують численні життєво необхідні гормони і тим самим беруть участь у підтримці загального

гомеостазу організму. Апудоцити органів травлення утворюють так звану гастроентеропанкреатичну ендокринну систему – ГЕП-систему, яка є частиною ДНЕС та складається із понад 50 видів ендокринних клітин [59, 142, 220]. Серед клітин ГЕП-системи найчастіше зустрічаються ентерохромафінні клітини (ЕС-клітини), що продукують серотонін, мелатонін, мотилін, субстанцію P; ентерохромафіноподібні клітини (ECL-клітини), що секретують гістамін; G-клітини – секретують гастрин; D-клітини, що виробляють соматостатин [193].

Джерелом мелатоніну в ШКТ вважають ЕС-клітини, які представляють одну з найбільших популяцій ендокринних клітин у травній системі (рис. 1.4).

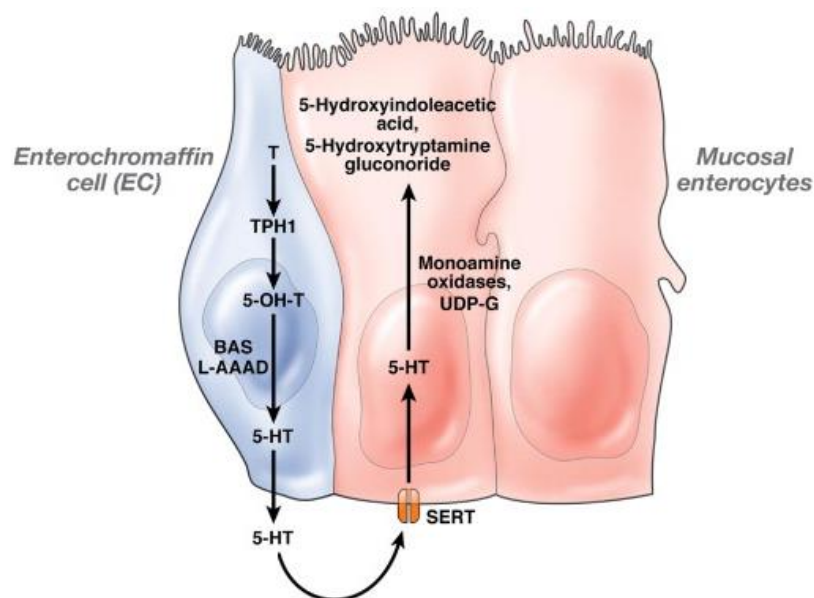


Рисунок 1.4. Ентерохромафінна клітина шлунково-кишкового тракту [63]

Так, Vubeník G.A. знайшов мелатонін практично у всіх відділах ШКТ щурів та звернув увагу на співпадіння розподілу мелатоніну і локалізацію серотонін-продукуючих аргентофінних ентерохромафінних клітин [206]. Крім того, той факт, що головний фермент синтезу мелатоніну – гідроксііндол-О-метилтрансфераза виявлений в кишечнику, підтверджує синтез мелатоніну, а не просто його пасивну акумуляцію. Установлено, що ШКТ ссавців вміщує в 400 разів більше мелатоніну, ніж пінеальна залоза, а

кількість мелатонін-продукуючих ЕС-клітин протягом ШКТ більша за кількість пінеалоцитів епіфіза [71, 173, 280]. При цьому до кінця не є встановленим, у якому відділі шлунка переважно розташовані ЕС-клітини. Згідно з одними джерелами це пілоричний відділ [261], за іншими – фундальний та антральний відділи шлунка [226, 262].

У процесі ембріогенезу раніше за все ЕС-клітини з'являються в ДПК, потім у шлунку, червоподібному відростку та тощій кишці. У СОШ ШКТ ЕС-клітини розташовуються в криптах і на ворсинках, вклинюючись між ентероцитами. Зазвичай ЕС-клітини розташовані в нижній третині залоз на базальній мембрані та мають різну форму в залежності від локалізації. У шлунку вони мають округлу форму, без відростків, апікальна частина виступає в просвіт залози, в кишечнику – форму трикутника та довгі цитоплазматичні вирости. Гранули, що знаходяться в базальній частині клітин, мають аргентофінну, хромафінну та аргірофільну реакцію.

ЕС-клітини належать до клітин відкритого типу, які завжди одним полюсом спрямовані в порожнину порожнистого органу та безпосередньо контактують із вмістом його порожнини. Більшість таких клітин знаходиться в слизовій оболонці пілоричного відділу шлунка, кишечнику та епітелії бронхів. У функціональному відношенні вони представляють собою своєрідні біологічні антени, в мембрани яких вмонтовані рецепторні білки. Саме вони сприймають інформацію про склад їжі, повітря та кінцевих продуктів обміну речовин, які виводяться із організму.

ЕС-клітини, як і інші клітини ДНЕС, підпорядковуються загальному біологічному принципу функціонування всіх залозистих структур, сутність якого – асинхронний тип секреції. Вважається, що біогенні аміни, а значить і мелатонін, утворюються в цитозолі клітини та накопичуються в гранулах, що дозрівають. Перенесення гранул до полюсу клітини, де відбувається секреція, здійснюється за допомогою мікротубулярно-філаментозної системи. Секреція вмісту гранул із ЕС-клітин може відбуватися шляхом екзоцитозу через бокові поверхні або через базальні поверхні цитоплазматичної

мембрани, коли мембрана гранул зливається із мембраною клітини, або шляхом розчинення секрету в цитоплазмі та дифузії його через базальну мембрану [267].

Мелатонін у ШКТ діє на гладку мускулатуру, пригнічуючи її моторику, блокує дію холецистокініну, який активує скорочувальну здатність ШКТ, регулює надходження Ca^{2+} в клітину шляхом впливу на активність Ca^{2+} - каналів і Ca^{2+} -активованих K^+ -каналів клітинних мембран [99, 235]. Він також пригнічує холінергічні нікотинові канали клітин нервових сплетінь підслизової кишки, що свідчить не тільки про прямий – пара- та аутокринний, але і про нейрокринний шлях впливу мелатоніну на моторику ШКТ. Мелатонін нівелює викликане серотоніном, скорочення гладкої мускулатури кровоносних судин ШКТ. Між дією мелатоніну та серотоніну є збалансована система як у ЦНС, так і в ШКТ, як між мелатоніном та іншими гормонами (гастрином, холецистокініном, соматостатином) у відношенні регуляції різних функцій ШКТ [92, 94, 148].

Таким чином, загальна продукція мелатоніну в організмі включає центральне джерело, мелатонін-продукуючі клітини якого розташовані в пінеальній залозі та системі зору (сітківка, гардеріанова залоза), ритм секреції мелатоніну в яких співпадає з ритмом «світло-темрява» [19]. Периферичне джерело включає апудоцити в інших органах, синтез мелатоніну в яких не залежить від освітлення та безпосередньо впливає на функції цих органів [12, 153].

1.2.3. Біологічні ефекти мелатоніну

В останні роки отримані нові дані про механізми, що забезпечують комплексну взаємодію нервової, імунної та ендокринної систем. Вважають, що інтегратором цих взаємодій є епіфіз, а його головним гормоном – мелатонін. Проведені дослідження показали, що мелатоніну притаманний

надзвичайно широкий спектр фізіологічних функцій [5, 18, 82, 138].

Основними фізіологічними функціями мелатоніну є:

- біоритмологічна функція;
- регуляція сну;
- антиоксидантний ефект;
- імуномодулююча дія;
- антистресорна дія;
- регуляція статевого розвитку;
- протипухлинний ефект;
- геропротекторний ефект;
- кардіотропний, гіпотензивний ефекти.

Біоритмологічна функція. Здатність організму адекватно реагувати на різні впливи шляхом перебудови біоритмів забезпечує стабільність та здоров'я організму людини. Епіфіз за допомогою мелатоніну бере участь в організації добового періодизму і в регуляції циклічних процесів, виступаючи посередником між пейсмейкерним механізмом СХЯ та периферичними органами. Знайдені гени, які називають «годинниковими», тому що їх експресія в органах ініціюється взаємодією мелатоніну зі специфічними рецепторами. Це гени *Per* (period), *Cry* (cryptochrome), *Clock*, *Bmal* та ін. [3, 103, 136, 201]. Саме продукти їх експресії призводять до формування циркадіанних та сезонних ритмів. У моделі молекулярної осциляції в СХЯ мишей транскрипція генів *Per* і *Cry* ініціюється під дією гетеродимера *BMAL/CLOCK*, який зв'язується із енансерним елементом (E-box) в промоторах *Per* і *Cry* [271]. Гомологи цих генів формують набори із двох циркадних комплексів: *Per1/Cry1* і *Per2/Cry2*, піки яких відрізняються за часом експресії та чутливістю до сигналу. Другий регуляторний каскад, що зв'язує *clock*-гени, включає в себе стимуляцію гена *Per* і експресію гена *Bmal1*, при цьому піки рівнів експресії обох генів припадають на різний час доби. Дані блоки *clock*-генів є частиною загального механізму координації добової активності генів [212, 260, 271].

У людини знайдено чотири ізо-форми гена *Per*, які розрізняються за часом піка експресії та механізмом регуляції. Рівень активності та амплітуди коливань цих генів протягом доби в СХЯ нижче, ніж в *pars tuberalis* (PT). Експресія гена *Per1* в епіфізі співпадає з профілем експресії гена *Aa-nat*, припадає переважно на нічний час і контролюється цАМФ-залежним механізмом (CRE-залежний шлях). Такий CRE-шлях запускається внаслідок впливу на β_2 -адренорецептор пінеалоцитів сигналу, що виходить із СХЯ. Важливо відмітити, що експресія гена *Per1* в епіфізі та СХЯ/PT протягом доби знаходяться в протифазі [97]. Зменшення активності генів *Per* в СХЯ та PT обумовлене як зниженням рівня освітлення наприкінці дня, так і дією зворотного зв'язку з продуктами трансляції мРНК *Per*. Добовий цикл фотозалежності механізму коливань активності генів клітинами СХЯ можливо означити як «модель зовнішнього співпадіння», причому *Per1* (ранковий пік) можна віднести до фізіологічного індикатора світанку, а *Per2* (пізній пік) – до індикатора заходу (сутінки) [232, 277].

Динаміка змін концентрації *Cry1* і *Cry2* відрізняється в СХЯ та PT. По-перше, амплітуда змін активності в СХ генів *Cry* значно менша, ніж у PT. По-друге, якщо пік експресії цих генів у клітинах СХЯ випереджає пік *Bmal1* і *Clock*, то в клітинах PT відстає. Рівень експресії *Bmal1* також має добову залежність, його концентрація максимальна в нічний час (або через 12–16 год після початку транскрипції *Per*). Також спостерігаються високі коливання в рівні активності гена *Bmal1* в нічні та денні години як в СХЯ, так і PT. Активність гена *Bmal1* в епіфізі також приходить на нічні години. Експресія генів *Clock* і *Bmal2* в СХЯ і PT знаходиться на постійному рівні [189].

Установлено, що на експресію годинникових генів в PT значно впливає мелатонін, який власне і формує ритми експресії цих генів. На роботу клітин СХЯ мелатонін впливає в меншій мірі внаслідок наявності нейрональної стимуляції від сітківки, що вміщує інформацію про тривалість дня. У цілому систему ритмоводія можливо поділити на «модель зовнішнього співпадіння»,

центром якої в організмі є СХЯ, та «модель внутрішнього співпадіння» (РТ). Ця система існує тільки у ссавців, тому що тільки у них спостерігається повний поділ функцій ритмоводіння та синтезу мелатоніну між відділами гіпоталамуса зокрема та гіпоталамуса і епіфіза в цілому. Завдяки взаємодоповнюючій роботі двох джерел осцилярної активності циркадіанних ритмів виникає природна фізіологічна відповідь на добові та сезонні ритми. Інструментом для конвертації світлового сигналу в фізіологічний служить група Clock-генів і епіфізарний мелатонін. Згідно з останніми даними, тривалість сигналу мелатоніну декодується в мелатонін-чутливих тканинах у вигляді профілів експресії Clock-генів, відповідних певній тривалості світлового дня [97]. Ініціація експресії годинникових генів відбувається або за рахунок дії мелатоніну на мембранні або ядерні специфічні рецептори, або завдяки безпосередньому впливу на фактори транскрипції, або завдяки здатності мелатоніну впливати на чутливість мембранних рецепторів клітини до додаткових стимулюючих факторів [99, 103].

У рамках добового ритму організму мелатонін підтримує цикл «сон – неспання», добові зміни локомоторної активності та температури тіла [154]. Концентрація його в крові збільшується з настанням темряви та сягає свого максимуму за 1–2 години до пробудження [3].

Здатність мелатоніну виконувати корекцію ендогенних ритмів відносно екзогенних ритмів навколишнього середовища вважають його найбільш важливою фізіологічною функцією, яка забезпечує адаптацію організму до різноманітних змін зовнішнього середовища.

Регуляція сну та локомоторної активності. У людини циркадіанний ритм секреції мелатоніну епіфізом синхронізований з типовими годинами сну. Тому однією із основних властивостей мелатоніну є регуляція сну. Сомнологічні дослідження дозволяють говорити про існування у мелатоніну гіпогенних властивостей та рекомендувати його як снодійний засіб. Призначення мелатоніну в дозі до 3 мг перед сном забезпечує м'який снодійний ефект, він зберігає природну структуру сну та відновлює її, якщо

вона порушена. Мелатонін характеризується м'яким седативним ефектом, зниженням реактивності на звичайні навколишні впливи, плавним прискореним засипанням, меншою кількістю пробуджень, відчуттям бадьорості після сну. Мелатонін може модифікувати рівень моноамінових нейротрансмітерів у мозку, запускаючи каскад реакцій, які при досягненні кульмінації активують механізми сну [11, 69, 208].

Численними дослідженнями доведено, що мелатонін контролює біоелектричну активність мозку, впливаючи на розвиток епілептичних нападів [149, 191]. Припускають, що момент статевого дозрівання α -ритмів, який співпадає з періодом статевого дозрівання людини, залежить від нейроендокринних впливів, які встановлюють психостатеву зрілість. Епіфіз регулює рівень цієї зрілості та загальне формування мозку. Призначення мелатоніну блокує α -ритми. Таким чином, прогресуюче зниження синтезу мелатоніну в дитячому віці полегшує дозрівання α -ритму [149, 191]. Відомо, що права та ліва скроневі частки відрізняються одна від одної зростанням у внутрішньоутробному періоді, часом дозрівання, старінням, анатомічною організацією, біохімічними властивостями, електроенцефалографічними параметрами і відповідними функціями. Припускають, що патологія правої скроневої частки має більшу пошкоджуючу дію на функції епіфізарного мелатоніну в порівнянні з патологією лівої, оскільки саме права півкуля має більшу кількість лімбічних і ретикулярних зв'язків. Епіфіз отримує пряму іннервацію від лімбічної системи, а продукція мелатоніну перебуває під впливом імпульсації з боку ретикулярної системи [16, 141]. Пінеалектомія призводить до нападів судом у експериментальних тварин, а сам мелатонін має при цьому властивості антиконвульсанту [18]. Механізм реалізації протисудомної дії мелатоніну є багатокомпонентним. Він заснований на змінах ГАМКергічної та серотонінергічної трансмісії на церебральному рівні, гальмуванні мозкових глутамінових рецепторів, впливі на бензодіазепінові рецептори, метаболічну активність триптофану, гормональний статус; змінах збудливості клітин гіпокампа та провідності його синапсів [154],

стимулюванні продукції дофаміну, який належить до природних антиконвульсантів, у межах зон мозку, відповідних за контроль епілептичних нападів [149].

Антиоксидантний ефект. Антиоксидантний ефект мелатоніну був відкритий американським вченим Р. Рейтером у 1993 році. Він є потужним антиоксидантом, який за своєю активністю перевищує глутатіону вітаміни Е, С та кардіопротектори, гальмує утворення вільних радикалів та захищає ядерну ДНК, протеїни та ліпіди від їх пошкоджуючої дії [4, 23, 64, 145, 209].

Як антиоксидант мелатонін діє в усіх тканинах організму, проникаючи крізь усі біологічні бар'єри. Антиоксидантний ефект реалізується шляхом проникнення його в клітину та взаємодії майже з усіма субклітинними структурами, включаючи ядро. Тому він може впливати на вільнорадикальні процеси в різних клітинах організму, а не тільки в клітинах, які мають рецептори до мелатоніну [104].

Механізм антиоксидантної дії мелатоніну пов'язаний з його здатністю зв'язувати найбільш токсичні гідроксильні радикали, що утворюються при перекисному окисненні ліпідів, а також пероксинітрит, оксид азоту, синглетний кисень та пероксильний радикал [69, 276]. Поряд із прямим антиоксидантним ефектом мелатонін діє і як вторинний антиоксидант. Він стимулює активність глутатіонпероксидази [137], яка метаболізує перекис водню в воду, активізує супероксиддисмутазу, каталазу, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, пригнічує активність прооксидантного ферменту NO-синтетази [17, 188]. Крім того, гормон здатний зв'язувати іони металів зі змінною валентністю (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}), які чинять в організмі прооксидантну дію [4, 10, 104].

Імуномодулююча дія. Встановлено, що мелатонін відіграє суттєву роль в імунорегуляції. Як показали дослідження, він здатен чинити подвійну дію на функцію імунної системи: по-перше, на фоні її попереднього пригнічення спостерігається наявна стимуляція; по-друге, повторне введення низьких доз мелатоніну тваринам ослаблює порушення продукції антитіл та

підвищує протівірусний імунітет. В умовах первинної гіперактивності імунної системи мелатонін дозозалежно пригнічує утворення ряду цитокинів, знижує функцію активованих макрофагів та Т-хелперів. Виявлено, що збільшення активності Т- і В-імунних клітин протягом доби відбувається паралельно з підвищенням концентрації мелатоніну [87, 145].

Установлено, що мелатонін бере участь у регуляції функції тимуса та щитоподібної залози, підвищує активність Т-лімфоцитів і фагоцитів. Мелатонінова імуномодуляція відбувається за рахунок прямого впливу через специфічні рецептори на функцію імунокомпетентних клітин вилючкової залози та селезінки, периферичних імунокомпетентних клітин (лімфоцити, нейтрофіли), а також опосередковано через мобілізацію опіоїдних механізмів і модифікацію синтезу кортикостероїдів корою наднирникових залоз [104].

Мелатонін підвищує рівень ІЛ-2 та g-інтерферону в лімфоцитах-хелперах Т1 та ІЛ-4 в лімфоцитах-хелперах Т2, в моноцитах каталізує виділення ІЛ-1 та ФНП- α . Була показана можливість синтезу пептидних гормонів і біогенних амінів, таких як серотонін, мелатонін та b-ендорфін, у гранулах природних кілерів, що може бути пов'язано з механізмами цитотоксичної дії даних клітин [69]. Ще одним доказом впливу мелатоніну на імунну систему в організмі людини є циркадіанні зміни кількості нейтрофілів, Т- і В-лімфоцитів у кровотоці з максимумом у темний період доби [98, 145]. У молодих людей функція тимуса змінюється залежно від часу доби та пори року. При цьому титр тимічного сироваткового фактора (ТСФ) найбільший у темний час доби та літньо-осінній періоди року. У людей літнього віку зміни циркадіанного ритму титру ТСФ неоднозначні (зменшення амплітуди, інверсія ритму, зміщення акрофази). Циркануальний ритм функції тимуса у чоловіків змінюється після 30 років і набуває рис монотонності у літньому віці. Порівняно із чоловіками титр ТСФ у жінок молодого та літнього віку вищий в окремі сезони року, а зміни ритму показника у літніх жінок менш наявні. У здорових людей вікові зміни ритмів

імунологічних показників пов'язані зі ступенем порушення ритмічності ендокринної функції тимуса [85].

Таким чином, мелатонін бере участь у регуляції як клітинного так і гуморального імунітету.

Антистресовий ефект. Епіфіз – важливий елемент антистресового «захисту» організму, в якому мелатоніну відводиться роль фактора неспецифічного захисту. У високоорганізованих тварин, і особливо людини, стартовим моментом розвитку стресу є негативні емоції. Мелатонін сприяє ослабленню емоційної реактивності [104]. Стрес обов'язково супроводжується зсувами в ендокринній системі, де відбуваються зміни в гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковозалозній системі. Участь мелатоніну має «поправковий» характер: гормон підключається до ендокринної регуляції тільки у випадках різких відхилень у роботі надниркових залоз. Він відіграє суттєву роль у нормалізації післястресових станів організму, яка обумовлена його впливом на нейромедіаторні системи та синхронізацію циркадіанної ритміки. При дослідженнях на тваринах в умовах стресу мелатонін попереджає підйом рівня нуклеїнових кислот і зниження вмісту глікогену, а також протидіє збільшенню ядерно-цитоплазматичного співвідношення, яке приймається за морфометричний критерій підвищеної збудливості клітин. Впливаючи одночасно на нейроендокринну та імунну системи, мелатонін оптимізує гомеостаз та здійснює захист від стресу [69, 97, 145].

У механізмі протистресорної активності мелатоніну суттєву роль має зменшення активності тонуусу симпатичної нервової системи та активності гіпофізарно-наднирковозалозної системи, зниження рівня кортикостероїдів, які впливають на кардіоваскулярну систему.

Вплив на статевий розвиток та репродукцію. Відомо, що головним регуляторним фактором, що забезпечує циклічну функцію як жіночих, так і чоловічих периферичних статевих залоз, є синтез і секреція в кров пептидного гонадотропін-рилізінг гормону (ГнРГ), або гонадоліберину,

відповідними нейронами гіпоталамусу. Регулювання його секреції відбувається двома сигналами, один із яких має гуморальну природу і працює за механізмом зворотного зв'язку, згідно з яким підвищення рівня статевих стероїдів у крові призводить до зниження рівня ГнРГ і гонадотропінів. Другий сигнал, необхідний для секреції ГнРГ, має нейрональну природу, і щоденно надходить від циркадіанного осцилятора СХЯ. Окрім цього, циркадіанний контроль за синтезом та секрецією ГнРГ виконується і нейрогуморальним шляхом, а саме мелатоніном [141]. Численні дослідження, проведені експериментально (на самцях і самках), та клінічні спостереження серед осіб чоловічої та жіночої статі підтверджують вплив мелатоніну на статевий розвиток та репродукцію [22, 100, 115, 117, 208, 238].

Доведено, що він проявляє гальмівний ефект на секрецію гонадотропних гормонів гіпофіза, тим самим змінюючи і секрецію периферичних статевих гормонів – естрогенів, андрогенів та тестостерону [17, 135, 246]. Початок статевого розвитку у людини пов'язаний зі зменшенням секреції мелатоніну [66, 115, 138], що стимулює виділення гіпофізом статевих гормонів – лютеїнізуючого та фолікулостимулюючого (пролактину та окситоцину) та прискорює статеве формування. Доведено, що дитина з затримкою статевого розвитку має більш високий рівень мелатоніну в крові. Якщо рівень гормону залишається підвищеним (у 5 і більше разів вище за вікову норму), статевий розвиток затримується надовго [99].

Видалення епіфіза в експериментальних тварин викликало збільшення маси тіла, у самців – гіпертрофію сім'яників і посилення сперматогенезу, а у самок – подовження періоду жовтих тіл яєчника та збільшення матки. Навпаки, при веденні в організм тварин екстракту із епіфіза відбувалося зниження маси гонад та гальмування статевого розвитку, що співпадало із відомостями про затримку статевого розвитку в підлітків із більш високим вмістом мелатоніну в крові [6, 69].

Установлений вплив мелатоніну на тривалість естрального (овуляторного) циклу: штучне збільшення тривалості світлового періоду на 2–4 години призводить до його подовження, а в деяких випадках і до порушення. При постійному впливі світла у більшості лабораторних тварин швидко розвивається стан, подібний до клімаксу в жінок. В яєчниках таких тварин виявляються кісти та гіперплазія клітин, що продукують статеві гормони. Замість циклічної секреції гонадотропінів, пролактину, естрогенів та прогестерону, притаманної нормальному репродуктивному періоду, ці гормони утворюються ациклічно, викликаючи гіперпластичні процеси в молочній залозі та матці [4]. Існують відомості, що вплив світла протягом ночі знижує рівень 6-сульфатоксимелатоніну в сечі жінок, підвищує вміст естрадіолу та прогестерону в крові [130], впливає на тривалість менструального циклу, зменшуючи його у жінок, у яких він подовжений (більше 33 днів). Дослідження проводилося серед медичних сестер, які працювали у нічну зміну, у 60 % цикл став коротшим (25 днів).

Установлено, що постійне освітлення збільшує у щурів поріг чутливості гіпоталамуса до гальмівної дії естрогенів. Цей механізм є ключовим у старінні репродуктивної системи і у самок щурів, і у жінок [6, 100].

За рахунок властивих мелатоніну проліферативних та імуномодельюючих функцій він підтримує здатність ендометрію до імплантації [278]. Діючи через цАМФ-сигналінг, він опосередковано бере участь у комплексній регуляції ритмічності та амплітуди скорочення міометрію. Мелатонін регулює сезонні та добові коливання сексуальної активності та фертильності жінок [114, 197].

У роботі чоловічої статевої системи мелатонін є добовим та сезонним координатором активності сперматогенезу. Тестостерон є головним гормоном, що підтримує сексуальну функцію у чоловіків та забезпечує взаємодію між нервовою, ендокринною та судинною системами [111]. Процес синтезу тестостерону перебуває під контролем гіпоталамо-

гіпофізарної системи та реалізується за механізмом зворотного зв'язку на двох рівнях: гіпоталамічному та гіпофізарному [112]. Основними гормонами, що стимулюють секрецію тестостерону, є лютеїнізуючий (ЛГ) та фолікулостимулюючий (ФСГ) гормони гіпофіза. У свою чергу, секреція ЛГ і ФСГ регулюється ГнРГ (рис. 1.5). При цьому зниження вмісту мелатоніну в крові стимулює синтез гіпофізом ЛГ та ФСГ гормонів [152, 158, 218].

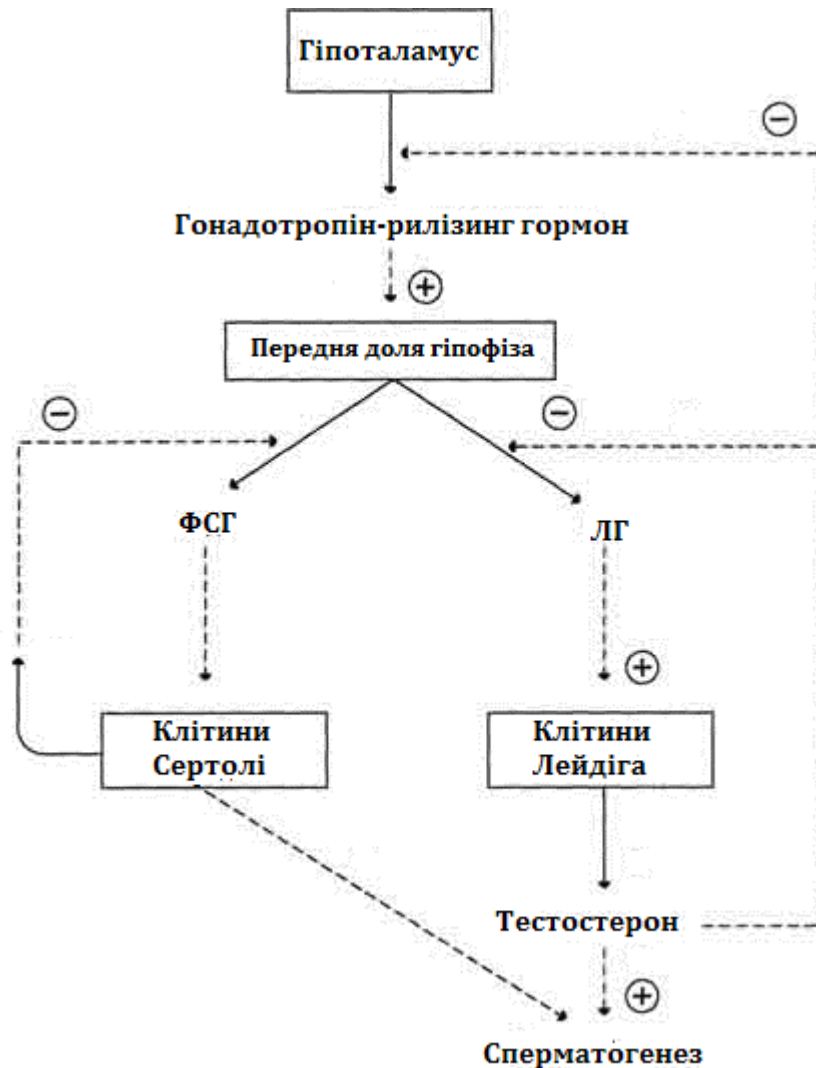


Рисунок 1.5. Регуляція синтеза тестостерону [146]

Секреція тестостерону підпорядкована добовим ритмам з максимумом в ранкові години (6–8 год) та падінням до вечора (20–22 год) [120, 213, 279]. Циркадіанна ритмічність більшою мірою наявна у чоловіків молодого віку та нівелюється з віком у процесі природного старіння [2, 242]. Подібно до

жінок, у яких робота в нічну зміну призводить до порушення секреції статевих гормонів, у чоловіків також установлені підвищення вмісту прогестагенів та андрогенів, зміщення циркадіанного піка тестостерону на 12–14 год на фоні зниження вмісту метаболіту мелатоніну в сечі [150].

Як на мембрані гранульозних фолікулів, так і на клітинах Лейдіга та Сертолі, додатку яєчка виявлені рецептори MT_1 і MT_2 . Мелатонін, впливаючи на пероксидазну активність сперматозоїдів, здатний подовжувати час їх рухливості *in vitro*, знижуючи їх активність [117, 158, 251]. Виявлено, що у щурів та мишей він чинить гальмівну дію на клітини Лейдіга, а його недостатність при пінеалектомії призводить до порушення ритмічності стероїдогенезу в них [175, 272]. Висока спорідненість специфічного G-білка з мелатоніновими рецепторами була встановлена в цитозолі залозистих клітин простати людини [264]. Через ці рецептори, як припускають, і опосередковується гальмівний ефект мелатоніну на ріст клітин передміхурової залози [219], що пояснює експериментально доведені дані про можливість мелатоніну попереджати розвиток доброякісної гіперплазії передміхурової залози та затримувати атрофію статевих органів, що зазвичай відбувається під час старіння [120, 248].

Антиканцерогенний та геропротекторний ефекти. У багатьох наукових дослідженнях обговорюються можливі механізми гальмівної дії мелатоніну на канцерогенез та старіння [4, 10, 15, 145, 247]. Установлено, що він ефективний на системному, тканинному, клітинному та субклітинному рівнях, перешкоджаючи старінню та виникненню раку [102].

На системному рівні мелатонін знижує продукцію гормонів, що сприяють цим процесам, стимулює імунний контроль, попереджає розвиток метаболічного синдрому. Одночасно пригнічує продукцію вільних радикалів кисню та активує антиоксидантний захист. Мелатонін гальмує проліферативну активність клітин і підвищує рівень апоптозу в пухлинах, але зменшує його в нервовій системі, пригнічуючи активність теломерази. На

генетичному рівні він гальмує дію мутагенів і кластерів, а також експресію онкогенів (табл. 1).

Таблиця 1.1

Механізми геропротекторної та антиканцерогенної дії мелатоніну

Показники	Вплив мелатоніну на вказані показники при:	
	старінні	канцерогенезі
1	2	3
Рівень гонадотропінів (ФСГ і ЛГ)	↓	↓
Рівень пролактіна	↓	↓
Гормон роста	↓	↓
Чутливість до інсуліну	↑	↑
Рівень естрогенів	↓	↓
Експресія рецепторів естрогенів	↓	↓
Мутагенез	↓	↓
Кластогенна дія	↓	↓
Аддукти ДНК	↓	↓
Проліферативна активність	↓	↓
Апоптоз	↓	↑
Утворення активних форм кисню	↓	↓
Система антиоксидантного захисту	↑	↑
Засвоєння лінолевої кислоти	↓	↓
Імунний контроль	↑	↑
Активність теломерази	↓	↓
Експресія онкогенів (Her-2/new, ras)	↓	↓

Усі ці дані свідчать про важливу роль епіфіза в розвитку раку. Пригнічення його функції при постійному освітленні стимулює канцерогенез [7, 10, 145]. Епідеміологічні спостереження відносно збільшення ризику розвитку раку молочної залози та раку товстої кишки у працівників нічних

змін відповідають результатам експериментів на щурах. Використання епіфізарного гормону пригнічує канцерогенез у тварин і при звичайному світловому режимі, і при постійному освітленні. На відміну від багатьох гормонів, дія мелатоніну на клітинні структури залежить не тільки від його концентрації в крові і міжклітинному просторі, але і від первинного стану клітини.

Кардіотропний, гіпотензивний ефекти. Мелатонін позитивно впливає на обмін ліпідів і вуглеводів, знижує рівень холестерину в крові. Він здатний нормалізувати процес окиснення ліпідів, зменшуючи таким чином ризик виникнення атеросклерозу, бере участь у регулюванні артеріального тиску, знижує продукцію норадреналіну, вазопресину та реніну [23, 53, 104].

1.3. Десинхроноз як основа розвитку гастральних виразок

Явищем, найбільш істотним для живої природи на Землі, є зміна дня і ночі, світла і темряви. Обертання нашої планети навколо своєї осі та одночасно навколо Сонця відміряє добу, сезони і роки нашого життя [5].

Один із основних законів життєдіяльності – це закон ритму. Ритмічні коливання присутні на всіх рівнях організації живої та неживої матерії. В одних випадках коливання матерії легко доступні для спостереження, наприклад: зміна дня та ночі, зміни сезонів року, сонячної активності. Про інші форми коливання матерії ми дізнаємося непрямым шляхом, бо їх періоди настільки великі, що несумісні з людським життям – ритми руху зірок, планет і галактик [13, 190].

Під біологічними ритмами розуміють закономірні коливання інтенсивності процесів і фізіологічних реакцій, в основі яких лежать зміни метаболізму біологічних систем, обумовлені впливом зовнішніх (зміни освітлення, температури, магнітного поля, інтенсивності космічного

опромінювання, морські припливи та відпливи, впливи Сонця, Місяця, сезонів) і внутрішніх (нейрогуморальні процеси, що відбуваються в певному спадково закріпленому ритмі) факторів [177, 190].

Біоритми, з одного боку, мають ендогенну природу та генетичну регуляцію, а з іншого – їх здійснення пов'язане з модифікуючими факторами зовнішнього середовища – первинними та вторинними синхронізаторами. У тварин і рослин основним первинним синхронізатором є сонячне світло. У людини окрім освітлення важливу роль у формуванні біологічних ритмів мають соціальні фактори (початок і кінець робочого дня, періоди відпочинку та сну, прийом їжі та ін.) [154].

Під впливом екзогенних ритмів, що регулярно повторюються, в процесі еволюції в живих системах сформувалися структурно-функціональні елементи (осцилятори), які контролюють ендогенні ритми. При тривалій ізоляції біоритми можуть переходити на власну частоту, що була раніше індукована зовні, а при нав'язаному зовнішньому ритмі можуть змінювати фазу власного ритму. Найбільш важливу групу біоритмів складають сезонні та годинні, обумовлені обертанням Землі навколо Сонця. Сезонні коливання фізіологічних показників у багатьох теплокровних тварин і в людини певною мірою повторюють добові: в зимовий період спостерігається зниження обміну речовин і рухової активності, навесні та влітку – активація фізіологічних процесів [79].

Біологічні об'єкти – одна із форм організації матерії, для якої притаманні періодичні коливання. У залежності від основних критеріїв ритми класифікують за довжиною періоду (ультрадіанні, циркадіанні, циркасептанні, інфрадіанні, циркануальні); за рівнем організації біосистем (клітинні, органні, організменні, популяційні); за формою коливань (імпульсні, синусоїдальні, релаксаційні, змішані); в залежності від екзогенних коливань (сонячно-добові, місячно-добові, впродовж року та інші); за їх біологічними системами (ритми популяцій); за родом процесів,

що модулюють ритм (екзогенні, ендогенні); за функціями, що виконує ритм (ритми сну, ритми розмноження та ін.) [47, 190].

Фотоперіод відіграє певну роль у синхронізації циркадних, циркадіанних, циркануальних світлових ритмів функціонування живих істот, забезпечуючи усім органам і системам умови для виявлення максимальної активності удень та відпочинку вночі [46, 156, 167].

У людини більше 900 фізіологічних функцій організму (температура тіла, частота пульсу, артеріальний тиск, концентрація гормонів, активність печінки, нирок та ін.) мають добові та сезонні коливання, що складають фізіологічну основу для раціональної організації режиму праці та відпочинку [177]. Ритмічні зміни характеру та інтенсивності життєвих процесів передаються спадково. Цикли активності та спокою чередуються, що формує необхідні умови для підтримання сталості клітин, їх диференціації та реакції на зміни в навколишньому середовищі. Ритми будь-якої біосистеми забезпечують її економічний режим функціонування, раціональний розподіл ресурсів, гармонічну взаємодію з іншими системами організму. У денні години сягають максимуму процеси, що забезпечують біохімічну та енергетичну активність організму, а вночі – процеси, спрямовані на накопичення енергетичних і пластичних ресурсів [13].

На думку С.І. Рапопорта (1997), прояви біоритмів як в організмі, так і в ізольованих тканинах свідчать про універсальність цього принципу функціонування живих систем. Відхилення біоритмів можуть бути адаптаційними, патологічними, неспецифічними (пов'язаними із загальним адаптаційним процесом) і специфічними (притаманними конкретній патології в ураженому органі). Із багатьох біоритмів тільки добові, місячні і сезонні є адаптивними [177].

«Злам» біоритмів проявляється у вигляді десинхронозу – неспецифічного адаптаційного функціонального стану організму, який передуює клінічним ознакам хвороби. Десинхроноз завжди з'являється раніше, ніж проявляються морфологічні ознаки захворювання, тобто десинхроноз

передуює розвитку хвороби та супроводжує її. При цьому ступінь десинхронозу корелює з тяжкістю хвороби та її стадією. Причини десинхронозу можуть бути як природними, так і соціальними.

Природні причини десинхронозів:

- дія геліогеофізичних датчиків часу (цикли сонячної активності, добові та сезонні варіації погоди), осінь – «сезоний десинхроноз»;
- фактори, що виникають при сонячних спалахах і геомагнітних бурях;
- ритми геомагнітного поля Землі, пов'язані з обертанням навколо Сонця;
- екстремальні природні умови.

До соціальних причин належать:

- порушення ритмів «сон – неспанья» при змінній та нічній роботі, роботі вахтовим методом, співвідношення «активність – відпочинок», режиму харчування;
- неузгодження між добовим біоритмом і дискретним часом, що виникає при трансконтинентальних перельотах (джет-лаг);
- десинхроноз пов'язаний з міжорбітальними та міжпланетними космічними перельотами;
- стреси промислових міст, що пов'язані з напруженою роботою або управлінням транспортом, надлишком інформації; народження дитини, вихід на пенсію та ін.;
- стрес-фактори: токсичність алкоголю, патологічні фізичні та інші впливи;
- зміни гормонального фону при статевому дозріванні, менструальному циклі, вагітності тощо.

Механізми формування та підтримки біоритмів ще до кінця не з'ясовані. Згідно з сучасними уявленнями біологічний годинник організму пов'язаний із діяльністю гіпоталамуса та епіфіза та перебуває у чіткій підпорядкованості основному водію ритму, який розташований у СХЯ

гіпоталамуса. Гормоном-посередником, який доносить сигнали до органів і тканин є мелатонін [93].

Численні дослідження визначили фундаментальну роль мелатоніну як фотонейроендокринного перетворювача інформації щодо тривалості світового дня, який передає інформацію про ритми органам і тканинам [46, 205, 233].

Винайдення більше ста років тому електрики і штучного освітлення кардинально змінило як світловий режим, так і тривалість впливу світла на людину. Вплив світла в нічний час, яке отримало назву «світлове забруднення», збільшилося і стало суттєвою частиною сучасного способу життя, що супроводжується безліччю серйозних розладів поведінки та стану здоров'я, включаючи серцево-судинні захворювання та рак. Згідно з гіпотезою «циркадіанної деструкції» вплив світла в нічні години порушує ендогенний добовий ритм, пригнічує нічну секрецію мелатоніну, що призводить до зниження його концентрації в крові [204, 280].

Вплив світла вночі призводить до ановуляції і пов'язаного з віком прискорення «вимкнення» репродуктивної функції у гризунів і до дисменореї у жінок; збільшує перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) у тканинах тварин і зменшує загальну антиокиснювальну і супероксиддисмутазну активності, тоді як застосування мелатоніну викликає зниження активності ПОЛ [8]. Показано, що ожиріння, високий рівень тригліцеридів і холестерину, низька концентрація ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) виявляються у тих, хто працює вночі, частіше, ніж у робітників денних змін. З іншого боку, є докази, що метаболічний синдром, представлений вісцерально-абдомінальним ожирінням, артеріальною гіпертензією, високим рівнем холестерину та тригліцеридів у крові, порушенням толерантності до глюкози та інсулінорезистентністю, є не тільки фактором ризику розвитку серцево-судинних захворювань, а й призводить до виникнення злоякісних пухлин [204].

Нині існує багато професій, пов'язаних з роботою в нічний час або позмінно – лікарі, медсестри, шахтарі, а також професії, пов'язані зі змінами годинних поясів під час перельотів, – льотчики, стюардеси, спортсмени, моряки, артисти, туристи, що здійснюють тривалі перельоти, або тривалі морські переходи [49, 233].

Доведено, що у робочих, які мають змінну роботу або працюють вночі, достовірно частіше спостерігаються зміни здоров'я, що включають порушення сну, шлунково-кишкові захворювання, збільшення випадків серцево-судинних захворювань, порушення метаболізму та толерантності до ліпідів і, можливо, збільшення випадків розвитку цукрового діабету.

Отже, порушення як кількісної продукції мелатоніну, так і його ритмів на фоні порушення режиму освітлення, може стати пусковим механізмом, що призводить до розладів як власних біологічних ритмів організму між собою, так і ритмів організму з навколишнім середовищем – десинхронозу. Хронобіологи традиційно розрізняють два види десинхронозу в залежності від рівня розвитку. Якщо десинхроноз є результатом порушення окремих біоритмів або неузгодженості між різними біоритмами всередині організму – це внутрішній десинхроноз, а якщо між ритмами організму та циклічними або іншими факторами навколишнього середовища – це зовнішній десинхроноз. Причиною внутрішнього десинхронозу є неоднакова швидкість перебудови біоритмів різних функцій організму. Зовнішній десинхроноз, як правило, веде до розвитку внутрішнього. Обидва десинхронози призводять до розвитку морфофункціональних змін у тканинах і захворювань внутрішніх органів [77, 83, 97, 268].

Також існує класифікація десинхронозів за причинним фактором та механізмом розвитку [45]:

1. Трансмеридіанний (ізоляційний) десинхроноз, центрального генезу – основною причиною його формування є порушення рецепції та трансмісії синхронізуючого сигналу центральними осциляторами – СХЯ гіпоталамусу

та епіфізом. Має, як правило, транзиторний характер, оскільки не супроводжується структурними порушеннями центрального осцилятора.

2. Віковий десинхроноз, комплексного генезу – причини його розвитку мають як центральне походження (порушення міжнейрональної взаємодії всередині СХЯ та зниження продукції мелатоніну епіфізом), так і периферичне – порушення рецепції тканинами та органами сигнальної інформації від центральних осциляторів.

3. Індукований (хімічними, фізичними або інфекційними факторами) десинхроноз, переважно периферичного (хоча може бути і комплексного) генезу, оскільки вплив фізико-хімічних факторів, що провокують розвиток десинхронозу спрямований головним чином на еферентний ланцюг циркадіанної системи.

4. Патологічний десинхроноз, переважно периферичного генезу, пов'язаний зі структурно-функціональними порушеннями на тканинному та органному рівнях. Може бути спровокований як хронічною патологією, так і гострими захворюваннями, в тому числі інфекційної природи.

Доведено, що десинхроноз є причиною зміни будови тканин організму та розвитку захворювань внутрішніх органів [77, 83, 245].

На сьогодні розвиток деяких захворювань, зокрема виразкової хвороби, розглядається з позицій порушень біологічного ритму різних фізіологічних процесів організму людини [252, 280].

Ритмічність у діяльності органів ШКТ забезпечує оптимальне функціонування організму: стабільність процесів гомеостазу, адаптації, інтенсивності метаболічних, нейроендокринних та імунних процесів. Для органів ШКТ найбільше дослідженні циркадіанні ритми. На генерацію циркадіанних ритмів ШКТ впливають екзогенні та ендогенні фактори, однак ритм зовнішніх факторів не завжди співпадає з циркадіанним ритмом різних функцій органів ШКТ [55].

Ритм виникнення відчуття голоду тісно пов'язаний із циркадіанними ритмами ферментів, стероїдних і пептидних гормонів, катехоламінів та ін.

Цей взаємозв'язок є двобічним. З одного боку, суттєву роль у становленні циркадіанного ритму наднирникових і підшлункової залоз має ритм прийому їжі. З іншого боку, кожний прийом їжі супроводжується перебудовою гормонального і ферментного фону організму, утворюючи в періоди інтенсивного травлення відповідну фазу циркадіанних ритмів. Так, через 10 хв після однократного прийому їжі в крові збільшується рівень панкреатичного поліпептиду та гастрину, до 20-ї хвилини підвищується рівень інсуліну, панкреатичного глюкагону, тоді як концентрація ентероглюкагону не змінюється впродовж 30 хв. Максимальні концентрації глюкагону та ентероглюкагону спостерігаються на 40-й та 150-й хвилинах після прийому їжі відповідно. Концентрація цих пептидів залишається підвищеною в наступні 5 годин, а концентрація інсуліну та гастрину повертається до початкових показників через 4 години [55].

Секреція травних соків зазнає значних впливів циркадіанних коливань, що слід враховувати при проведенні діагностики та терапії. О 6–7-й годині спостерігається висока активність ферментопродукуючої функції залоз ШКТ, тому ранок вважають оптимальним часом для сніданку. Потім активність травної системи знижується, але до 14–15-ї години залишається достатньо високою. Значне її зниження починається з 18-ї години. Для людини та тварин, активних у світлу фазу доби, інтенсивність слиновиділення, шлункова секреція та перистальтика є більшими вдень. Незважаючи на високу активність людей, праця яких пов'язана з нічним часом, ефективність травлення у них нижча, ніж удень. Також важлива наявність сезонних ритмів у діяльності ШКТ. Інтенсивність травлення та метаболічних процесів, пов'язаних із ним, вище весною та влітку [55].

Вивчена ритмічність активності гладкої мускулатури, яка відповідає за тонус і перистальтику всіх порожнинних органів ШКТ, скоординованих з тонусом шкіри та слизових оболонок. Скорочення шлунка відбувається одночасно із скороченням нижньої частини стравоходу та верхніх відділів тонкого кишечника. Загальний ритм для цих органів має періодичність 1 хв і

координується ЦНС. Усі гладком'язові органи ШКТ утворюють і більш швидкі ритми. Вони відрізняються в залежності від органа: ритм перистальтики шлунка знаходиться в співвідношенні 3:1 до хвилинного ритму; ритм перистальтики ДПК – 4:1 до ритму шлунка. У результаті утворюється гармонійний спектр коливань скорочень органів ШКТ, які корелюють між собою. Присутні й повільні коливання тонузу з періодом 1 год. Установлено, що темп евакуації твердої їжі зі шлунка ввечері (о 20 год) майже на 20 % нижчий, ніж вранці (о 8 год). У здорової людини під час неспання за 1 год спостерігається 31 скорочення шлунка, а під час сну – 26, тобто моторна активність шлунка знижена на 16 % [55].

Важливе значення для системи травлення мають добові коливання секреції шлункового соку, базальних параметрів рН, вміст гастрину. З початком сну у здорової людини виділення шлункового соку різко зменшується та з часом навіть повністю припиняється. Паралельно зниженню об'єму секреції різко падає концентрація вільної соляної кислоти та перетравлювальна сила соку. Стан секреції шлункового соку перебуває в щільній залежності від особливостей прийому їжі. Максимальна кислотність у шлунку спостерігається через декілька годин після їжі та надвечір. Підвищення кислотності при потраплянні їжі пов'язане з її стимулюючим впливом на залози шлунка, а підвищення надвечір відображає власний ендогенний ритм кислотопродукції [55].

При цьому не менший інтерес в останні роки клініцисти проявляють до ролі мелатоніну в сезонних загостреннях різноманітних захворювань, в тому числі ВХ. Наскільки суттєвою є ця проблема, свідчить той факт, що ще Гіппократ вказував: «... тот, кто хочет заслужить действительное и полное признание в искусстве врачевания, должен прежде всего учитывать особенности сезона года не только потому, что они отличаются друг от друга, но и потому, что каждый из них может вызвать самые разные последствия» [178]. На думку G. Hildenbrandt [227], сезонні зміни життєвих процесів відповідають річному ритму рівня активності цілісного організму.

За його даними, більшість максимумів і мінімумів сезонних ритмів припадає на лютий та серпень. Ці місяці є переломними точками направлення фаз річних біологічних ритмів, тобто біологічний рік поділяється цими місяцями на дві половини, в межах яких напрямок фаз річних біологічних ритмів взаємопротилежні. Біологічна весна характеризується швидким наростанням життєвої активності та забезпечуючих її процесів. У період біологічної осені відмічається подібна до весни динаміка процесів, але зі зворотним напрямком [200]. Цей момент, на думку науковців, є одним із найважливіх у патогенезі сезонних загострень захворювань, оскільки призводить до стану, який отримав назву сезонного фізіологічного десинхронозу [99].

Установлено, що сезонне коливання ритмів ШКТ, яке характеризується погіршенням хроноадаптації у весняний та осінній сезони та супроводжується порушенням навколдобових біоритмів функціонування ШКТ, є характерним для загострення хронічної патології: $\frac{3}{4}$ загострень гастроентерологічних захворювань припадає на весну та осінь [55].

Таким чином, наявність десинхронозу є характерною для виразкової хвороби. При цьому порушення узгодженості нормальної ритмічності відбувається не тільки в діяльності органів ШКТ, але і в багатьох інших процесах організму, в тому числі в ендокринній системі. Частота випадків наявного внутрішнього десинхронозу як при ВХ ДПК, так і ВХШ приблизно однакові – 76,5 % і 74,6 % відповідно. Зовнішній десинхроноз при ВХ спостерігається в період загострення в 5 разів частіше, ніж поза загостренням: хворим притаманні випадки раннього пробудження та пізнього засинання, майже в 5 разів зростає сонливість удень, виникають труднощі в пристосуванні до незвичайного розпорядку дня. Десинхроноз найбільше виявляється у хворих із сильним больовим синдромом та торпідним перебігом хвороби. Під час ремісії у хворих ВХ залишаються більш наявні, ніж у здорової людини, ознаки десинхронозу, тобто існує передумова до загострення [55].

Установлено, що у хворих на ВХ ДПК у стадії загострення присутні порушення добової продукції та рівня амплітуди секреції мелатоніну: зменшується різниця між рівнями денної та нічної секреції, присутній зсув фази його продукції за рахунок відсутності спаду в денні години, з'являється додатковий пік секреції надвечір. Порушення секреції мелатоніну залишається навіть у стадії ремісії [61].

Про наявність десинхронозу свідчить зміна навколдобового ритмосинтезу білка в слизовій оболонці шлунка у хворих на ВХ [252]. Середня швидкість цього процесу втричі перевищує показник у нормі. Наочним прикладом порушення біологічного ритму у хворих на ВХ є нічна шлункова гіперсекреція, яка часто передуює розвитку гастродуоденальних виразок. У хворих на ВХШ нічна шлункова секреція поза періодом шлункового травлення майже вдвічі вища порівняно зі здоровою людиною. Рясна та безперервна шлункова секреція в нічний час присутня і у хворих на ВХ ДПК. Найбільш різке порушення ритму секреції шлункового соку спостерігається у хворих на ВХ у період нічних болів (2–4 год). Під час сну відбувається посилення моторної функції шлунка [51, 57].

Ритмічна активність шлунка перебуває в залежності не тільки від стадії ВХ, але і від сезону року. Середня амплітуда електрогастрограми хворого на ВХ ДПК достовірно вища навесні та восени. Спостерігається збільшення кількості головних та обкладочних клітин шлунка в ці сезони. У хворих на ВХ у весняні місяці посилюється секреція гістаміну, серотоніну, інсуліну, кортизолу; влітку підвищується продукція гастрину, адреналіну, норадреналіну, збільшується активність ацетилхолінестерази, але зменшується утворення інсуліну та кортизолу; восени знижується синтез гістаміну, серотоніну, адреналіну, норадреналіну та активність ацетилхолінестерази. Отже, навесні відмічається напруження регуляторних механізмів, а восени – їх гальмування, що у свою чергу через каскад нейрогуморальних реакцій сприяє загостренню ВХ.

На думку С.І. Рапопорта (1997) виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки в період загострення супроводжується розвитком ознак зовнішнього і внутрішнього десинхронозу, який характеризується зміною як акрофази, так і амплітуди вивчених функцій. Десинхроноз найбільш виражений у хворих із сильним больовим синдромом і торпідним перебігом захворювання. Тобто десинхроноз може бути причиною захворювання на виразку шлунка та дванадцятипалої кишки.

Незважаючи на накопичений в літературі матеріал, дотепер в етіопатогенезі ВХ залишаються нез'ясованими питання, на які не може відповісти жодна із існуючих теорій. По-перше, це стосується добових ритмів клінічних проявів захворювання та сезонності його загострення. Отримані в останні роки відомості про генетичну природу біоритмів людського організму, а також про сутність феномену дезадаптації як про результат неузгодженості генетично детермінованих ендогенних біоритмів організму та ритмів зовнішнього середовища обумовлюють принципово нову концепцію про місце мелатоніну в патогенезі як власне ВХ, так і її сезонних загострень. По-друге, залишаються нез'ясованими питання про схильність до захворюваності на ВХ чоловіків молодого віку, що, враховуючи наявність взаємозв'язку між мелатоніном та статевими гормонами, також невідмінно має своє місце в патогенезі цієї хвороби та потребує подальших досліджень.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження виконані на 552 нелінійних білих щурах різної статі та віку, а саме 3, 9, 15 та 20 міс, що відповідає віку людини 14, 29–30, 43–44, 55–56 років [52].

Розподіл тварин за серіями експерименту наведено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл тварин за серіями експерименту відповідно задачам дослідження

№№	Назва серії	К-ть щурів	Стать, вік	Об'єкти дослідження	Показники
1	2	3	4	5	6
1	Визначення вмісту гормонів восени	24	самці, 3, 9, 15, 20 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
2	Визначення вмісту гормонів восени	24	самки, 3, 9, 15, 20 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
3	Визначення вмісту гормонів взимку	6	самці, 3 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
4	Визначення вмісту гормонів і МПМК взимку	18	самці, 9, 15, 20 міс	сироватка, СОШ	мелатонін, тестостерон, МПМК
5	Визначення вмісту гормонів взимку	6	самки, 3 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
6	Визначення вмісту гормонів і МПМК взимку	18	самки, 9, 15, 20 міс	сироватка, СОШ	мелатонін, тестостерон, МПМК
7	Визначення вмісту гормонів навесні	24	самці, 3, 9, 15, 20 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
8	Визначення вмісту гормонів навесні	24	самки, 3, 9, 15, 20 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон

1	2	3	4	5	6
9	Визначення вмісту гормонів влітку	24	самці, 3, 9, 15, 20 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
10	Визначення вмісту гормонів влітку	24	самки, 3, 9, 15, 20 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
11	Визначення вмісту гормонів при десинхронозі	6	самці, 3 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
12	Визначення вмісту гормонів і МПМК при десинхронозі	18	самці, 9, 15, 20 міс	сироватка, СОШ	мелатонін, тестостерон. МПМК
13	Визначення вмісту гормонів при десинхронозі	6	самки, 3 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
14	Визначення вмісту гормонів і МПМК при десинхронозі	18	самки, 9, 15, 20 міс	сироватка, СОШ	мелатонін, тестостерон. МПМК
15	Визначення вмісту гормонів при виразковому ураженні шлунка	6	самці, 3 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
16	Визначення вмісту гормонів і МПМК при виразковому ураженні шлунка	18	самці, 9, 15, 20 міс	сироватка, СОШ	мелатонін, тестостерон. МПМК
17	Визначення вмісту гормонів при виразковому ураженні шлунка	6	самки, 3 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
18	Визначення вмісту гормонів і МПМК при виразковому ураженні шлунка	18	самки, 9, 15, 20 міс	сироватка, СОШ	мелатонін, тестостерон. МПМК

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4	5	6
19	Визначення вмісту гормонів при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу	6	самці, 3 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
20	Визначення вмісту гормонів і МПМК при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу	18	самці, 9, 15, 20 міс	сироватка, СОШ	мелатонін, тестостерон. МПМК
21	Визначення вмісту гормонів при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозі	6	самки, 3 міс	сироватка	мелатонін, тестостерон
22	Визначення вмісту гормонів і МПМК при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу	18	самки, 9, 15, 20 міс	сироватка, СОШ	мелатонін, тестостерон. МПМК
23	Визначення МПМК при пінеалектомії	20	самці, 3 міс	СОШ	апудоцити, МПМК
24	Визначення кількості МПМК восени	6	самці, 9 міс	СОШ	МПМК
25	Визначення кількості МПМК восени	6	самки, 9 міс	СОШ	МПМК
26.	Визначення кількості імунокомпетентних клітин при виразковій хворобі, десинхронозі та при виразковій хворобі на тлі десинхронозу	40	самці, 9 міс	кров	Т-лімфоцити, Т-хелпери, Т-супресори, В-лімфоцити
27.	Вивчення впливу екзогенного мелатоніну при лікуванні виразкового ураження СОШ	96	самці, 9 міс	сироватка, СОШ	ТБК- реактанти, АлАТ, АсАТ, загальний білок, МПМК

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4	5	6
28.	Дослідження показників ПОЛ та АОС при десинхронозі	24	самці, 9 та 20 міс	сироватка	ДК, ТБК-реактанти, окиснювальна модифікація білка, кінцеві продукти метаболізму NO, СОД, ГП, ГТ
29.	Дослідження показників ПОЛ та АОС при десинхронозі	24	самки, 9 та 20 міс	сироватка	ДК, ТБК-реактанти, окиснювальна модифікація білка, кінцеві продукти метаболізму NO, СОД, ГП, ГТ
	Ітого	552			

Утримання тварин та спосіб їх евтаназії. Піддослідні тварини знаходилися у віварії центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ м. Харків (зав. ЦНДЛ – канд. фарм. наук, ст.н.с. О.Ю. Кошева) і перед початком експерименту проходили акліматизацію в умовах кімнати для проведення випробувань впродовж 7 днів. Утримання тварин відповідало діючим правилам щодо пристроїв, обладнання та утримання віваріїв. Тварини знаходилися на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води, по 6 щурів у стандартних металевих клітках без впливу штучних джерел освітлення. Усі втручання та евтаназію тварин здійснювали з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., із змінами, внесеними в 1998 р.) та ухвали V Національного конгресу з біоетики (Київ, 2013) [58, 84]. Комісією з біоетики НФаУ порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 3 від 15.03.2017 р.). Дослідження

проводили у ЦНДЛ НФаУ, яка сертифікована ДФЦ МОЗ України (посвідчення № 008/11 від 18.10.2011 р.).

Дослідження були проведені за такими етапами (рис. 2.1).

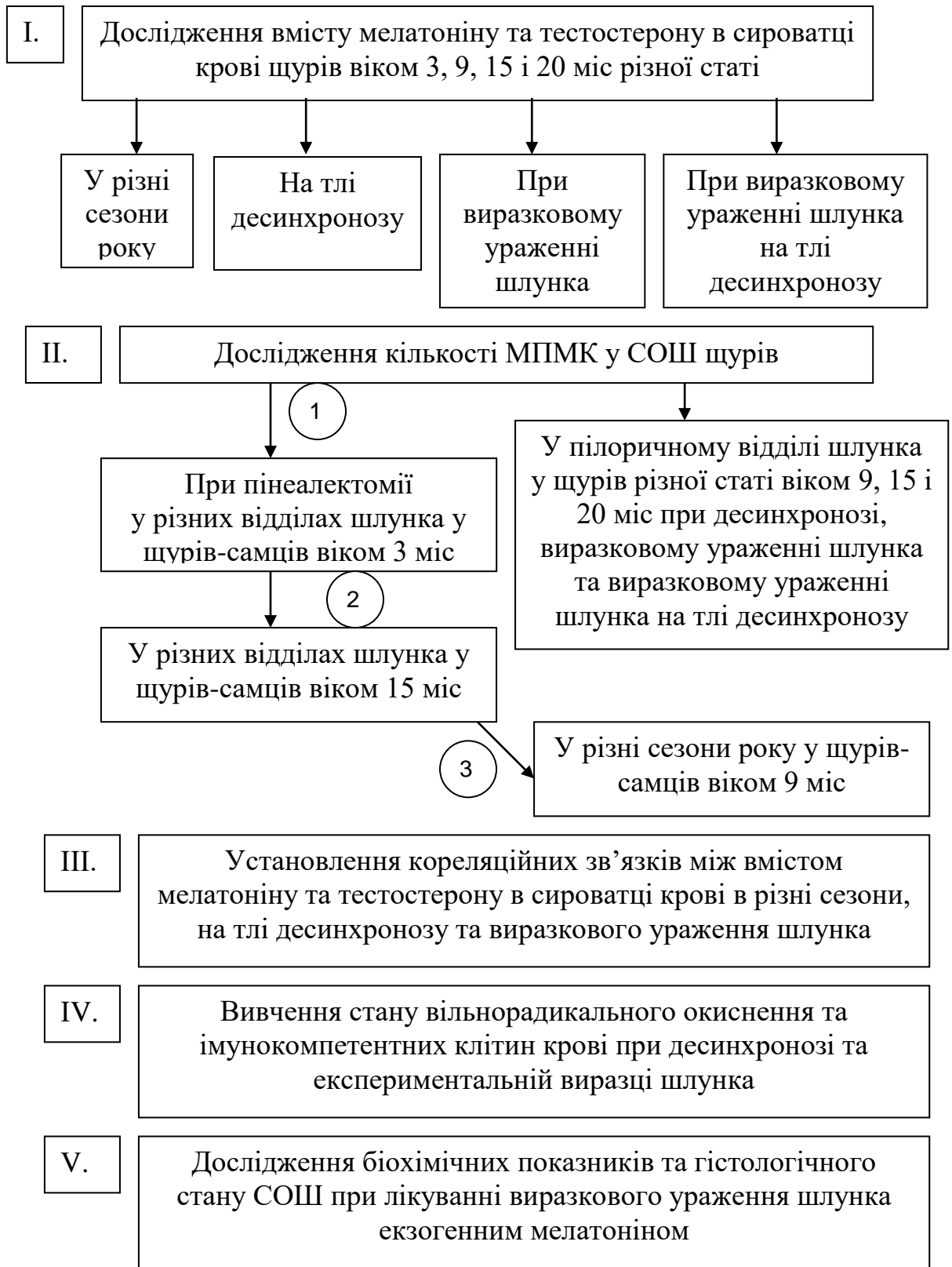


Рисунок 2.1. Етапи дослідження

Умови проведення досліджень та забору матеріалу

Дослідження проводилися протягом року в різні сезони: осінь (жовтень), зима (січень), весна (березень) та літо (липень). Для формування природного ритму секреції мелатоніну шишкоподібною залозою впродовж 2 тижнів до проведення забору крові тварини знаходилися в умовах природного освітлення без впливу штучних джерел світла. Співвідношення «світло/темрява» в різні періоди дослідження було таким: осінь – 10/14, зима – 8/16, весна – 12/12, літо – 16/8.

Забір крові проводили з 10:00 до 12:00 години. Період для забору крові було обрано таким чином, щоб не було збігів піків циркадіанних ритмів секреції досліджуваних гормонів: для мелатоніну – з 2:00 до 4:00, для тестостерону – з 6:00 до 8:00 [4, 279], а також з урахуванням наявності низько- та високоамплітудних ритмів секреції мелатоніну, співвідношення яких по-різному представлені в різних вікових групах – у молодих переважають високоамплітудні ритми, у старшому віці – низькоамплітудні [82].

Отримання сироватці крові для дослідження

Кров отримували шляхом декапітації наркотизованої тварини. Кров після забору поміщали в термостат на 15 хв при температурі 36–37 °С. На наступному етапі кров центрифугували впродовж 15 хв на 500 об/хв. Після закінчення центрифугування кров знаходилася ще протягом 30 хв у холодильнику при температурі 2–4 °С. Надосадовий шар (плазму) переносили силіконованою піпеткою у силіконовану пробірку. Отриману плазму зберігали в умовах охолодження до – 20 °С.

Отримання зразків та підготовка матеріалів для гістологічного дослідження слизової оболонки шлунка

Дослідження проведено в ЦНДЛ НФаУ (м. Харків) за консультативної допомоги ст. н. с. Ю.Б. Лар'яновської та за безпосередньої участі дисертанта.

Для дослідження забирали зразки залозистої частини шлунка з місць візуальної локалізації геморагічних виразок та ерозій фундального та

пілоричного відділів. Гастробіоптати фіксували 10 % нейтральним формаліном і кислотою рідиною Буена впродовж 24 год. Зразки шлунка після фіксації зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін [102, 156]. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, проводили ШИК-реакцію за Мак-Манусом для виявлення глікопротеїнів – нейтральних мукополісахаридів (МПС) [151]. Для визначення апудоцитів СОШ використовували аргірофільний метод Грімеліуса [105]. Парафінові зрізи (4–5 мкм) розташовували на предметному склі, вкритому плівкою з полі-L-лізину (Sigma).

Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400 (Австрія), мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon View 5.

Отримання зразків та підготовка матеріалів для імуногістохімічного дослідження мелатонін-позитивно-мічених клітин (МПК) слизової оболонки шлунка

Зразки слизової оболонки шлунка були забрані відразу після евтаназії тварин із фундального та пілоричного відділів. Розмір кожного зразка 0,5 см². Зразки фіксували в 4 % розчині параформальдегіду (рН = 7,4) впродовж 2 год, інкубували у 25–30 % розчині сахарози на фосфатно-сольовому буфері (PBS) впродовж 12 год, заключали в Tissue-Tek («Sakura», Японія), заморожували в парах рідкого азоту та зберігали при температурі –196 °С. Зрізи тканини товщиною 7 мкм виготовляли на кріомікроскопі MEV (Німеччина), монтували на желатинові стекла та забарвлювали антитілами до мелатоніну.

Визначення вмісту мелатоніну в сироватці крові

Дослідження вмісту мелатоніну в сироватці крові проведене в клінічній лабораторії ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України» (м. Харків) методом імуноферментного аналізу з використанням набору Melatonin ELISA («IBL-International», Німеччина).

Принцип методу. Даний метод базується на принципі конкурентного імуноферментного аналізу, при якому відбувається конкуренція між біотинільованим та небіотинільованим антигеном за обмежену кількість сайтів зв'язування антитіл. Кількість біотинільованого антигена, що зв'язався з антитілами, зворотно пропорційна концентрації мелатоніну у зразку. Коли система досягає рівноваги, вільний біотинільований антиген видаляють промиванням, а кількість біотинільованого антигена, що зв'язався з антитілами, визначається за допомогою антибіотин-лужної фосфатази як маркера та р-нітрофеніл фосфату як субстрату. Кількісне визначення концентрацій мелатоніну в досліджуваних зразках відбувається шляхом порівняння ферментативної активності зразків із калібрувальною кривою, що була побудована при використанні стандартів.

Хід визначення. Підготовка колонок: помістити колонки для екстракції в поліпропіленові пробірки (12×75 мм), внести 1×1 мл нерозведеного метанолу у колонки та дати розчину пройти крізь колонки при центрифугуванні впродовж 1 хв при 120 g, видалити елюат. Внести 1×1 мл бідистильованої води в колонки та дати розчину пройти крізь них при центрифугуванні впродовж 1 хв при 120 g, видалити елюат. Відразу приступити до нанесення зразків, не допускаючи висихання колонок.

Нанесення зразків. Внести 0,5 мл стандартів, контролю та зразків в колонки. Внести 0,5 мл бідистильованої води в колонки, дати розчину пройти крізь колонки при центрифугуванні впродовж 5 хв при 120 g, видалити елюат.

Промивання. Внести 2×1 мл 10 % розчину метанолу в бідистильованій воді в колонки. Дати розчину пройти крізь колонки при центрифугуванні впродовж 5 хв при 120 g, видалити елюат.

Елювання зразків. Помістити колонки для екстракції в нові відповідним чином промарковані поліпропіленові або скляні пробірки. Внести 1 мл нерозведеного метанолу, дати розчину пройти крізь колонки при центрифугуванні впродовж 5 хв при 120 g. Дістати колонки із пробірок.

Випарювання та розчинення екстрактів. Повністю випарити метанол за допомогою центрифугового концентратора. Перерозчинити сухі зразки в 0,15 мл бідистильованої води, перемішати на вортексі не менше 1 хв та негайно приступити до аналізу.

Процедура аналізу. Внести по 50 мкл кожного екстракту стандарту, екстракту контролю та екстракту зразка у відповідні лунки мікропланшета. Внести по 50 мкл мелатонін біотину та по 50 мкл антисироватки до мелатоніну в кожен лунку. Закрити планшет адгезивною плівкою. Перемішати струшуванням та інкубувати впродовж 14–20 годин при 2–8 °С.

Видалити адгезивну плівку та злити інкубаційний розчин. Промити лунки 3 рази по 250 мкл розчиненим робочим буфером. Видалити залишки рідини. Внести по 150 мкл свіжоприготованого ферментного кон'югату в кожен лунку. Знову закрити планшет новою адгезивною плівкою, інкубувати 120 хв при кімнатній температурі (18–25 °С) на орбітальному шейкері (500 об/хв).

Видалити адгезивну плівку та злити інкубаційний розчин. Промити лунки 3 рази по 250 мкл розчиненим робочим буфером. Видалити залишки рідини. Внести по 200 мкл свіжоприготованого р-нітрофеніл фосфатного (PNPP) субстратного розчину в кожен лунку. Інкубувати 20–40 хв при кімнатній температурі (18–25 °С) на орбітальному шейкері (500 об/хв). Припинити реакцію додаванням 50 мкл PNPP стоп-розчину в кожен лунку. Перемішати вміст лунок, обережно похитуючи мікропланшет упродовж 1 хв. Виміряти оптичну густину за допомогою фотометра при 405 нм упродовж 60 хв.

Отримані значення вмісту мелатоніну в пг/мл були перераховані в пмоль/л шляхом множення на коефіцієнт 4,30.

Дослідження вмісту тестостерону в сироватці крові

Дослідження вмісту тестостерону в сироватці крові проведене в лабораторії Інституту проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України (м. Харків) методом імуоферментного аналізу набором

DRG Тестостерон ELISA («DRG», Німеччина).

Принцип аналізу. Набір DRG Тестостерон ELISA, твердофазний ензимозв'язаний імуносорбентний тест, що базується на принципі конкурентного зв'язування. Лунки мікропланшета вкриті антитілом, що спрямоване проти антигенної частини молекули тестостерону. Тестостерон зразків конкурує з тестостероном, кон'югованим з пероксидазою, за зв'язування з антитілом, яким вкрите дно лунки. Кількість зв'язаного кон'югату пероксидази зворотно пропорційна концентрації тестостерону в зразку.

Хід визначення. У лунки планшета вносили по 25 мкл кожного стандарту, контролю та зразка. Додавали по 200 мкл ферментного кон'югату в кожен лунку планшета. Перемішували впродовж 10 с. Інкубували впродовж 60 хв при кімнатній температурі, не накриваючи планшет. Різно струшували вміст лунок. Потім промивали 3 рази розчином для промивання по 400 мкл в лунку. Повторно різко струшували вміст планшета над фільтрувальним папером та промакували залишки рідини. Додавали по 200 мкл субстрату в кожен лунку. Інкубували впродовж 5 хв при кімнатній температурі. Вносили 100 мкл стоп-реагенту. Оптичну густина кожної лунки вимірювали при 450 ± 10 нм упродовж 10 хв після додавання стоп-розчину. Розрахунок концентрацій тестостерону в досліджуваних зразках проводили шляхом розрахунку середньої абсорбції для кожного стандарту, контролю та зразків, з формуванням стандартної кривої.

Отримані значення вмісту тестостерону в нг/мл були перераховані в нмоль/л шляхом множення на коефіцієнт 3,47.

Вивчення біохімічних показників вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту

Показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту оцінювали в крові тварин за загальноприйнятими методами [54].

Дієнові кон'югати (ДК) визначали спектрофотометричним методом при 233 нм класичним методом Z. Placer (1968) в модифікації В.Б. Гаврилова,

М.І. Мишкорудної (1983). Ліпіди екстрагували гептан-ізопропаноловою сумішшю. Уміст дієнових кон'югатів розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції $\varepsilon = 2,2 \cdot 10^5$ моль⁻¹см⁻¹.

Уміст ТБК-реактантів у сироватці крові, гомогенаті шлунка оцінювали методом І.Д. Стальної, Т.Г. Гарішвілі (1977), що ґрунтується на реакції між малоновим діальдегідом і тіобарбітуровою кислотою, яка в умовах високої температури та кислого середовища відбувається з утворенням забарвленого триметинового комплексу з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм. Кількість ТБК-реактантів розраховували, виходячи з молярного коефіцієнта екстинкції $\varepsilon = 1,56 \cdot 10^5$ моль⁻¹см⁻¹.

Оцінку інтенсивності спонтанної окиснювальної модифікації білків сироватки крові проводили за допомогою модифікованого методу О.Ю. Дубініної та співавт. [124, 255], що ґрунтується на реакції взаємодії карбонільних похідних білків і шифових основ з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, які реєстрували при 356, 370 і 430 нм. Осадження білків сироватки проводили 20 % розчином трихлороцтової кислоти. До денатурованих білків додавали 0,1 М розчин 2,4-динітрофенілгідразону на 2 М розчин НСІ. Проби інкубували впродовж години, центрифугували з метою осадження білків при 3000 об/хв, осад промивали сумішшю етанол-етилацетат (1:1) для екстракції ліпідів та 2,4-ДНФГ, що не прореагували з карбонільними групами окиснених білків, та розчиняли у 8 М розчині сечовини. Кількість утворення 2,4-динітрофенілгідразонів розраховували, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, що становив 21×10^5 моль⁻¹см⁻¹. Вміст карбонільних груп (ступінь окиснювальної модифікації) розраховували за формулою 2.1:

$$X = V_{\text{пр}} \cdot \Delta D \cdot R / \varepsilon \cdot C \cdot V_{\text{розв}}, \text{ моль/г білка,} \quad (2.1)$$

де $V_{\text{пр}}$ – об'єм проби, ΔD – оптична щільність, R – коефіцієнт розведення, ε – коефіцієнт молекулярної екстинкції, C – концентрація, $V_{\text{розв}}$ – об'єм розчиненого білка в пробі.

Кінцеві продукти метаболізму NO визначали колориметричним методом за розвитком забарвлення в реакції діазотування нітритом сульфаніламідом, що входить до складу реактиву Гріста [106].

Стан АОС досліджували за показниками активності каталази [107], супероксиддисмутази (СОД) [184], глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонтрансферази (ГТ) [108].

Активність супероксиддисмутази визначали спектрофотометричним методом за ступенем інгібування відновлення нітросинього тетразолію. Еритроцити відділяли від плазми центрифугуванням стабілізованої гепарином крові впродовж 15 хв при 3000 g (кінцеве розведення гепарин-цільної крові становило 1:100). Суспензію еритроцитів декілька разів промивали охолодженим 0,89 % розчином NaCl.

Активність каталази визначали у крові спектрофотометричним методом за зменшенням перекису водню в інкубаційному середовищі, що містить трис-НСІ-ЕДТА (рН 8,0), 10 мМ/л розчин перекису водню. Зниження оптичної щільності вимірювали порівняно з контрольною пробою без гемолізату кожні 30 с упродовж 3 хв при кімнатній температурі при 230 нм.

Дослідження показників цитолізу та репарації

Про процеси цитолізу в СОШ при виразковому ураженні судили за концентрацією індикторних ферментів у сироватці крові – аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ). Визначення активності проводили за методом Райтмана–Френкеля [108], який ґрунтується на реакції з динітрофенілгідразином. Визначення проводять фотоелектроколориметричним методом при 500–560 нм. Принцип методу ґрунтується на утворенні забарвленого гідрозону піровиноградної кислоти, при додаванні 2,4-динітрофенілгідразину у лужному середовищі. Інтенсивність забарвлення гідрозону піровиноградної кислоти пропорційна до кількості утвореної піровиноградної кислоти. Розрахунок активності ферментів проводять за калібрувальним графіком.

Визначення вмісту загального білка в усіх дослідках проводили за

методом Лоурі в модифікації Міллера або біуретовим методом [95]. До 0,1 мл сироватки крові додають 5 мл робочого розчину біуретового реактиву та змішують. Через 30 хв на ФЕКе при довжині хвилі 540–560 нм вимірюється оптична щільність розчину проти контролю (5 мл робочого розчину біуретового реактиву та 0,1 мл 0,9 % розчину натрію хлориду). Розрахунок проводять за калібрувальним графіком.

Дослідження імунокомпетентних клітин

Оцінку стану імунної системи проводили шляхом визначення кількості Т- та В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у крові методом імуноферментного аналізу з використанням діагностичних наборів на основі моноклональних антитіл проти антигенів CD3+ (Т-лімфоцити), CD4+ (Т-хелпери), CD8+ (Т-супресори) та CD19+ (В-лімфоцити) набором «МедБиоСпектр» (Росія) [263]. Проводили підрахунок абсолютної кількості лімфоцитів різних субпопуляцій та імуnoreгуляторного індексу (співвідношення CD4/CD8).

Активність дегідрогеназ у лімфоцитах крові визначали за методом Р. П. Нарцисова з використанням п-нітротетразоліну-фіолетового та кількісно виражали середнім числом гранул формазану в одній клітині [116].

Вивчення кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у СОШ

Дослідження проведене в Інституті проблем кріобіології та кріомедицини НАН України (м. Харків) за консультативної допомоги д. біол. н., ст. н. с. Г.А. Божок та безпосередньої участі дисертанта.

Дослідження виконане методом імуногістохімічного забарвлення з первинними кролячими антитілами до мелатоніну (Biorbyt, Великобританія) в розведенні 1:100 та вторинними козячими антикролячими антитілами, кон'югованими з AlexaFluor488 в розведенні 1:400 (Abscam, Великобританія).

Кріостатні зрізи регідратували в фосфатно-сольовому буфері (PBS) 3 рази по 5 хв. Пермеабілізували в розчині, що вміщував 0,25% Triton X-100 (Sigma, США) і 0,1% Tween (Sigma, США) на PBS впродовж 20 хв при кімнатній температурі. У подальшому зрізи оброблялися в розчині для блокування неспецифічного зв'язування складом 2% бичачого сироваткового

альбуміну (Sigma, США), 0,2% Triton X-100 та 0,3 М гліцину (Reanal) на PBS упродовж 60 хв.

Інкубацію з первинними антитілами проводили при + 4 °С упродовж ночі, потім відмивали в PBS (3 рази по 5 хв) та інкубували зі вторинними антитілами при кімнатній температурі 30 хв.

Ядра клітин у зрізах були дозобарвлені в розчині пропідію йодиду (Sigma, США) на PBS (2 мкг/мл) упродовж 7 хв. Зрізи відмивали в PBS (3 рази по 5 хв), розміщували в середовищі з гліцерином та мікроскопували.

Специфічність первинних антитіл підтверджували за допомогою контролю, при якому реакція проводилася тільки із вторинними антитілами. Відсутність флуоресценції свідчила про специфічність реакції. В якості позитивного контролю на первинні антитіла імуногістохімічне мічення проводили за вищеописаною методикою на зрізах епіфіза щурів.

Флуоресценцію спостерігали на флуоресцентному мікроскопі Olympus IX-71 (Японія) при довжині хвилі для Alexa Fluor 488–519 нм, пропідію йодиду – 617 нм.

Підрахунок клітин у 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) з перерахуванням на 1 мм².

Модель світлового десинхронозу

Щури впродовж чотирнадцяти діб знаходилися в умовах цілодобового освітлення з вільним доступом до їжі та води – стан десинхронозу [21]. На 15 добу експерименту тварини дослідних груп виводилися з експерименту із забором крові та зразків СОШ.

Модель пінеалектомії

Голова тварини жорстко фіксувалася на операційному столику за вушні проходи і верхню щелепу. У ділянці передбачуваного розрізу шкіри видаляли шерсть, а звільнену поверхню дезінфікували етиловим спиртом. У ділянці серединної лінії голови робили розріз шкіри довжиною 1,5 см. Після

оголення даху черепа в зоні міжтім'яної кістки на відстані 4 мм каудальніше від перетину сагітального ітім'яно-міжтім'яного швів висвердлювали отвір діаметром 3 мм, в який потім вводили препарувальну голку та розсікали тверду мозкову оболонку. Видалення епіфіза здійснювали шляхом резекції ділянки міжтім'яної татім'яних кісток з епіфізом. З метою запобігання подальшому зрощенню сполучної тканини з тканиною мозку на отвір у кістках даху черепа накладали стерильний вощений папір, після чого рана зашивалася [9]. Подальші дослідження були проведені через 30 днів.

Відтворення виразки шлунка

Вибираючи адекватні моделі патології шлунка, ми виходили із сучасної концепції етіопатогенезу виразкової хвороби, яка враховує як нерво-гуморальний (центральний), так і гастродуоденальний (місцевий) механізми. Порушення діяльності нервової системи у сфері центрального і вегетативного її відділів займає провідне положення, створюючи всі передумови для утворення виразок. Воно тісно пов'язане зі змінами в ендокринній регуляції та обміні біогенних амінів, які виконують роль медіаторів [72]. Серед місцевих механізмів, які беруть участь у формуванні виразкового дефекту в шлунку і ДПК, важлива роль належить зниженню резистентності слизової оболонки, обумовленому трофічними порушеннями і ослабленням захисного муцинового бар'єру.

До моделей виразкової хвороби висуваються такі вимоги:

1. Максимальне наближення механізму виникнення експериментального виразкового процесу до етіопатогенезу клінічної форми захворювання.
2. Надійна відтворюваність захворювання на доступних лабораторних тваринах.
3. Відносно прості способи моделювання патології.

Моделлю виразки шлунка була обрана виразка, викликана сумісним введенням преднізолону та етилового алкоголю [195]. Тварин упродовж 24 годин утримували на голоді з вільним доступом до води. Після закінчення

зазначеного часу щурам внутрішньошлунково вводили преднізолон з розрахунку 20 мг/кг, що попередньо був розчинений в 80 % етиловому спирті у дозі 6 мл/кг маси тіла тварини. Забір крові та гістологічного матеріалу проводили на 3-ю добу після моделювання виразок.

Метод лікування виразкового ураження шлунка. Згідно з методичними протоколами [128, 171] основними препаратами при лікуванні НР-негативних виразок є інгібітори протонної помпи, інгібітори H_2 -гістамінових рецепторів, антацидні препарати [265]. У зв'язку з цим нами була обрана така схема лікування спирто-преднізолонової виразки шлунка: омепразол в дозі 1,2 мг/кг («Омепразол-Дарниця», Україна) та 0,2 мг/кг мелатоніну («Віта-мелатонін», Київський вітамінний завод, Україна), які вводилися перорально у вигляді суспензії у фізіологічному розчині 1 раз на добу впродовж 2 тижнів. Лікування починали на 2-гу добу після моделювання виразки.

Методи оцінки виразкового ураження СОШ та противиразкової активності препаратів.

Оцінку інтенсивності виразкового ураження та противиразкової активності препаратів проводили за макроскопічними показниками інтенсивності утворення виразкових дефектів у СОШ: відсоток тварин з виразками у групі, середня площа виразок у групі мм^2 , виразковий індекс (ВІ), противиразкова активність (ПА).

Ступінь виразкового ушкодження визначали з застосуванням системи балів: 0 – відсутність видимих ушкоджень; 1 – наявність набряку чи крововиливів/3 невеликі виразки; 2 – більше ніж 3 невеликі виразки чи 1 виразка значних розмірів; 3 – виразка значних розмірів (діаметр до 4 мм); 4 – декілька великих виразок; 5 – проривна виразка. У кожній групі підраховували суму балів та виводили середню арифметичну величину для групи.

Одночасно розраховували виразковий індекс (ВІ) за формулою 2.2:

$$VI = \frac{S \cdot T_v}{100\%}, \quad (2.2)$$

де S – середня площа виразок в групі, T_v – відсоток тварин з виразками в групі [155].

Противиразкову активність (ПВА) досліджуваних препаратів визначали за формулою 2.3:

$$ПВА, \% = 100\% - ((VI_{лік} \cdot 100\%) / VI_{к}), \quad (2.3)$$

де $VI_{лік}$ – VI в групі тварин, які отримували лікування, $VI_{к}$ – VI в контрольній групі [155].

Оцінку патологічних змін слизової проводили за такими показниками (за основу взято візуальну оцінку потужності гістохімічних реакцій за методом Соколовського [161]):

- 1 – виразність деструктивних змін: (0 балів – пошкодження відсутні; 0,5 балів – поодинокі дрібні поверхневі ерозії – пошкодження тільки покривного епітелію зі збереженням структури залоз та підлеглої стромі; 1 бал – поширені поверхневі ерозії без змін залозистих структур; 2 бали – одиничні дрібні виразки, глибина враження залозистих трубок до $\frac{1}{3}$ їх довжини; 3 бали – численні дрібні виразки або одиничні середні за розміром виразки з глибиною враження до $\frac{1}{2}$ довжини залоз; 4 бали – численні середні або одиничні великі виразки з ураженням $\frac{2}{3}$ та більше довжини залоз);
- 2 – потужність гемокапілярних розладів поза зонами деструкцій: (0 балів – відсутність розладів; 1 бал – слабкі вогнищеві розлади; 2 бали – помірні дифузні розлади; 3 бали – виразні дифузні розлади);
- 3 – набряк слизової поза зон деструкцій: (0 балів – відсутність ознаки; 1 бал – слабкий вогнищевий; 2 бали – помірний вогнищевий; 3 бали – виразний вогнищевий або дифузний);
- 4 – стан слизоутворюючих елементів шлунка (покривний та ямковий епітелій) поза зонами деструкцій за виразністю ШИК-реакції: (0 балів – забарвлення відсутнє; 1 бал – слабке забарвлення, 2 бали – помірне забарвлення, 3 бали – виразне забарвлення).

Метод визначення взаємозв'язку вмісту мелатоніну та тестостерону

Для кількісної оцінки залежності між умістом мелатоніну та тестостерону в сироватці крові розраховували коефіцієнт кореляції r -Пірсона. Коефіцієнт кореляції r -Пірсона характеризує існування лінійного зв'язку між двома величинами. Він надає нам як силу, так і напрямок зв'язку між змінними. Дві змінні корелюють між собою позитивно, якщо між ними існує пряме однонаправлене співвідношення: малі значення однієї змінної відповідають малим значенням іншої, великі значення – великим. Дві змінні корелюють між собою негативно, якщо між ними існує зворотне різнонаправлене співвідношення: малим значенням однієї змінної відповідають великі значення іншої змінної та навпаки. Значення коефіцієнтів кореляції завжди знаходяться в діапазоні від -1 до +1 [109].

Оцінку щільності зв'язку проводили за Таблицею Чеддока [253]:

Коефіцієнт кореляції	Щільність зв'язку
1,0	Зв'язок функціональний
0,9–0,99	Дуже сильний
0,7–0,9	Сильний
0,5–0,7	Значний
0,3–0,5	Помірний
0,1–0,3	Слабкий
0,00	Зв'язок відсутній

Метод статистичної обробки результатів

Статистична обробка матеріалу включала використання стандартних методів варіаційної статистики, розрахунок середніх значень (M) та середньої похибки (m). Перевірка нормальності розподілу кількісних значень проводилася за допомогою критерію Колмогорова–Смирнова. Статистичну достовірність оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA, при гістологічному дослідженні застосовували критерій Манна-Уїтні [109]. Достовірною вважали різницю при $p \leq 0,05$. Використовували програмне забезпечення «Statistica 7.0» та Excel.

РОЗДІЛ 3

ВИВЧЕННЯ СТАТЕВИХ І ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ СИНТЕЗУ МЕЛАТОНІНУ У ЩУРІВ

3.1. Дослідження циркануальних ритмів секреції мелатоніну у щурів різної статі та віку

Більшість фізіологічних процесів на різних рівнях організації – від молекулярного до органного – проходять з певною періодичністю. Ритми окремих показників і функцій у нормі синхронізовані між собою, що забезпечує високу надійність функціонування організму [5]. Ритм продукції мелатоніну епіфізом має чіткий циркадіанний ритм: у темний період доби його концентрація в крові в 5–10 раз вища ніж у день. Окрім добового, відомий і сезонний ритм секреції мелатоніну – циркануальний [234]. Нами було поставлене завдання дослідити циркануальні ритми секреції мелатоніну в сироватці крові щурів різного віку та статі.

Було визначено рівень мелатоніну у щурів самців і самок віком 3, 9, 15 та 20 міс у весняний, літній, осінній та зимовий періоди.

Установлено, що у щурів обох статей найбільший вміст мелатоніну спостерігається в літній та зимовий період, а найменший – восени (табл. 3.1). При цьому в літній період найбільший вміст мелатоніну визначений у самців віком 15 міс та у самок віком 3 міс, найменший – у віці 20 міс у щурів обох статей. У зимовий період в експериментальних тварин обох статей найбільший вміст мелатоніну відзначався у щурів віком 3 міс, з достовірним зниженням його рівня до віку 20 міс – на 18 % у самців, на 42 % – у самок ($p \leq 0,05$). Показники мелатоніну навесні та восени були низькими в усіх вікових групах з найменшим рівнем у самок віком 20 міс, а у самців – віком 9 та 20 міс.

**Вміст мелатоніну в сироватці крові щурів різного віку та статі в
різні сезони року (M±m, пмоль/л, n=6)**

Сезон/ вік	3 міс	9 міс	15 міс	20 міс
Самці				
Осінь	164,12±9,62	127,28±5,11*	156,95±9,72**	127,42±9,16*/** *
Зима	303,37±7,57 [^] &	286,81±8,93 [^] &	292,83±10,29 [^] &	249,47±13,46*/** */***/ [^] &
Весна	198,66±10,24 [^]	142,33±7,18*	166,84±5,73*/**	140,54±8,43*/** *
Літо	311,9±12,15 [^] &	302,3±10,3 [^] &	314,33±14,18 [^] &	262,37±14,25*/** */***/ [^] &
Самки				
Осінь	159,89±11,95	149,07±11,72	155,80±13,71	125,42±7,86*
Зима	319,28±22,36 [^]	289,53±10,04 [^]	258,57±21,16 [^] &	183,18±13,08*/** */***/ [^] &/#
Весна	243,52±16,58 [^] #	205,25±10,19 [^] #	156,02±15,75*/** *	134,09±11,51*/** *
Літо	310,39±12,91 [^]	302,00±12,22 [^]	261,44±9,28*/**/ [^] &/#	200,95±13,85*/** */***/ [^] &/#

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; [^] $p \leq 0,05$ відносно значень восени; & $p \leq 0,05$ відносно значень навесні; # $p \leq 0,05$ відносно значень у самців.

У самців восени вміст мелатоніну у всіх вікових групах – 3, 9, 15 і 20 міс був достовірно нижчим рівня взимку на 46 %, 56 %, 40 % і 49 % та влітку на 47 %, 58 %, 50 % і 51 % ($p \leq 0,05$) відповідно віку. У самок восени

відповідно до вікових груп вміст мелатоніну був на 50 %, 49 %, 40 % и 32 % нижчим від показників узимку та на 49 %, 52 %, 40 %, 38 % відносно літа ($p \leq 0,05$).

Уміст мелатоніну навесні був достовірно нижчим у всіх вікових групах щурів-самців як відносно зимових, так і літніх показників на 34 %, 49 %, 42 %, 43 % та 36 %, 53 %, 47 %, 46 % відповідно ($p \leq 0,05$).

У щурів-самок показники також були нижчими навесні у всіх вікових групах відносно вмісту мелатоніну взимку на 24 %, 29 %, 40 %, 27 %; відносно вмісту мелатоніну влітку на 21 %, 32 %, 40 %, 33 % відповідно віку. При цьому достовірна ($p \leq 0,05$) різниця між показниками спостерігалася тільки у вікових групах 15 та 20 міс.

Порівнянням показників восени та навесні встановлено, що найменший вміст мелатоніну спостерігаються восени як у щурів-самців, так і у щурів-самок, з найнижчими рівнями восени, хоча вірогідна різниця між показниками цих двох сезонів наявна лише у щурів-самців віком 3 міс – 18 %, у щурів-самок віком 3 та 9 міс – 34 % і 27 % відповідно ($p \leq 0,05$).

Найменшій вміст мелатоніну встановлений як у самців, так і у самок восени у віковій групі 9 міс з більш низьким рівнем у самців на 15 % відносно рівня самок. Також достовірні відмінності між вмістом мелатоніну у самців та самок встановлені взимку у віковій групі 20 міс – 36 % з більшою кількістю у самців; навесні – у віці 3 та 9 міс – 24 % та 44 % відповідно з більш високим рівнем у самок; влітку у вікових групах 15 та 20 міс з більш високим вмістом у щурів-самців на 20 % і 30 % відповідно.

Порівнюючи вміст мелатоніну між віковими групами щурів-самців в різні сезони встановлено, що восени найменший вміст був у групі щурів віком 9 міс, що на 22 % нижче порівняно з 3-місячними щурами ($p \leq 0,05$) та на 20 % – зі щурами віком 15 міс ($p \leq 0,05$). Навесні найменший вміст мелатоніну спостерігається у щурів віком 20 міс та, як і восени, у щурів 9 міс, що відповідно на 29–28 % ($p \leq 0,05$) нижче, ніж у щурів віком 3 міс – $198,66 \pm 10,24$ пмоль/л (табл. 3.1). Також навесні вірогідна різниця вмісту

мелатоніну відзначалася між віковими групами 3 та 9 міс – 28 %, 3 та 15 міс – 16 %, 3 та 20 міс – 29 %, 9 та 15 міс – 15 %, 15 та 20 міс – 16 %. У ході аналізу показників взимку та влітку встановлено, що найнижчий вміст мелатоніну був у самців віком 20 міс. Різниця з іншими віковими групами була достовірною і склала взимку 18 %, 13 % та 15 % відносно щурів віком 3, 9 та 15 міс; 16 %, 13 % та 17 % відповідно влітку ($p \leq 0,05$).

У щурів-самок у всі сезони найнижчий вміст мелатоніну встановлений в віці 20 міс. При цьому привертає увагу, що зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові у самок відбувається поступово від найвищого у щурів віком 3 міс до найнижчого у віці 20 міс. Різниця між цими віковими групами була достовірною у всі сезони та склала восени – 19 %, взимку – 29 %, навесні – 23%, влітку – 14 % ($p \leq 0,05$). Достовірною була також різниця між вмістом мелатоніну у самок віком 15 міс та 20 міс взимку – 29 % та влітку – 23 %. Восени та навесні різниця у цих вікових групах була 19 % та 14 % відповідно. Також відсутня достовірною різниця між віковими групами 3–9 міс у всі сезони, 3–15 міс та 9–15 міс – восени та взимку.

Таким чином, при порівнянні вмісту мелатоніну в різних вікових групах найбільший його рівень у всі сезони як у самців, так і у самок визначений у віці 3 міс (відповідає віку людини 14 років), найменший – у щурів у віці 20 міс (відповідає віку 55–56 років). Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури, де автори відмічають зниження вмісту мелатоніну у людей старшого віку у зв'язку з віковою інволюцією пінеальної залози [55, 129]. Водночас у нашому дослідженні був визначений низький вміст мелатоніну восени ще і у самців активного репродуктивного віку 9 міс (відповідає віку 29–30 років).

Згідно з даними літератури вважається, що восени та взимку у зв'язку зі зменшенням освітлення рівень мелатоніну в організмі збільшується. Навесні та влітку, навпаки, концентрація мелатоніну знижується [14]. Оцінюючи отримані в наших дослідженнях дані щодо сезонних коливань вмісту мелатоніну в сироватці крові було встановлено, що влітку в усіх

вікових групах цей показник був найвищим, що не збігається з даними деяких наукових робіт [14], але узгоджується з даними іншої праці [270], де обговорюються питання наявності високої екскреції метаболіту мелатоніну – 6-сульфтоксимелатоніну саме влітку вночі. Цей факт дослідники пов'язують зі змінами вертикального компоненту геомагнітного поля Землі [143]. Отримані дані вказують на те, що цикл «світло–темрява» хоча і є потужним, але не єдиним фактором зовнішнього середовища, який регулює формування біоритмів у пінеальній залозі. Також слід враховувати екстрапінеальні джерела синтезу мелатоніну, який може потрапляти в кровотік і впливати на віддалені клітини-мішені [145], а отже бути частиною мелатоніну, що визначається під час аналізу. Найменший вміст мелатоніну було виявлено восени та навесні, що узгоджується з даними літератури, де обговорюються питання існування сезонного фізіологічного десинхронозу в період біологічної весни та осені [164].

3.2. Визначення вмісту мелатоніну в сироватці крові у щурів різного віку та статі при світловому десинхронозі

Наступним етапом нашої роботи стало дослідження вмісту мелатоніну у щурів різної статі та віку на тлі світлового десинхронозу. Визначення рівня мелатоніну в сироватці крові проводили у самців та самок віком 3, 9, 15 та 20 міс, які впродовж 2 тижнів знаходилися в умовах цілодобового освітлення.

У ході дослідження встановлено, що на тлі десинхронозу відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів всіх експериментальних груп ($p \leq 0,05$) (табл. 3.2).

Найбільше зниження вмісту мелатоніну відносно контролю відбулося у щурів-самців віком 9 міс – на 31 %, в той час як у самок цієї вікової групи показник був нижчим на 18 %. Також значним було зниження вмісту

мелатоніну у щурів обох статей віком 20 міс – на 23 % у самців та 24 % у самок. У вікових групах 3 та 15 міс вміст мелатоніну в сироватці крові знижувався маже однаково у самців та самок – 18 % та 19 % – у самців, 16 % та 22 % – у самок ($p \leq 0,05$).

Таблиця 3.2

**Вміст мелатоніну в сироватці крові щурів різного віку та статі
на тлі десинхронозу ($M \pm m$, пмоль/л, $n=6$)**

Стать/вік	Самці	Самки
Контроль		
3 міс	303,37±7,57	319,28±22,36
9 міс	286,81±8,93	289,53±10,04
15 міс	292,83±10,29	258,57±21,16
20 міс	249,97±13,46 ^{*/**/**}	183,18±13,08 ^{*/**/**/#}
Десинхроноз		
3 міс	250,26±16,73 [^]	267,78±14,90 [^]
9 міс	197,22±10,71 ^{^/*}	236,72±10,16 ^{^/#}
15 міс	235,93±16,67 [^]	201,02±13,85 ^{^/*}
20 міс	192,50±19,16 ^{^/*}	148,27±7,40 ^{^/*/**/**}

Примітка: [^] $p \leq 0,05$ відносно контролю; * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; # $p \leq 0,05$ відносно значень у самців.

Розвиток десинхронозу супроводжувався змінами співвідношення показників між віковими групами. Так, у самців контрольної групи найнижчий показник рівня мелатоніну встановлений у щурів віком 20 міс, який був достовірно нижчим вмісту мелатоніну в інших вікових групах, серед яких достовірна різниця була відсутня, а коливання між вмістом мелатоніну перебували у межах від 1 до 6 % ($p \geq 0,05$).

На відміну від показників контролю у щурів-самців на тлі десинхронозу відбулося достовірне зниження вмісту мелатоніну у тварин

віком 9 міс – на 21 % ($p \leq 0,05$) відносно щурів віком 3 міс (у контрольних групах різниця між цим показником у відповідних групах була 5 %). Також змінилося співвідношення між вмістом мелатоніну у щурів віком 20 міс та тваринами інших вікових груп. У контролі у щурів-самців віком 20 міс відбулося його достовірне зниження на 18 %, 15 % та 17 % відносно щурів віком 3, 9 та 15 міс. На тлі десинхронозу ці зміни відповідно склали – 23 %, 2 % та 18 % і були достовірними тільки між віковими групами 3 та 20 міс. Привертає увагу, що кількість мелатоніну в сироватці крові у щурів-самців віком 9 міс – $197,22 \pm 10,71$ пмоль/л знизилася майже до вмісту мелатоніну у щурів віком 20 міс – $192,50 \pm 19,16$ пмоль/л (табл. 3.2).

На тлі десинхронозу відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну у всіх групах щурів-самок зі збереженням достовірної різниці між показниками групи 20 міс та іншими віковими групами. Так, у контролі різниця між вмістом мелатоніну у самок віком 20 міс склала 42 % відносно самок віком 3 міс, 37 % – 9 міс, 29 % – 15 міс ($p \leq 0,05$). На тлі десинхронозу зберігається достовірна різниця, як і в контролі, між показниками різних вікових груп зі зниженням кількості мелатоніну на 45 %, 37 % 26 % у щурів віком 20 міс відносно самок віком 3, 9 і 15 міс ($p \leq 0,05$).

Порівнюючи показники вмісту мелатоніну у щурів-самців та самок встановлено, що в контрольних групах у щурів-самців віком 3 та 9 міс вміст мелатоніну в сироватці крові був на 5 % і 9 % нижче вмісту мелатоніну у щурів-самок відповідного віку. І навпаки, у щурів-самців віком 15 та 20 міс вміст мелатоніну в сироватці крові був на 13 % і 36 % більшим за показник самок відповідного віку. Достовірна різниця відмічалася тільки між щурами віком 20 міс. На тлі порушення освітлення, незважаючи на загальне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові як у щурів-самців, так і у щурів-самок більш високі показники мелатоніну збереглися у щурів-самців у віці 15 і 20 міс – на 17 % і 30 % відносно самок, та більш низькі – у щурів-самців віком 3 і 9 міс – на 7 % і 17 % відповідно. При цьому, достовірна різниця відмічалася тільки між віковими групами 9 міс.

Таким чином, встановлено, що цілодобове освітлення сприяє зниженню вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей, із найменшими значеннями у щурів обох статей віком 20 міс, що відповідає віку людини 55–56 років, та у щурів-самців віком 9 міс, що відповідає віку людини 29–30 років. Отримані дані підтверджують, що порушення ритму освітлення, яке є причиною розвитку зовнішнього світлового десинхронозу, призводить до зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові, що узгоджується з даними літератури [55]. При цьому, якщо відомостей про зниження рівня мелатоніну в організмі людини з віком достатньо у науковій літературі [15, 122, 254], то відомості про зниження мелатоніну у статевозрілих чоловіків працездатного віку відсутні. Отримані дані дозволяють припустити, що циркадіанна деструкція, яка виникає внаслідок роботи або відпочинку в нічній час, при трансконтинентальних перельотах та, як наслідок, зниження рівня мелатоніну в організмі у чоловіків цієї вікової групи може призводити до хвороб, що пов'язані з дефіцитом мелатоніну – виразкової, гіпертонічної, епілепсії та інших [83, 101, 191, 233].

3.3. Вміст мелатоніну в сироватці крові щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка

Окрім пінеального мелатоніну в організмі існують і так звані екстрапінеальні джерела, серед яких найбільша кількість клітин, здатних синтезувати мелатоніну, знаходиться в шлунково-кишковому тракті [74, 192]. При цьому відомостей про зміни вмісту мелатоніну в сироватці крові при виразковому ураженні шлунка у людей або тварин різної статі та віку в сучасній літературі ми не зустріли, що і стало метою подальшого дослідження. Визначення вмісту мелатоніну в сироватці крові проведене у самців та самок віком 3, 9, 15 та 20 міс зі спирто-преднізолоновим ураженням

шлунка.

У ході проведеного дослідження було встановлено, що на тлі виразкового ураження шлунка відбувається достовірне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові тварин усіх груп.

У самців найменший вміст мелатоніну при виразковому ураженні встановлений у групах 9 та 20 міс 174,0+12,9 пмоль/л та 141,5+21,4 пмоль/л відповідно (рис. 3.1). Рівень мелатоніну у самців віком 9 міс був на 26 % вірогідно ($p \leq 0,05$) нижчий, ніж у щурів віком 3 міс, та на 16 % – порівняно зі щурами віком 15 міс ($p > 0,05$) У щурів віком 20 міс рівень мелатоніну був знижений на 40 % та 32 % відносно груп тварин віком 3 і 15 міс ($p \leq 0,05$).

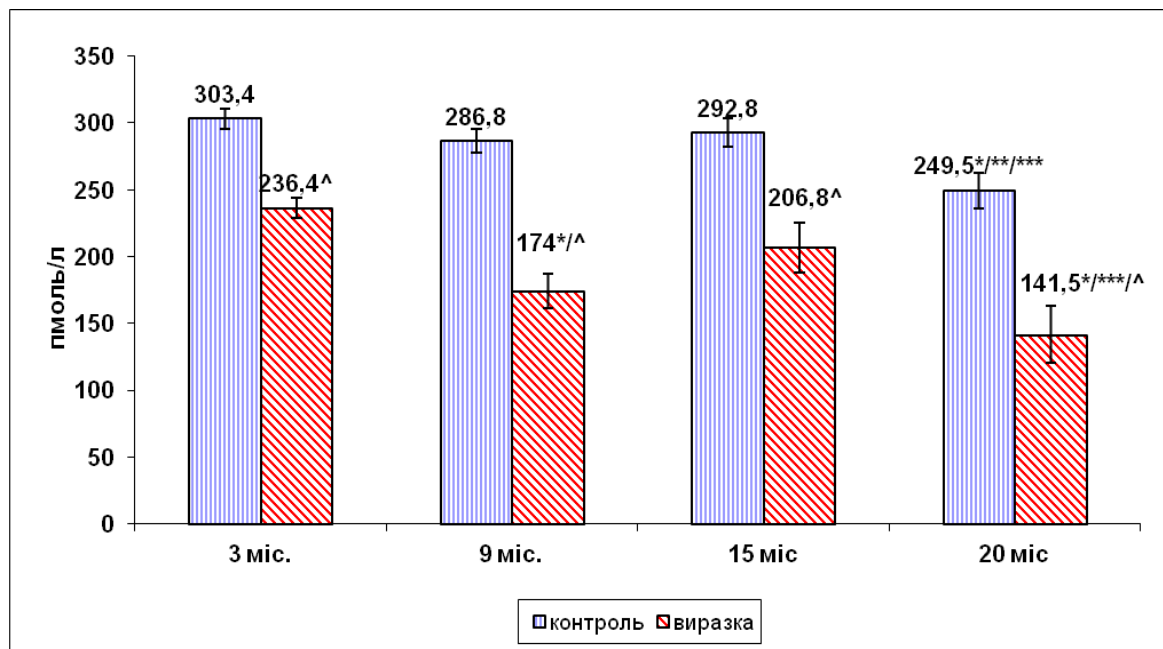


Рисунок 3.1. Вміст мелатоніну в сироватці крові у щурів-самців з виразковим ураженням шлунка

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; ^ $p \leq 0,05$ відносно контролю

Відносно груп контролю у щурів-самців найбільше зниження також відбулося у тварин віком 20 міс – на 43 % та 9 міс – на 39 % ($p \leq 0,05$). У щурів-самців віком 3 міс рівень мелатоніну був нижчий на 22 %, а в групі віком 15 міс – на 29 % відносно контрольних тварин ($p \leq 0,05$).

У самок (рис. 3.2) зниження вмісту мелатоніну відбувалося поступово з віком: з найбільшого у самок віком 3 міс до достовірно найнижчого відносно інших вікових груп у тварин віком 20 міс як у контрольних групах, так і в групах тварин із виразковим пошкодженням СОШ.

На фоні виразкового ураження шлунка у самок відбулося достовірне ($p \leq 0,05$) зниження вмісту мелатоніну на 21 %, 24 %, 23 % та 22 % відносно контролю в вікових групах 3, 9, 15 та 20 міс відповідно. При цьому найнижчий вміст мелатоніну у щурів-самок установлений у віці 20 міс – $143,3 \pm 12,2$ пмоль/л, що було на 43 % нижче, ніж у щурів-самок віком 3 міс ($p \leq 0,05$), 35 % – до вмісту мелатоніну у самок віком 15 міс ($p \leq 0,05$) та на 28 % відносно щурів-самок віком 15 міс ($p \leq 0,05$).

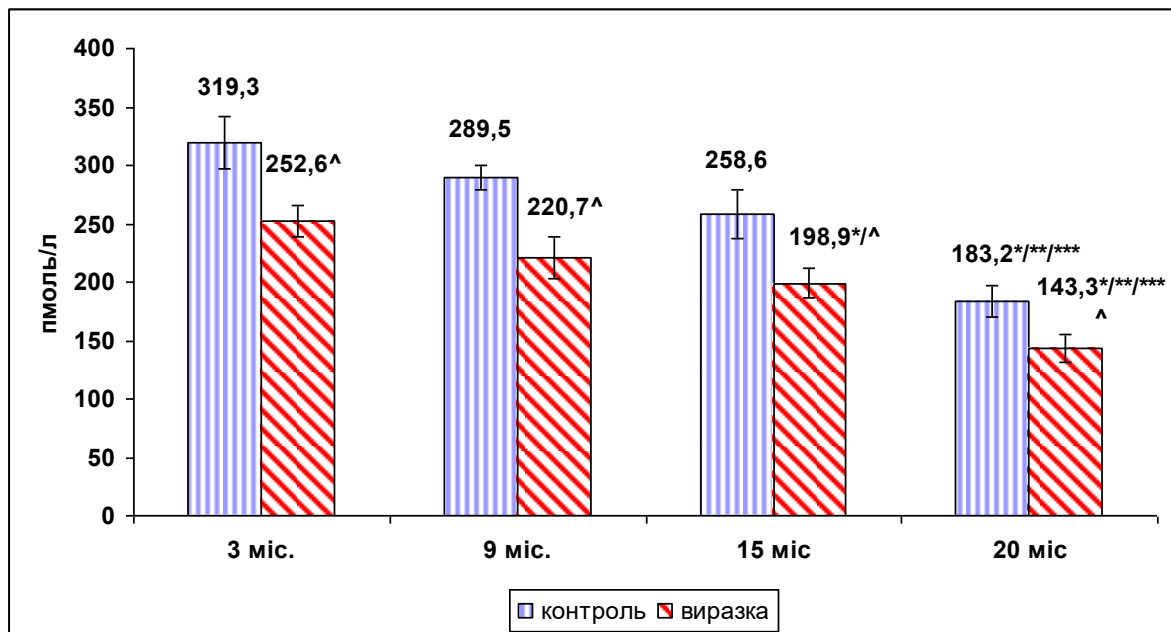


Рисунок 3.2. Вміст мелатоніну у щурів-самок з виразковим ураженням шлунка

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; ^ $p \leq 0,05$ відносно контролю

Порівнюючи вміст мелатоніну в сироватці крові щурів-самців та щурів-самок на фоні виразкового ураження СОШ встановлено, що у щурів-самців віком 3, 9 та 20 міс вміст мелатоніну був нижчим порівняно до вмісту

мелатоніну у щурів-самок на 6 %, 21 % та 1 % відповідно. У щурів віком 15 міс різниця склала 4 % з більш високим рівнем у щурів-самців.

Отримані результати свідчать, що виразкове ураження шлунка, ймовірно, призводить до пошкодження ентерохромафінних клітин СОШ, серед них і мелатонін-продукуючих клітин, що супроводжується достовірним зниженням вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей та всіх вікових груп. При цьому встановлено, що, незважаючи на відсутність достовірної різниці між вмістом мелатоніну у самців та самок на фоні виразкового ураження шлунка, загальний рівень його зниження у самців більший (22–43 % відносно контролю), ніж у самок (21–23 %). Найбільші статеві відмінності у рівнях зниження мелатоніну встановлені у віці 9 міс (відповідає віку людини 29–30 років) – на 39 % у самців та на 23 % у самок відносно контролю та 20 міс (відповідає віку людини 55–56 років) – 43 % та 22 % відповідно. Отримані результати дозволяють припустити, що саме у чоловіків віком 29–30 та 55–56 років виразкове ураження призводить до значного пошкодження екстрапінеальних джерел синтезу мелатоніну та більш тяжкого перебігу виразкової хвороби з розвитком ускладнень, що співпадає з даними літератури [65, 216, 255].

3.4. Статеві та вікові особливості вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу

Наступним етапом стало вивчення впливу десинхронозу та виразкового ураження шлунка на вміст мелатоніну в сироватці крові щурів різної статі віком 3, 9, 15 та 20 міс. Тварини впродовж 14 діб знаходилися під впливом цілодобового освітлення. На 15-ту добу піддослідним щурам вводили спирто-преднізолонову суміш. Забір крові проводили на 3-тю добу після моделювання виразки (18-та доба експерименту).

Виразкове пошкодження СОШ на тлі десинхронозу призвело до зниження вмісту мелатоніну у всіх експериментальних групах ($p \leq 0,05$). При цьому у самців він достовірно знижується відносно інтактного контролю у щурів віком 3 міс в 2,6 раза, 9 міс – в 3 рази, 15 міс – в 2,7 раза та в 1,3 раза в віці 20 міс, у щурів-самок це зниження було відповідно в 1,7; 2,1; 1,9 і 2 рази ($p \leq 0,05$). Найменший вміст мелатоніну встановлений у щурів-самців віком 9 міс – $93,9 \pm 16,3$ пмоль/л та 20 міс – $83,3 \pm 13,1$ пмоль/л і щурів-самок віком 20 міс – $92,1 \pm 10,8$ пмоль/л.

Таблиця 3.3

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

Вік/стать	Самці	Самки
Контроль		
3 міс	$303,37 \pm 7,57$	$319,28 \pm 22,36$
9 міс	$286,81 \pm 8,93$	$289,53 \pm 10,04$
15 міс	$292,83 \pm 10,29$	$258,57 \pm 21,16$
20 міс	$249,97 \pm 13,46^{*/*/*/*}$	$183,18 \pm 13,08^{*/*/*/*}/\#$
Десинхроноз+виразка		
3 міс	$117,18 \pm 16,91^{\wedge}$	$184,83 \pm 11,47^{\wedge}/\#$
9 міс	$93,96 \pm 16,33^{\wedge}$	$137,67 \pm 9,83^{*}/\wedge/\#$
15 міс	$109,08 \pm 15,70^{\wedge}$	$138,17 \pm 16,14^{*}/\wedge$
20 міс	$83,35 \pm 13,11^{\wedge}$	$92,09 \pm 10,83^{*/*/*/*}/\wedge$

Примітка: $\wedge p \leq 0,05$ відносно контролю; * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; # $p \leq 0,05$ відносно значень у самців.

При дослідженні вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів різних вікових груп визначено, що при виразковому ураженні СОШ на тлі десинхронозу мелатонін у щурів-самців віком 20 міс був нижчим, ніж у щурів віком 3, 9 і 15 міс на 29 %, 11 %, 24 % відповідно, але без достовірної

різниці.

На відміну від щурів-самців у щурів-самок експериментальних груп зниження вмісту мелатоніну призвело до ще більш наявної різниці між віковою групою 20 міс та самками віком 3, 9 і 15 міс – 50 % , 33 % і 33 % відповідно ($p \leq 0,05$), у контролі ця різниця була 42 %, 37 % і 29 % відповідно ($p \leq 0,05$).

При дослідженні рівня мелатоніну у щурів різної статі встановлено, що у щурів-самців із виразковим пошкодженням СОШ на тлі десинхронозу його вміст у сироватці крові нижчий за вміст у щурів-самок з різницею 37 % між віковими групами 3 міс ($p \leq 0,05$), 32 % – 9 міс ($p \leq 0,05$), 21 % – 15 міс та 10 % – 20 міс.

З метою визначення внеску різних джерел синтезу мелатоніну в його загальний пул було проведено аналіз вмісту мелатоніну в сироватці крові у щурів різного віку та статі з виразковим ураженням СОШ на тлі десинхронозу відносно груп тварин виключно з десинхронозом та тварин з виразковим ураженням шлунка. Установлено (рис. 3.3), що у щурів-самців одночасне порушення як центрального джерела синтезу мелатоніну під час світлового десинхронозу, так і екстрапінеального джерела при виразковому ураженні СОШ призводить до достовірного зниження вмісту мелатоніну відносно щурів з десинхронозом в 2,1 раза – у віковій групі 3 міс та 9 міс; 2,2 раза – у віці 15 міс, в 2,3 раза – у самців віком 20 міс; а відносно самців з виразковим ураженням СОШ у 2; 1,9; 1,9; 1,7 раза відповідно ($p \leq 0,05$). У щурів-самок (рис. 3.4) з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу вміст мелатоніну був нижчим вмісту мелатоніну у самок виключно з десинхронозом в 1,4 раза – у віковій групі 3 міс, в 1,7 раза – у віці 9 міс, в 1,5 раза – у віці 15 міс, в 1,6 раза – у самців віком 20 міс.; відносно самок з виразковим ураженням СОШ в 1,4; 1,6; 1,4; 1,6 раза відповідно ($p \leq 0,05$).

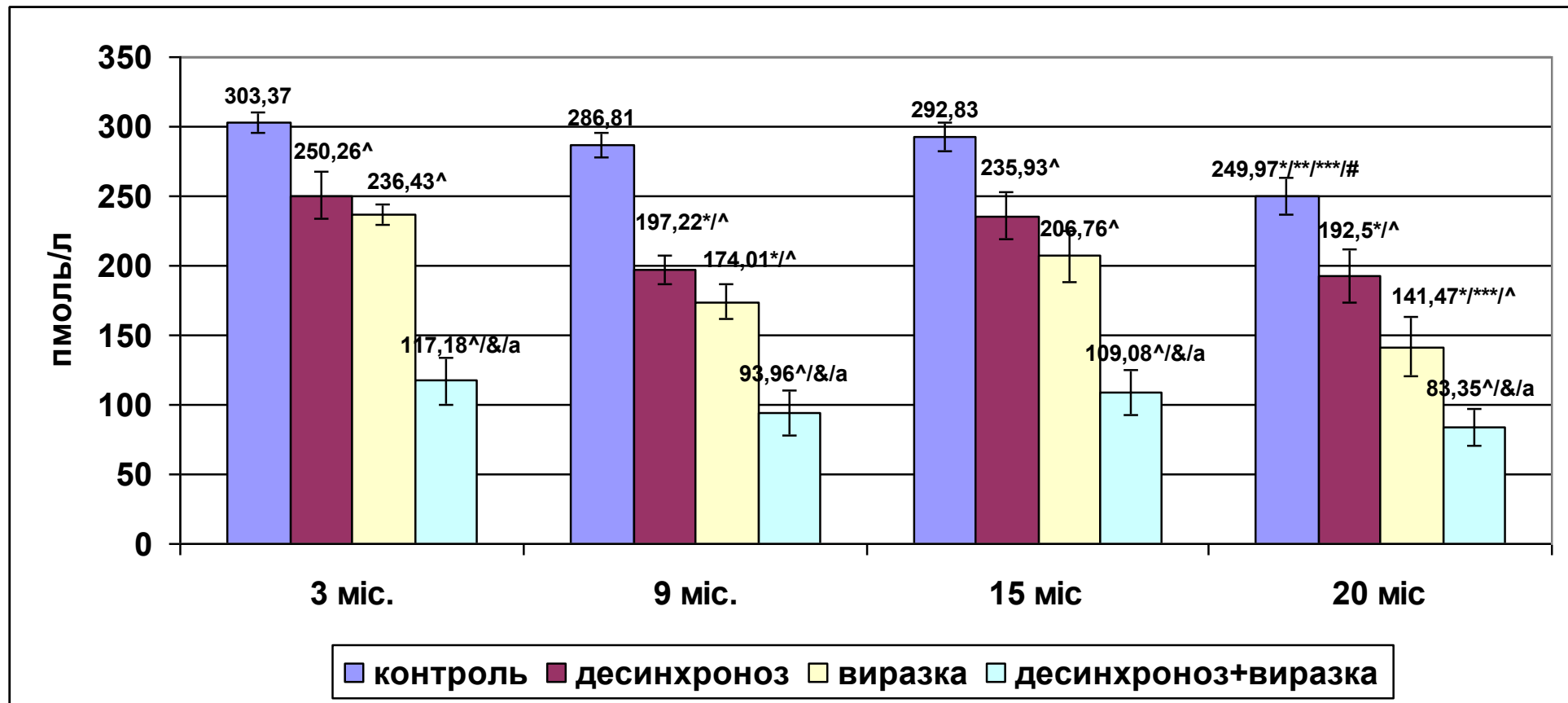


Рисунок 3.3. Вміст мелатоніну в сироватці крові у щурів-самців

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; [^] $p \leq 0,05$ відносно контролю; [&] $p \leq 0,05$ відносно десинхронозу; ^a $p \leq 0,05$ відносно виразки.

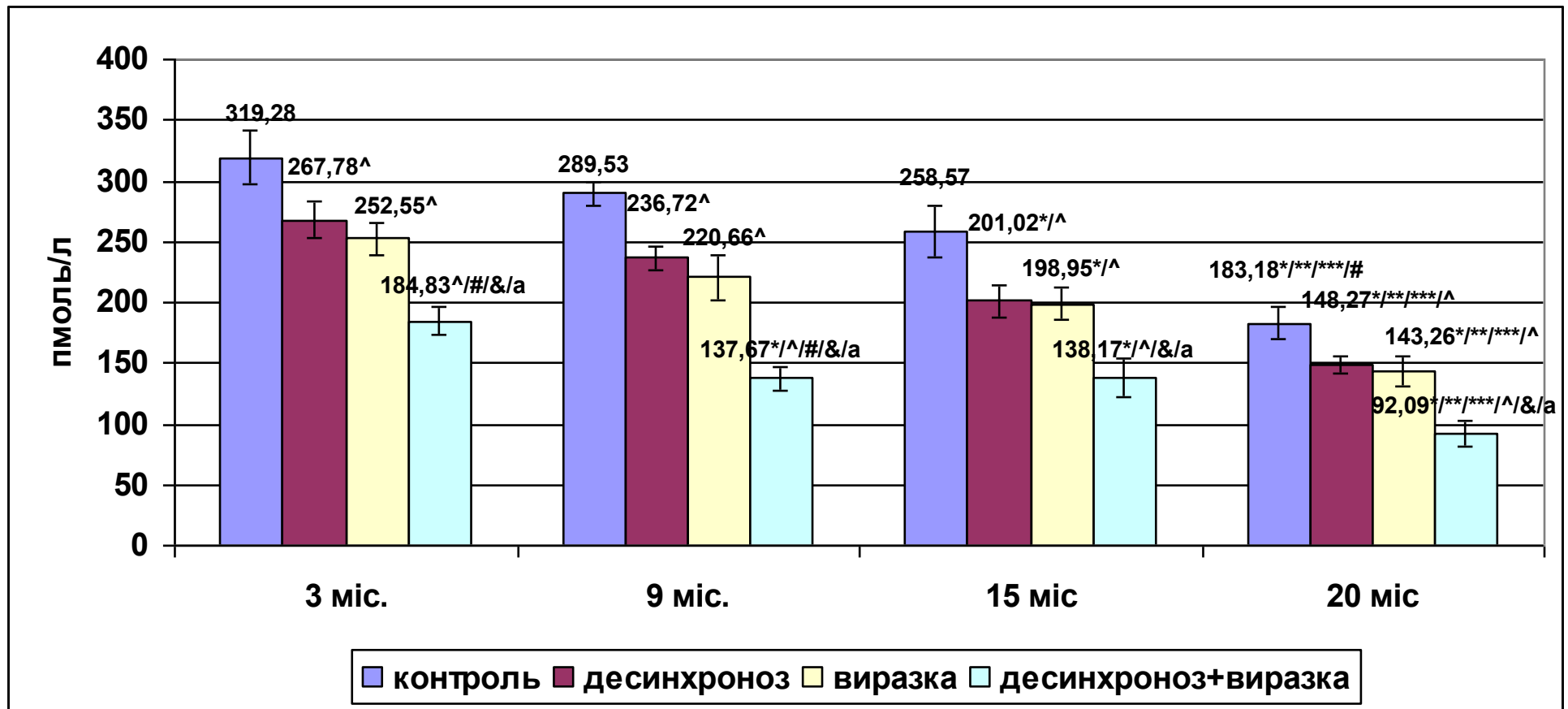


Рисунок 3.4. Вміст мелатоніну в сироватці крові у щурів-самок

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; [^] $p \leq 0,05$ відносно контролю; [&] $p \leq 0,05$ відносно десинхронозу; ^a $p \leq 0,05$ відносно виразки; # $p \leq 0,05$ відносно щурів-самців.

Враховуючи достовірну різницю між вмістом мелатоніну у щурів з виразковим ураженням СОШ на тлі десинхронозу відносно щурів виключно з десинхронозом ($p \leq 0,05$) і наявність достовірної різниці відносно щурів виключно з виразковим ураженням СОШ, можна стверджувати про присутність у сироватці крові мелатоніну із різних джерел синтезу.

Таким чином, низький рівень мелатоніну в сироватці крові у щурів різної статі та різного віку з виразковим ураженням СОШ на тлі десинхронозу пов'язаний як зі зниженням його продукції у пінеальному джерелі у зв'язку із світловим десинхронозом, так і зменшенням секреції мелатоніну у мелатонін-продукуючих клітинах шлунка при пошкодженні СОШ [181, 182].

Висновки

1. Встановлений циркануальний ритм секреції мелатоніну у щурів обох статей різного віку з найменшим рівнем мелатоніну в крові восени та навесні, що збігається з відомостями про існування сезонного фізіологічного десинхронозу в період біологічної весни та осені та найбільшим вмістом мелатоніну в крові в літній та зимовий періоди.

2. У різних вікових групах найбільший рівень мелатоніну в крові у всі сезони як у самців, так і у самок визначений у віці 3 міс (відповідає віку людини 14 років), найменший – у щурів у віці 20 міс (відповідає віку 55–56 років). У той же час восени низький вміст мелатоніну спостерігається у самців активного репродуктивного віку (9 міс) (відповідає віку 29–30 років).

3. Встановлено, що на тлі світлового десинхронозу відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей усіх вікових груп. Найбільше зниження вмісту мелатоніну при десинхронозі відносно контролю відбулося у щурів-самців віком 9 міс – на 31 % ($p \leq 0,05$) (відповідає віку 29–30 років) та у щурів обох статей віком 20 міс – на 23 % у самців та 24 % у самок ($p \leq 0,05$) (відповідає віку 55–56 років).

4. Виразкове ураження шлунка призводить до зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові усіх вікових груп у щурів-самців на 22–43 %, а

у щурів-самок – на 21–23 % відносно контролю ($p \leq 0,05$). Найбільше зниження вмісту мелатоніну при експериментальній виразці шлунка – на 39 % та 43 % відбувається у щурів-самців віком 9 та 20 міс ($p \leq 0,05$).

5. Установлено, що при виразковому ураженні слизової оболонки шлунка на тлі десинхронозу відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові усіх вікових груп щурів відносно інтактних тварин, тварин із десинхронозом та тварин із виразковим ураженням СОШ. Найбільше зниження рівня мелатоніну при виразковому ураженні та десинхронозі відносно групи інтактного контролю встановлене у щурів-самців віком 9 та 15 міс, що відповідає віку людини 29–30 та 43–44 роки.

Матеріали цього розділу оприлюднені в наступних публікаціях дисертанта:

1. Гнатюк В. В. Дослідження циркануальних ритмів синтезу мелатоніну в сироватці крові щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2015. – № 3, т. 1 (41-I). – С. 117–123.

2. Гнатюк В. В. Дослідження рівнів мелатоніну в сироватці крові у щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Світ медицини та біології. – 2015. – № 4 (54). – С. 106–108.

3. Гнатюк В. В. Рівень мелатоніну у щурів-самців різного віку з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2016. – № 3 (45). – С. 132–137.

4. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

5. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу на рівень мелатоніну крові та екстрапінеальні джерела синтезу мелатоніну у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник морської медицини. – 2016. – № 3 (72).

– С. 41–47.

6. Гнатюк В. В. Порівняльна характеристика рівнів мелатоніну у щурів різної статі та віку в осінньо-весняний період / В. В. Гнатюк // Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 берез. 2016 р. – Харків, 2016. – С. 22–23.

7. Гнатюк В. В. Рівень мелатоніну у сироватці крові щурів за умов виразкового ураження шлунка / В. В. Гнатюк // Сучасні аспекти медицини та фармації – 2016: всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з між нар. участю, 12–13 травня 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С.15–16.

8. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу та виразкового ураження шлунка на рівень мелатоніну в сироватці крові у щурів-самок різного віку / В. В. Гнатюк // Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції: тези доповідей VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, 5–7 жовтня 2016 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2016. – С. 59.

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАТЕВИХ І ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ СИНТЕЗУ ТЕСТОСТЕРОНУ У ЩУРІВ

4.1. Вивчення циркануальних ритмів секреції тестостерону у щурів різної статі та віку

Достовірно встановлено, що освітленість навколишнього середовища (фотоперіодичність упродовж доби) впливає на функціональну активність репродуктивної системи та сексуальну поведінку [196, 215, 249]. Під дією світла СХЯ опосередковують через епіфізарно-гіпоталамічну систему гормональну корекцію, що забезпечує ритмічні цикли в репродуктивній системі. Разом із циркадіанними ритмами велике адаптивне значення для жіночого та чоловічого організмів мають сезонні ритми [130].

Тестостерон є головним статевим гормоном, що визначає функцію ячок, простати, якість сперми у чоловіків, та одним із статевих гормонів, який впливає на функціонування репродуктивної системи жінок [2]. Рівень тестостерону вивчали у щурів самців і самок віком 3, 9, 15 та 20 міс у весняний, літній, осінній та зимовий періоди.

За результатами дослідження, найвищий вміст гормону встановлений у щурів-самців віком 9 міс та 15 міс та у щурів-самок віком 3 міс восени (табл. 4.1). Рівень тестостерону у щурів-самців віком 9 міс восени був в 1,4 раза більший відносно вмісту тестостерону у самців віком 3 міс та в 2 рази – відносно вмісту тестостерону у щурів-самців віком 20 міс. В інші сезони у щурів-самців він був восени більший в 1,5 раза до показника навесні ($p=0,057$), в 2,3 раза – взимку та 1,4 раза – влітку ($p\leq 0,05$). Нами встановлений чіткий циркануальний ритм секреції тестостерону у щурів-самців: низький взимку та поступове збільшення до високого восени в усіх

вікових групах, що співпадає з даними літератури [158].

Установлено, що найменший вміст тестостерону в усі сезони спостерігається у самців віком 20 міс з найменшим рівнем взимку. При цьому достовірна різниця між рівнями тестостерону в цій віковій групі в різні сезони року відсутня, що є важливим показником старіння, яке відбувається в організмі чоловіків [15].

В осінній період тестостерон у щурів-самців віком 20 міс був в 1,4 раза менший за вміст у щурів віком 3 міс, у 2,0 раза – відносно самців віком 9 міс та в 1,7 раза – до вмісту у щурів віком 15 міс ($p \leq 0,05$) (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Показники вмісту тестостерону в сироватці крові у щурів різного віку та статі в різні сезони року ($M \pm m$, нмоль/л, $n=6$)

Сезон / вік	3 міс	9 міс	15 міс	20 міс
Самці				
Осінь	5,52±0,27	7,57±0,53*	6,77±0,48*	3,88±0,55**/**/**
Зима	3,31±0,19 [^]	3,35±0,36 [^]	3,59±0,57 [^]	3,01±0,28
Весна	3,94±0,65	5,03±1,15	6,68±1,09 ^{&}	3,68±0,56
Літо	3,67±0,57 [^]	5,25±0,68 ^{^/&}	4,45±0,65 [^]	3,27±0,54**
Самки				
Осінь	4,12±0,05 [#]	3,76±0,13 ^{*/#}	3,69±0,19 [#]	3,53±0,19*
Зима	3,92±0,06 ^{^/#}	3,64±0,08*	3,59±0,21	3,52±0,29
Весна	3,78±0,09 [^]	3,91±0,04 ^{&}	3,84±0,11 [#]	3,49±0,24
Літо	3,81±0,12 [^]	3,74±0,11 [#]	3,5±0,18	3,39±0,23

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; [^] $p \leq 0,05$ відносно значень восени; [&] $p \leq 0,05$ відносно значень взимку; [#] $p \leq 0,05$ відносно значень у самців.

Також достовірна різниця спостерігалася між рівнем тестостерону у щурів-самців віком 9 та 20 міс – в 1,9 раза, 15 та 20 міс – в 1,7 раза ($p \leq 0,05$).

Порівнюючи показники щурів разного віку в різні сезони року встановлено, що у самців віком 3, 9 і 15 міс восени він був в 1,7; 2,3 та 1,9 раза більший до вмісту тестостерону у щурів-самців відповідного віку взимку ($p \leq 0,05$) та у 1,5; 1,4 та 1,5 раза влітку ($p \leq 0,05$). Достовірні відмінності між рівнем тестостерону восени на навесні між щурами одного віку відсутні.

На відміну від самців, у самок уміст тестостерону не має чіткої залежності від сезону року. Установлено, що найбільший його рівень в сироватці крові восени, взимку та влітку у щурів віком 3 міс, а навесні – 9 міс. Найменший вміст тестостерону, як і у щурів-самців, спостерігається у всі сезони у самок віком 20 міс з достовірною різницею в 1,2 раза лише між самками віком 3 та 20 міс восени ($p \leq 0,05$). Достовірною була також різниця між вмістом тестостерону в різні сезони року у самок віком 3 міс – в 5 % відносно показника взимку, 8 % – відносно весни та 7 % – відносно літа ($p \leq 0,05$).

Порівнюючи вміст тестостерону в сироватці крові щурів різної статі встановлено, що у щурів-самців віком 3, 9 і 15 міс восени він був в 1,3; 2 та 1,8 раза вищий за вміст тестостерону у самок відповідного віку ($p \leq 0,05$). Достовірні відмінності між кількістю тестостерону в сироватці крові також виявлено у віковій групі 3 міс взимку – 16 % з більш високим рівнем у самок; навесні між щурами віком 15 міс – в 1,7 раза та влітку у щурів віком 9 міс – 1,4 раза з більш високим вмістом у самців.

Таким чином, отримані дані свідчать, що зміни тривалості світлового дня впродовж року мають достовірний вплив на вміст тестостерону в сироватці крові щурів-самців з підйомом восени та зниженням взимку в усіх вікових групах. Для щурів-самок такий циркануальний ритм секреції тестостерону не встановлений.

4.2. Статеві та вікові особливості вмісту тестостерону в сироватці крові у щурів різного віку та статі при світловому десинхронізі

Як відомо, порушення освітлення вночі призводить до розвитку зовнішнього десинхронізу внаслідок порушення секреції мелатоніну в епіфізі та зниження його кількості в організмі. Враховуючи наявність у мелатоніну антигонадотропного ефекту [69, 114], метою наступного експерименту стало вивчення вмісту тестостерону у щурів різного віку та статі при світловому десинхронізі. Визначення рівня тестостерону проводили у щурів різного віку – 3, 9, 15 та 20 міс та статі після перебування їх упродовж 2-х тижнів в умовах цілодобового освітлення.

Установлено, що на фоні цілодобового освітлення відбувається достовірне підвищення вмісту тестостерону в усіх вікових групах як щурів-самців (рис. 4.1), так і щурів-самок (рис. 4.2).

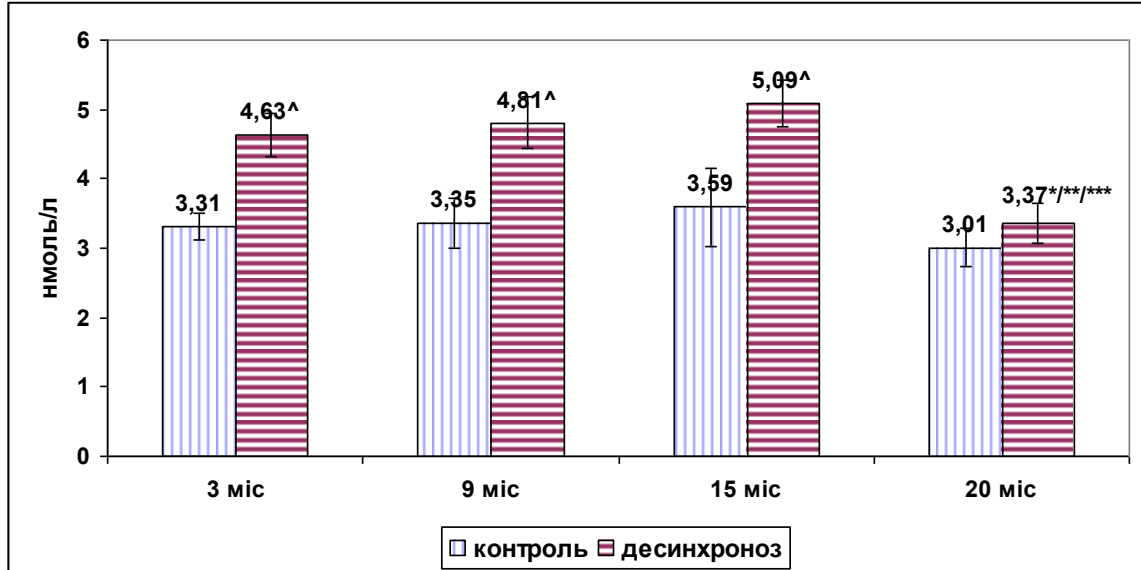


Рисунок 4.1. Вміст тестостерону в сироватці крові у щурів-самців на тлі десинхронізу

Примітка: [^] $p \leq 0,05$ відносно контролю; * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс

Найбільший вміст тестостерону в сироватці крові на тлі десинхронозу визначений у щурів-самців віком 15 міс – на 42% вище, ніж у відповідної групи контролю ($p \leq 0,05$). При цьому найбільша різниця між умістом тестостерону в контролі та при десинхронозі встановлена у віковій групі 9 міс – 44 % ($p \leq 0,05$). У щурів віком 3 міс вміст тестостерону був вищий відносно контролю на 40 % ($p \leq 0,05$), а у щурів віком 20 міс – на 14 % ($p \geq 0,05$).

У щурів-самців групи контролю були відсутні достовірні відмінності між віковими групами з найвищим вмістом тестостерону у щурів віком 9 та 15 міс, що відповідає віку чоловіків з найвищими значеннями цього показника [150], та найнижчим вмістом тестостерону у щурів віком 20 міс. На тлі десинхронозу зберігаються співвідношення у рівнях тестостерону між віковими групами, але у старих щурів він достовірно нижчий відносно інших вікових груп: на 27 % відносно самців віком 3 міс, на 30 % відносно щурів віком 9 міс та 34 % відносно щурів віком 15 міс ($p \leq 0,05$).

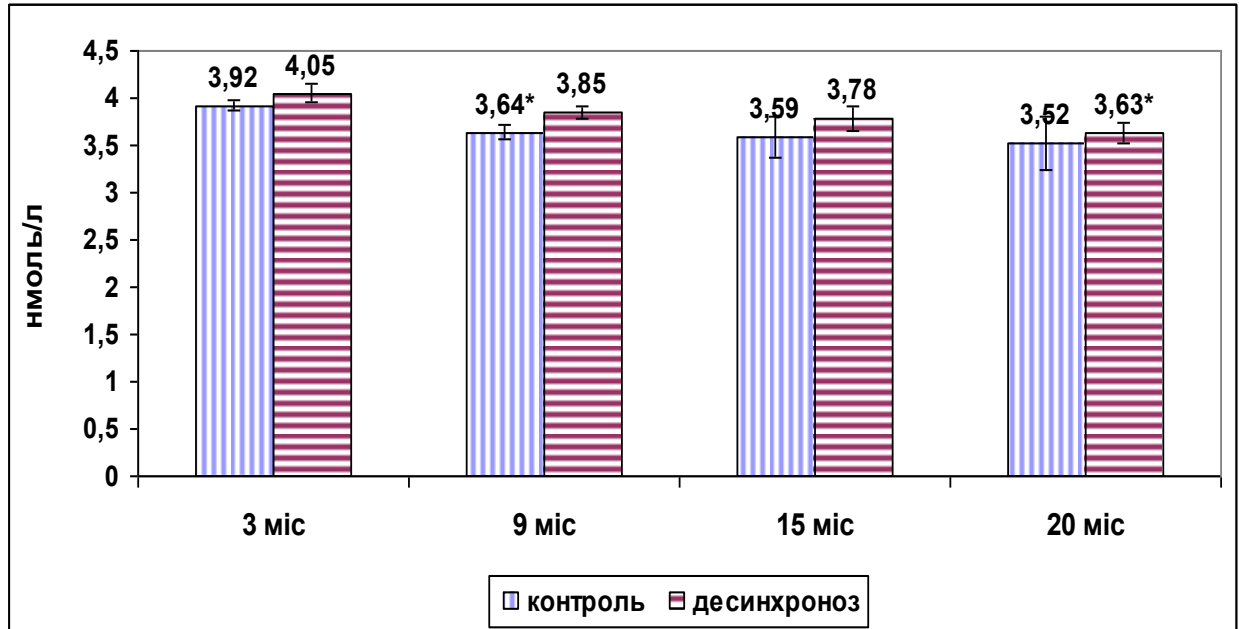


Рисунок 4.2. Вміст тестостерону в сироватці крові у щурів-самок на тлі десинхронозу

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс.

У щурів-самок підвищення вмісту тестостерону було незначним на 3 % відносно контролю в вікових групах 3 і 20 міс, на 6 % – у щурів віком 9 міс і 5 % – у самок віком 15 міс ($p \geq 0,05$). При цьому зберігалася тенденція до зниження вмісту тестостерону з віком з найвищого у самок віком 3 міс до найнижчого у самок віком 20 міс з достовірною різницею ($p \leq 0,05$) між віковими групами 3 і 9 міс у контролі та 3 і 20 міс при десинхронозі.

Порівнюючи вміст тестостерону між щурами різної статі одного віку встановлено (рис. 4.3), що він є достовірно вищим у вікових групах 9 і 15 міс, які відповідають репродуктивному періоду людини 20–40 років. Різниця між вмістом тестостерону становить 25 % у щурів віком 9 міс і 35 % у щурів віком 15 міс з більш високим рівнем у щурів-самців ($p \leq 0,05$). У щурів віком 3 міс різниця була 14 % з більш високим вмістом у щурів-самців. У віці 20 міс у щурів-самок вміст тестостерону був на 7 % більшим порівняно зі щурівками-самцями ($p \geq 0,05$).

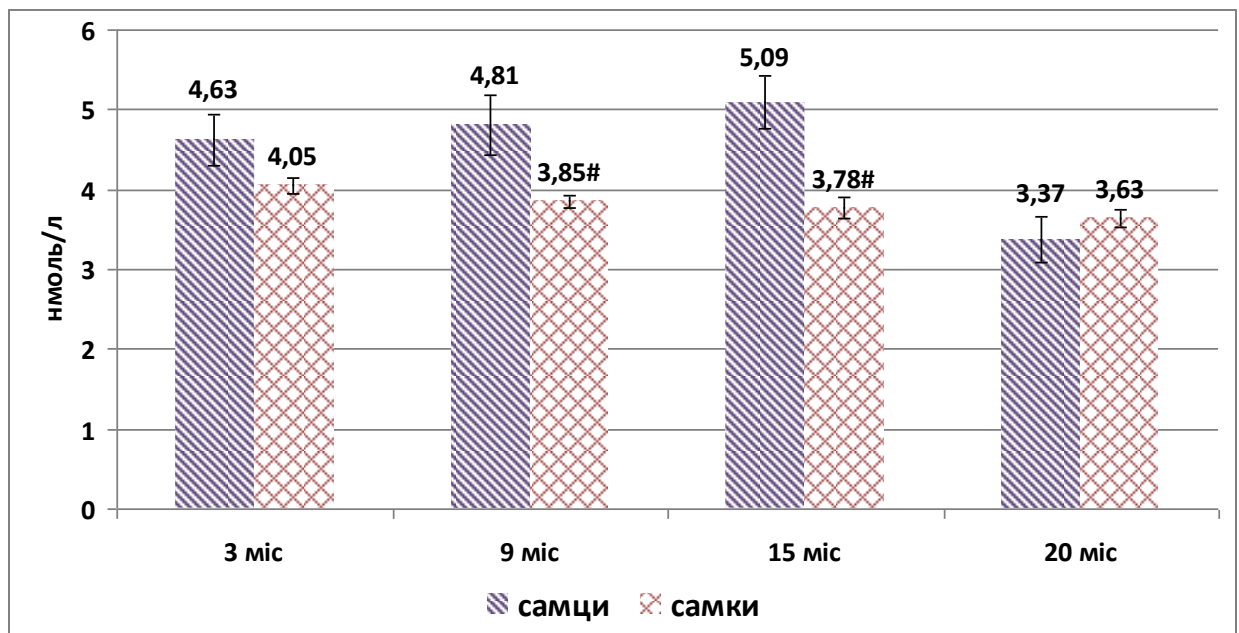


Рисунок 4.3. Вміст тестостерону в сироватці крові у щурів різної статі на тлі десинхронозу

Примітка: # $p \leq 0,05$ відносно щурів-самців.

Таким чином, порушення режиму освітлення призводить до підвищення вмісту тестостерону в сироватці крові усіх вікових групах щурів різної статі.

4.3. Визначення вмісту тестостерону в сироватці крові щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка

У сучасній літературі існують поодинокі відомості про вплив тестостерону на розвиток виразкового ураження шлунка [213, 281]. При цьому дані про рівень тестостерону у хворих на ВХ ми не зустріли. Тому наступним етапом нашого дослідження стало визначення вмісту тестостерону в сироватці крові щурів-самців та самок віком 3, 9, 15 та 20 міс із спирто-преднізолоновим ураженням шлунка. Визначення рівня тестостерону проводили на 3-ю добу після моделювання виразки.

Установлено, що на фоні пошкодження СОШ відбувається підвищення вмісту тестостерону в сироватці крові щурів обох статей різного віку (табл. 4.2.).

Найбільший уміст тестостерону спостерігається у щурів-самців віком 9 міс, що було в 1,8 раза більше ніж у контролі ($p \leq 0,05$). В інших вікових групах уміст тестостерону також був вищим відносно показників контрольної групи: у щурів-віком 3 міс – в 1,5 раза ($p \leq 0,05$), у щурів-віком 15 міс – в 1,6 раза ($p \leq 0,05$), в самців у віці 20 міс – в 1,04 раза ($p \geq 0,05$).

У щурів-самок підвищення відносно контролю було недостовірним в усіх вікових групах: 3 міс – в 1,05 раза, 9 міс – в 1,12 раза, в 15 міс – в 1,11 раза, 20 міс – в 1,07 раза.

Співвідношення вмісту тестостерону у щурів однієї статі, але різного віку при виразковому ураженні СОШ відрізнялися від контрольних. Так, у щурів-самців найнижчий вміст тестостерону був у щурів віком 20 міс, що було на 9 % нижче, ніж у щурів віком 3 міс, на 10 % відносно самців віком 9 міс та 16 % до вмісту у щурів віком 15 міс. При цьому достовірна різниця між показниками була відсутня. На фоні виразкового ураження СОШ відбувся значний підйом вмісту тестостерону у щурів віком 3-15 міс відносно самців віком 20 міс: на 39 % відносно щурів віком 3 міс, на 47 % ($p \leq 0,05$)

відносно самців віком 9 міс та 46 % ($p \leq 0,05$) відносно тварин віком 15 міс.

Таблиця 4.2

Вміст тестостерону в сироватці крові щурів різного віку та статі при виразковому ураженні СОШ ($M \pm m$, пмоль/л, $n=6$)

Вік/стать	Самці	Самки
Контроль		
3 міс	3,31±0,19	3,92±0,06
9 міс	3,35±0,36	3,64±0,08*
15 міс	3,59±0,57	3,59±0,21
20 міс	3,01±0,28	3,52±0,29
Виразкове ураження СОШ		
3 міс	5,14±0,73 [^]	4,11±0,10
9 міс	5,95±0,76 [^]	4,09±0,22 [#]
15 міс	5,81±0,40 [^]	3,98±0,28 [#]
20 міс	3,13±0,51 ^{**/**}	3,77±0,4 [*]

Примітка: [^] $p \leq 0,05$ відносно контролю; * $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 3 міс; ** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 9 міс; *** $p \leq 0,05$ відносно щурів віком 15 міс; # $p \leq 0,05$ відносно значень у самців.

У самок також найнижчий вміст тестостерону визначали в віці 20 міс як у контролі, так і при виразковому ураженні СОШ. Достовірна різниця між вмістом тестостерону була присутня в контролі тільки між віковими групами 3 і 9 міс – 7 % з нижчим вмістом у самок віком 9 міс. При виразковому ураженні у самок віком 20 міс вміст тестостерону був на 8 % нижчий відносно тварин віком 3 міс.

Порівнюючи показники тестостерону в сироватці крові при виразковому ураженні СОШ у щурів одного віку та різної статі встановлено, що достовірною була різниця між віковими групами 9 та 15 міс – на 45–46 % відповідно вище у самців відносно самок ($p \leq 0,05$).

Отже, пошкодження екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну

при виразковому ураженні СОШ призводить до підвищення вмісту тестостерону в сироватці крові як у самців, так і у самок різного віку подібно до десинхронозу, що був викликаний порушенням функції епіфіза. Найбільше підвищення відбувається у статевозрілих щурів-самців віком 9 і 15 міс як відносно контролю, так і по відношенню до рівня тестостерону у самок з виразковим ураженням СОШ, що дозволяє віднести цю вікову групу до групи ризику розвитку ВХ.

4.4. Вміст тестостерону в сироватці крові щурів при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу

Особливу увагу науковців та лікарів привертає питання залежності розвитку хвороб шлунково-кишкового тракту, особливо виразкової хвороби, від статі та віку [216, 222, 255]. Для ВХ є типовим високий рівень захворюваності чоловіків молодого віку [65]. При цьому одним із механізмів розвитку хвороби вважають порушення біоритмів організму – десинхроноз, який виникає на фоні цілодобового освітлення, трансконтинентальних перельотів, роботи у нічну зміну, що призводить до зниження синтезу епіфізарного мелатоніну [101]. Окрім пінеального джерела синтезу мелатоніну в організмі людини встановлені екстрапінеальні, до яких належить і шлунково-кишковий тракт [71]. На сьогодні доведений гальмівний вплив мелатоніну на гонадотропні гормони гіпофіза, а отже й на синтез тестостерону [145]. При цьому праць, де були б досліджені рівні тестостерону у щурів різної статі з пошкодженням різних джерел синтезу мелатоніну ми не зустріли. Тому наступним етапом нашого дослідження було визначення вмісту тестостерону в сироватці крові щурів різної статі з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу.

Експериментальні тварини впродовж 2 тижнів знаходилися в умовах

цілодобового освітлення. На 15-ту добу експерименту їм вводили спирто-преднізолонову суміш, що викликала виразкове ураження СОШ. Визначення рівня тестостерону в сироватці крові проводили на 18-ту добу експерименту.

У ході проведеного дослідження було встановлено, що на фоні цілодобового освітлення та виразкового ураження шлунка відбувалося підвищення рівня тестостерону в усіх експериментальних групах. Найбільше підвищення спостерігалось у щурів-самців віком 9 міс – на 82 %, 15 міс – на 69 % та 3 міс – на 60 % відносно контролю ($p \leq 0,05$). У 20-місячних щурів-самців підвищення було незначним – на 25 % (рис. 4.4). При цьому його вміст був достовірно нижчим, ніж у інших груп: на 29 % – відносно 3 міс щурів, на 38 % – щурів віком 9 та 15 міс ($p \leq 0,05$), що не спостерігалось в контролі.

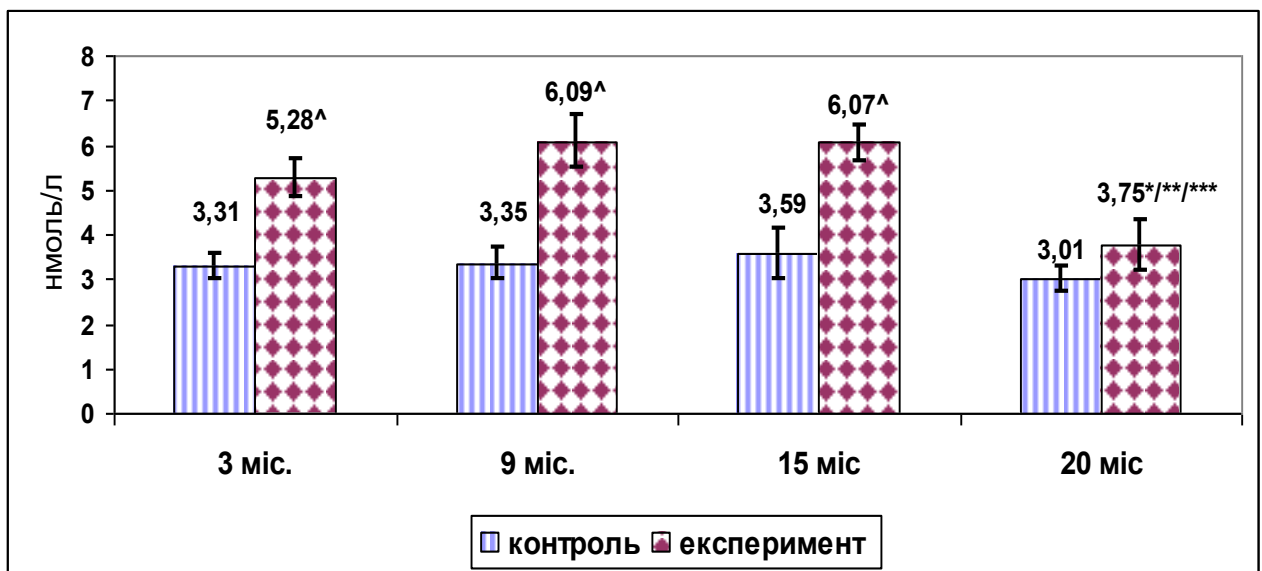


Рисунок 4.4. Рівень тестостерону у щурів-самців при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу

Примітка: * $p \leq 0,05$ – відносно щурів віком 3 міс, ** $p \leq 0,05$ – відносно щурів віком 9 міс, *** $p \leq 0,05$ – відносно щурів віком 15 міс, ^ $p \leq 0,05$ – відносно контролю.

У щурів-самок також спостерігалось підвищення рівня тестостерону: на 18 % – у віці 9 міс ($p \leq 0,05$), на 15 % – у віці 15 міс та на 12% – у віці 3 та 20 міс відносно контролю (рис. 4.5). При цьому достовірна різниця між

вмістом тестостерону у різному віці присутня тільки у самок контрольної групи – 9 міс відносно 3 міс.

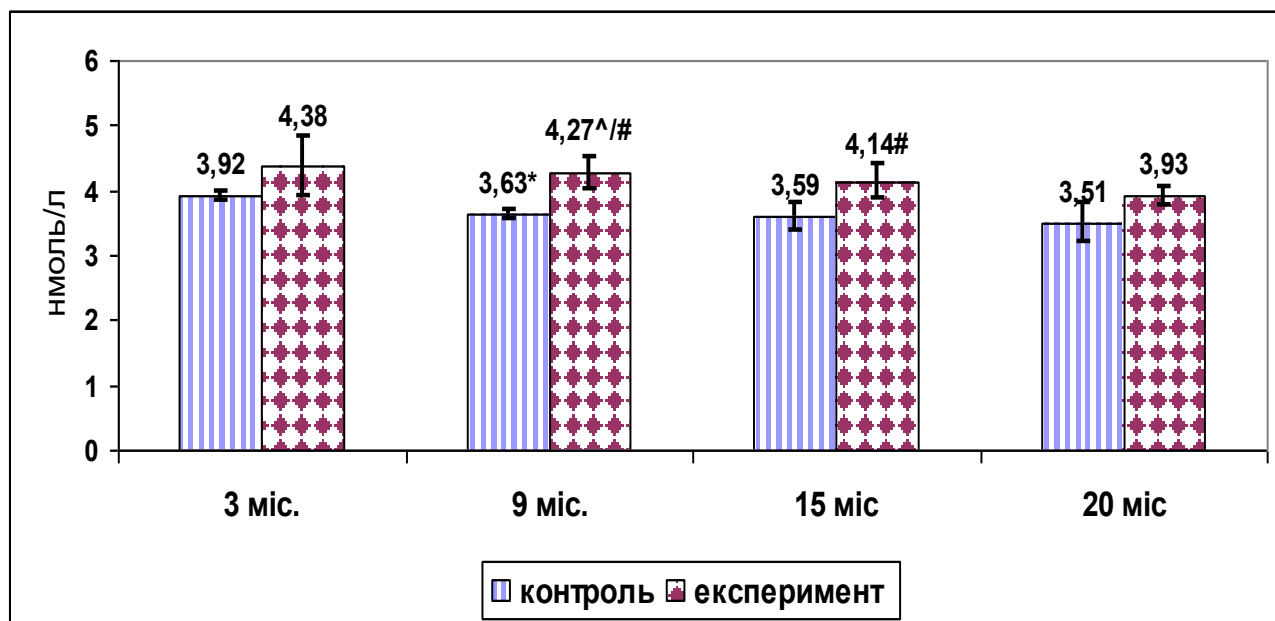


Рисунок 4.5. Рівень тестостерону у щурів-самок при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу

Примітка: * $p \leq 0,05$ – відносно щурів віком 3 міс, [^] $p \leq 0,05$ – відносно контролю, # $p \leq 0,05$ – відносно самців.

Проводячи аналіз між вмістом тестостерону у самців відносно самок встановлено, що у самців віком 3, 9 та 15 міс він вищий за рівень самок на 21, 43, 47 % відповідно. При цьому достовірною різниця є тільки у віці 9 та 15 міс. У щурів у віці 20 міс, навпаки, вміст тестостерону на 5 % більший у самок відносно самців.

Отримані дані свідчать, що стан десинхронозу та виразкового ураження шлунка впливає на синтез тестостерону. Ураховуючи отримані нами у попередніх дослідженнях дані, що на тлі десинхронозу та виразкового ураження шлунка відбувається зниження вмісту мелатоніну [37], можна припустити, що між синтезом мелатоніну та тестостерону ймовірно є взаємозв'язок. Згідно з отриманими даними зниження рівня мелатоніну, ймовірно, призводить до розгальмування синтезу гонадотропних гормонів, що супроводжується підвищенням рівня тестостерону як у самців, так і у

самок усіх вікових груп. При цьому найбільше підвищення спостерігається у віці 9 міс у самців – на 82 %, у самок – на 18 % ($p \leq 0,05$), що відповідає віку людини 29–30 років. А наявність високого вмісту тестостерону саме у самців віком 9 та 15 міс дозволяє припустити, що він має певну роль у патогенезі виразкової хвороби та пояснює більш високий рівень захворюваності на виразкову хворобу саме у чоловіків у віці 29–40 років.

4.5. Визначення кореляційного зв'язку між вмістом мелатоніну і тестостерону в щурів різного віку та статі

Унікальне регуляторне значення для роботи нервової та ендокринної систем має епіфіз, здатний інтегрувати різні екзогенні й ендогенні сигнали, трансформуючи їх у гормональну відповідь. Позбавлений власних ритмозадавальних властивостей, у ссавців він забезпечує поєднання та координацію різних за періодом біологічних ритмів [4]. В останні роки мелатонін розглядають як провідний інтегратор, що опосередковує всі найбільш важливі функції епіфіза, пов'язані з контролем діяльності периферичних ендокринних залоз та центральної нервової системи. У нормі його функціональна активність знаходиться в протифазі з діяльністю гіпофіза. Якщо гіпофіз за рахунок тропних гормонів активує ендокринну функцію, то епіфіз, навпаки, її гальмує [246]. У наших попередніх дослідженнях було встановлено, що в різні сезони року, на тлі десинхронозу та виразкового ураження шлунка змінюється вміст як мелатоніну, так і головного статевого гормону чоловіків тестостерону. Визначення наявності взаємозв'язку їх вмісту при різноманітних умовах і стало нашою наступною метою.

Визначення взаємозв'язку проводили шляхом розрахунку коефіцієнта кореляції r-Пірсона, який характеризує як напрямок, так і силу зв'язку між

двома величинами. Оцінку щільності зв'язку проводили за Таблицею Чедока.

Згідно з отриманими результатами, у більшості вікових груп визначений негативний кореляційний зв'язок з різною щільністю зв'язку, яка значно відрізнялася між самцями та самками у віці 3, 9 та 15 міс в різні сезони. Установлено, що у щурів-самців віком 3, 9 та 15 міс в різні сезони року був зворотний кореляційний зв'язок між вмістом гормонів, восени щільність зв'язку дорівнювала -0,61; -0,92; -0,70 та 0,17 у віці 3, 9, 15 та 20 міс відповідно (рис. 4.6)

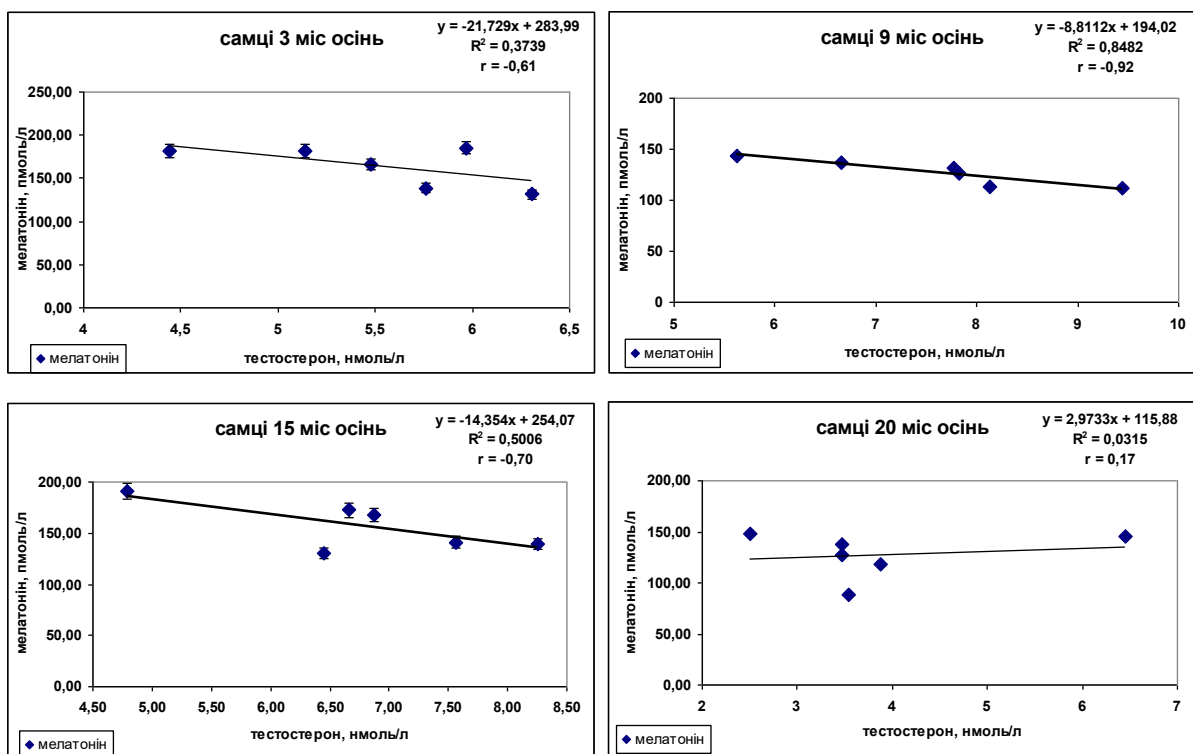


Рисунок 4.6. Кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну і тестостерону у щурів-самців різного віку восени

У зимовий період щільність зв'язку була помірною у вікових групах 3, 9 та 15 міс з коефіцієнтами кореляції -0,34; -0,51; -0,47 відповідно та був відсутній у щурів віком 20 міс – $r = 0,02$ (рис. 4.7).

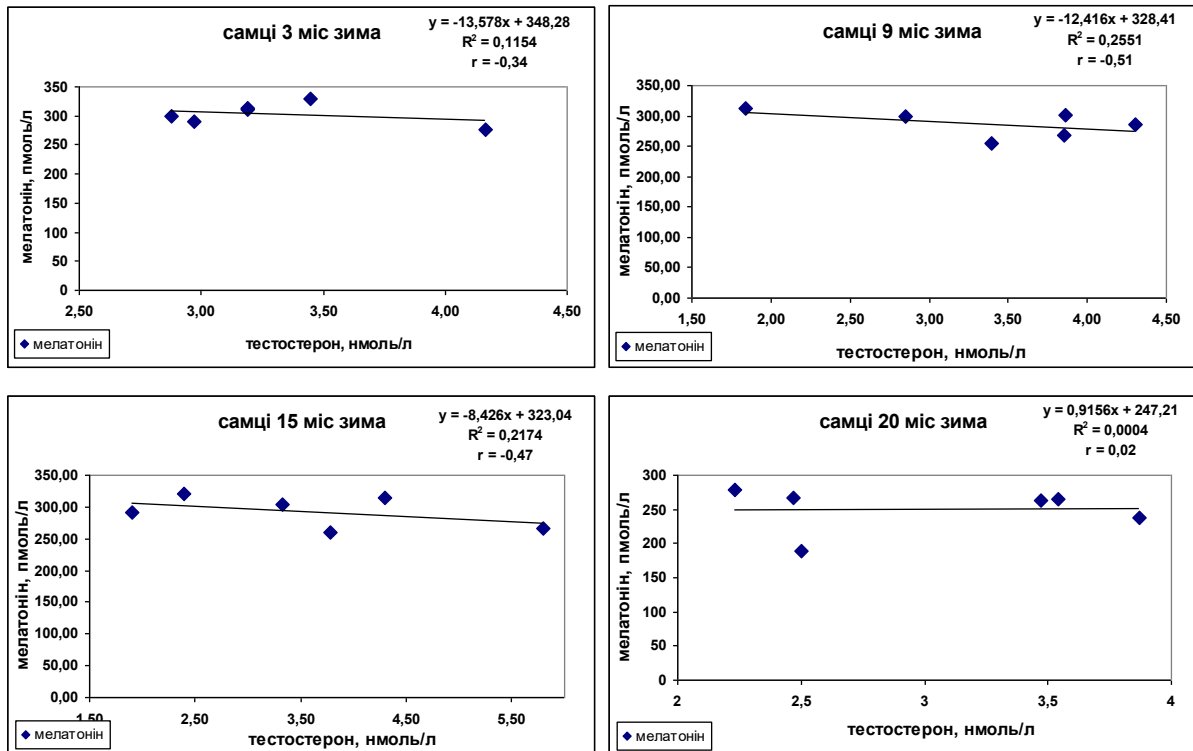


Рисунок 4.7. Кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну і тестостерону у щурів-самців різного віку взимку

Навесні у щурів-самців відбулися зміни як у вмісті мелатоніну, так і тестостерону, що зазвичай відбилося на коефіцієнтах кореляції, які збільшилися у щурів віком 3, 9, 15 міс до значної щільності зв'язку, але були відсутні у самців віком 20 міс (рис. 4.8–4.9)

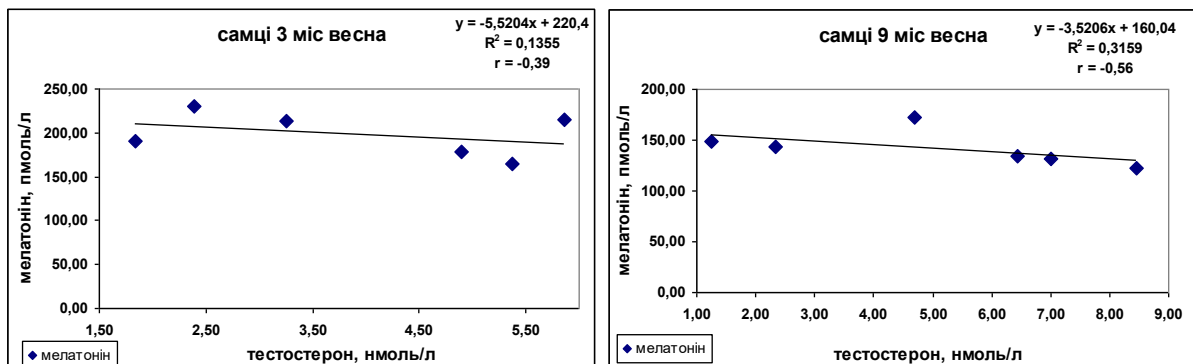


Рисунок 4.8. Кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну і тестостерону у щурів-самців віком 3 і 9 міс навесні

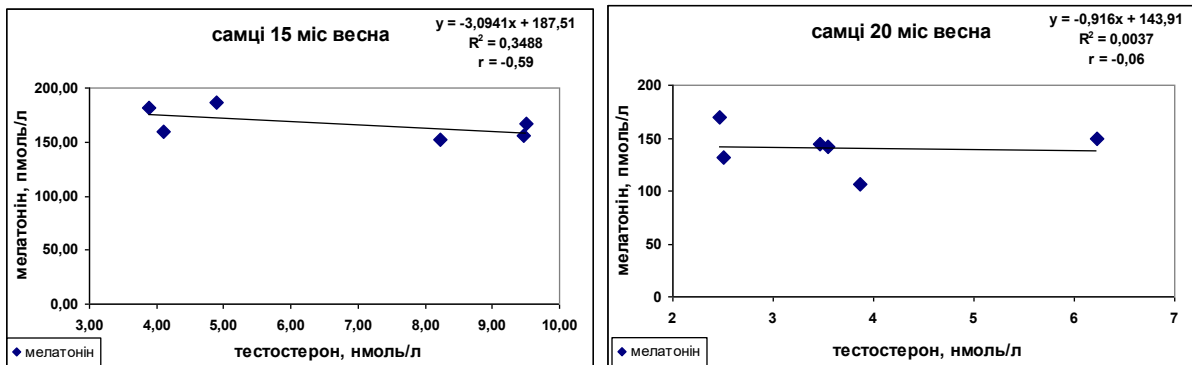


Рисунок 4.9. Кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну і тестостерону у щурів-самців віком 15 і 20 міс навесні

Для літнього періоду притаманний помірний зв'язок для щурів віком 3, 9 та 15 міс: -0,39; -0,42; -0,46 відповідно. У старих щурів віком 20 міс зв'язок був відсутній $r = -0,04$ (рис. 4.10).

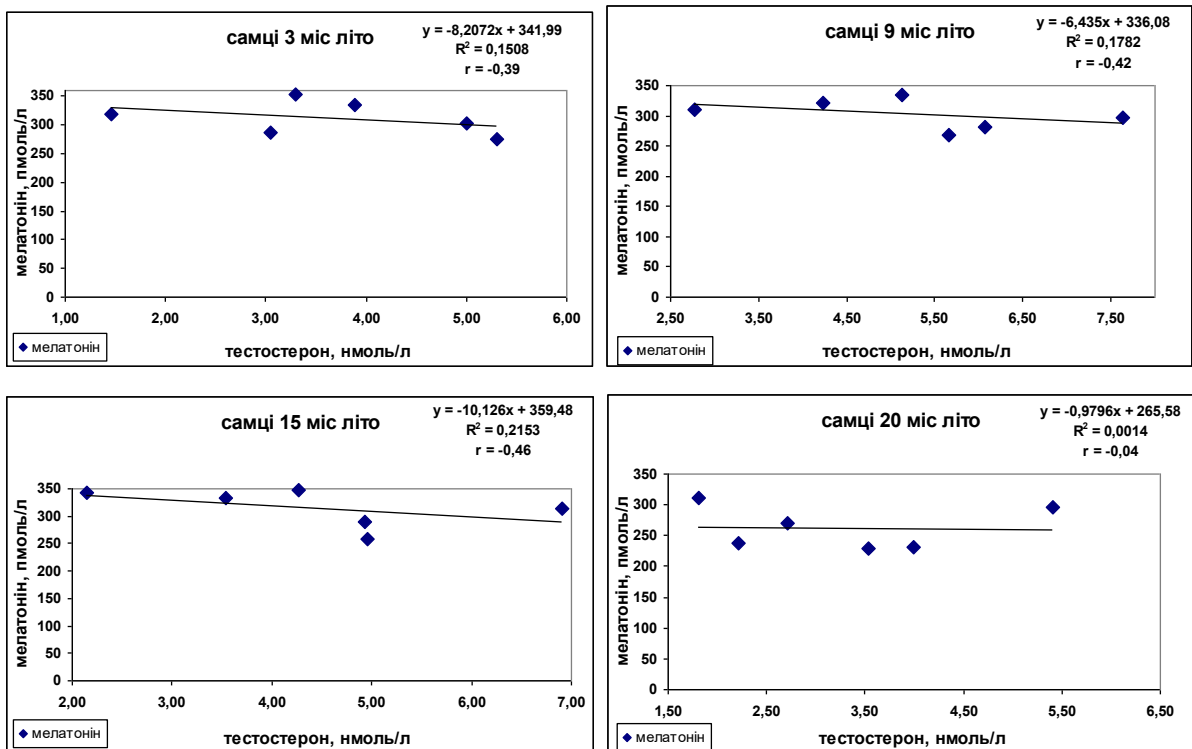


Рисунок 4.10. Кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну і тестостерону у щурів-самців різного віку влітку

Визначення кореляційного зв'язку між мелатоніном і тестостероном у щурів-самок в різні сезони року показало слабкий зв'язок у самок віком 9 міс восени, 3, 9 та 15 міс – взимку, 9 та 20 міс – навесні та 3 міс влітку (табл. 4.3).

В інших вікових групах у різні сезони він був відсутній, що вказує на відсутність взаємозв'язку у щурів-самок між синтезом мелатоніну та тестостерону.

Таблиця 4.3

Коефіцієнти кореляції між вмістом мелатоніну та тестостерону у різні сезони року у щурів-самок різного віку та статі

Сезони	Вік			
	3 міс	9 міс	15 міс	20 міс
Осінь	0,07	0,12	-0,05	-0,09
Зима	-0,19	-0,20	0,15	0,08
Весна	0,09	-0,12	-0,05	-0,25
Літо	0,19	-0,10	-0,09	0,05

Отже, тільки для щурів-самців віком 3, 9 та 15 міс у різні сезони року був притаманний зворотний кореляційний зв'язок між вмістом гормонів з найбільш високою щільністю зв'язку восени у щурів віком 9 та 15 міс.

Наступним етапом нашого дослідження було визначення коефіцієнтів кореляції у щурів різного віку та статі на тлі світлового десинхронозу, виразкового ураження СОШ та одночасного ураження СОШ на тлі десинхронозу.

Установлено, що зміни, які відбуваються на тлі десинхронозу у вмісті мелатоніну та тестостерону призводять до появи негативного зворотного зв'язку у щурів різної статі всіх вікових груп. Так, у щурів-самців кореляційний зв'язок склав -0,88; -0,96; -0,89 і -0,70 у віці 3, 9, 15 і 20 міс відповідно (рис. 4.11).

При цьому щільність зв'язку збільшилася в 2,6 раза в щурів віком 3 міс, в 2,2 раза – у віці 9 міс та у 2 рази – у самців віком 15 міс відносно контролю. У щурів віком 20 міс групи контролю зв'язок був відсутній, але на тлі десинхронозу коефіцієнт кореляції вмісту мелатоніну та тестостерону дорівнює $r = -0,7$ – сильний щільний зв'язок.

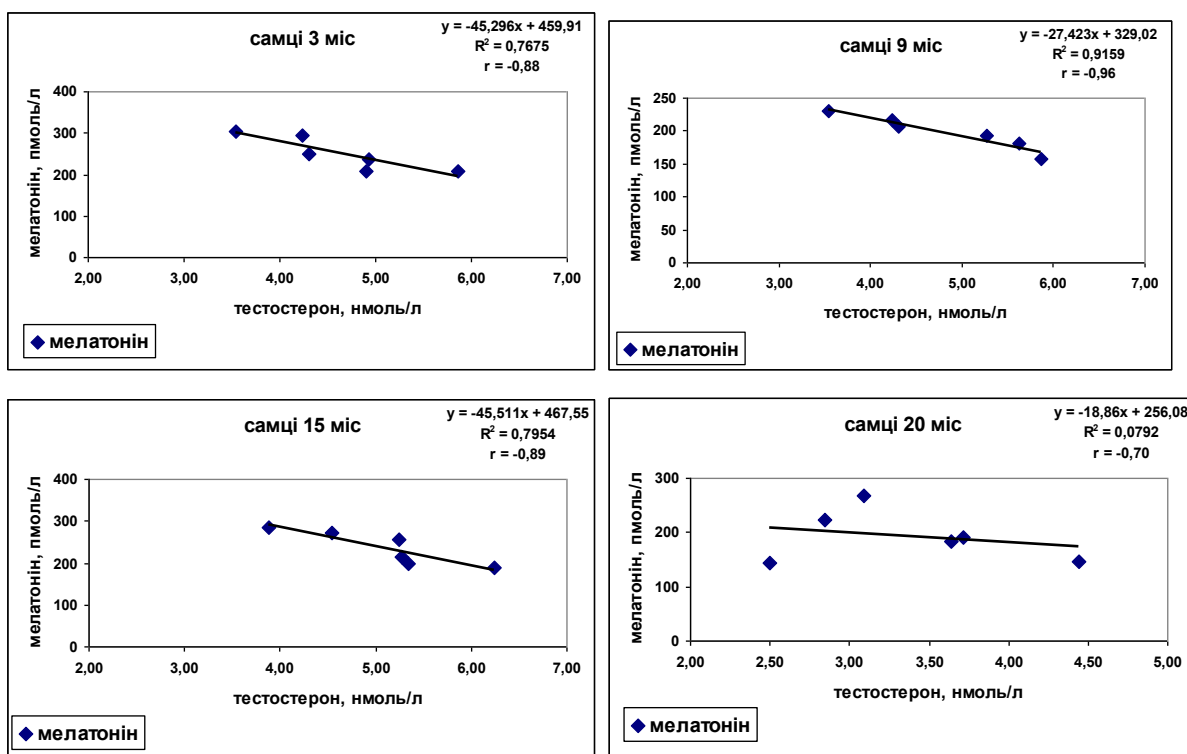


Рисунок 4.11. Кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну і тестостерону у щурів-самців різного віку при десинхронозі

Порушення режиму освітлення мало суттєвий вплив на взаємозв'язок мелатоніну та тестостерону у щурів-самок: збільшилася щільність зв'язку від слабкого в групі контролю до помірного у самок віком 3 та 20 міс і значного у щурів віком 9 та 15 міс (рис. 4.12).

Порівнюючи показники коефіцієнтів кореляції при десинхронозі у тварин різної статі встановлено, що найбільші коефіцієнти були у щурів-самців порівняно зі щурами-самками у віці 3 та 20 міс у 2 рази, 9 та 15 міс в 1,5 рази.

Таким чином, отримані нами результати підтверджують існування зв'язку між секрецією мелатоніну епіфізом та тестостерону гонадами. Зниження вмісту мелатоніну, яке відбувається на тлі десинхронозу, може призводити до підвищення вмісту тестостерону незалежно від віку та статі, що свідчить про формування нових нейрогормональних зв'язків між центральними та периферичними органами ендокринної системи. При цьому більшу силу ці зв'язки мають у щурів-самців відносно щурів-самок.

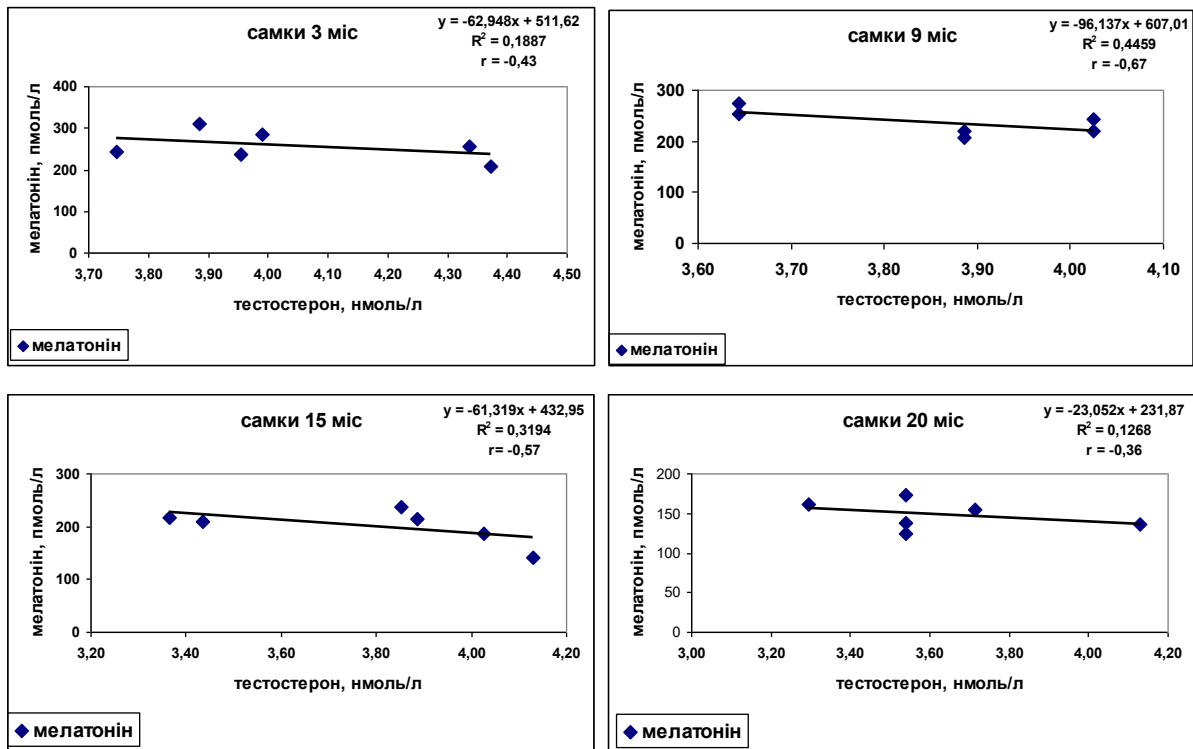


Рисунок 4.12. Кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну і тестостерону у щурів-самок різного віку при десинхронозі

Якщо про гальмівний вплив епіфізарного мелатоніну на синтез гонадотропних гормонів гіпофіза [238], а відповідно й на зміни секреції гормонів периферичної ендокринної ланки, відомо, то даних про можливий зв'язок між синтезом мелатоніну з екстрапінеальних джерел та продукцією статевих гормонів немає. Тому наступним етапом нашого дослідження було вивчення кореляційного зв'язку між вмістом мелатоніну та тестостерону на фоні виразкового ураження шлунка.

Установлено, що у щурів-самців усіх вікових груп спостерігається зворотний негативний кореляційний зв'язок (рис. 4.13) з високою щільністю у тварин віком 3 та 20 міс – $r = -0,87$ і $-0,8$ відповідно; дуже сильною – у щурів віком 9 та 15 міс – $r = -0,95$.

Коефіцієнти кореляції при виразковому ураженні перевищували показники в контролю в 2,6 раза в щурів віком 3 міс, 1,9–2 рази – у віці 9 і 15 міс відповідно (рис. 4.14).

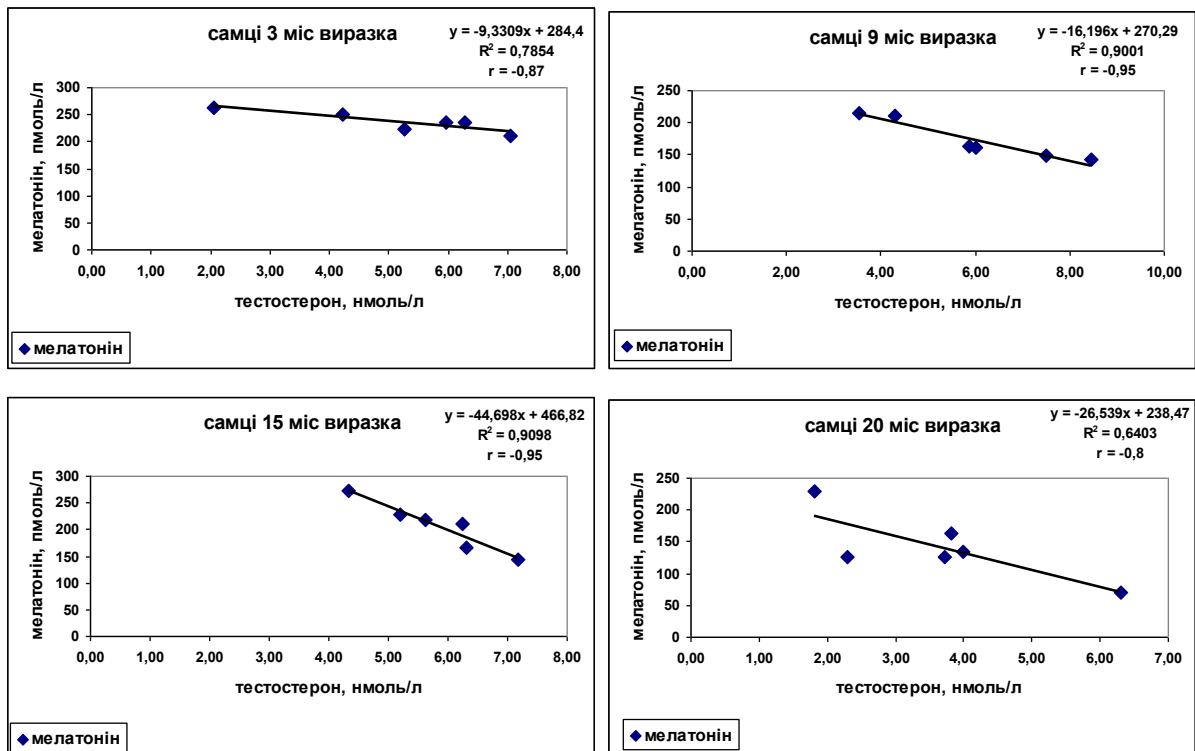


Рисунок 4.13. Кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну і тестостерону у щурів-самців різного віку з виразковим ураженням слизової оболонки шлунка

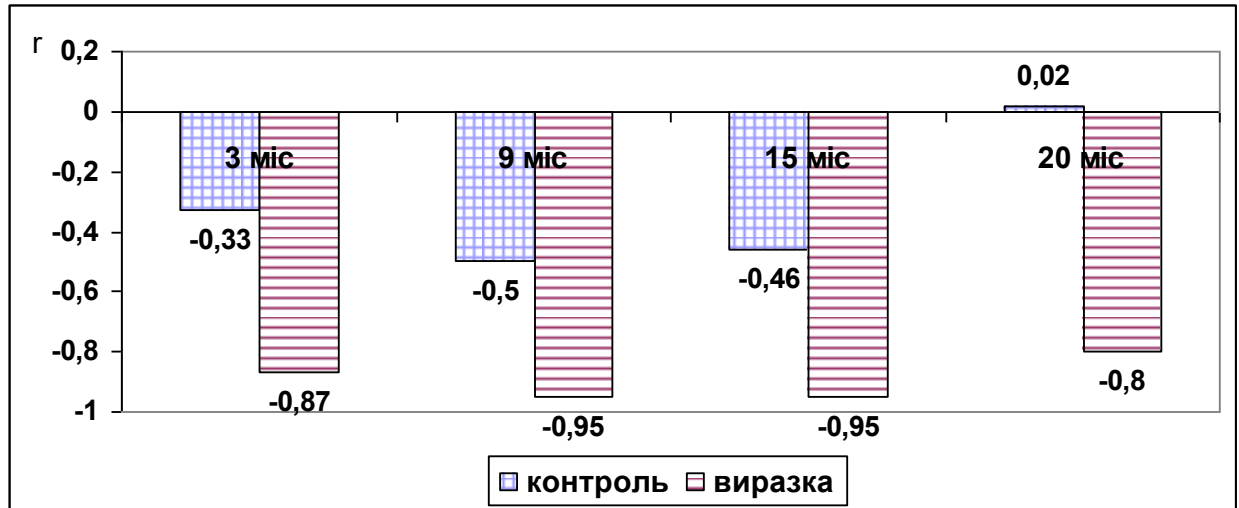


Рисунок 4.14. Коефіцієнти кореляції щурів-самців різного віку з виразковим ураженням слизової оболонки шлунка

Порушення СОШ у щурів-самок призвело до змін у взаємозв'язку мелатоніну та тестостерону з присутністю у всіх тварин негативного кореляційного зв'язку. У самок віком 3 міс коефіцієнт кореляції збільшився в

2,8 раза, віком 9 міс – в 3,6 раза відносно контролю, а у щурів-самок віком 15 міс зв'язок із позитивного слабкого змінився на негативний значний (рис. 4.15).

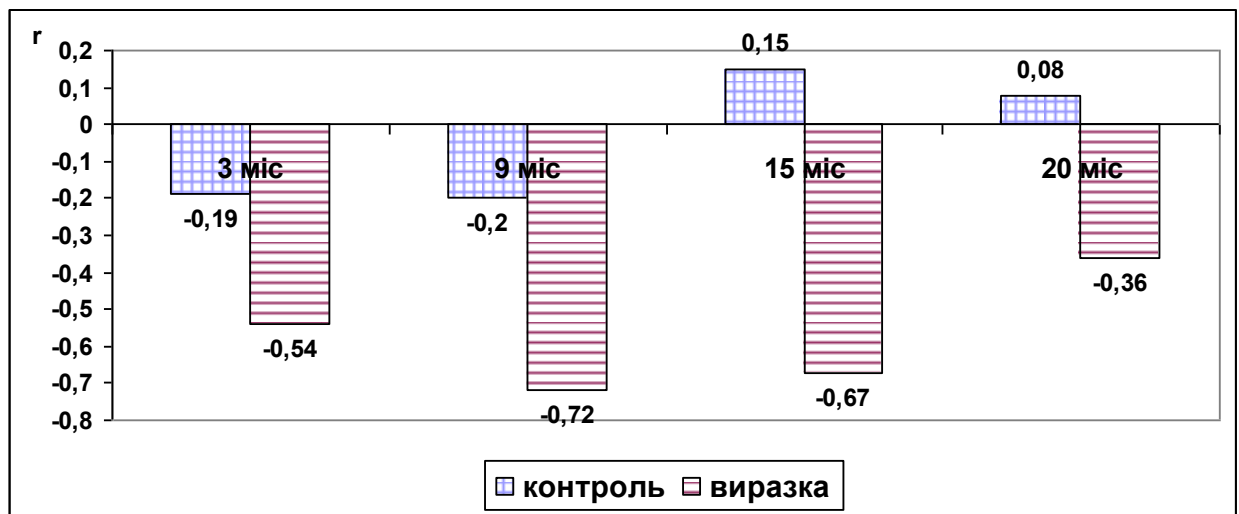


Рисунок 4.15. Коефіцієнти кореляції щурів-самок різного віку з виразковим ураженням слизової оболонки шлунка

Порівнюючи показники коефіцієнтів кореляції при виразковому ураженні СОШ у тварин різної статі встановлено, що найбільші коефіцієнти були у щурів-самців порівняно зі щурами-самками: в 1,6 раза у віці 3 міс, в 1,3 раза – 9 міс, 1,4 раза – 15 міс та 2,2 раза – 20 міс (рис. 4.14–4.15).

Отримані дані свідчать, що порушення екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну також має вплив на синтез тестостерону гонадами, який характеризується тим, що зниження вмісту мелатоніну призводить до підвищення вмісту тестостерону у сироватці крові з високим коефіцієнтом кореляції у щурів-самців у віці 9 та 15 міс.

Наприкінці нашого дослідження ми визначили коефіцієнти кореляції між вмістом мелатоніну та тестостерону при виразковому ураженні СОШ на тлі десинхронозу.

На тлі десинхронозу та виразкового ураження шлунка помірний зворотний кореляційний зв'язок, що існував у контролі у щурів-самців віком 3, 9 та 15 міс і був відсутній у щурів віком 20 міс, збільшився до сильного у

тварин усіх вікових груп – -0,85; -0,85; -0,88 та -0,70 відповідно (рис. 4.16), що було у самців віком 3 та 9 міс незначно нижче, ніж при десинхронозі та виразці, та на рівні коефіцієнтів при десинхронозі у щурів-самців віком 15 та 20 міс, але нижче, ніж при виразковому ураженні СОШ, що, ймовірно, пов'язане зі змінами, які можуть відбуватися під час десинхронозу в СОШ та потребують подальших досліджень.

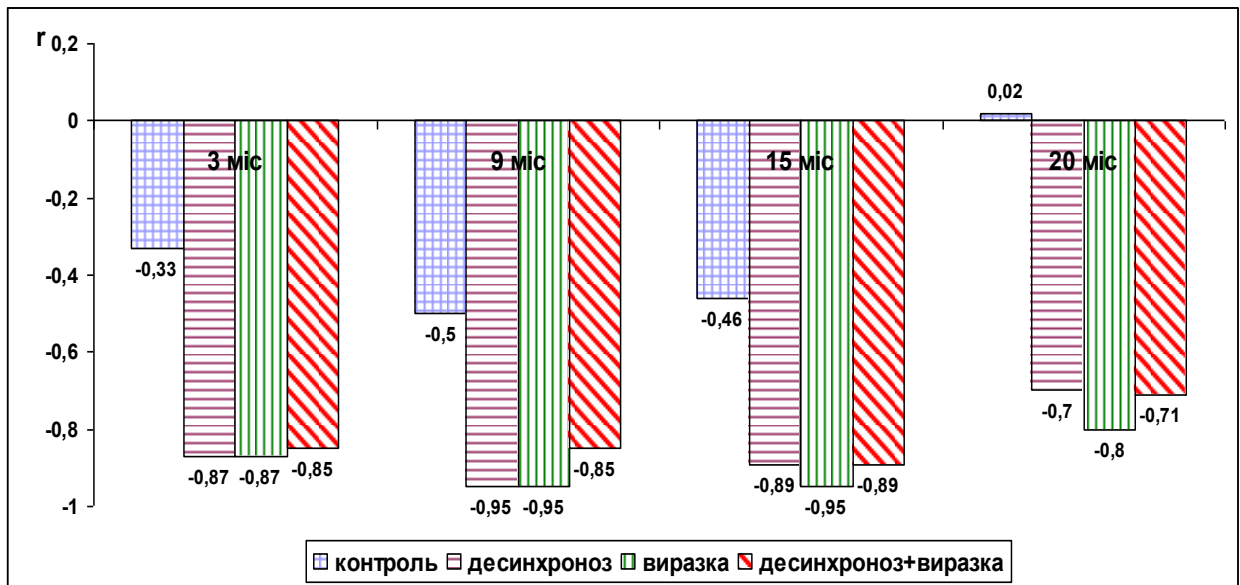


Рисунок 4.16. Коефіцієнти кореляції у щурів-самців при різних експериментальних умовах

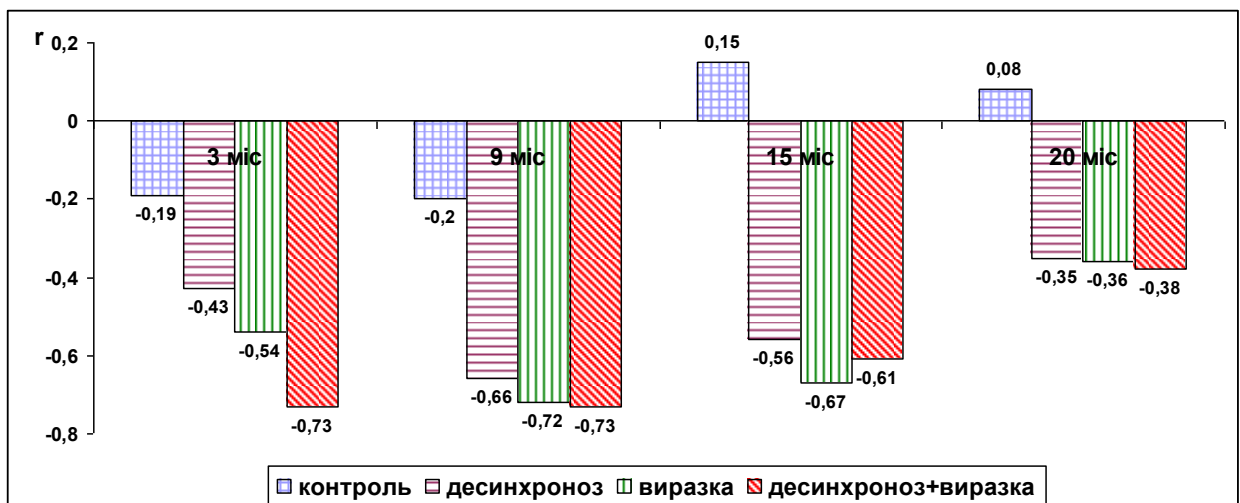


Рисунок 4.17. Коефіцієнти кореляції у щурів-самок при різних експериментальних умовах

У щурів-самок з виразковим ураженням СОШ на тлі десинхронозу коефіцієнти кореляції були найвищими серед усіх визначених у віці 3, 9 та 20 міс, та нижчими, ніж при виразці, але вищими порівняно з десинхронозом у самок віком 15 міс (рис. 4.17). Щільність зв'язку була високою у щурів-самок віком 3 та 9 міс, що, ймовірно, пов'язане з особливостями синтезу мелатоніну в екстрапінеальних джерелах на тлі десинхронозу.

Висновки

1. Визначений циркануальний ритм секреції тестостерону у щурів-самців з високим вмістом восени та низьким взимку в усіх вікових групах. У щурів-самців найбільший рівень тестостерону встановлений у віці 9 та 15 міс в осінній період, що відповідає віку людини 29–30 та 44–45 років, та співпадає з періодом фізіологічного десинхронозу.

2. На тлі світлового десинхронозу та виразкового ураження СОШ відбувається достовірне підвищення вмісту тестостерону у щурів всіх вікових груп різної статі відносно контролю. Найбільший вміст тестостерону як при порушенні освітлення, так і при виразковому ураженні СОШ визначений у щурів-самців віком 9 та 15 міс, що відповідає віку людини 29–45 років.

3. При виразковому ураженні СОШ на тлі десинхронозу відбувається достовірне підвищення тестостерону відносно контролю у щурів-самців у віці 3, 9 та 15 міс, у щурів-самок у віці 9 міс. Достовірна різниця між рівнями тестостерону між самцями та самками при виразковому ураженні СОШ на тлі десинхронозу спостерігається у щурів віком 9 та 15 міс.

4. Установлений негативний зворотний зв'язок між рівнем мелатоніну та тестостерону у статевозрілих щурів-самців у всі сезони року. Дуже сильний кореляційний зв'язок між вмістом мелатоніну та тестостерону визначений у щурів-самців восени у віці 9 міс, сильний – у віці 15 міс.

5. Світловий десинхроноз та виразкове ураження шлунка окремо та при одночасному моделюванні впливають на взаємозв'язок між мелатоніном та тестостероном і призводять до появи негативного зворотного зв'язку у щурів

різної статі всіх вікових груп, при цьому у щурів-самців віком 9 і 15 міс цей зв'язок дуже сильний та зворотний.

Матеріали цього розділу оприлюднені в наступних публікаціях дисертанта:

1. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в щурів-самців різного віку при виразкових ураженнях шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Патологія. – 2015. – № 2 (34). – С. 31–34.

2. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.

3. Гнатюк В. В. Дослідження рівня тестостерону у щурів різної статі та віку на тлі десинхронозу та виразкового ураження шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т.16, № 4 (56), Ч.3. – С. 35–38.

4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, No 10. – P. 534–546.

5. Kononenko N. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / N. Kononenko, V. Hnatiuk // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39(1). – P. 39–45.

6. Гнатюк В. В. Циркануальний ритм синтезу тестостерону у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк // Бюллетень XV чтений им. Подвысоцкого: тези доп. – 26–27 мая 2016 г. – Одесса. – 2016. – С. 52–53.

7. Гнатюк В. В. Визначення рівнів тестостерону у щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Медична наука в практику охорони здоров'я: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених, 9 грудня 2016 р. – Полтава, 2016. – С. 88.

8. Гнатюк В. В. Визначення рівня тестостерону у щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк // Ендокринна патологія у віковому аспекті: матеріали XIV наук.-практ. конф. з міжнар. Учасцю, 24–25 листопада 2016 р. – Х., 2016. – С. 19–20.

9. Гнатюк В. В. Кореляційний зв'язок вмісту мелатоніну та тестостерону у статевозрілих щурів різної статі на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Актуальні питання медичної теорії та практики: матеріали міжнар. науково-практ. конф., 9–10 грудня 2016 р. – Дніпро, 2016 – С. 22–24.

10. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу та виразкового ураження шлунка на вміст тестостерону в сироватці крові щурів різної статі / В. В. Гнатюк // Актуальні питання біології та медицини: матеріали XIV Міжрегіональної наукової конференції, 22–23 грудня 2016 р. – Старобільськ, 2017. – С. 68–70.

11. Гнатюк В. В. Циркануальні ритми синтезу тестостерону у статевозрілих щурів різної статі / В. В. Гнатюк // Актуальні питання біології та медицини: матеріали XIV Міжрегіональної наукової конференції, 22–23 грудня 2016 р. – Старобільськ, 2017. – С. 71–73.

РОЗДІЛ 5

МОРФОЛОГІЧНЕ ВИВЧЕННЯ СТАНУ МЕЛАТОНІН-ПРОДУКУЮЧИХ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА

5.1. Визначення кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різної статі в різні сезони року

Як відомо, мелатоніну притаманні сезонні коливання його секреції епіфізом [234]. У наших попередніх дослідженнях було встановлено, що вміст мелатоніну в сироватці року змінюється в різні сезони року та має статеві відмінності. В останні роки проводяться експериментальні дослідження ролі мелатоніну в регуляції функцій органів ШКТ [61, 101, 237]. Підвищений інтерес саме до ШКТ обумовлений тим, що завдяки позапінеальному джерелу синтезу мелатоніну в ентерохромафінних клітинах, концентрація мелатоніну у травному каналі у 10–100 разів вища, ніж у крові, та у 400 разів вища, ніж у самому епіфізі. Мелатонін-продукуючі клітини входять до складу дифузної нейроендокринної системи ШКТ, їх кількість змінюється при різних патологічних станах [220]. Суперечливі дані літератури щодо розташування мелатонін-продукуючих клітин (МПМК) у відділах шлунка [217], дослідження їх кількості та морфологічної структури в залежності від статі та у різні сезони року відсутні.

Тому, наступним етапом нашої роботи стало вивчення кількості МПМК слизової оболонки шлунка у щурів різної статі в різні сезони року. Дослідження було виконано методом імуногістохімічного забарвлення з первинними кролячими антитілами до мелатоніну (Biorbyt, Великобританія) в розведенні 1:100 та вторинними козячими антикролячими антитілами, кон'югованими з AlexaFluor488 в осінньо-зимовий період. Термін проведення експерименту був обраний на основі раніше отриманих результатів вивчення вмісту мелатоніну в

сироватці крові та отриманих даних: найбільший вміст мелатоніну встановлений взимку, а найменший – восени. Зразки слизової оболонки шлунка були забрані із пілоричного відділу відразу після евтаназії тварин.

У ході проведеної роботи було встановлено, що МПМК переважно розташовані в базальних та середніх відділах трубчастих залоз СОШ, що співпадає з даними літератури щодо розташування ентерохромафінних клітин (ЕС-клітин) [27] (рис. 5.1).

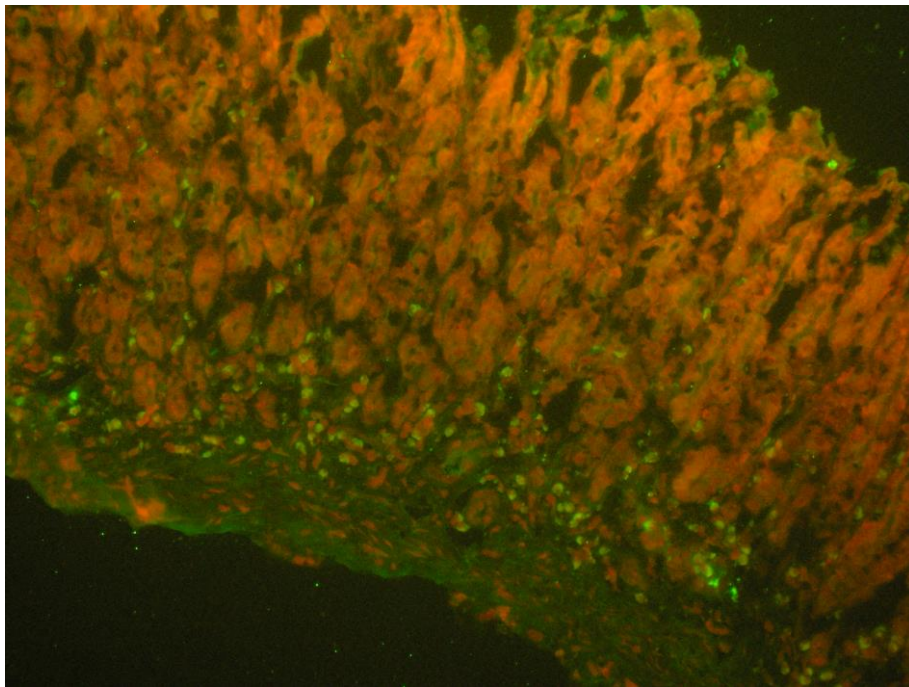


Рисунок 5.1. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка щура-самця. 36.×200

МПМК СОШ представлені трьома типами клітин – 1-й тип – дрібні клітини діаметром 3,8–7,6 мкм, що знаходяться переважно в базальному відділі шлункової залози (рис. 5.2), 2-й тип – великі клітини діаметром від 11 до 17 мкм без гранул у цитоплазмі (рис. 5.3) та 3-й тип – великі клітини з гранулами в цитоплазмі, які займають базальний та середній відділ залози (рис. 5.4).

Відомо, що клітини ендокринних органів мають низку спільних рис будови. В ендокриноцитах, як правило, можна виявити специфічні гранули, в яких накопичуються біологічно активні речовини [189]. Виявлені нами

відмінності в будові МПМК СОШ, ймовірно, свідчать про різний ступінь їх зрілості.



Рисунок 5.2. 1-й тип мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка щура-самця. Зб.×400

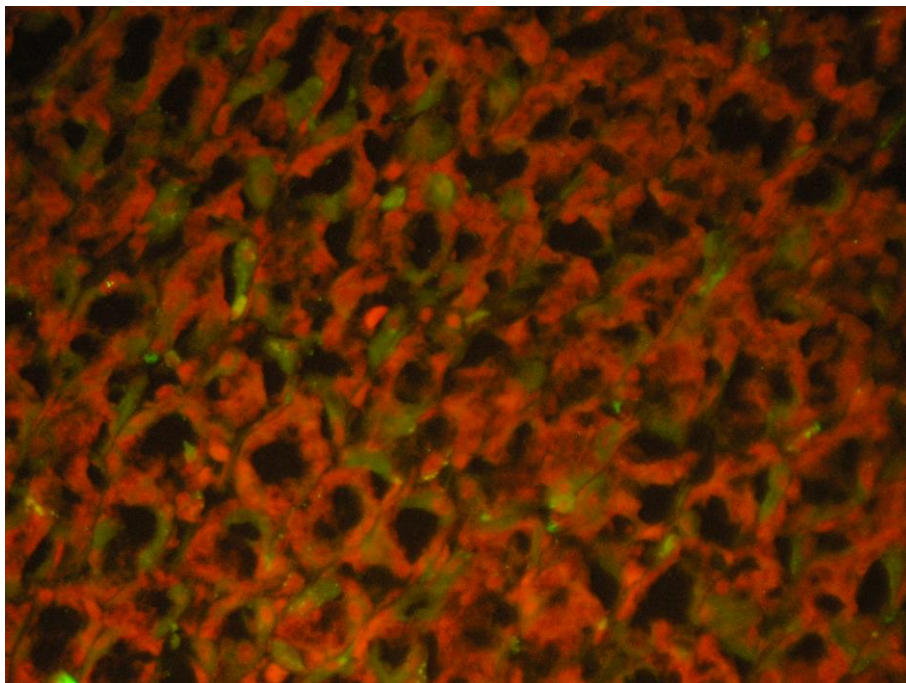


Рисунок 5.3. 2-й тип мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка щура-самця. Зб.×400

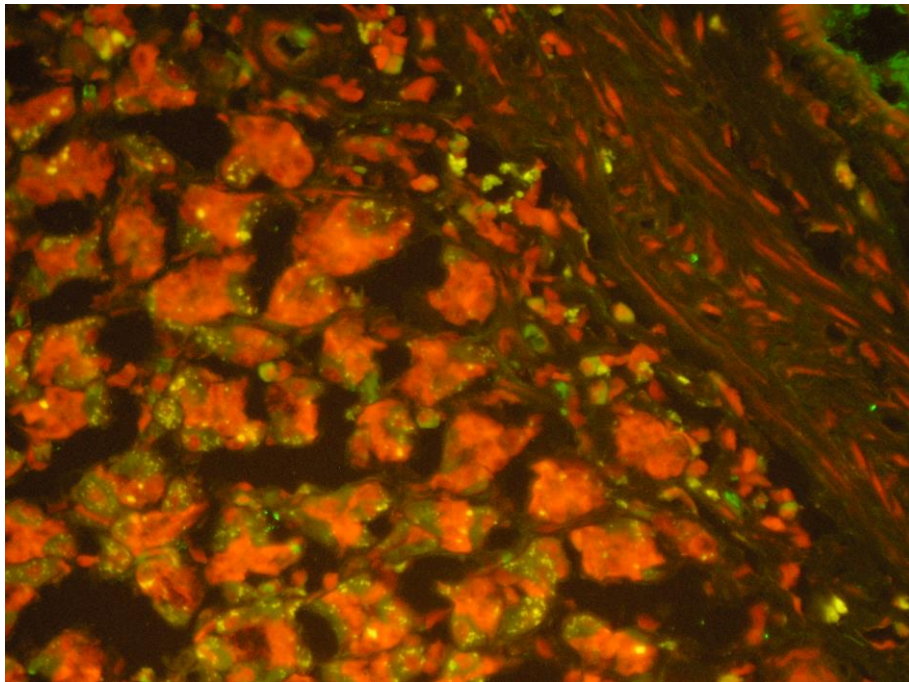


Рисунок 5.4. 3-й тип мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка щура-самця. Зб.×400

У міру збільшення розміру клітини з'являються гранули, що містять мелатонін. Тобто, дозрівння клітини відбувається від дрібних клітин 1-го типу, що розташовані у базальному відділі шлункової залози, до великих клітин з гранулами, які займають її середній відділ.

Під час аналізу серійних зрізів було встановлено, що восени кількість МПМК СОШ нижча за їх кількість взимку в щурів обох статей (рис. 5.5).

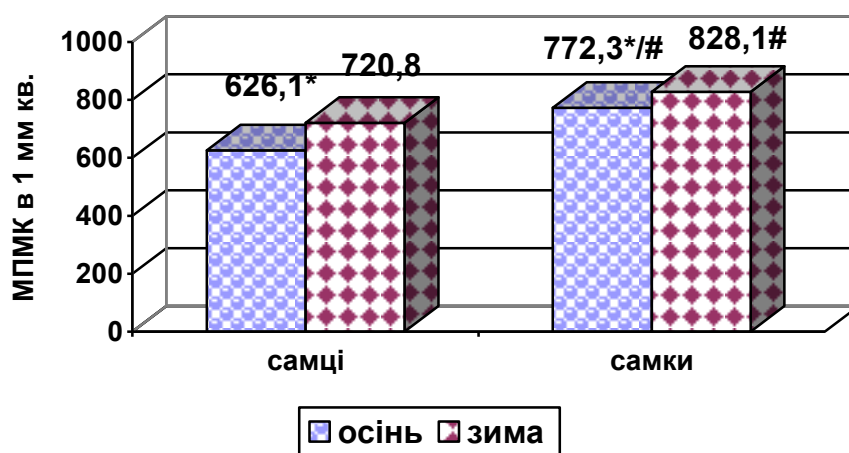


Рисунок 5.5. Кількість МПМК СОШ у щурів різної статі в осінньо-зимовий періоді

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно показників взимку, # $p \leq 0,05$ відносно самців-щурів

Восени кількість МПМК СОШ нижча за їх кількість взимку на 13 % – у самців та на 7 % – у самок ($p \leq 0,05$). Різниця між кількістю МПМК у щурів різної статі була 19 % восени та 13 % взимку ($p \leq 0,05$).

При проведенні аналізу співвідношення кількості різних типів клітин у дослідних зразках встановлено, що більший відсоток МПМК у щурів обох статей у дослідні сезони представлений клітинами 1-го та 2-го типів (рис. 5.6).

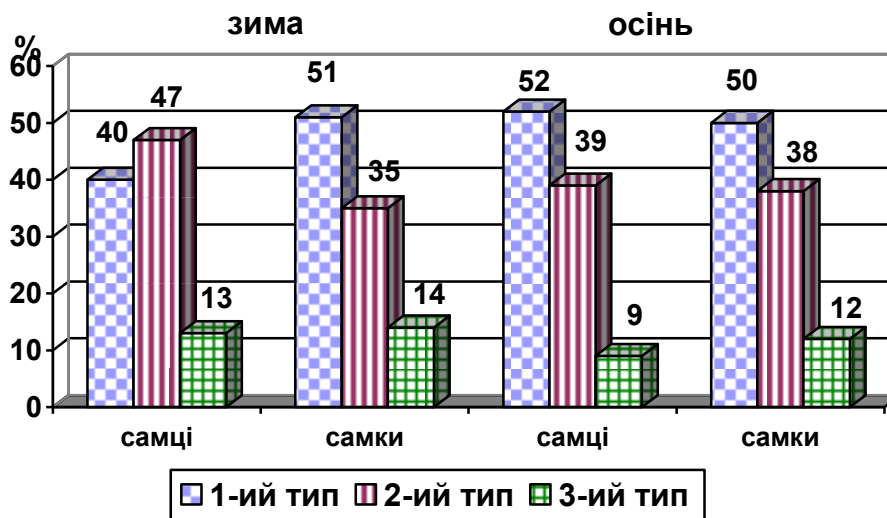


Рисунок 5.6. Процентне співвідношення різних типів МПМК СОШ в осінньо-зимовий період

При цьому у щурів-самок в обидва сезони відсоток МПМК цих двох типів суттєво не змінюється, на відміну від щурів-самців, у яких взимку переважають клітини 2-го типу – на 6 % більше відносно кількості МПМК восени (рис. 5.6). Восени у самців кількість МПМК 1-го типу на 12 % більша відносно показника взимку.

Отримані дані свідчать, що зміни тривалості світлового дня в різні сезони року впливають і на екстрапінеальні джерела синтезу мелатоніну, зокрема в слизовій оболонці шлунка. При цьому більш суттєві зміни відбуваються в слизовій оболонці самців порівняно зі СОШ самок. Наявність клітин, різних за гістологічною будовою, дозволяє припустити різні функції, що виконують МПМК, що потребує подальших досліджень.

5.2. Імуногістохімічне дослідження стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів різного віку та статі на тлі десинхронозу

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 [77, 83, 245]. На сьогодні існує багато морфологічних досліджень стану тканин різних органів під впливом мелатонінодефіциту [6, 21, 48, 77]. Значна частина їх присвячена дослідженню стану СОШ [147, 157, 206] та поодинокі роботи з вивчення ентерохромафінних клітин (ЕС-клітин) СОШ [61]. При цьому немає робіт, де були б представлені дані імуногістохімічного дослідження МПМК СОШ у людини або тварин різного віку та статі в умовах десинхронозу, що і стало метою нашого дослідження.

Дослідні зразки СОШ були забрані із пілоричного відділу у щурів-самців і самок віком 9, 15 та 20 міс, що впродовж 2-х тижнів знаходилися в умовах цілодобового освітлення.

При підрахунку загальної кількості клітин у групах контролю (табл. 5.1) встановлено, що кількість МПМК достовірно знижується як у самців, так і у самок із віком. Кількість МПМК у самців віком 20 міс на 30 % менша, ніж у віці 9 міс, та на 41 % – порівняно з віком 15 міс ($p \leq 0,05$). У самок віком 20 міс кількість МПМК менша в 1,35 та 1,36 раза порівнянно з самками віком 9 та 15 міс відповідно. При цьому загальна кількість МПМК у самок вірогідно більша, ніж у самців: у віці 9 міс – на 13 %, 20 міс – на 17 % ($p \leq 0,05$), 15 міс – на 2 % ($p \geq 0,05$).

При визначенні співвідношення різної кількості клітин у контролі у самців і самок віком 9 та 15 міс переважають клітини 1-го та 2-го типів. У

щурів-самців віком 20 міс 50 % клітин – це клітини 1-го типу. При цьому кількість великих клітин з грануляцією (3-й тип) у старих щурів на 30 % більша відносно до 9 та 15 міс. У щурів-самок у віці 20 міс зберігається високий відсоток клітин 1-го та 2-го типу, і навпаки, знижується кількість МПМК 3-го типу (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

**Кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин на 1 мм² СОШ
у щурів різного віку (M±m)**

Групи	Вік тварин		
	9 міс (n=76)	15 міс (n=69)	20 міс (n=83)
Самці			
1 тип	40 %	27 %	50 %
2 тип	47 %	60 %	7 %
3 тип	13 %	13 %	43 %
Всього клітин	720,8±40,47	856,3±45,19*	507,6±30,28 ^{*/**}
Самки			
	9 міс (n=58)	15 міс (n=62)	20 міс (n=60)
1 тип	51 %	39 %	40 %
2 тип	35 %	41 %	52 %
3 тип	14 %	20 %	8 %
Всього клітин	828,1±30,62	835,5±47,68	613,9±47,96 ^{*/**/#}

Примітка: * $p \leq 0,05$ – відносно самців віком 9 міс; ** $p \leq 0,05$ – відносно самців віком 15 міс; # $p \leq 0,05$ – відносно самок; n – кількість полів зору.

На тлі десинхронозу кількість МПМК вірогідно знижується практично у всіх вікових групах, за винятком самок віком 20 міс (табл. 5.2). У самців у віці 9 та 20 міс загальна кількість МПМК зменшувалася на 30 % та 27 % відповідно, 15 міс – на 36 % відносно контролю ($p \leq 0,05$). У самок кількість МПМК

зменшилася на 22 % та 23 % у вікових групах 9 та 15 міс ($p \leq 0,05$), на 3 % – у самок віком 20 міс ($p \geq 0,05$).

Таблиця 5.2

**Кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин на 1 мм² СОШ
у щурів різного віку та статі на тлі десинхронозу (M±m)**

Групи	Вік тварин		
Самці			
1	2	3	4
	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	508,1±47,27 [^]	550,2±32,25 [^]	368,2±25,11 ^{*/**/^}
Самки			
	9 міс (n=52)	15 міс (n=49)	20 міс (n=45)
1 тип	45 %	38 %	20 %
2 тип	30 %	44 %	34 %
3 тип	25 %	18 %	46 %
Всього клітин	644,2±33,21 ^{^/#}	640,8±36,3 [^]	595,9±29,6 [#]

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; # $p \leq 0,05$ – відносно самців; n – кількість полів зору.

Порівнюючи показники МПМК між тваринами одного віку, але різної статі встановлено, що у самок кількість МПМК, як і в контролі, була вищою ніж у самців: на 21 % – 9 міс, 38 % – 20 міс ($p \leq 0,05$), 14 % – 15 міс ($p \geq 0,05$).

При десинхронозі змінюється співвідношення МПМК у різних вікових і статевих групах. При цьому зменшення кількості клітин у самців відбувається

за рахунок клітин 2-го та 3-го типів – на 36 % і 10 % у віці 9 міс (рис. 5.7) та на 45 % і 4 % у віці 15 міс (рис. 5.8).

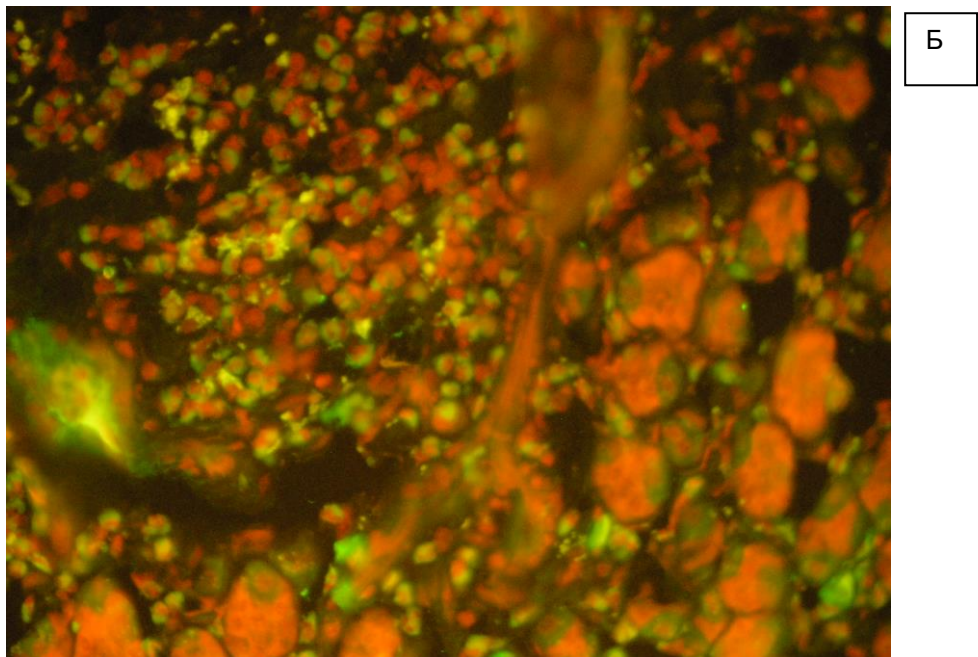
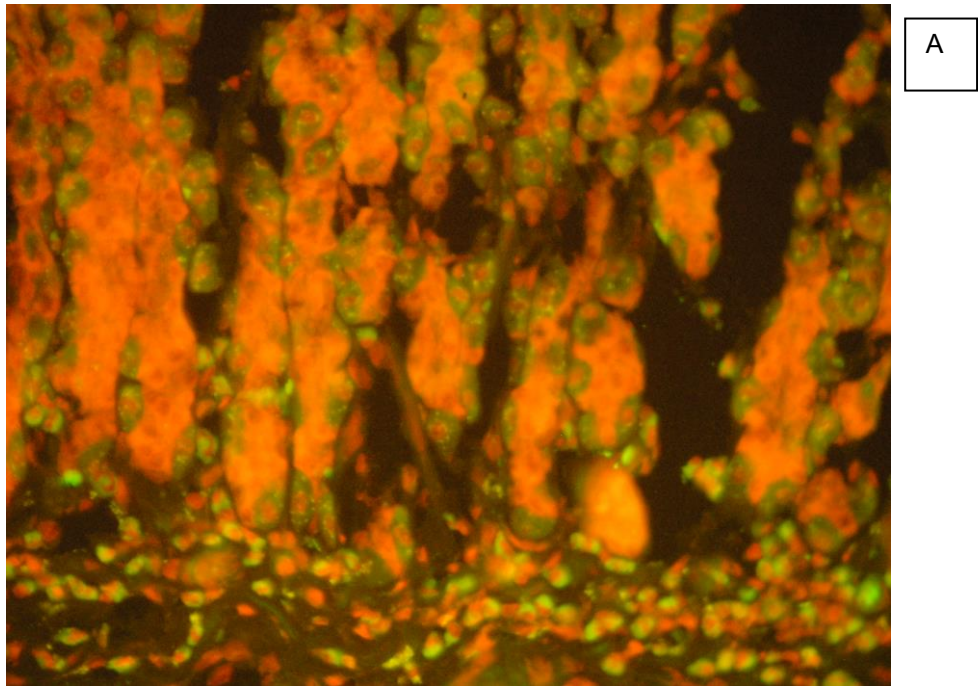


Рисунок 5.7. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у щурів-самців віком 9 міс: А) контроль; Б) десинхроноз 3б.×400

У той же час кількість МПМК 1-го типу в цих вікових групах збільшується на 46 % і 49 % відповідно (рис. 5.7 та 5.8).

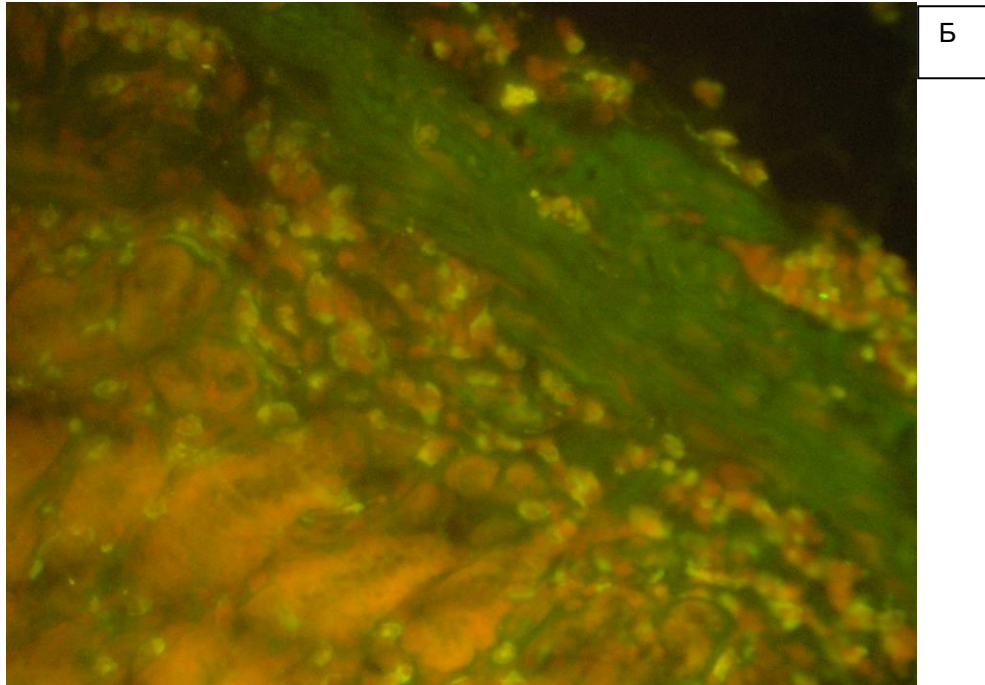
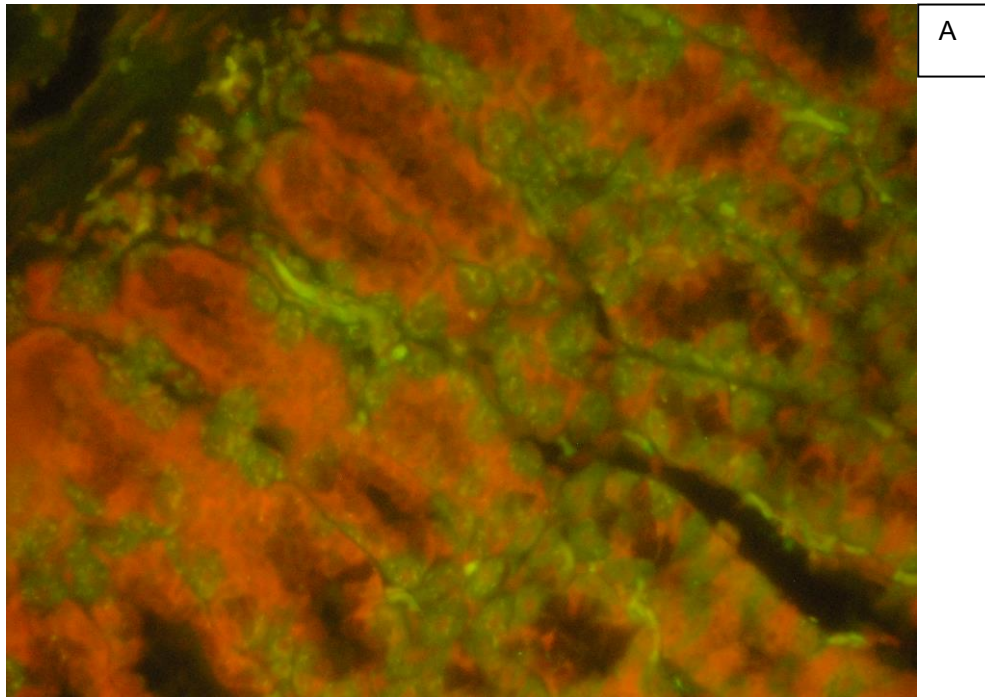


Рисунок 5.8. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у щурів-самців віком 15 міс: А) контроль, Б) десинхроноз. Зб.×400

У самок цих вікових груп подібні зміни не спостерігалися – клітини всіх типів представлені практично у рівних пропорціях без вірогідних коливань (рис. 5.9 та 5.10).

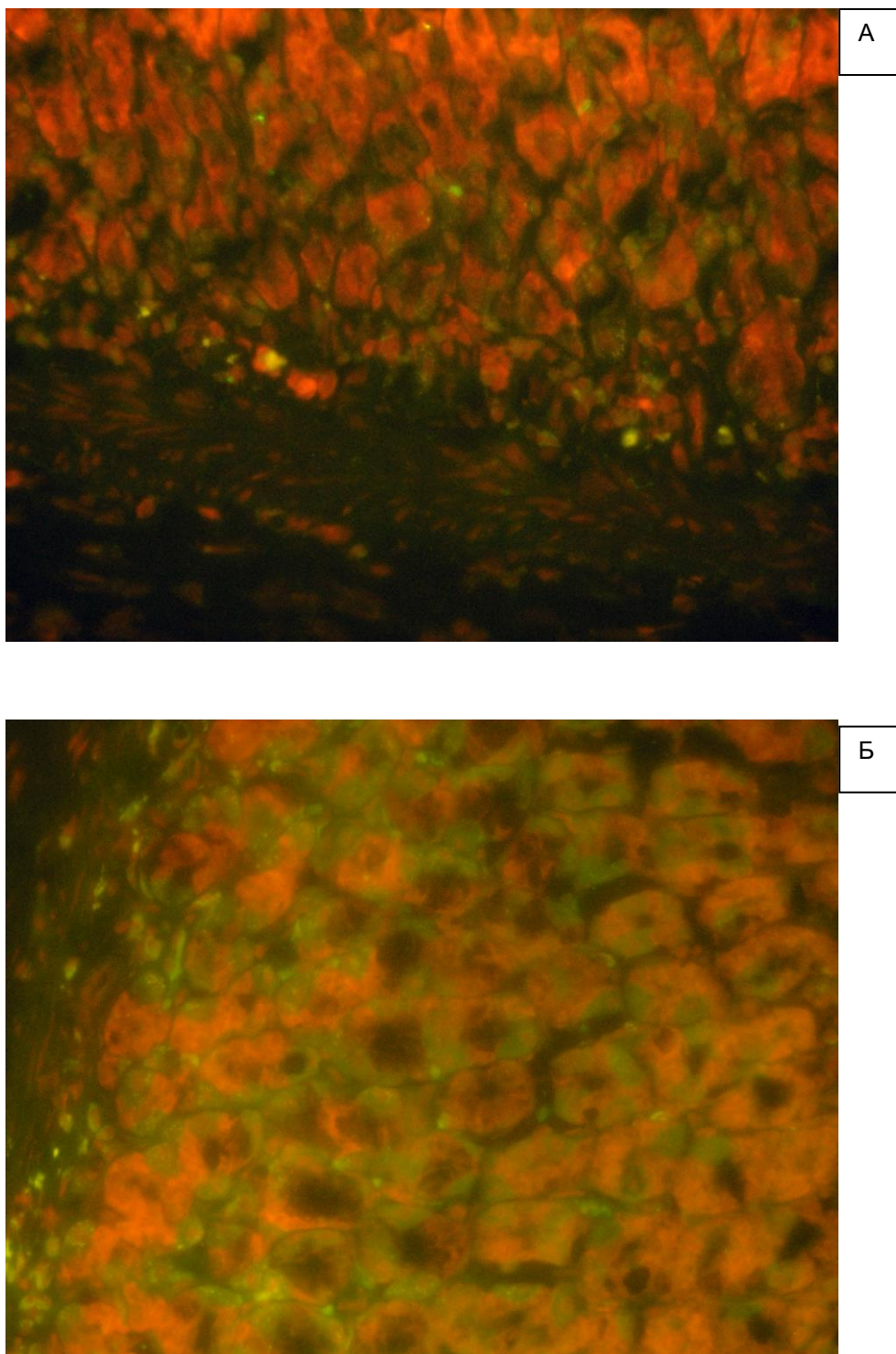


Рисунок 5.9. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у щурів-самок віком 9 міс: А) контроль; Б) десинхроноз. Зб.×400

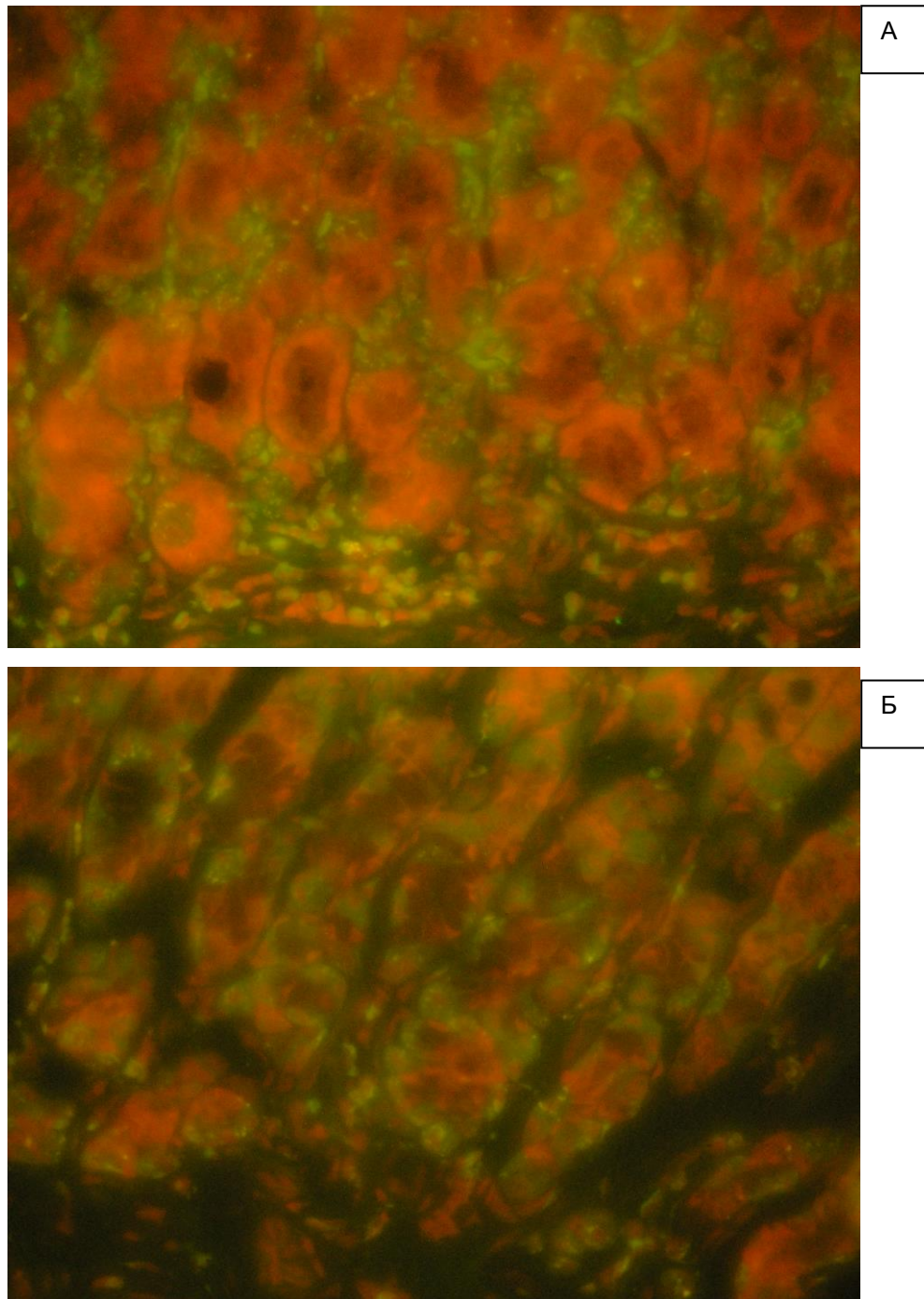


Рисунок 5.10. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у щурів-самок віком 15 міс: А) контроль; Б) десинхроноз. Зб.×400

Відрізняються і співвідношення МПМК СОШ у самців та самок у віці 20 міс з переважанням клітин 1-го та 3-го типів у самців, 2-го та 3-го типів – у самок.

При цьому у самок відбувається вірогідне збільшення клітин 3-го типу на 34 % (рис. 5.11).

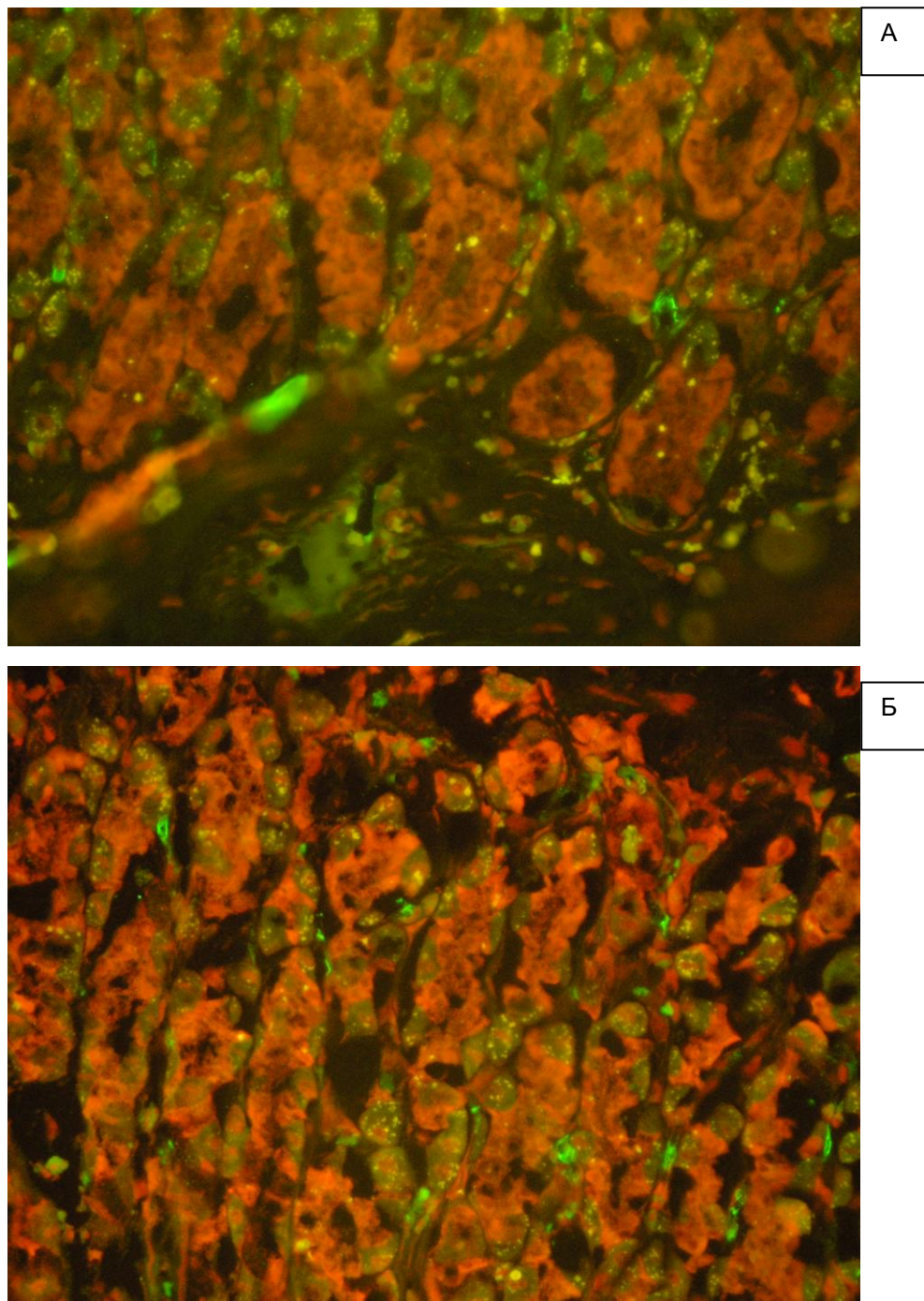


Рисунок 5.11. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у щурів віком 20 міс при десинхронозі: А) самці; Б) самки. Зб.×400

Таким чином, порушення фізіологічних біоритмів на тлі десинхронозу призвело до зменшення кількості МПМК у щурів різної статі та всіх вікових груп. При цьому найбільше зниження відбулося в групах самців віком 9 і 15 міс за рахунок зменшення кількості клітин 3-го типу та збільшення клітин 1-го типу.

5.3. Визначення кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка

Як відомо, вміст мелатоніну в організмі пов'язаний не тільки з продукцією в пінеалоцитах, але і з екстрапінеальними джерелами його синтезу. Мелатонін-продукуючі клітини СОШ належать до основних джерел секреції екстрапінеального мелатоніну. Але взаємозв'язок між кількістю МТ-продукуючих клітин та станом слизової оболонки шлунка не вивчався, що і стало метою наступного етапу нашої роботи.

Дослідження виконане на щурах різної статі віком 9, 15 та 20 міс, яким моделювали виразкове ураження шлунка введенням спирто-преднізолонової суміші. Забір зразків слизової оболонки проводили із пілоричного відділу шлунка. При вивченні зрізів СОШ близько 10 % (39 зрізів із 402) не підлягали аналізу у зв'язку з присутністю наявного запального процесу, який проявлявся порушенням будови слизової оболонки та набряком (рис. 5.12).

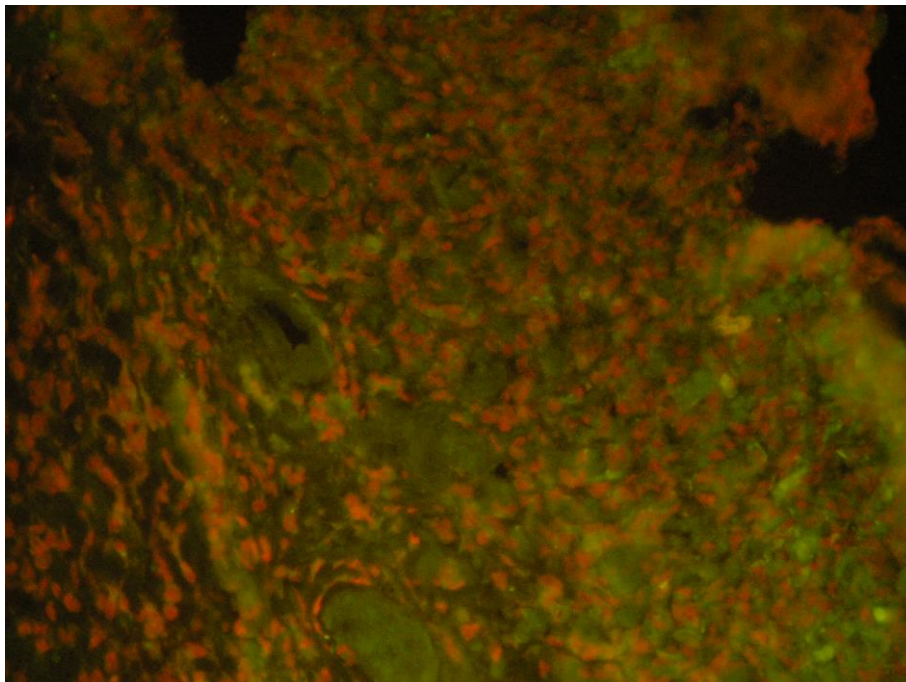


Рисунок 5.12. Слизова оболонка шлунка щура при виразковому ураженні.
36.×200

При підрахунку загальної кількості МПМК встановлено, що їх кількість в СОШ при виразковому ураженні знижується в усіх експериментальних групах (рис. 5.13 та 5.14). При цьому достовірні відмінності між кількістю клітин у тварин різного віку відсутні.

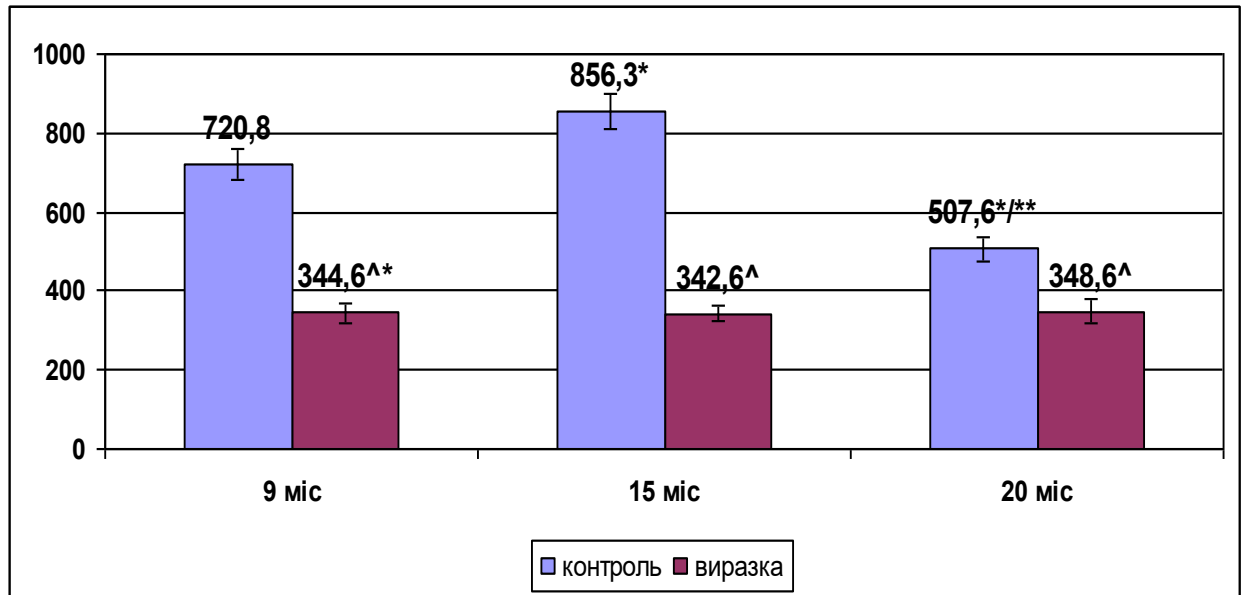


Рисунок 5.13. Кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка щурів-самців різного віку з виразковим ураженням шлунка

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

Відносно контролю найбільше зниження спостерігається у самців віком 9 та 15 міс – на 52 та 60 % відповідно ($p \leq 0,05$) (рис. 5.13).

У самок зниження кількості МПМК у цих вікових групах відносно контролю становило 35 % – у віці 9 міс, 34 % – у віці 15 міс ($p \leq 0,05$).

Привертає увагу те, що у щурів віком 20 міс зниження МПМК найменше в порівнянні з іншими віковими групами та складає відносно контролю 31 % у самців та 23 % – у самок ($p \leq 0,05$).

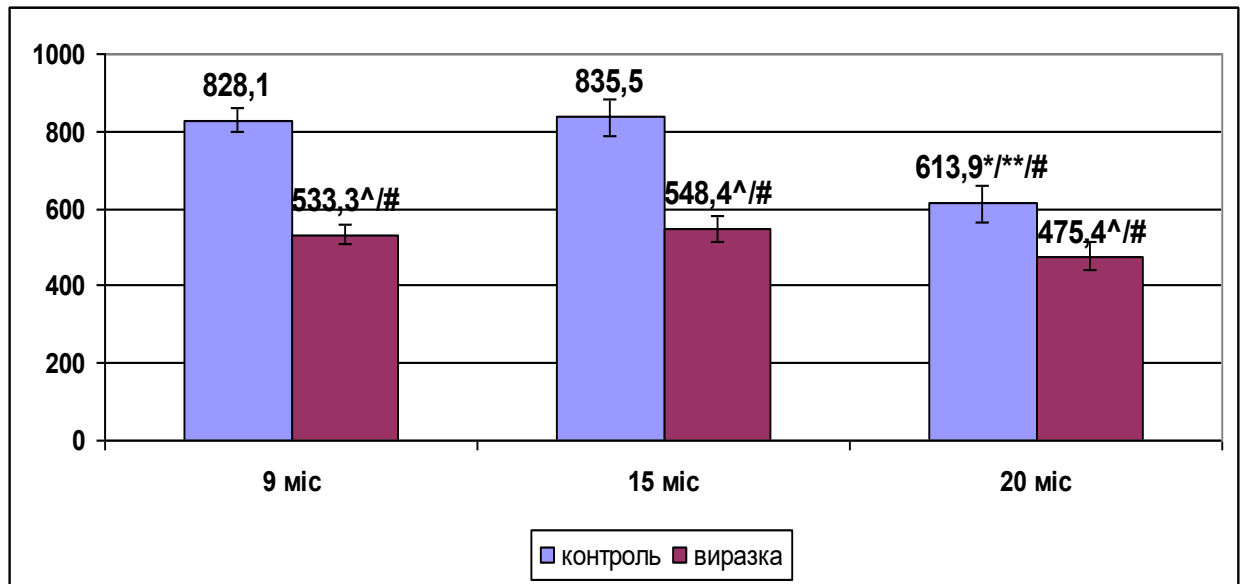


Рисунок 5.14. Кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка щурів-самок різного віку з виразковим ураженням шлунка

Примітка: * $p \leq 0,05$ – відносно самок віком 9 міс; ** $p \leq 0,05$ – відносно самок віком 15 міс; [^] $p \leq 0,05$ – відносно групи контролю; # $p \leq 0,05$ – відносно самців

На фоні зниження загальної кількості МПМК у СОШ при виразковому ураженні шлунка відбуваються і зміни в співвідношенні різних типів клітин (табл. 5.3) та їх морфологічної будови.

Таблиця 5.3

Співвідношення різних типів МПМК СОШ у щурів різного віку та статі з експериментальною виразкою шлунка

Умови досліджу	Вік/тип клітин (%)								
	9 міс			15 міс			20 міс		
	1-й	2-й	3-й	1-й	2-й	3-й	1-й	2-й	3-й
	Самці								
Інтактний контроль	40	47	13	27	60	13	50	7	43
Експериментальна	52	48	0	100	0	0	49	41	10
	Самки								
Інтактний контроль	51	35	14	39	41	20	40	52	8
Експериментальна	52	39	9	44	40	16	45	48	7

Так, у самців віком 9 міс з виразковим ураженням шлунка у порівнянні з інтактним контролем відповідного віку в досліджених зрізах відсутні клітини 3-го типу, а переважають клітини 1-го типу, які мають у 1,5–2 рази менші розміри (рис. 5.15).

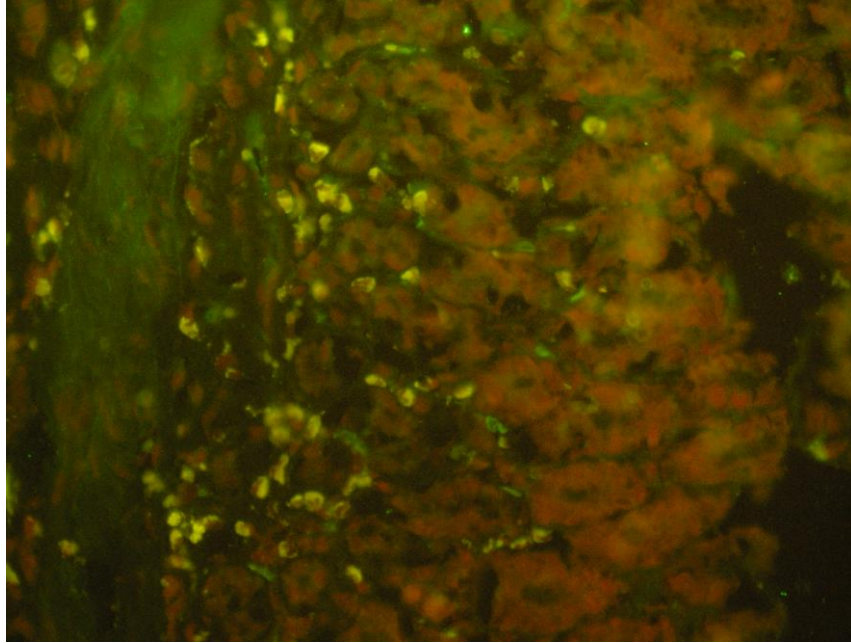


Рисунок 5.15. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у самця віком 9 міс з виразковим ураженням шлунка. Зб.×400

У самців віком 15 міс МПМК на 100 % представлені тільки клітинами 1-го типу (рис. 5.16).

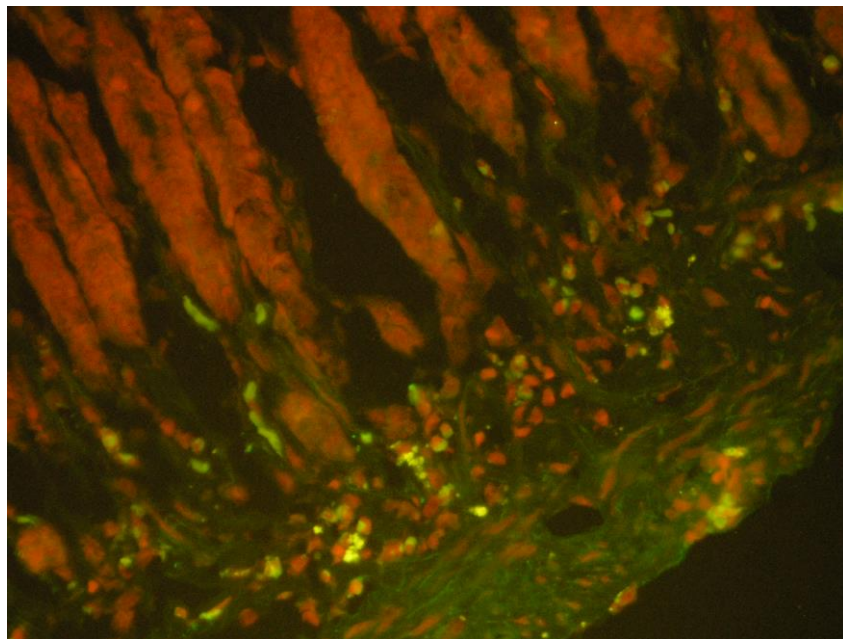


Рисунок 5.16. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у самця віком 15 міс з виразковим ураженням шлунка. Зб.×200

У самців 20 міс на фоні збереження всіх типів клітин переважають клітини 1-го та 2-го типу (рис. 5.17).

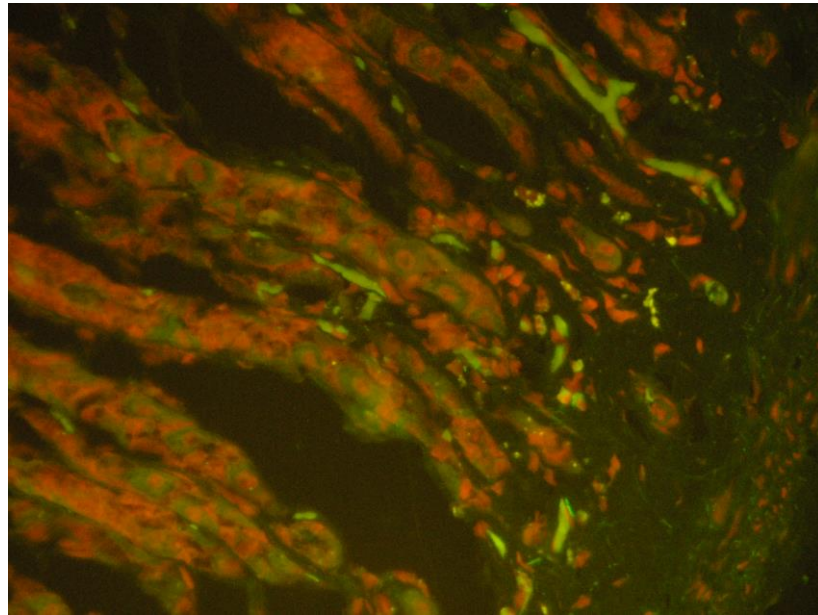


Рисунок 5.17. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у самця віком 20 міс з виразковим ураженням шлунка. Зб.×400

У самок усіх вікових груп значних змін у співвідношенні клітин не спостерігається.

Порівнюючи кількість МПМК у щурів різної статі встановлено, що у щурів-самців при виразковому ураженні СОШ кількість клітин достовірно нижча порівняно до МПМК у щурів-самок всіх вікових груп: в 1,5 раза – в віці 9 міс (рис. 5.18), в 1,6 раза – в щурів віком 15 міс (рис. 5.19) та в 1,4 раза (рис. 5.20) у віці 20 міс ($p \leq 0,05$).

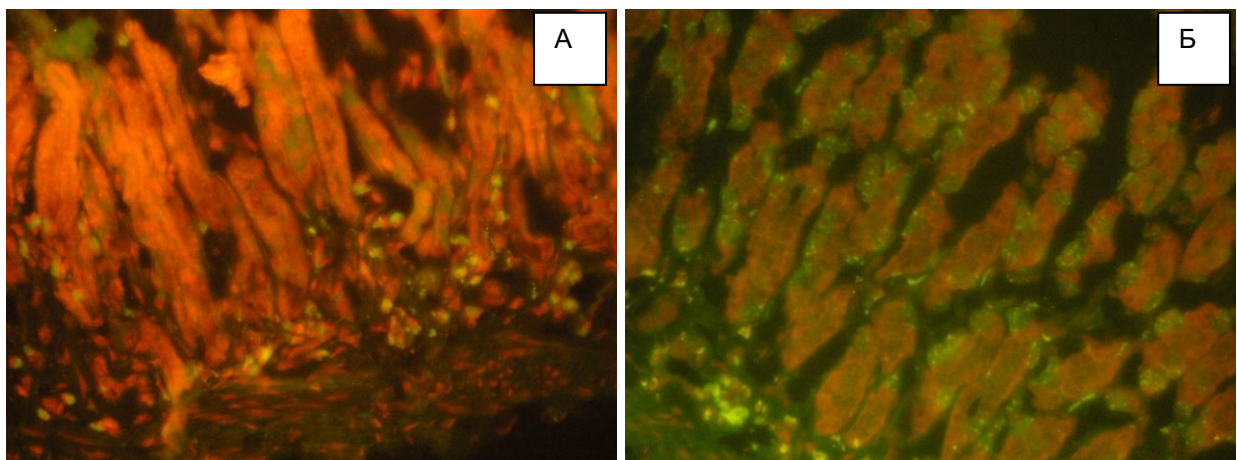


Рисунок 5.18. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у щурів віком 9 міс при виразковому ураженні: А) самці, Б) самки. Зб.×400

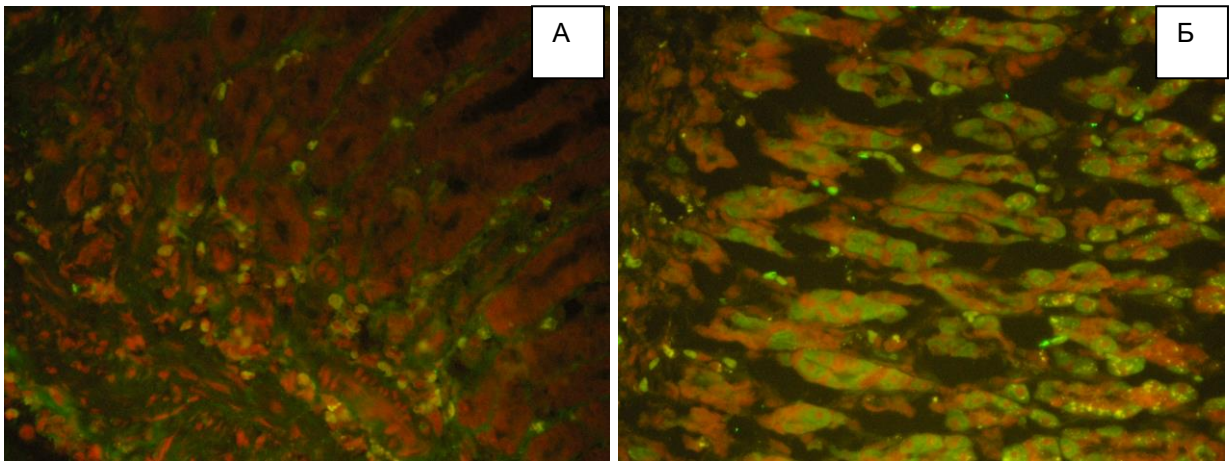


Рисунок 5.19. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у щурів віком 15 міс при виразковому ураженні: А) самці, Б) самки. Зб.×400

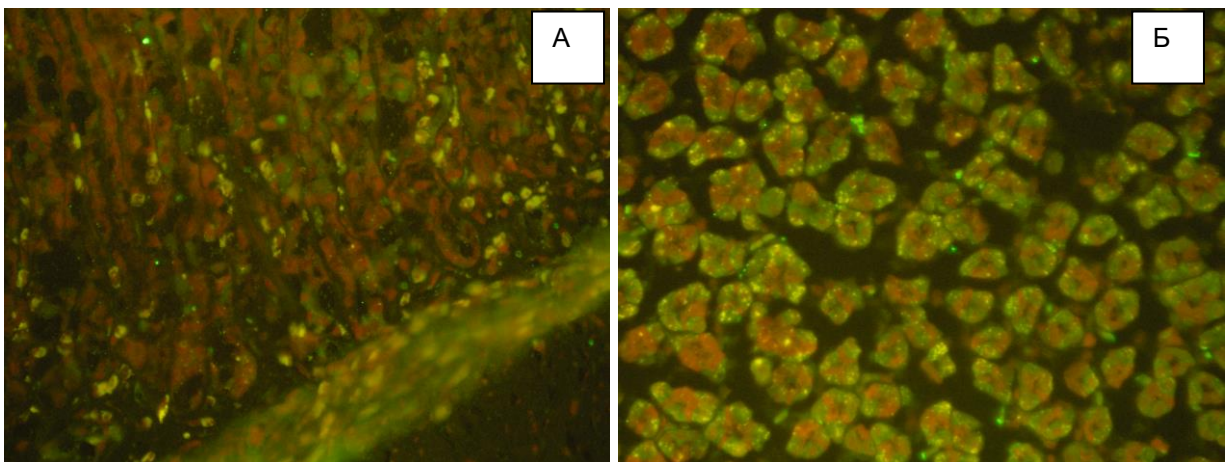


Рисунок 5.20. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка у щурів віком 20 міс при виразковому ураженні: А) самці, Б) самки. Зб.×400

Таким чином, у ході проведеного дослідження були отримані результати, що свідчать про морфологічні зміни, які відбуваються в нейроендокринній системі СОШ на фоні виразкового ураження, а саме – зміни кількості та морфологічної будови МПМК СОШ. Зниження кількості МПМК в усіх експериментальних групах свідчить про запальні та деструктивні процеси, які розвиваються в СОШ при виразковому ураженні.

5.4. Дослідження мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка при світловому десинхронозі та виразці шлунка

Вплив світла в нічний час став суттєвою частиною сучасного способу життя, що супроводжується безліччю серйозних розладів поведінки та стану здоров'я, включаючи розвиток серцево-судинних і онкологічних захворювань, захворювань шлунково-кишкового тракту, нервової системи та ін. Порушення освітлення призводить до неузгодженості фізіологічних біоритмів секреції епіфізарного мелатоніну та розвитку зовнішнього десинхронозу [268]. Одним із таких захворювань, в патогенезі якого важливу роль відіграє дефіцит мелатоніну, є виразкова хвороба. При цьому відомості про дослідження морфофункціонального стану ентерохромафінних клітин, які продукують мелатонін при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу у тварин або людей різного віку в сучасній науковій літературі відсутні. Тому наступним етапом нашого дослідження стало вивчення кількості МПМК СОШ у щурів різного віку та статі з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу.

Щури віком 3, 9 та 15 міс упродовж 2-х тижнів знаходилися в умовах цілодобового освітлення. На 15-ту добу експерименту моделювали виразкове ураження шлунка шляхом введення спирто-преднізолонової суміші внутрішньошлунково. Забір зразків СОШ із пілоричного відділу проводили на 3-ю добу після відтворення виразки (18-та доба експерименту).

При дослідженні МПМК СОШ у тварин з виразковим ураженням на тлі десинхронозу вивчення клітин було проведене у 130 зразках із 234. У 104-х зразках підрахунок здійснити було неможливо у зв'язку з наявним запальним процесом, набряком ворсин та деструктивними змінами, що спостерігалися (рис. 5.21).

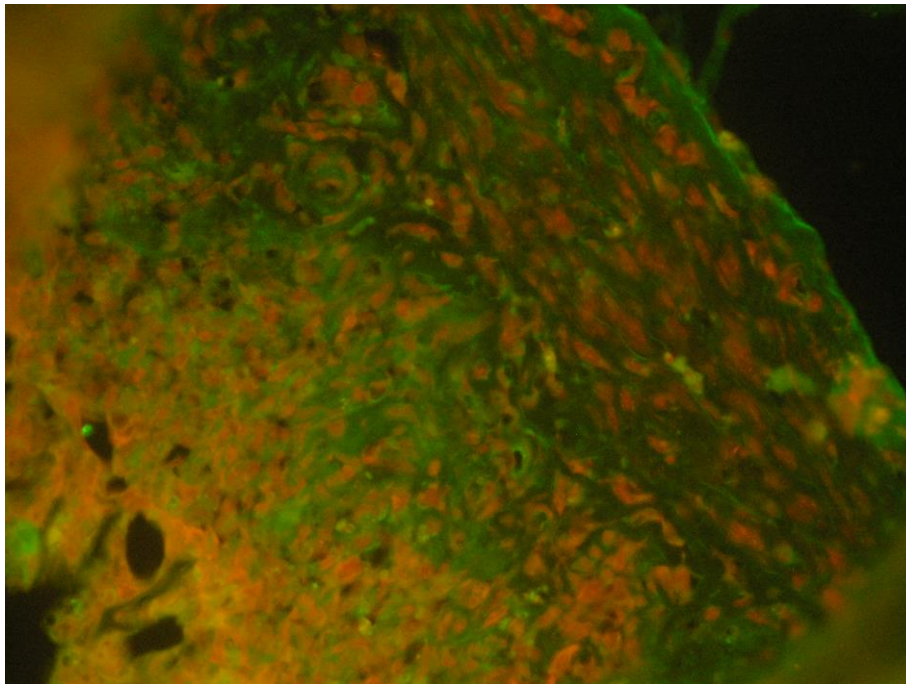


Рисунок 5.21. Слизова оболонка шлунка щура-самця при виразковому ураженні на тлі десинхронозу. Зб.×200

При підрахунку клітин визначено, що загальна кількість МПМК у щурів з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу достовірно нижча у тварин обох статей та всіх вікових груп порівняно з інтактним контролем (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Загальна кількість МПМК на 1 мм² СОШ у щурів різного віку та статі з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу (M±m)

Умови експерименту	Вік		
	9 міс.	15 міс.	20 міс
1	2	3	4
Самці			
Інтактний контроль	720,8±40,47 n=76	856,3±45,19* n=69	507,6±30,28*/** n=83
Виразкове ураження на тлі десинхронозу	278,8±21,06^ n=44	314,9±33,34^ n=28	339,2±31,53^ n=58

1	2	3	4
Самки			
Інтактний контроль	828,1±30,62 n=58	835,5±47,68 n=62	613,9±47,96 ^{*/**/#} n=60
Виразкове ураження на тлі десинхронозу	428,5±38,16 ^{^/#} n=52	448,9±33,91 ^{^/#} n=50	417,3±25,31 ^{^/#} n=54

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; [#] $p \leq 0,05$ – відносно самців; n – кількість полів зору.

При виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу кількість МПМК суттєво зменшилася у щурів-самців віком 9 та 15 міс – в 2,6 та 2,7 раза відповідно відносно групи контролю ($p \leq 0,05$). Також значно зменшилась кількість МПМК відносно контрольних тварин у щурів-самок в 1,9 раза у віці 9 та 15 міс ($p \leq 0,05$). При цьому, як у самців, так і у самок віком 20 міс кількість МПМК знизилася в 1,5 раза ($p \leq 0,05$).

Найменша кількість МПМК встановлена у щурів-самців віком 9 міс та щурів-самок 20 міс. У щурів-самців кількість МПМК у віці 9 міс нижча на 11 %, ніж у самців віком 15 міс та на 18 % відносно самців віком 20 міс ($p \geq 0,05$). У щурів-самок віком 20 міс кількість МПМК менша відносно тварин віком 9 міс на 3 % та на 7 % відносно самок віком 15 міс ($p \geq 0,05$).

При аналізі морфологічної картини в зразках СОШ інтактних щурів-самців МПМК представлені всіма видами клітин із переважанням 1-го та 2-го типів, за винятком самців віком 20 міс, де спостерігали переважно 1-й та 3-й типи МПМК (рис. 5.22).

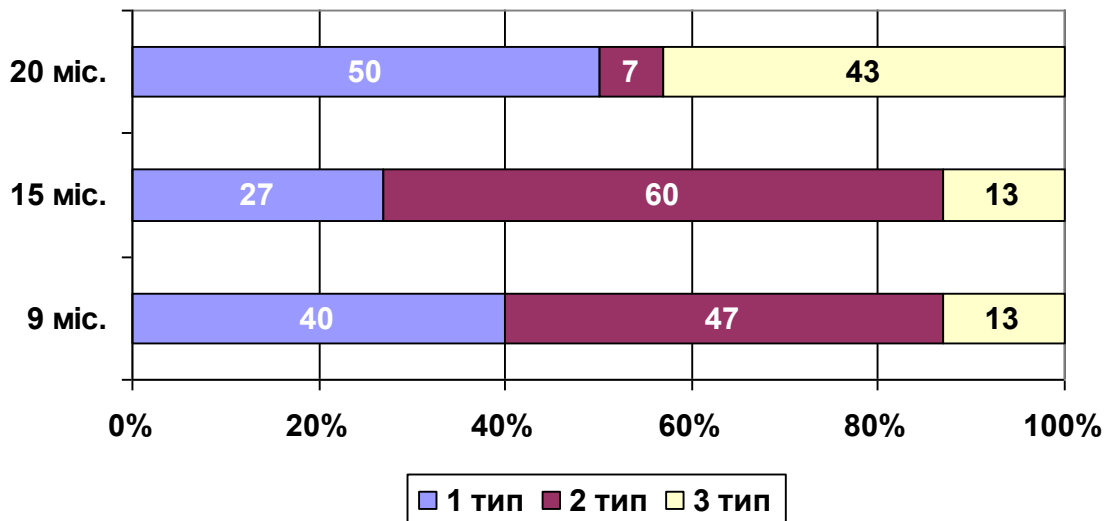


Рисунок 5.22. Співвідношення різних типів мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка інтактних щурів-самців різного віку

При вивченні співвідношення різних типів клітин у досліджених зразках самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу встановлено, що у тварин віком 9 та 15 міс клітини 3-го типу зовсім відсутні (рис. 5.23), а переважають клітини 1-го типу – 75–100% відповідно (рис. 5.24). У самців віком 20 міс відбулося зниження клітин 1-го типу на 18 % та підвищення 3-го типу на 6 % відносно інтактного контролю.

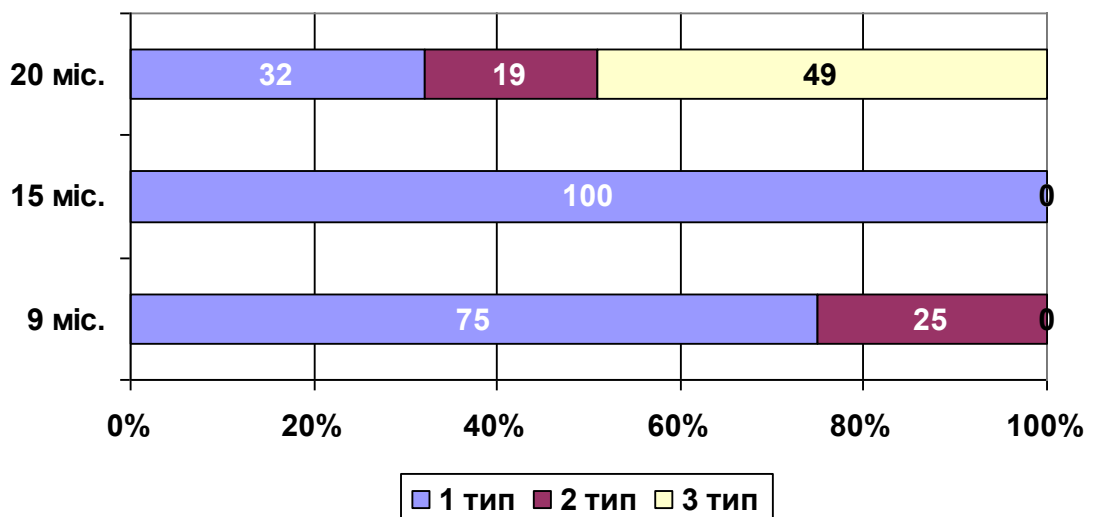


Рисунок 5.23. Співвідношення різних типів мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів-самців різного віку з виразковим ураженням на тлі десинхронозу

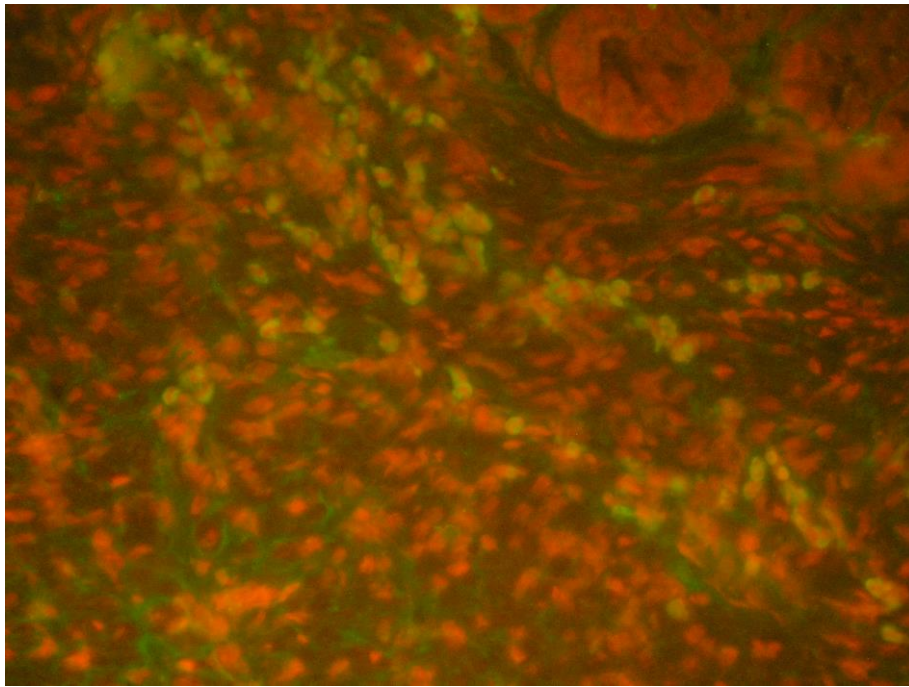


Рисунок 5.24. Слизова оболонка шлунка самця віком 15 міс при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу. Зб.×400

На відміну від самців, у щурів-самок інтактного контролю МПМК у СОШ представлені переважно 1-м та 2-м типом клітин в усіх вікових групах (рис. 5.25).

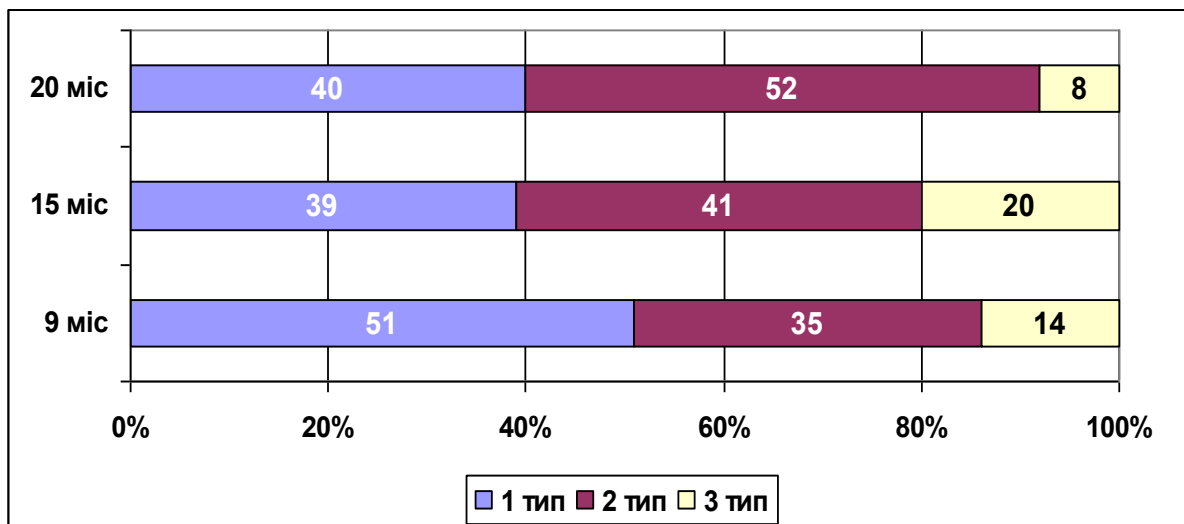


Рисунок 5.25. Співвідношення різних типів мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка інтактних щурів-самок різного віку

При виразковому ураженні на тлі десинхронозу співвідношення МПМК у самок 9 міс не змінювалося. У щурів-самок у віці 15 міс кількість МПМК 1-го

типу збільшується на 10 % відносно контролю, а 3-го типу – знижується на 8 % (рис. 5.26).

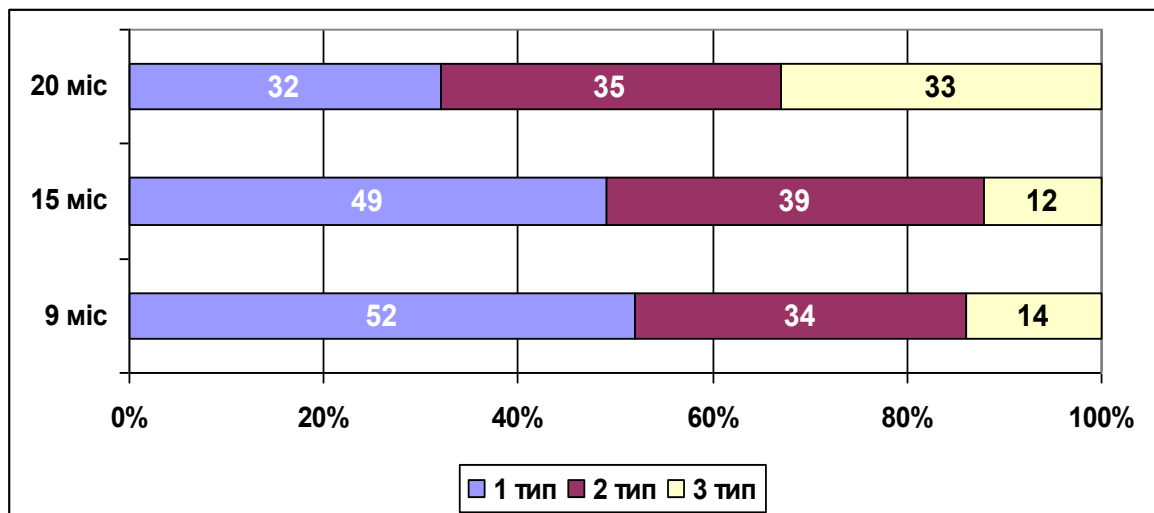


Рисунок 5.26. Співвідношення різних типів мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів-самок різного віку з виразковим ураженням на тлі десинхронозу

Суттєві зміни спостерігалися у старих самок віком 20 міс: перерозподіл кількості МПМК в бік клітин 3-го типу та підвищення їх на 25 % відносно контролю (рис. 5.26, 5.27).

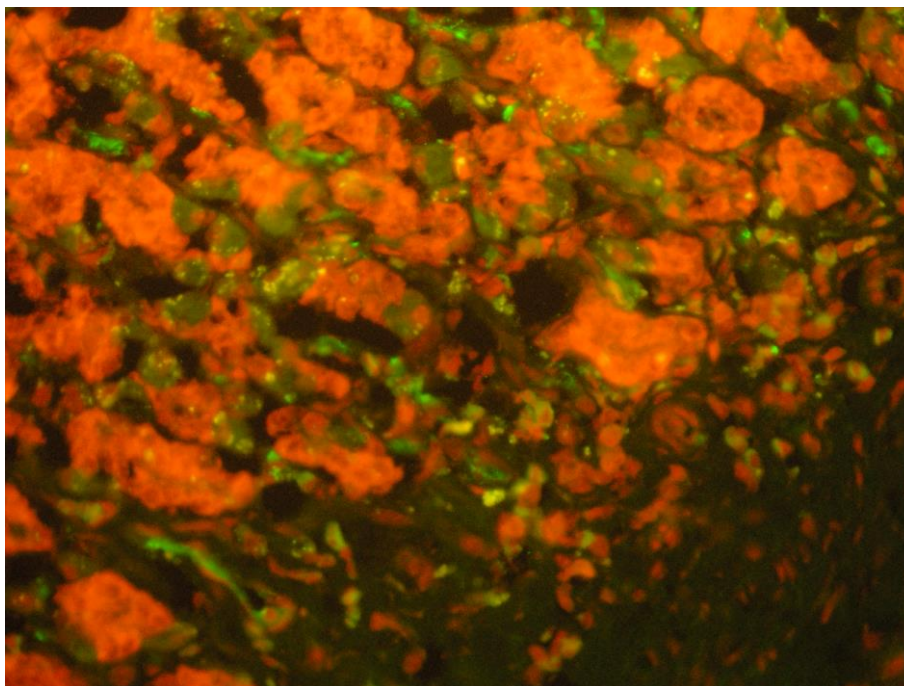


Рисунок 5.27. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка самки віком 20 міс при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу.
36.×400

Порівнюючи показники МПМК у самців та самок встановлено, що у самців загальна кількість МПМК менша відносно самок на 35 % у віці 9 міс, на 30 % – у віці 15 міс та на 19 % – у віці 20 міс ($p \leq 0,05$). Значні відмінності були виявлені у співвідношенні різних типів клітин: якщо у самок у зразках зберігаються всі типи клітин (рис. 5.26), то у самців у віці 9 та 15 міс переважають клітини 1-го та 2-го типів (рис. 5.23).

5.5. Порівняльна характеристика вмісту мелатонін-позитивно-мічених клітин у різних відділах шлунка при різних патологічних станах

Згідно з даними літератури ЕС-клітини є головним місцем синтезу мелатоніну в ШКТ [26]. На сьогодні існує багато наукових праць, де розглядаються зміни стану СОШ та ЕС-клітин при різних патологічних станах [60, 61, 128] та поодинокі, де визначають розподіл ЕС-клітин та МПМК в різних відділах шлунка [76]. При цьому дані щодо локалізації МПМК суперечливі. Одні автори вважають, що ці клітини переважно знаходяться у фундальному відділі шлунка, інші – у пілоричному [77, 94]. Тому наступним етапом нашого дослідження було вивчення кількості та стану МПМК у різних відділах шлунка при різних патологічних станах.

Дослідження виконане на щурах-самцях віком 15 міс, що були розподілені на 4 групи: 1-ща – інтактний контроль – щури, що впродовж 2-х тижнів знаходилися в умовах природного освітлення; 2-га – щури, що знаходилися впродовж 2-х тижнів в умовах цілодобового освітлення; 3-тя – щури, яким після 2-х тижнів перебування в умовах природного дослідження на 15-ту добу вводили спирто-преднізолонову суміш; 4-та – щури, яким після 2-х тижнів цілодобового освітлення, на 15-ту добу вводили спирто-преднізолонову суміш. Забір зразків для дослідження проводили із пілоричного та фундального відділів шлунка у тварин 1-ї та 2-ї групи – на 15-ту добу досліду, у щурів 3-ї та

4-ї групи – на 18-ту добу.

Установлено, що у щурів групи інтактного контролю кількість МПМК у фундальному відділі (рис. 5.28) на 15 % перевищувала кількість МПМК у пілоричному відділі ($p \leq 0,05$) (табл. 5.5).

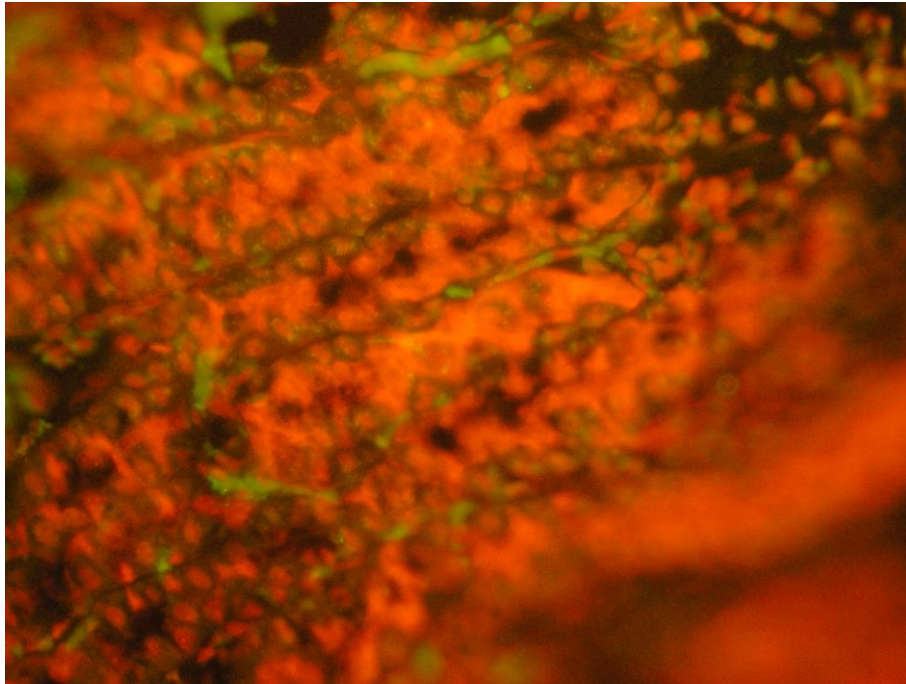


Рисунок 5.28. Мелатонін-позитивно-мічені клітини фундального відділу щура віком 15 міс (інтактний контроль). 3б.×200

На тлі десинхронозу відбувається достовірне зниження МПМК в обох відділах шлунка: на 35 % – у фундальному та на 36 % – у пілоричному відносно контролю ($p \leq 0,05$) (табл. 5.5). При цьому кількість МПМК у фундальному відділі залишалася достовірно вищою, ніж у пілоричному на 17 %.

Виразкове пошкодження СОШ призвело до зниження кількості МПМК у фундальному відділі в 2,3 раза відносно контролю та в 1,5 раза стосовно щурів з десинхронозом ($p \leq 0,05$) (табл. 5.5). У пілоричному відділі виразкове ураження СОШ викликало зниження кількості МПМК в 2,5 та 1,6 раза відповідно ($p \leq 0,05$). Кількість МПМК у пілоричному відділі була нижчою на 18 % відносно фундального у щурів з виразковим ураженням ($p \geq 0,05$).

Кількість МПМК на 1 мм² СОШ у щурів у різних відділах шлунка при різних патологічних станах (M±m)

Експериментальні групи	Відділ шлунка	
	Фундальний	Пілоричний
Інтактний контроль	987,9±39,68 n=76	856,3±45,19* n=69
Десинхроноз	641,2±25,27 [^] n=72	550,2±32,25* ^{/^} n=106
Виразкове ураження	415,6±38,06 ^{^/#} n=45	342,6±19,85 ^{^/#} n=68
Виразкове ураження на тлі десинхронозу	330,3±25,36 ^{^/#} n=67	314,9±33,34 ^{^/#} n=28

Примітка: * $p \leq 0,05$ – відносно фундального відділу; [^] $p \leq 0,05$ – відносно інтактного контролю; # $p \leq 0,05$ – відносно десинхронозу; n – кількість дослідних зразків

Одночасний вплив на різні джерела синтезу мелатоніну викликав значні зміни в кількості МПМК як фундального, так і пілоричного відділів: зниження в 3 та 2,7 раза відповідно відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$), в 1,9 та 1,7 раза відповідно відносно щурів з десинхронозом ($p \leq 0,05$) та в 1,3 та 1,1 раза відповідно відносно щурів з виразковим ураженням ($p \geq 0,05$). Кількістю МПМК у фундальному відділі при виразковому ураженні на тлі десинхронозу була більша на 5 % ($p \geq 0,05$) відносно пілоричного (табл. 5.5).

Аналіз співвідношення різних типів МПМК у зразках СОШ показав, що при різних патологічних станах у фундальному відділі завжди залишалось майже незмінне співвідношення різних типів клітин. У той час як у співвідношенні різних типів МПМК пілоричного відділу відбувалися значні зміни.

Так, у щурів інтактного контролю в фундальному відділі кількість

МПМК 1-го типу була на 33 % більша їх кількості в пілоричному відділі, і навпаки, МПМК 2-го типу переважали у пілоричному відділі на 31 %, ніж у фундальному. Відсоток МПМК 3-го типу був майже однаковим (рис. 5.29).

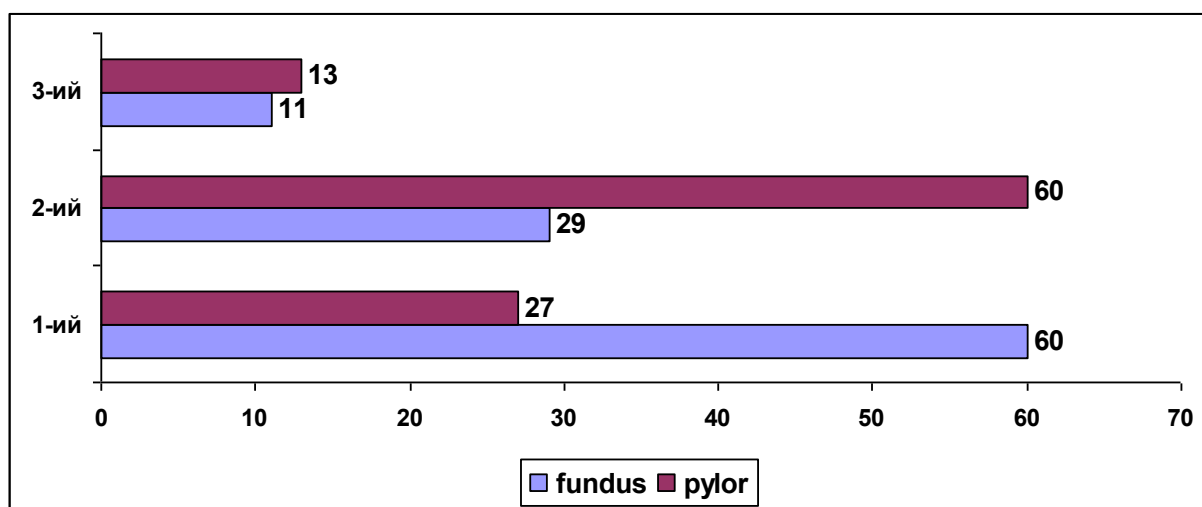


Рисунок 5.29. Кількість (%) мелатонін-позитивно-мічених клітин у слизовій оболонці різних відділів шлунка інтактних щурів

На тлі десинхронозу у фундальному відділі (рис. 5.30) збільшилася кількість клітин 1-го типу – на 3 % та 3-го типу – на 5 % порівняно з інтактним контролем.

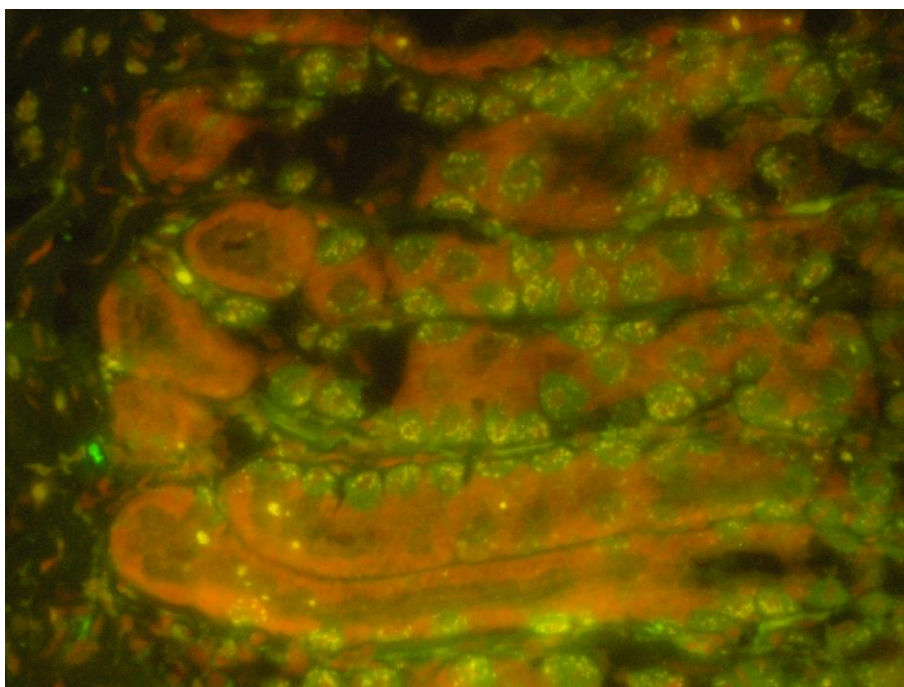


Рисунок 5.30. Мелатонін-позитивно-мічені клітини фундального відділу у щура віком 15 міс при десинхронозі. 36.×400

У пілоричному відділі (рис. 5.31) порушення секреції пінеального мелатоніну при десинхронозі викликало зміни у співвідношенні різних типів клітин порівняно з інтактним контролем: кількість МПМК 1-го типу збільшилася на 49 %, у той час як МПМК 2-го та 3-го типів знизилися на 45 та 4 % відповідно (рис. 5.32).

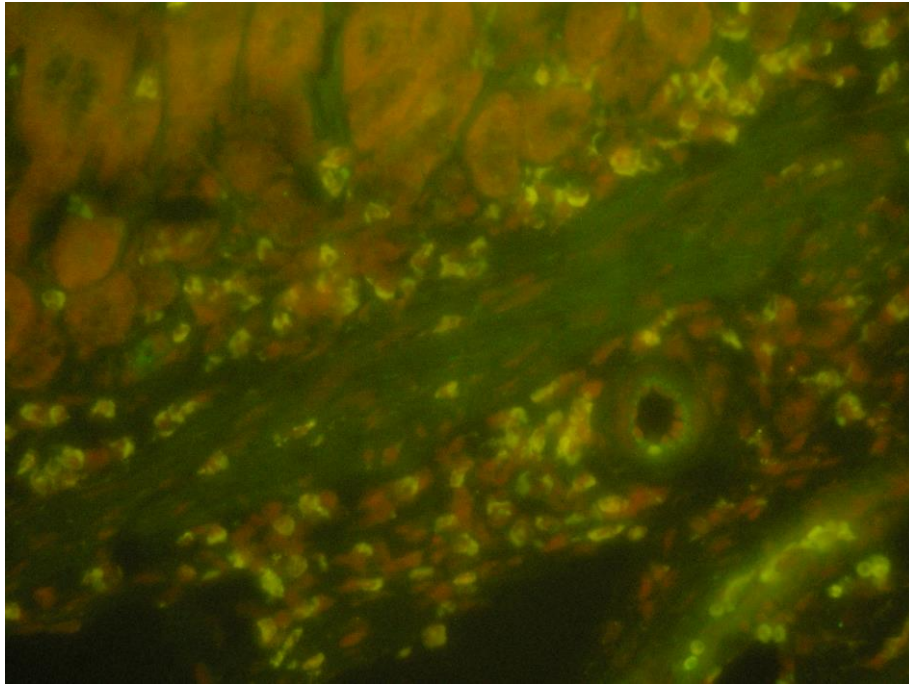


Рисунок 5.31. Мелатонін-позитивно-мічені клітини пілоричного відділу у щура віком 15 міс при десинхронозі. 36.×400

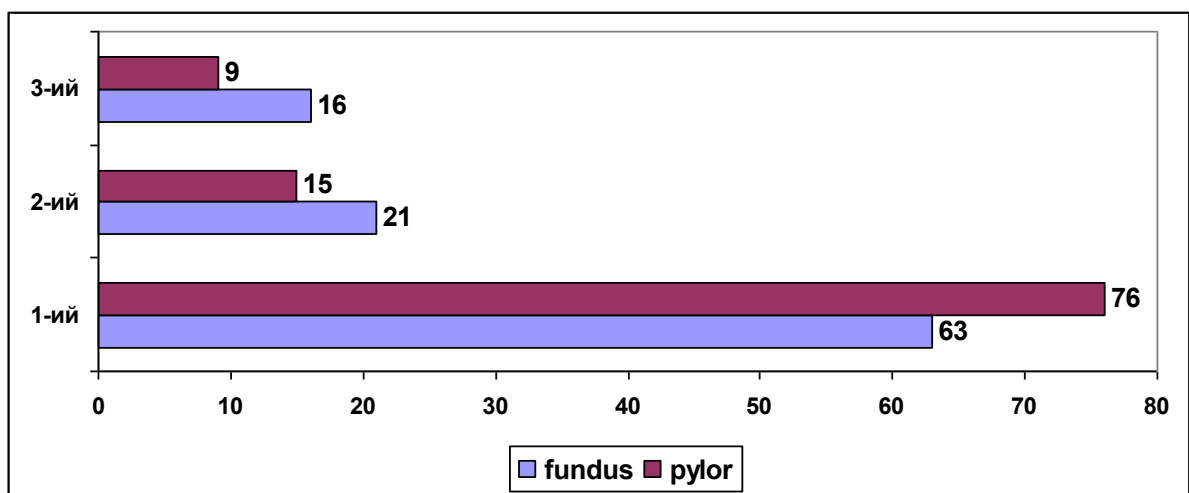


Рисунок 5.32. Кількість (%) мелатонін-позитивно-мічених клітин у слизовій оболонці різних відділів шлунка на тлі десинхронозу

Виразкове ураження СОШ призвело до зникнення клітин 2-го та 3-го типів у пілоричному відділі. У фундальному відділі (рис. 5.33) кількість МПМК 3-го типу знизилась на 4 %, а клітин 1-го типу – підвищились на 6 % відносно інтактного контролю (рис. 5.34).

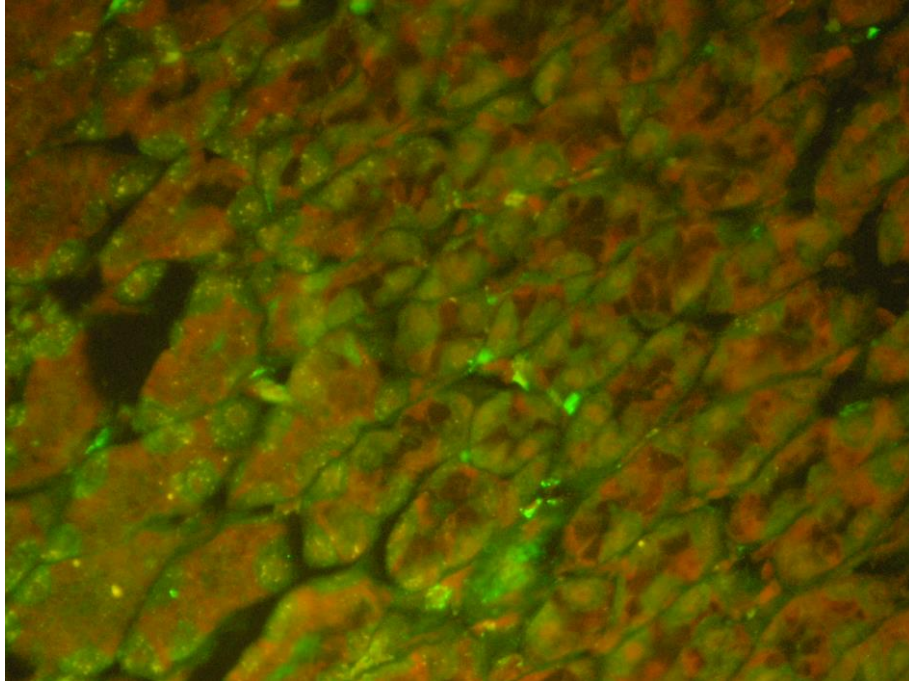


Рисунок 5.33. Мелатонін-позитивно-мічені клітини фундального відділу у щура віком 15 міс при виразковому ураженні шлунка. 3б.×400

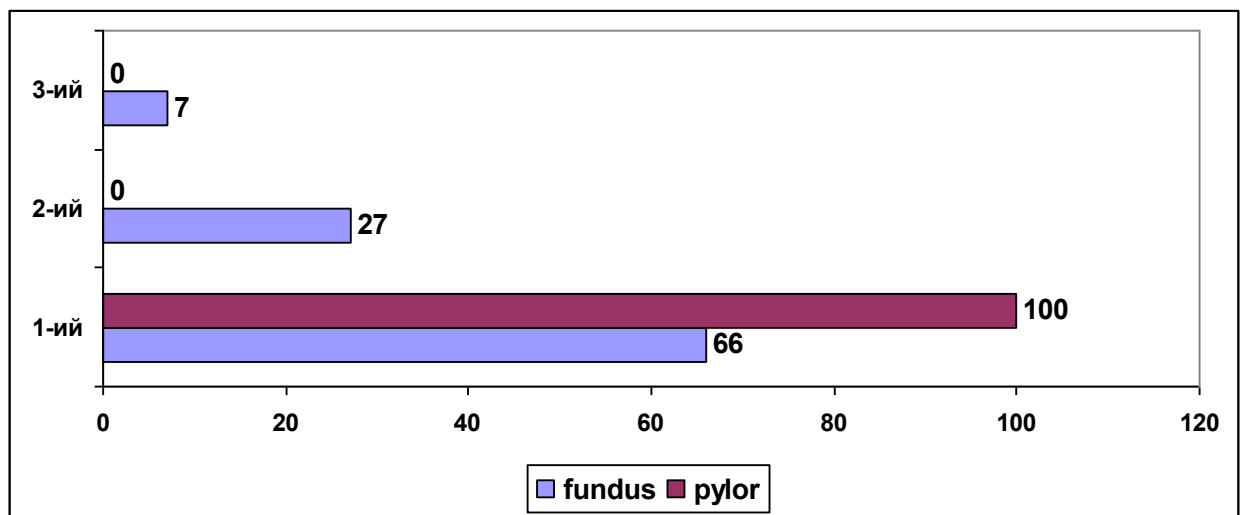


Рисунок 5.34. Кількість (%) мелатонін-позитивно-мічених клітин у слизовій оболонці різних відділів шлунка при виразковому ураженні

При виразковому ураженні СОШ на тлі десинхронозу у пілоричному відділі МПМК представлені тільки клітинами 1-го типу (рис. 5.35).

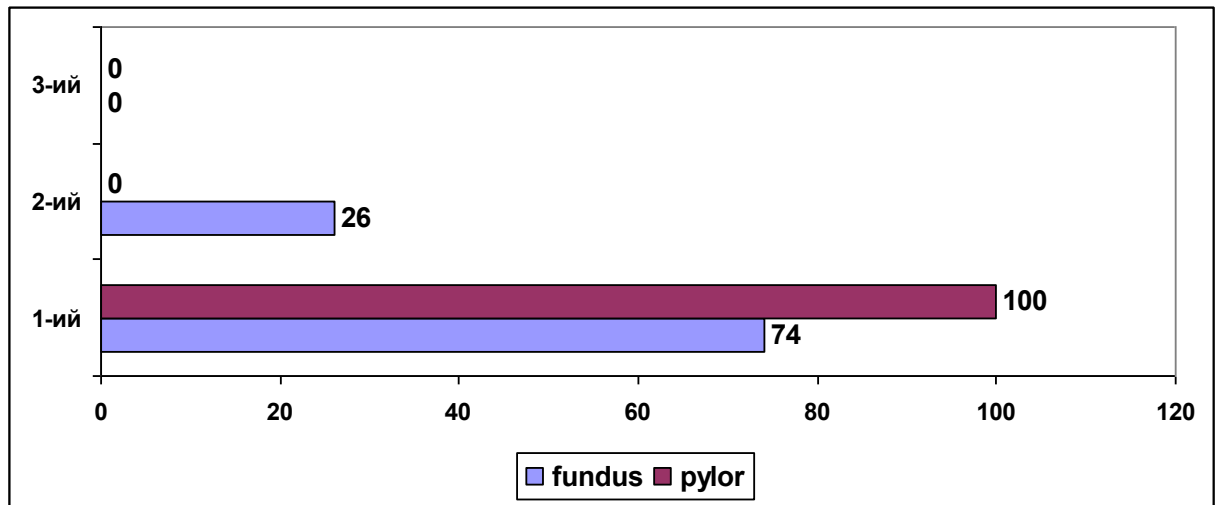


Рисунок 5.35. Кількість (%) мелатонін-позитивно-мічених клітин у слизовій оболонці різних відділів шлунка при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу

У фундальному відділі кількість МПМК 1-го типу – 74 % та відсутність клітин 3-го типу (рис. 5.36).

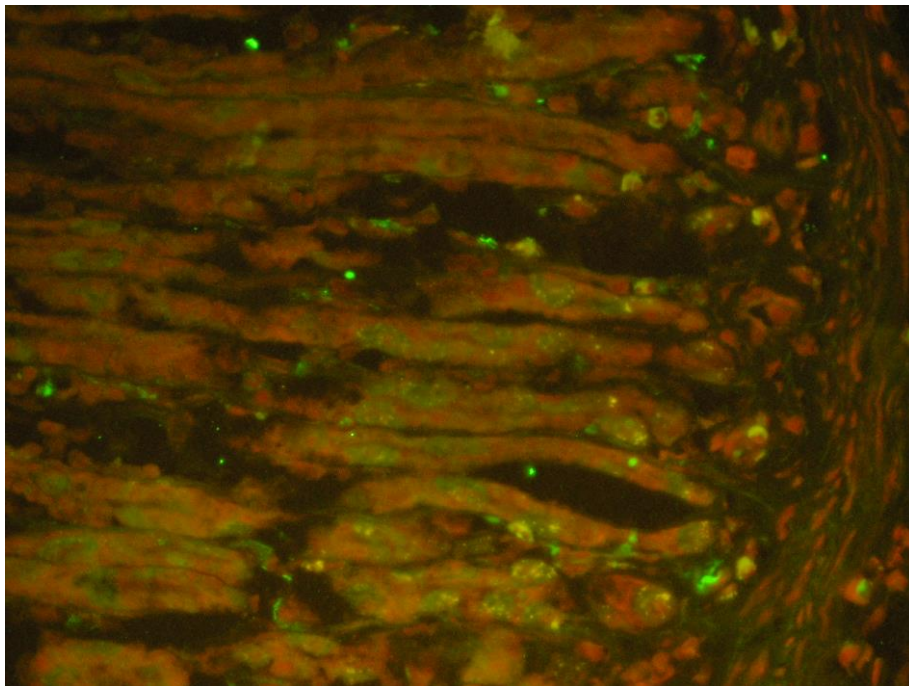


Рисунок 5.36. Мелатонін-позитивно-мічені клітини фундального відділу у щура віком 15 міс при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу. 3б.×400

Таким чином, встановлено, що кількість МПМК у фундальному відділі достовірно більша, ніж кількість МПМК у пілоричному відділі в нормі та при десинхронозі, хоча десинхроноз викликає достовірне зниження кількості МПМК у обох відділах шлунка відносно інтактного контролю.

Виразкове ураження СОШ як окремо, так і на тлі десинхронозу призводить до достовірного зниження кількості МПМК як у фундальному, так і пілоричному відділах відносно контролю, без достовірної різниці між їх кількістю в різних відділах.

Суттєві зміни у співвідношенні різних типів МПМК у різних відділах шлунка відбулися в пілоричному відділі при виразкових ураженнях, коли у зразках були встановлені тільки МПМК 1-го типу. При цьому, у фундальному відділі тільки при виразковому ураженні на тлі десинхронозу зникають клітини 3-го типу. При всіх інших станах розподіл достатньо сталий: переважають клітини 1-го типу, потім за чисельністю представлений 2-й тип і найменше – 3-го типу.

Отримані дані дозволяють пояснити причину більшого ураження саме пілоричного відділу шлунка при ВХ.

5.6. Гістологічне та морфометричне дослідження слизової оболонки шлунка щурів після пінеалектомії

Широке розповсюдження мелатонін-продукуючих клітин в організмі, значний спектр біологічної активності мелатоніну, та особливо його головна властивість універсального регулятора біологічних ритмів, дозволяє припустити, що екстрапінеальний мелатонін відіграє ключову роль як паракринна сигнальна молекула [19, 100]. При цьому існують поодинокі роботи, у яких досліджені зміни в ШКТ після пінеалектомії [74]. Тому наступним етапом нашого дослідження було визначення стану СОШ у різних

відділах при пінеалектомії.

Дослідження виконано на щурах-самцях віком 3 міс через 30 днів після пінеалектомії.

У тварин контрольної групи при забарвленні гематоксилін-еозином на поверхні слизової оболонки шлунка спостерігаються ямки, глибина яких у пілоричному відділі більша, ніж у фундальному. Ямки слизової оболонки як фундального, так і пілоричного відділу вислані циліндричним епітелієм та мають однорідний вигляд, при цьому залози, що розташовані в них, різняться в залежності від локалізації. Залози, що розташовані в пілоричному відділі, більш короткі, ніж залози фундального. Окрім епітелоцитів у досліджуваних відділах шлунка при забарвленні за методом Грімеліуса виявляються ендокринні клітини (апудоцити), які розташовані в нижніх відділах фундальних та пілоричних залоз. Згідно з морфометричним аналізом апудоцитів слизової оболонки шлунка їх загальна кількість на 1 мм² у фундальному відділі на 21 % вища, ніж у пілоричному ($p \leq 0,05$) (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Морфометричний стан слизової оболонки шлунка щурів після пінеалектомії ($M \pm m$, $n=10$)

Дослідні групи	Відділи шлунка			
	фундальний		пілоричний	
	апудоцити	МПК	апудоцити	МПК
Інтактні щури (контроль)	151±4,7	300±10,7	125±7,7**	245±9,6**
Щури з пінеалектомією	224±7,4*	418±9,6*	180±4,0*/**	331±12,8*/**

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контролю, ** – $p < 0,05$ відносно фундального відділу.

При проведенні світлооптичного дослідження слизової оболонки у тварин з пінеалектомією змін гістологічної будови фундального та пілоричного

відділів шлунка на препаратах, забарвлених гематоксилін-еозином не спостерігалось. Однак кількість апудоцитів як у фундальному, так і у пілоричному відділах зросла майже на 48 % та 44 % відповідно в порівнянні з інтактними щурами (табл. 5.6).

При імуногістохімічному дослідженні слизової оболонки шлунка інтактних тварин виявлено, що кількість МТ-продукуючих клітин у фундальному відділі дещо перевищує кількість МПМК пілоричного відділу. Після пінеалектомії їх кількість збільшується як у пілоричному, так і в фундальному відділах на 39 % та 35 % відповідно ($p \leq 0,05$) (табл. 5.6).

При цьому відбуваються зміни і у співвідношенні різних типів клітин. Так, у щурів інтактного контролю як у фундальному відділі, так і пілоричному переважно були представлені МПМК 1-го та 2-го типів, з більш високою кількістю МПМК 3-го типу в фундальному відділі відносно пілоричного (рис. 5.37).

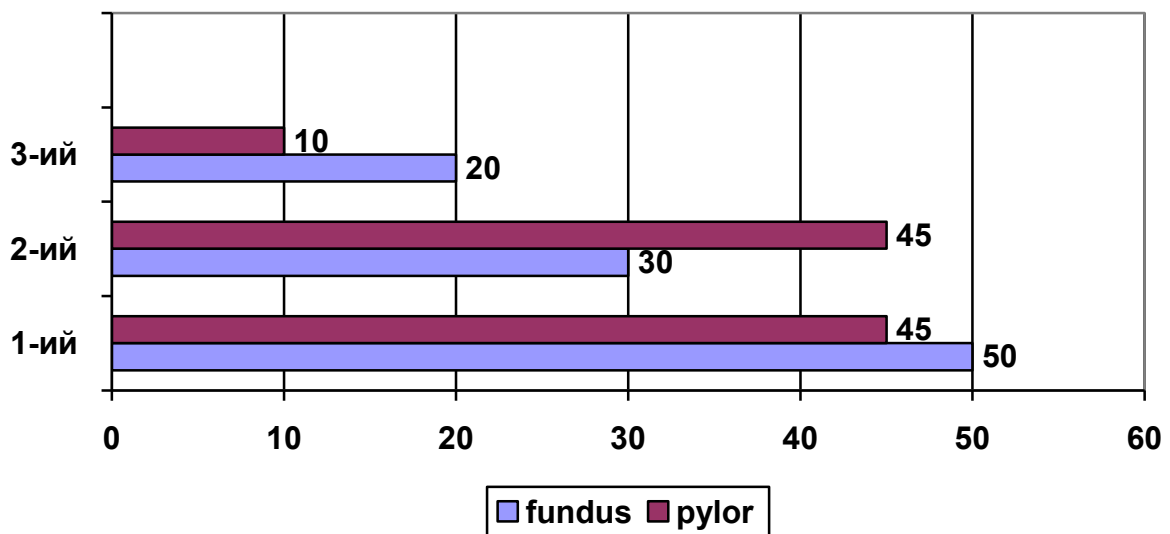


Рисунок 5.37. Кількість (%) мелатонін-позитивно-мічених клітин у слизовій оболонці різних відділів шлунка інтактних щурів

Пінеалектомія призводить до збільшення кількості МПМК 3-го типу як у фундальному відділі (рис. 5.38), так і пілоричному (рис. 5.39) на 2 % та 10 % відповідно (рис. 5.40)

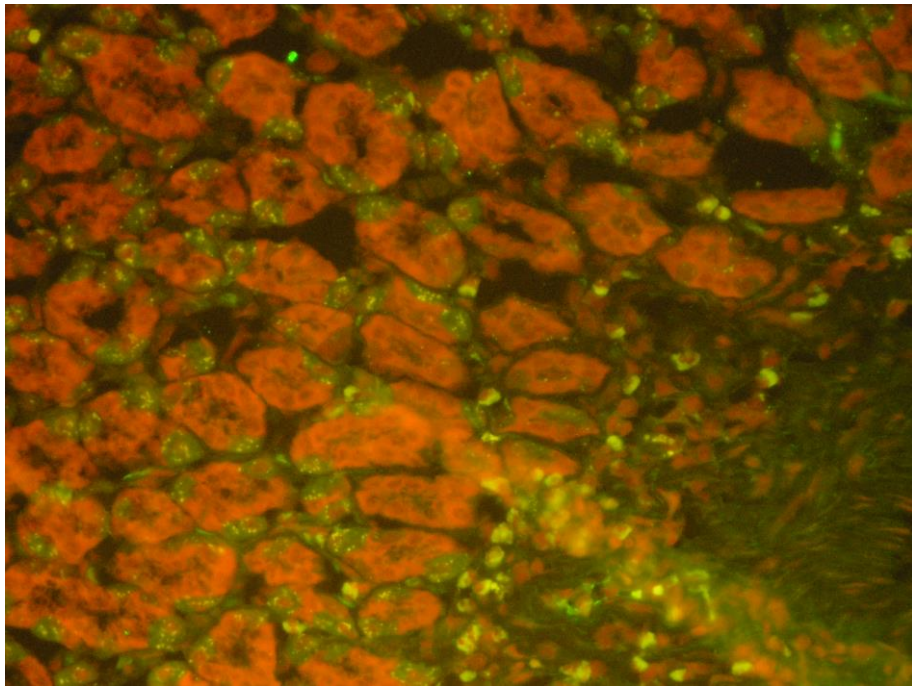


Рисунок 5.38. Мелатонін-позитивно-мічені клітини фундального відділу у щура віком 3 міс при пінеалектомії. 3б.×400

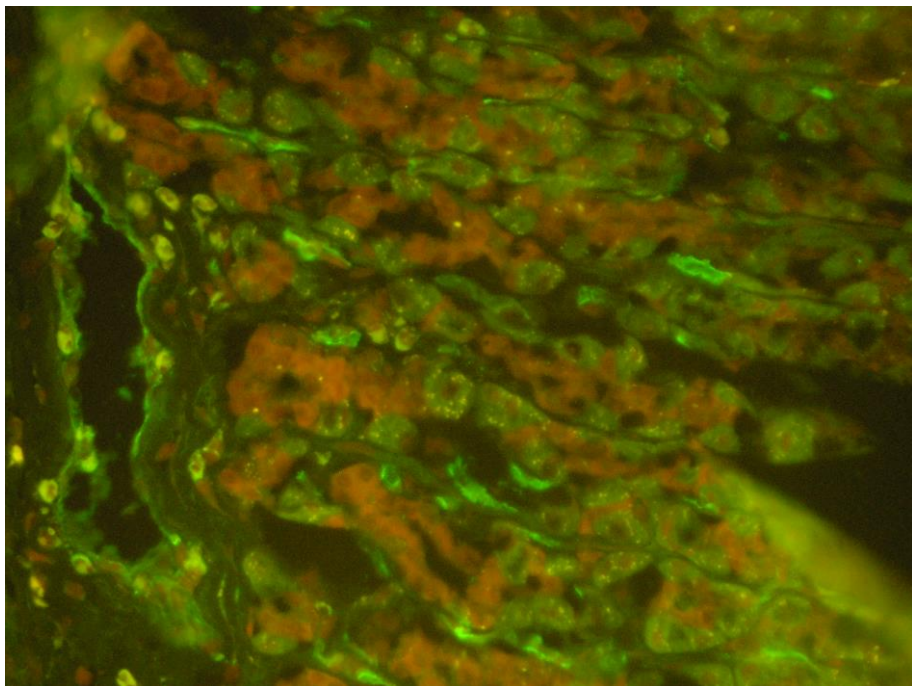


Рисунок 5.39. Мелатонін-позитивно-мічені клітини пілоричного відділу у щура віком 3 міс при пінеалектомії. 3б.×400

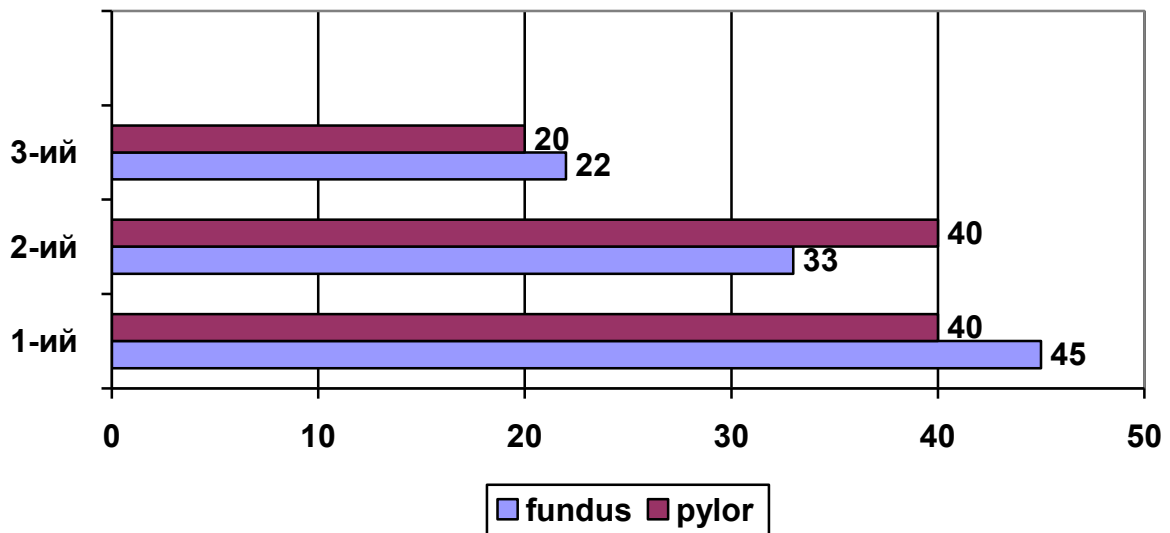


Рисунок 5.40. Кількість (%) мелатонін-позитивно-мічених клітин у слизовій оболонці різних відділів шлунка при пінеалектомії

Таким чином, пошкодження центрального джерела синтезу мелатоніну призводить до компенсаторного підвищення кількості МПМК як у фундальному, так і в пілоричному відділах зі збільшенням кількості МПМК 3-го типу.

Висновки

1. Установлено, що мелатонін-позитивно-мічені клітини розташовані в базальних і середніх відділах трубчастих залоз СОШ, представлені трьома типами клітин та знаходяться переважно у фундальному відділі (більше ніж у пілоричному).

2. Кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різної статі восени нижча, ніж взимку, при цьому кількість клітин у щурів-самців достовірно нижча за кількість МПМК у щурів-самок в обидва сезони.

3. При десинхронозі, виразковому ураженні шлунка та їх одночасному впливі відбувається достовірне зменшення загальної кількості МПМК в різних відділах слизової оболонки шлунка у щурів різної статі та віку. У всіх експериментах найбільше зниження МПМК відбулося в групах самців віком 9 та 15 міс, що відповідає віку людини 29–30 та 43–44 роки, з перерозподілом

клітин зі зменшенням кількості 3-го типу і збільшенням клітин 1-го типу.

4. При виразковому ураженні шлунка та виразковому ураженні на тлі десинхронозу МПМК у слизовій оболонці шлунка щурів-самців віком 15 міс на 100 % представлені дрібними клітинами у пілоричному відділі та клітинами 1-го та 2-го типів – у фундальному.

5. Кількість апудоцитів фундального відділу більш ніж на 20 % перевищує кількість апудоцитів пілоричного відділу, як у інтактних тварин, так і у щурів з пінеалектомією, яка викликає компенсаторне підвищення кількості МТ-продукуючих клітин на 39 % у фундальному та на 35 % – в пілоричному відділах шлунка.

Матеріали цього розділу оприлюднені в наступних публікаціях дисертанта:

1. Кононенко Н. М. Гістологічне та морфометричне дослідження слизової оболонки шлунка щурів після пінеалектомії / Н. М. Кононенко, В. В. Гнатюк // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2013. – № 2, т. II (32-II). – С. 99–101.

2. Гнатюк В. В. Порівняльна характеристика стану мелатонін-позитивно-мічених клітин шлунка у щурів різної статі на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стомат. академії. – 2015. – Т.15, № 3 (51). – С. 165–167.

3. Гнатюк В. В. Імуногістохімічне дослідження стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка при десинхронозі у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стомат. академії. – 2015. – Т.15, № 4 (52). – С. 216–220.

4. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronosis in rats / V. Hnatiuk, N. Kononenko, T. Kozub, V. Chikitkina, L. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – No 6 (255). – P. 99–104.

5. Гнатюк В. В. Дослідження кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різного віку та статі з виразковим ураженням шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Експериментальна і клінічна медицина. – 2016. – № 3(72). – С. 14–17.

6. Гнатюк В. В. Дослідження екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну у щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Медицина сегодня и завтра. – 2016. – № 1 (70). – С. 10–14.

7. Hnatiuk V. V. The study of the relationship between the levels of melatonin in the blood serum and melatonin-positive-labeled cells in ulcerative lesions of the stomach in male rats of different age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, No 9. – P. 524–530.

8. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу на рівень мелатоніну крові та екстрапінеальні джерела синтезу мелатоніну у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник морської медицини. – 2016. – № 3 (72). – С. 41–47.

9. Гнатюк В. В. 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 / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2016. – Т. XV, № 3(57). – С. 30–33.

10. Hnatiuk V. V. Characteristics of melatonin-positive-labeled cells of gastric mucosa amount in rats of different sexes in autumn and winter / V. V. Hnatiuk // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol.6, No 11. – P. 622–628.

11. Гнатюк В. В. Дослідження мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунка у щурів різного віку та статі / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 2–3 берез.

2015 р. – Харків, 2015. – С. 44–45.

12. Гнатюк В. В. Зміни вмісту мелатоніну та кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів-самок під впливом світового десинхронозу / В. В. Гнатюк // Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії: матеріали між народ. наук.-практ. конф., 16–17 грудня 2016 р. – Одеса, 2016. – С 111–113.

РОЗДІЛ 6

СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН КРОВІ ПРИ ДЕСИНХРОНОЗІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА

6.1. Статеві та вікові особливості вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту при десинхронозі

Відомо, що в патогенезі онкологічних, серцево-судинних захворювань, ВХ та багатьох інших хвороб важлива роль відводиться оксидативному стресу [125, 166]. На сьогодні питання впливу порушень синтезу мелатоніну та вільнорадикального окиснення на розвиток різних захворювань широко вивчаються, але відомостей про те, як змінюються показники вільнорадикального окиснення при порушеннях синтезу мелатоніну в залежності від віку та статі в сучасній науковій літературі недостатньо. Тому метою нашого дослідження стало вивчення показників ПОЛ та АОС у щурів різного віку та статі при десинхронозі.

Дослідження проведене на 48 білих нелінійних щурах різної статі віком 9 та 20 міс. Дослідні тварини були розділені на 8 груп по 6 тварин у кожній: контрольні групи № 1–4 – щури-самці та щури-самки віком 9 та 20 міс, які знаходилися в умовах природного світлового режиму; дослідні групи № 5–8 – щури-самці та щури-самки віком 9 та 20 міс, які протягом 2-х тижнів знаходилися при цілодобовому освітлені (десинхроноз) [21].

Стан оксидантно-антиоксидантної системи оцінювали за вмістом продуктів ПОЛ (дієнових кон'югатів, ТБК-реактантів), окиснювальної модифікації білків (карбонільних продуктів), активністю ферментів першої лінії антиоксидантного захисту (СОД та каталаза).

При порівнянні показників пероксидації ліпідів на тлі десинхронозу

встановлено, що відбулося збільшення показників як первинних (ДК), так і вторинних (ТБК-реактантів) продуктів ПОЛ у щурів різної статі (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

Показники вільнорадикальних процесів у сироватці крові щурів різного віку та статі при десинхронозі ($M \pm m$, $n=6$)

Показники	Інтактний контроль		Десинхроноз	
	9 міс	20 міс	9 міс	20 міс
Самці				
ДК, ммоль/л	19,3±0,95	20,3±0,72	25,2±0,75*	25,7±0,71*
ТБК-реактанти, мкмоль/л	2,1±0,14	2,4±0,11	2,9±0,13*	3,1±0,11*
Окиснювальна модифікація білків, ммоль/мг білка	0,55±0,02	0,82±0,03	0,79±0,04*	0,96±0,02*
Рівень NO метаболітів, ммоль/л	0,31±0,01	0,60±0,06#	0,62±0,02*	0,69±0,03
Самки				
ДК, ммоль/л	17,8±0,61	19,3±0,75	21,6±0,78*/^	22,8±0,84*/^
ТБК-реактанти, мкмоль/л	1,9±0,09	2,2±0,11^	2,6±0,10*/^	2,4±0,12^
Окиснювальна модифікація білків, ммоль/мг білка	0,46±0,03	0,67±0,05^	0,63±0,04*/^	0,78±0,03^
Рівень NO метаболітів, мкМ	0,68±0,03^	0,60±0,02	0,80±0,03*/^	0,66±0,03

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами групи контролю; # $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами віком 9 міс; ^ $p \leq 0,05$ порівняно з самцями відповідного віку.

Показники пероксидації збільшувалися у молодих щурів, порівняно зі

старими, більше у самців, ніж у самок: дієнові кон'югати збільшувалися у молодих самців на 31 %, у старих – на 27 %, а у самок – на 27 % і 18 % відповідно ($p \leq 0,05$); ТБК-реактанти – на 40 % у молодих самців, на 26 % – у старих щурів, у самок – на 26 % і 20 % відповідно ($p \leq 0,05$). При цьому встановлені статеві відмінності між показниками ДК і МДА – на тлі десинхронозу у самців підвищення було більше відносно самок – у молодих на 16 % і 12 %, у старих – на 13 % та 29 % відповідно ($p \leq 0,05$).

Достовірно підвищувалися показники окиснювальної модифікації білка при десинхронозі у молодих самців і самок – на 44 % і 37 % відповідно та у старих щурів-самців на 17 % ($p \leq 0,05$). При цьому встановлено і достовірні ($p \leq 0,05$) статеві відмінності цих показників з більш високим рівнем у щурів-самців: на 25 % у віці 9 міс та на 23 % у віці 20 міс.

Отримані результати свідчили також про наявність статевих відмінностей в кількості кінцевих продуктів метаболізму NO в плазмі крові молодих тварин як у контрольній, так і в експериментальній групах. Встановлено, що рівень NO метаболітів у молодих щурів-самок був у 2,3 рази більший, ніж у щурів-самців ($p \leq 0,05$). З віком відбувається зменшення вмісту кінцевих метаболітів NO у самок на 14 % ($p \geq 0,05$) і збільшення у самців у 2 рази ($p \leq 0,05$) (табл. 6.1).

При десинхронозі зберігалася достовірна різниця між показниками: у самок рівень кінцевих продуктів метаболізму NO перевищував показники самців в 1,3 рази ($p \leq 0,05$). Але у молодих самців кількість продуктів окиснення монооксиду азоту збільшувалася в 2 рази порівняно з контролем ($p \leq 0,05$), у той час як у самок це підвищення було тільки в 1,2 рази ($p \leq 0,05$). З віком картина змінювалася на протилежну: у плазмі старих самців вміст кінцевих продуктів окиснення монооксиду азоту при патології незначно перевищував (5 %) цей показник у самок ($p \geq 0,05$).

Наступним етапом нашої роботи було дослідження основних ферментів антиоксидантного захисту. Отримані результати свідчать про наявність вікових та статевих відмінностей у системі антиоксидантного захисту

(табл. 6.2). Установлено, що при десинхронозі відбувається зниження активності антиоксидантних ферментів плазми. При цьому у щурів молодого віку більш знижуються показники у самців, ніж у самок порівняно з контролем ($p \leq 0,05$): СОД – 38 % і 30 %, каталаза – 38 % і 32 %, ГП – 39 % і 31 %, ГТ – 21 % і 19 % відповідно.

Таблиця 6.2

**Активність ферментів антиоксидантного захисту у щурів
різного віку та статі при десинхронозі ($M \pm m$, $n=6$)**

Показники	Інтактний контроль		Десинхроноз	
	9 міс	20 міс	9 міс	20 міс
Самці				
СОД, умов. од	1,11±0,04	0,75±0,11	0,69±0,06*	0,40±0,08*
Каталаза, мккат/л	3,2±0,26	3,3±0,18	2,0±0,19*	2,3±0,23*
ГП, ммоль/хв·л	0,28±0,030	0,19±0,010	0,17±0,019*	0,15±0,009*
ГТ, ммоль/хв·л	66,3±2,8	33,2±2,5	52,3±2,6*	22,3±1,6*
Самки				
СОД, умов. од	1,88±0,09	1,43±0,12	1,31±0,08*/^	0,85±0,10*/^
Каталаза, мккат/л	3,1±0,27	3,4±0,15	2,1±0,22*	2,0±0,14*
ГП, ммоль/хв·л	0,26±0,020	0,18±0,014	0,18±0,02*	0,16±0,017
ГТ, ммоль/хв·л	78,0±2,7	39,8±4,0	62,8±3,1*/^	33,0±3,1*/^

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами групи контролю; ^ $p \leq 0,05$ порівняно з самцями відповідного віку.

У тварин похилого віку також відбувається зниження активності ферментів на фоні порушення режиму освітлення, що підтверджується зниженням показників СОД на 47 % і 40 %, каталази – на 30 % і 41 % у самців і самок відповідно ($p \leq 0,05$). Менш виражені порушення спостерігалися в системі ферментів метаболізму глутатіону при десинхронозі у старих самців і самок – зниження на 21 % ($p \leq 0,05$) і 11 % – ГП, на 33 % і 17 % ($p \leq 0,05$) – ГТ відповідно.

6.2. Особливості синтезу імунокомпетентних клітин у щурів з гастральними виразками на тлі світлового десинхронозу

Імунна система належить до одних із важливих адаптаційних механізмів. Екзогенні та ендогенні фактори завжди викликають зміни в клітинному та гуморальному імунитеті. У той же час імунна система підпорядковується принципу ритмічності протікання біологічних процесів. Мелатонін має подвійний вплив на функцію імунної системи: пригнічує або стимулює її. Присутність рецепторів до мелатоніну визначено на мембранах імунокомпетентних клітин тимуса та селезінки [99]. Таким чином, порушення біоритмів організму при десинхронозі впливає на чутливість та резистентність імунної системи, призводить до змін як кількісних, так і якісних характеристик імунокомпетентних клітин [25, 123, 168]. Існують роботи з вивчення імунного статусу при різних захворюваннях [187], але дослідження особливостей синтезу імунокомпетентних клітин у щурів з гастральними виразками на тлі світлового десинхронозу відсутні, що і є предметом наступного етапу роботи.

Дослідження було проведене на статевозрілих щурах-самцях віком 9 міс, що були розподілені на чотири групи (по 10 тварин) у кожній: 1-ша група – інтактний контроль (щури, які знаходилися в умовах природного освітлення); 2-га група – тварини з виразковим ураженням шлунка (щури, що перебували в умовах природного освітлення впродовж 14 діб і яким на 15-ту добу моделювали спирто-преднізолонову виразку); 3-я група – десинхроноз (щури, які впродовж 14 діб знаходилися в умовах цілодобового освітлення); 4-та група – десинхроноз + виразка (щури, що перебували в умовах цілодобового освітлення впродовж 14 діб і яким на 15-ту добу моделювали спирто-преднізолонову виразку). Визначення кількості імунокомпетентних клітин проводили на 3-тю добу після моделювання виразок (18-та доба експерименту).

Згідно з отриманими результатами у щурів з виразковим ураженням шлунка спостерігалось достовірне зниження Т-лімфоцитів на 55 %, на 58 % – у щурів з десинхронозом та на 56 % – при експериментальній виразці на тлі десинхронозу ($p \leq 0,05$) (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Показники клітинного та гуморального імунітету в щурів
з виразкою на тлі десинхронозу ($M \pm m$, $n=10$)**

Експериментальні групи	Т-лімфоцити (CD3+), $\cdot 10^9/\text{л}$	Т-хелпери (CD4+), $\cdot 10^9/\text{л}$	Т-супресори (CD8+), $\cdot 10^9/\text{л}$	CD4/CD8	В-лімфоцити (CD19+), $\cdot 10^9/\text{л}$
Інтрактний контроль	5,44±0,31	2,17±0,24	1,24±0,15	1,9±0,24	3,35±0,28
Виразка	2,44±0,25*	1,17±0,09*	1,52±0,16	0,8±0,09*	2,67±0,13*
Десинхроноз	2,27±0,18*	3,47±0,26 */**	0,99±0,07**	3,5±0,27 */**	4,02±0,16 */**
Десинхроноз+ Виразка	2,37±0,20*	3,39±0,24 */**	1,12±0,10**	3,2±0,29 */**	3,96±0,10 */**

Примітка: * $p \leq 0,05$ по відношенню до контролю; ** $p < 0,05$ по відношенню до виразки.

При цьому реакція субпопуляцій лимфоцитів – Т-хелперів та Т-супресорів – на дію цілодобового освітлення та виразкове ураження СОШ відрізнялася (табл. 6.3).

У групі з виразкою шлунка кількість Т-хелперів знизилась у 1,9 раза, В-лімфоцитів – в 1,3 раза відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$).

Кількість Т-супресорів, навпаки, збільшилася на 26 %. Зміни в кількості Т-хелперів і Т-супресорів призвели до зниження імунорегуляторного індексу (CD4/CD8) в 2,3 раза ($p \leq 0,05$), що підтверджує наявність реакції імунної системи на розвиток в організмі деструктивного

запального процесу та характеризується відповідною імунною відповіддю.

Показники синтезу імунокомпетентних клітин при десинхронозі відрізнялися від таких при виразці шлунка та мали протилежну спрямованість: кількість Т-хелперів збільшилася в 1,6 раза, В-лімфоцитів – в 1,2 раза, імунорегуляторний індекс – в 1,8 раза відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$). Кількість Т-супресорів, навпаки, знизилася на 20 %. Підвищення кількості CD4+ при десинхронозі дозволяє припустити, що при цьому виникає Th-2 тип імунної реакції, яка характеризується стимуляцією В-клітин та розвитком гуморального типу імунної відповіді [121, 185]. Отримані під впливом цілодобового освітлення зміни імунологічних показників підтверджують наявність біоритмологічної залежності синтезу та диференціювання імунокомпетентних клітин, а отже і залежність від мелатонінодефіциту.

Під час одночасного впливу на організм експериментальних тварин десинхронозу та деструктивного процесу в СОШ кількість Т-хелперів в 1,6 раза перевищувала показник інтактних тварин та у 3 рази – показник щурів з виразкою ($p \leq 0,05$). Рівень Т-супресорів був нижчим на 10 % відносно контролю, на 26 % ($p \leq 0,05$) – відносно щурів із виразкою та на 12 % ($p \leq 0,05$) більшим відносно групи тварин з десинхронозом. Кількість В-лімфоцитів збільшувалася на 18 % відносно контролю та була в 1,5 раза вищою відносно щурів із виразковим ураженням ($p \leq 0,05$). Як і при десинхронозі, зберігався високий показник імунорегуляторного індексу, який був у 4 рази більшим відносно тварин 4-ї експериментальної групи ($p \leq 0,05$).

Наступною частиною нашого дослідження було визначення активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) і лактатдегідрогенази (ЛДГ) у лімфоцитах крові щурів, як показників аеробного окиснення ацетил КоА в циклі Кребса та ключового ферменту пентозофосфатного шляху окиснення глюкози (СДГ) та інтенсивності анаеробного гліколізу (ЛДГ) [89, 95, 253].

Установлено, що окрема та одночасна дія цілодобового освітлення та виразкового ураження має достовірний вплив на вміст СДГ в лімфоцитах

крові (рис. 6.1): підвищення відносно інтактного контролю на 37 % при виразці, на 26 % – на тлі десинхронозу та на 29 % – при одночасному моделюванні десинхронозу та ураження СОШ ($p \leq 0,05$).

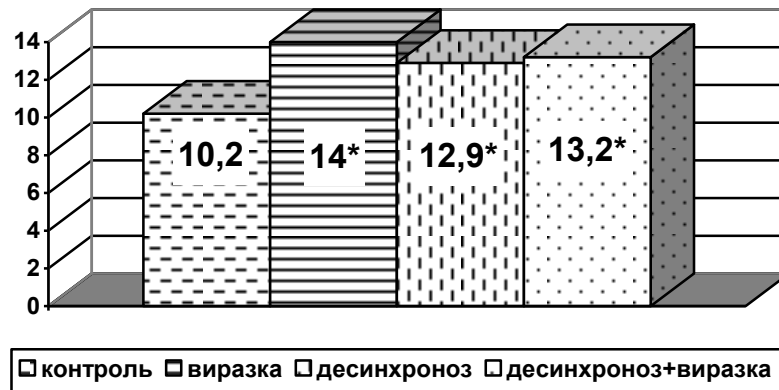


Рисунок 6.1. Активність сукцинатдегідрогенази у лімфоцитах крові щурів при дії різних факторів

Примітка: * $p \leq 0,05$ по відношенню до контролю

При цьому відбулося підвищення ЛДГ на 8 % у тварин при світловому десинхронозі, на 15 % – у щурів з виразковим ураженням та на 19 % – при одночасному впливі десинхронозу та виразкового ураження відносно інтактного контролю (рис. 6.2).

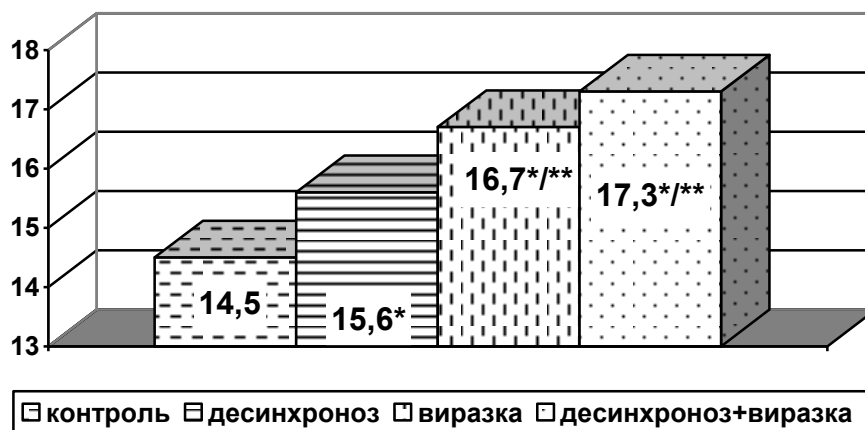


Рисунок 6.2. Активність лактатдегідрогенази у лімфоцитах крові щурів при дії різних факторів

Примітка: * $p \leq 0,05$ по відношенню до контролю; ** $p < 0,05$ по відношенню до групи з десинхронозом.

Висновки

1. Десинхроноз призводить до активізації процесів перекисного окиснення ліпідів та зниження активності ферментів системи антиоксидантного захисту у щурів різного віку та статі, особливо у щурів-самців віком 9 міс, при більш високому рівні ферментів системи антиоксидантного захисту в самок усіх вікових груп.

2. Десинхроноз призводить до змін у синтезі імунокомпетентних клітин, які характеризуються підвищенням кількості Т-хелперів з активацією В-лімфоцитів та розвитком гуморального типу імунної відповіді.

3. Показники синтезу субпопуляцій лімфоцитів при виразковому ураженні шлунка відрізнялися від таких при десинхронозі та мали протилежну спрямованість.

4. Десинхроноз викликає підвищення активності дегідрогеназ лімфоцитів, що свідчить про взаємозв'язок між умістом мелатоніну та активністю імунокомпетентних клітин.

Матеріали цього розділу оприлюднені в наступних публікаціях дисертанта:

1. Гнатюк В. В. Особенности синтеза иммунокомпетентных клеток у крыс с гастральными язвами при световом десинхронозе / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вестник КАЗНМУ. – 2013. – № 5 (1). – С. 81–83

2. Гнатюк В. В. Гендерні та вікові особливості вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту при десинхронозі / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2014. – Т. 18, № 2. – С.363–366.

РОЗДІЛ 7

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЕКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНІНУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ГАСТРАЛЬНИХ ВИРАЗОК

7.1. Біохімічне дослідження крові щурів із виразковим ураженням слизової оболонки шлунка при лікуванні екзогенним мелатоніном

Підходи до лікування виразкової хвороби значно корегувалися з часом відповідно до того, як змінювалися погляди на її етіологію. На сьогодні доведена роль НР в патогенезі гастродуоденальної виразки. При цьому роль НР у виникненні та прогресуванні ВХ дуже неоднозначна. Відомо, що НР діагностується не у всіх хворих на ВХ. На частку НР-позитивної виразки припадає 70–80 % дуоденальних, та 50–60 % шлункових виразок. Останнім часом у наукових публікаціях з'являються відомості про збільшення кількості НР-негативних виразок шлунка та ДПК, що є актуальною та недостатньо дослідженою проблемою. За різними даними, кількість хворих на ВХ, у яких не визначається НР, складає від 13 до 30 % [1, 225].

Згідно з сучасними медичними протоколам лікування НР-негативних виразок на 1-му етапі призначається антисекреторний препарат із групи інгібіторів протонної помпи або блокаторів H_2 -гістамінових рецепторів, а також препарати із групи вісмуту [1].

У наших дослідженнях був доведений вплив мелатонінодефіциту на розвиток гастральних виразок. Тому наступним етапом нашого дослідження стало вивчення ефективності лікування виразкового ураження шлунка у щурів-самців віком 9 міс, викликаного методом спирто-преднізолонового пошкодження, з використанням монотерапії класичним інгібітором протонної помпи – омепразолом в дозі 1,2 мг/кг у вигляді суспензії та

комбінованої терапії – омепразолом (1,2 мг/кг) + мелатоніном (0,2 мг/кг) у порівнянні з нелікованими тваринами.

Оцінку ефективності лікування проводили, досліджуючи показники стану ПОЛ/АОС (ТБК-реактанти та СОД у гомогенаті тканин шлунка), інтенсивності цитолізу (активність ферментів АЛАТ і АсАТ), репаративних процесів (загальний рівень білка в крові).

Згідно з отриманими результатами у групі експериментальних тварин з контрольною патологією рівень ТБК-реактантів збільшився на 69 %, активність АЛАТ – на 74 %, АсАТ – на 84 %; вміст СОД знизився на 52 %, а загального білка – на 41 % (табл. 7.1).

Таблиця 7.1

Вплив екзогенного мелатоніну на показники стану ПОЛ/АОС на моделі виразкового ураження шлунка у щурів (M±m, n = 6)

Біохімічні показники	Групи тварин			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Омепразол	Омепразол+ мелатонін
Слизова оболонка шлунка				
ТБК-реактанти мкмоль/кг	5,77 ± 0,23	9,75 ± 0,31*	7,31 ± 0,25 */**	6,44 ± 0,27**
СОД, ум.од.	0,64±0,03	0,31±0,05*	0,39±0,04 */**	0,44±0,04 */**/**
Сироватка крові				
АЛАТ, ммоль/л·год	0,46±0,009	0,80±0,025*	0,60±0,030 */**	0,51±0,0268**
АсАТ, ммоль/л·год	0,43±0,010	0,79±0,024*	0,56±0,020 */**	0,49±0,021 */**/**
Загальний білок, г/л	98,6 ± 2,47	58,4 ± 1,89*	74,3 ± 2,45 */**	80,6 ± 2,29*/**

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами групи інтактного контролю; ** $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами групи контрольної патології; *** $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами, що отримували омепразол.

В експериментальній групі тварин, які отримували лікування омепразолом уміст ТБК-реактивів та АлАТ знизився на 25 %, а АсАТ – на 29 % відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$). СОД та загальний білок збільшилися на 26 % та 27 % відповідно відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$).

При одночасному лікуванні омепразолом та мелатоніном значно нормалізувалися біохімічні показники: рівень загального білка та СОД підвищилися на 38 % та 43 % відповідно ($p \leq 0,05$) порівняно з контрольною патологією. Рівень ТБК-реактивів зменшився на 34 %, що свідчить про зниження інтенсивності процесів перекисної деструкції мембран. Активність АлАТ зменшилась на 36 %, АсАТ – на 38 % порівняно з групою контрольної патології ($p \leq 0,05$), що свідчить про наявність мембраностабілізуючої та антиоксидантної дії мелатоніну.

7.2. Морфологічне вивчення слизової оболонки шлунка з виразковим ураженням при лікуванні екзогенним мелатоніном

7.2.1. Вплив екзогенного мелатоніну на макроскопічний та гістологічний стан слизової оболонки шлунка при лікуванні виразкового ураження

Дослідження проведене на щурах-самцях віком 9 міс, що були розподілені на 4-ри експериментальні групи: 1-ша – інтактний контроль, 2-га – щури із спирто-преднізолоновим ураженням шлунка, 3-тя – щури з виразковим ураженням шлунка, які отримували інгібітор протонної помпи – омепразол, 4-та – щури з виразковим ураженням шлунка, які отримували комплексне лікування омепразолом та мелатоніном.

Аналіз стану тварин під час експерименту показав, що всі щури з групи інтактного контролю за загальним станом мали задовільний апетит, реагували на звукові та світлові подразники; рефлекторна збудливість, процеси

сечовиділення й дефекації були в нормі, порушень дихання та судом не спостерігали. Загибелі тварин не було.

При макроскопічному огляді шлунка виразки відсутні (табл. 7.2). СОШ інтактних тварин була в нормі: нормального кольору та складчастості, без набряку та геморагій (табл. 7.3).

Як показало мікроскопічне дослідження, у інтактних щурів СОШ мала звичайну типову будову. Поверхня слизової оболонки фундального відділу шлунка вкрита одношаровим циліндричним епітелієм, у апікальних відділах якого міститься ШИК-позитивний секрет. Шлункові ямки (мікроскопічні заглиблення поверхні) неглибокі. Ямковий епітелій також містить ШИК-позитивний матеріал. Потужність мукоїдного синтезу відповідає нормі. Власні (фундальні) залози шлунка щільно розташовані, довгі. Територіальне розташування та взаємовідношення залозистих клітин звичайне (рис. 7.1).

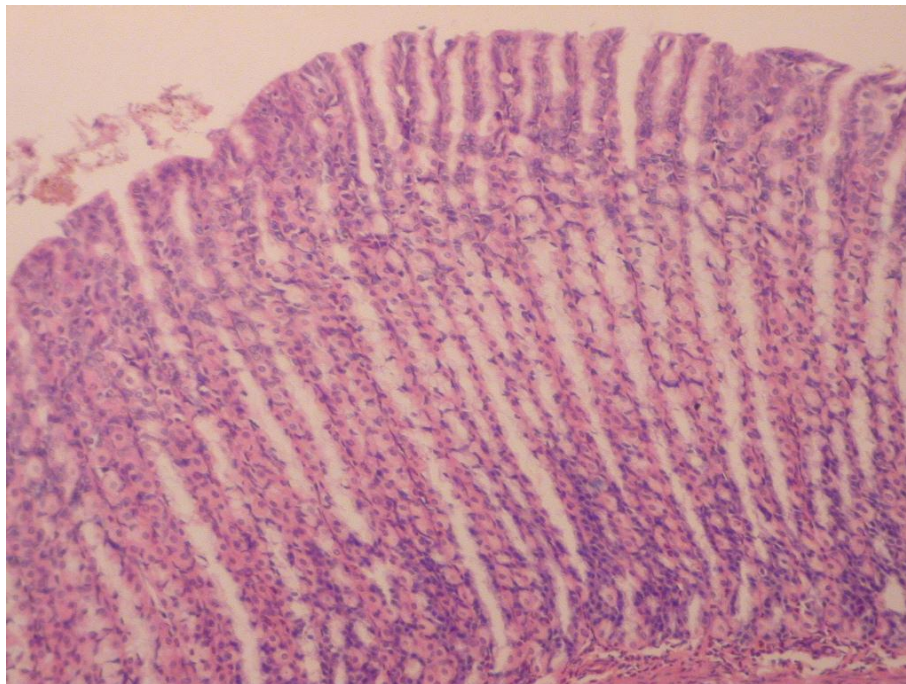


Рисунок 7.1. Слизова оболонка фундального відділу шлунка щура-самця віком 9 міс, інтактний контроль. Гематоксилін-еозин. 36.×100

Шийкові слизові клітини (додаткові клітини) містять або суміш глікозаміногліканів (ГАГ) та нейтральних мукополісахаридів (із значною перевагою останніх), або тільки нейтральні мукополісахариди. Парієтальні

клітини помірно оксифільні, за кількістю превалюють над іншими залозистими клітинами, розповсюджені у більшості на 2/3 тіла залоз (рис. 7.2).

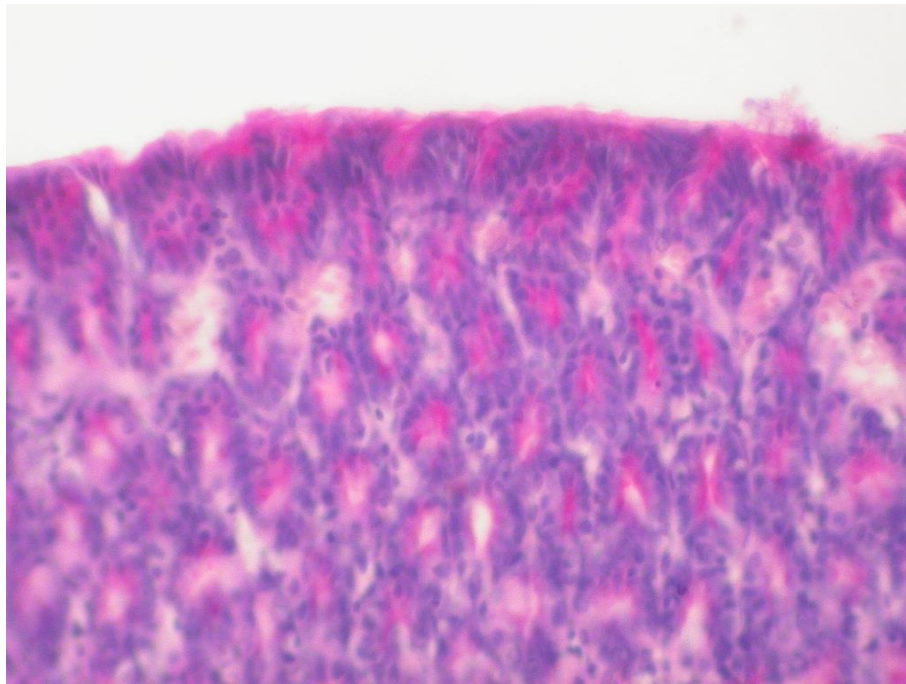


Рисунок 7.2. Слизова оболонка фундального відділу шлунка щура-самця віком 9 міс, інтактний контроль. ШИК-реакція за Мак-Манусом. 36.×100

Таблиця 7.2

Показники противиразкової активності екзогенного мелатоніну при виразковому ураженні слизової оболонки шлунка

Експериментальні групи, (n=6)	Кількість тварин з виразками у групі, %	Середня площа виразок, мм ² , M±m	Виразковий індекс	Противиразкова активність, %
Інтактний контроль	–	–	–	–
Контрольна патологія	100	14,2±1,6	14,2	–
Омепразол	50	2,2±1,0*	1,1	92
Мелатонін+Омепразол	33	1,2±0,7*	0,4	97

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами групи контрольної патології.

Макроскопічні показники слизової оболонки шлунка при лікуванні екзогенним мелатоніном (M±m, n=6)

Показники / експериментальні групи	Геморагії, бали	Гіперемія, бали	Набряк, бали	Складчатість, бали
Інтактний контроль	0	0	0	0
Контрольна патологія	3 (3; 3)	2,5 (2; 3)	2,5 (2; 3)	2,5 (2; 3)
Омепразол	1 (1; 1)*	1 (1; 1)*	0,5 (0; 1)*	1 (1; 1)*
Омепразол+Мелатонін	0,5 (0; 1)*	0,5 (0; 1)*	0*	0,5 (0; 1)*

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами групи контрольної патології.

Головні клітини переважали у кінцевих відділах залоз. Їх цитоплазма містила білкові гранули, які добре забарвлювалися гематоксиліном (базофілія) та давали позитивну Хейл-реакцію. Секреторна активність усіх перелічених клітин у всіх зразках перебувала у межах норми. Строма слизової помірно повнокровна, містила варіабельну кількість лімфоцитів та еозинофільних клітин.

У пілоричному відділі шлунка покривний епітелій був більш високий, шлункові ямки більш глибокі та широкі. Пілоричні залози розташовувалися доволі пухко, сполучнотканинні прошарки між ними більш виражені. Залози вислані одним шаром клітин з вираженою світлою широкою апікальною зоною, в якій містилося багато ШИК-позитивного мукоїдного секрету. На деяких мікропрепаратах видна так звана препілорична зона, залозисті трубки якої містять значно більшу кількість додаткових клітин (вони частково навіть заміщують головні клітини у базальному відділі трубок), значно редуковані головні клітини. Парієтальні клітини мають таке саме розташування, як і у власних залозах. Стан мікроциркуляторного русла у всіх досліджених ділянках шлунка без особливостей. Підслизова оболонка відносно широка, складається з пухкої сполучної тканини, в якій видні нормального вигляду кровоносні судини (рис. 7.3).

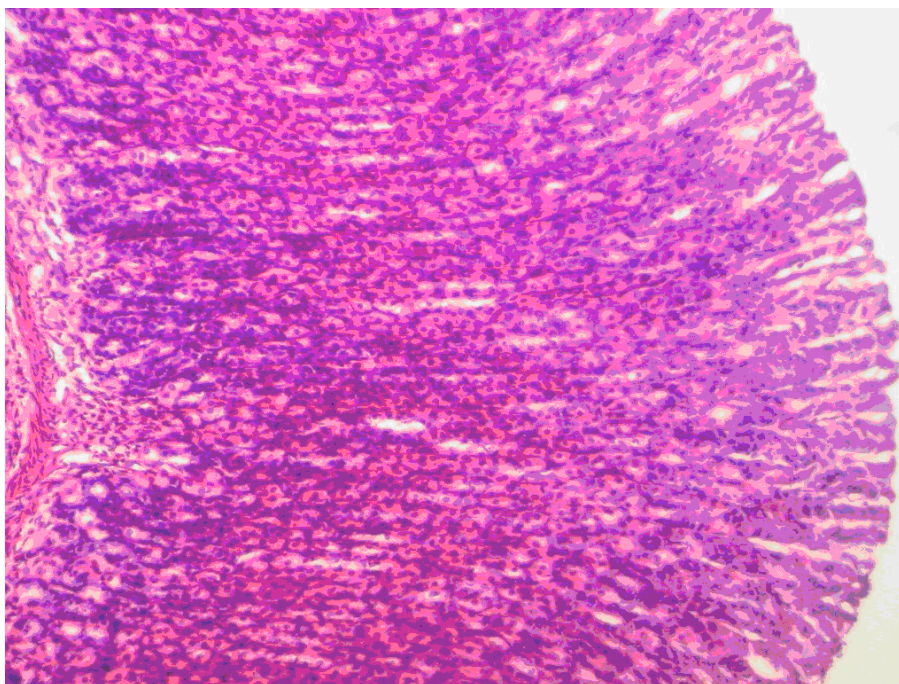


Рисунок 7.3. Пілорична зона слизової оболонки шлунка інтактних щурів. Нормальний стан залозистих трубок. Гематоксилін-еозин. Зб.×100

Під впливом спирто-преднізолонової суміші в шлунку виникало гостре ерозивно-виразкове пошкодження як фундальної, так і пілоричної зони слизової оболонки у всіх щурів (табл. 7.2). Тварини контрольної групи були малоактивними, не споживали корм, мали слабку реакцію на зовнішні подразники, підвищену рефлекторну збудливість.

При макроскопічному дослідженні СОШ визначені порушення складчастості, гіперемія, набряк, геморагії (табл. 7.3). Мікроскопічне дослідження показало, що переважна більшість дефектів охоплювала всю глибину слизової оболонки і розрізнялася лише шириною розповсюдження. Дефекти були заповнені некротичною масою та клітинним детритом. У деяких поширених дефектах серед некротичних мас (ймовірно на місцях порушених судин і капілярів) спостерігалися потужні базофільні гомогенні скупчення – відкладення солянокислого гематину. У багатьох субепітеліальних ділянках строми слизової відмічаються різко розтягнуті кровоносні капіляри, заповнені еритроцитами, що злипалися, – картина престазу та стазу. Нерідко зустрічалися діapedезні крововиливи. Підслизовий шар у зоні безпосереднього ураження

слизової оболонки різко набряклий. Судини підслизового шару часто знаходилися у стані паралітичного ураження та значного кровонаповнення. У поодиноких випадках зустрічалися дефекти, глибина яких не перевищувала $1/3$ – $2/3$ довжини залоз (рис. 7.4).

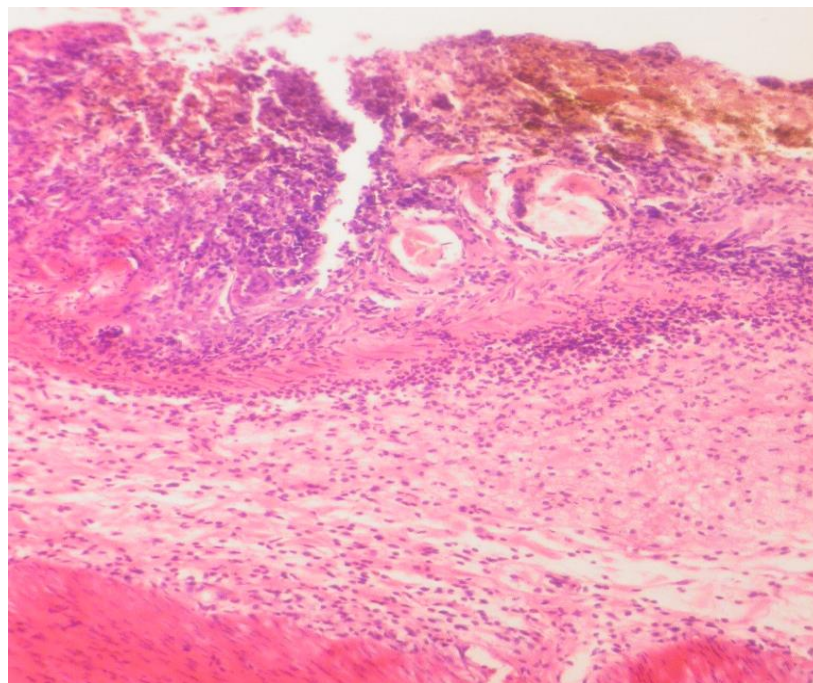


Рисунок 7.4. Пілорична зона слизової оболонки шлунка з виразковим ураженням. Гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$

Під такими дефектами видні базальні відділи залозистих трубок, у яких нерідко була порушена лінійність розташування, відмічено дисоціацію та некробіоз клітин. Крім того, у слизовій оболонці (частіше поруч із поширеними гострими виразками) виявлялися ділянки з так званими поверхневими ерозіями, для яких була характерна десквамація та некробіоз покривних епітеліальних клітин та клітин шлункових ямок, оголення строми. Іноді виявляли проліферацію поверхневих епітеліальних клітин. На обмежених ділянках збереженої слизової оболонки на досліджених зразках дна та пілорусу поверхневі епітеліальні клітини часто сплюснені або зменшені у розмірі, апікальні відділи клітин значно збіднені мукоїдним секретом. У цьому секреті майже не виявлялися нейтральні мукополісахариди, значно збільшувалася частка ГАГ. У додаткових клітинах фундальних залоз та епітеліальних клітинах пілоричних

залоз також зменшена як наявність мукоїдного секрету, так і присутність у ньому нейтральних мукополісахаридів. У головних клітинах фундальних залоз, навпаки, посилювалася секреторно-видільна функція – просвіти залозистої трубки розширені, секреторна зона клітин значно зменшена, самі клітини мають сплющений вигляд, часто містять одне витягнуте ядро, цитоплазма їх значно втратила базофілію. Іноді у просвіті видно залишки секрету (рис. 7.5).

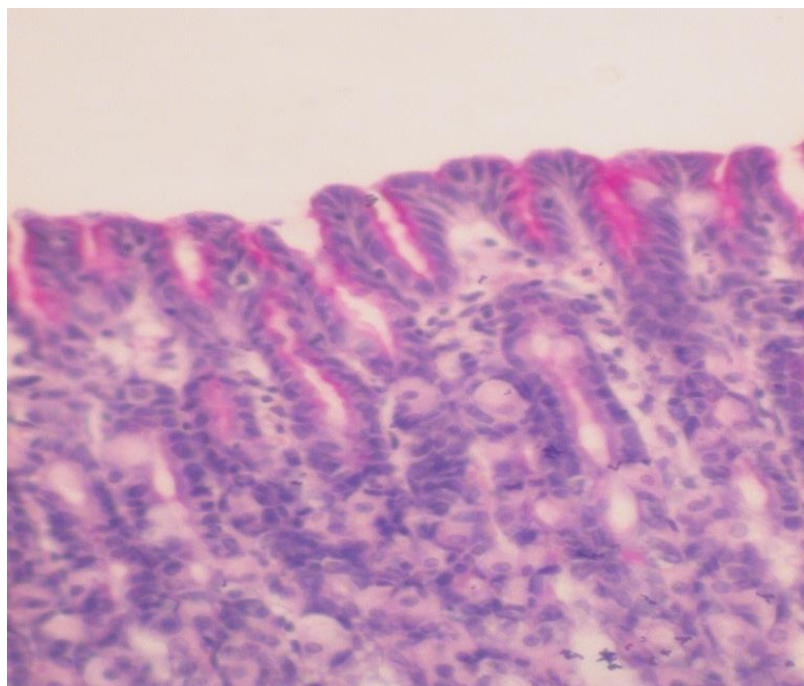


Рисунок 7.5. Слизова оболонка шлунка щура-самця віком 9 міс, інтактний контроль. ШИК-реакція за Мак-Манусом. Зб.×100

Такий стан свідчив про більш швидке вимивання секрету з цитоплазми, ніж його утворення. Частина парієтальних клітин дещо збільшена, цитоплазма їх вакуолізована, просвітлена. Подібний стан головних та парієтальних клітин морфологічно відображав посилення кислотоутворення та пептичної активності. Відмічали значне повнокрів'я, картини стазу в підепітеліальній капілярній мережі, діapedезні крововиливи. Строма слизової місцями набухла, субепітеліально нерідко видно різної вираженості набряк.

Для більшої наочності та зручності порівняння, зміни мікроструктури, що спостерігали у СОШ щурів різних груп, оцінювали у балах (табл. 7.4).

**Вплив екзогенного мелатоніну на інтенсивність патологічного процесу у
СОШ щурів з виразковим ураженням ($M \pm m$, $n=6$)**

Експериментальні групи	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Омепразол	Омепразол + мелатонін
1	2	3	4	5
Виразкова деструкція	0	3,5 (3; 4)	1 (1; 1)*	0,5 (0,5; 0,5) *
Глибина ураження	0	2 (2; 2)	1 (1; 1)*	0,5 (0,5; 0,5) *
Гемокапілярні розлади	0	2,5 (2; 3)	1 (1; 2)*	0,5 (0,5; 0,5) *
Набряк	0	1 (1; 1)	0,5 (0,5; 0,5) *	0
ШИК-реакція	4 (4; 4)	2 (2; 2)	2,5 (3; 2) *	4 (4; 4) **
Збереження структури СОШ	4 (4; 4)	1,5 (1; 2)	2,5 (3; 2) *	3 (3; 3) *

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з тваринами групи контрольної патології.

Щури обох груп, що отримували лікування, за зовнішнім виглядом та поведінкою не відрізнялися від тварин із групи інтактного контролю.

При лікуванні омепразолом зменшувалася вираженість ерозивного пошкодження слизової шлунка: тільки 3 тварини із 6 мали виразки в СОШ із середньою площею $2,2 \pm 1,0$ мм² (табл. 7.2). Ступінь ураження залозистих трубок у дефектах був у межах 1/3 довжини залоз. Поза зонами пошкодження структура слизової на багатьох ділянках була звичайною. Але відмічали набряк строми вогнищевого характеру, набряк підслизового шару, але менший, ніж у тварин контрольної групи. У тварин із пошкодженням СОШ спостерігалися і гемокапілярні розлади, які супроводжувалися діapedезними крововиливами та порушенням структури залоз. При цьому відносно контролю кількість геморагій зменшилася в 3 рази, гіперемія та складчастість – у 2,5, а набряк – у 5 разів

(табл. 7.3). Також покращилася гістроструктура СОШ в 1,7 раза відносно контролю ($p \leq 0,05$). При цьому активність мукоїдного синтезу була вищою в 1,6 раза ($p \leq 0,05$) від такого показника у щурів з групи контрольної патології.

Лікування щурів омепразолом та мелатоніном сприяло значному покращенню морфологічного стану шлунка (рис. 7.6). Лише у двох щурів знайдено по одній дрібній ерозії (до 1/3 довжини залоз) із середньою їх площею $1,2 \pm 0,7$ мм² (табл. 7.2), кістоподібне розширення просвіту групи пілоричних залоз.

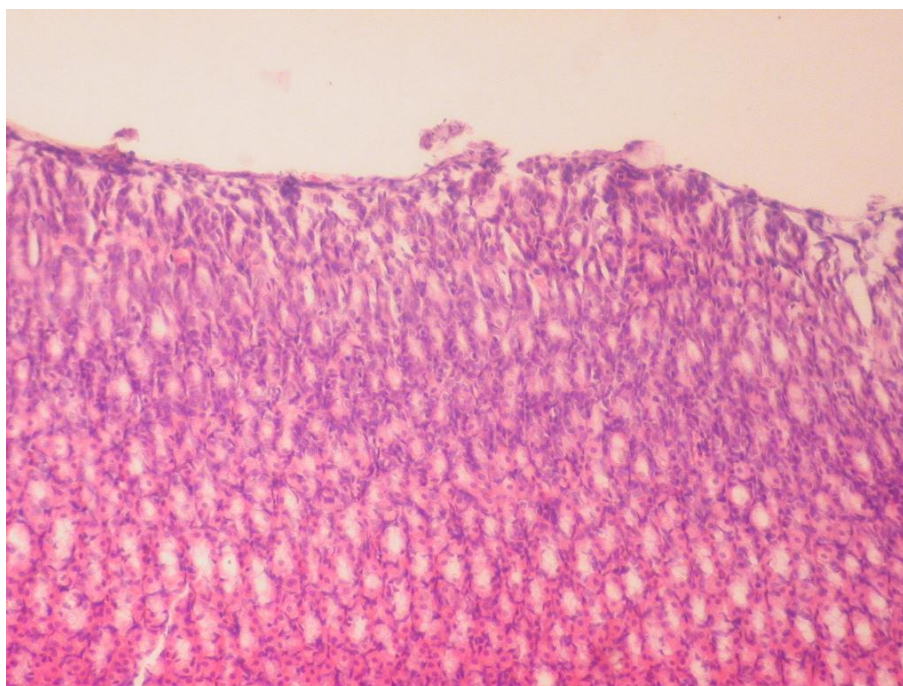


Рисунок 7.6. Слизова оболонка шлунка щура-самця віком 9 міс, що отримував комбіноване лікування. Гематоксилін-еозин. 36×100

У досліджених зонах СОШ подекуди спостерігалися дуже обмежені поверхневі нечисленні злуцені покривні клітини і не дуже помітне зниження їх висоти. У цілому, слизова мала типовий морфологічний малюнок. Потужність мукоїдного синтезу клітинами покривного та ямкового епітелію, додатковими клітинами власних залоз, клітинами пілоричних залоз на більшості ділянок була достатньою. У секреті безумовну перевагу мали нейтральні мукополісахариди (рис. 7.7).

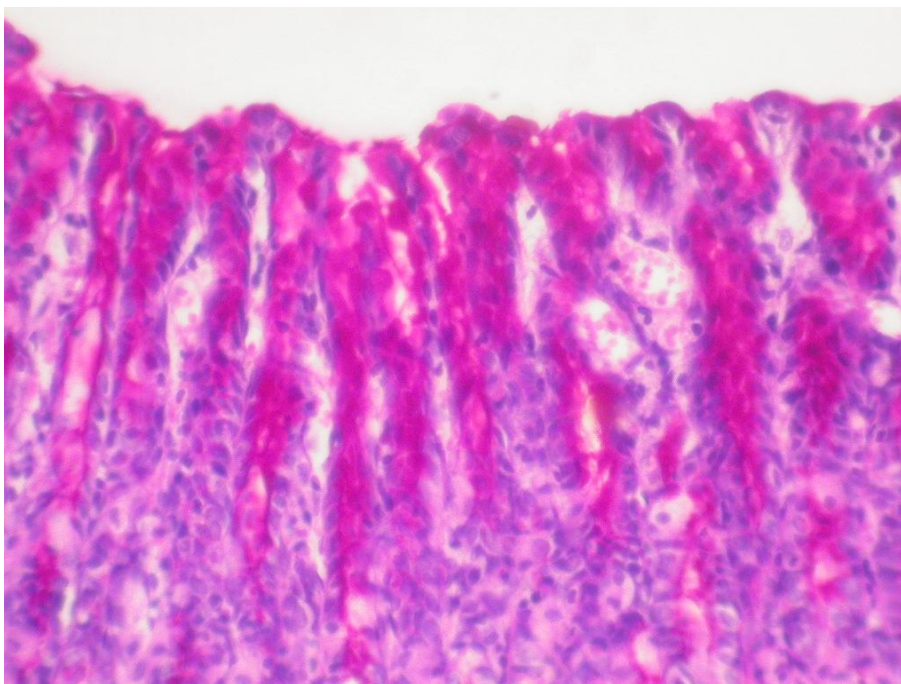


Рисунок 7.7. Слизова оболонка шлунка щура-самця віком 9 міс, що отримував комбіноване лікування. ШИК-реакція за Мак-Манусом. Зб.×100

При макроскопічній оцінці кількість геморагій, гіперемії та порушення складчастості зменшилися в 5–6 разів відносно контрольної патології (табл. 7.3). Інтенсивність ушкодження СОШ у досліджених зразках шлунків щурів, що отримували комбіноване лікування, знизилася у 7 разів; гемокапілярних розладів – у 5 разів; зменшилася глибина пошкодження залоз у 4 рази порівняно зі зразками шлунків тварин контрольної патології. Збереженість ділянок СОШ і потужність мукоїдної секреції зросли у 2 рази та відповідали показникам інтактного контролю ($p \leq 0,05$).

Порівнюючи виразковий індекс та противиразкову активність при різних способах лікування встановлено, що комбіноване лікування з використанням екзогенного мелатоніну в 2,8 раза зменшує виразковий індекс порівняно з лікуванням лише омепразолом, а показник противиразкової активності підвищує на 5 %.

7.2.2. Визначення кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів з виразковим ураженням шлунка при лікуванні екзогенним мелатоніном

Одночасно з морфологічним і гістологічним дослідженням СОШ нами було проведено імуногістохімічне дослідження стану мелатонін-позитивно-мічених клітин при різних варіантах лікування виразкового ураження шлунка. У зразках щурів із виразковим ураженням без лікування спостерігалось порушення структури, межі клітин та ворсин були розмиті за рахунок запального набряку, кількість МПМК незначна та представлена переважно клітинами 1-го типу (рис. 7.8)

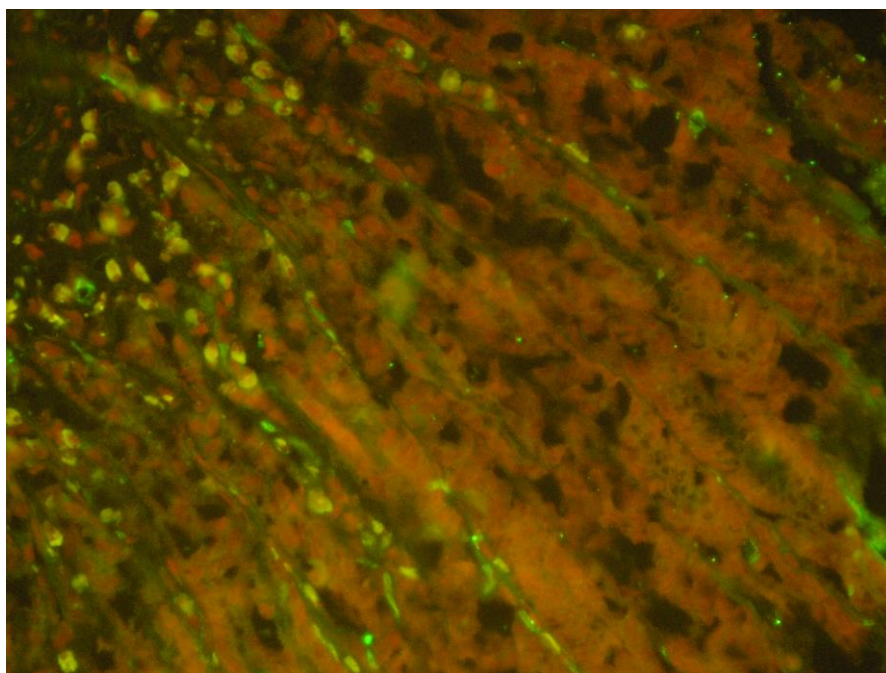


Рисунок 7.8. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка самця віком 9 міс групи контрольної патології. 3б.×400

Лікування омепразолом сприяло збільшенню кількості МПМК в 1,6 раза відносно щурів із виразкою без лікування ($p \leq 0,05$) (рис. 7.9).

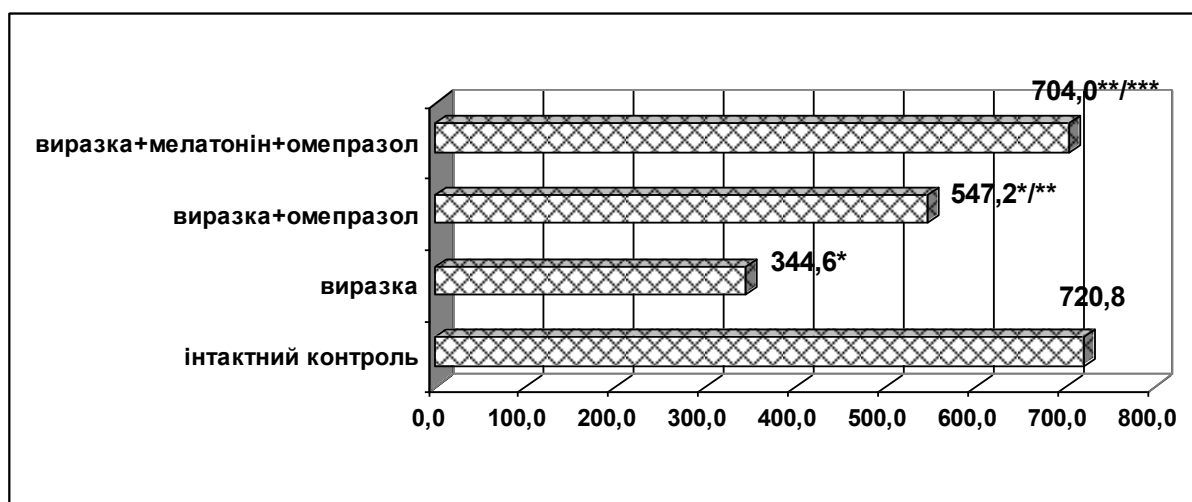


Рисунок 7.9. Кількість мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка щурів-самців при лікуванні виразкового ураження шлунка екзогенним мелатоніном

Примітка: * $p \leq 0,05$ по відношенню до інтактного контролю, ** $p \leq 0,05$ по відношенню до щурів з виразкою без лікування, *** $p \leq 0,05$ по відношенню до щурів, що отримували лікування омепразолом.

При використанні комбінованої терапії мелатоніном і омепразолом кількість МПМК збільшилася в 2 рази відносно групи щурів з виразкою без лікування та в 1,3 раза відносно тварин, що отримували монотерапію омепразолом ($p \leq 0,05$) (рис. 7.9).

Значні відмінності були виявлені у співвідношенні різних типів клітин (табл. 7.5).

Таблиця 7.5

Співвідношення різних типів мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка при лікуванні виразкового ураження екзогенним мелатоніном

Експериментальні групи	Тип мелатонін-позитивно-мічених клітин, %		
	1-ий тип	2-ий тип	3-ій тип
1	2	3	4
Інтактний контроль	40	47	13

1	2	3	4
Контрольна патологія	52	48	0
Омепразол	50	47	3
Омепразол+Мелатонін	42	42	16

Так, при монотерапії омепразолом у зразках з'являлись клітини 3-го типу, відсутні при виразковому ураженні (рис. 7.10).

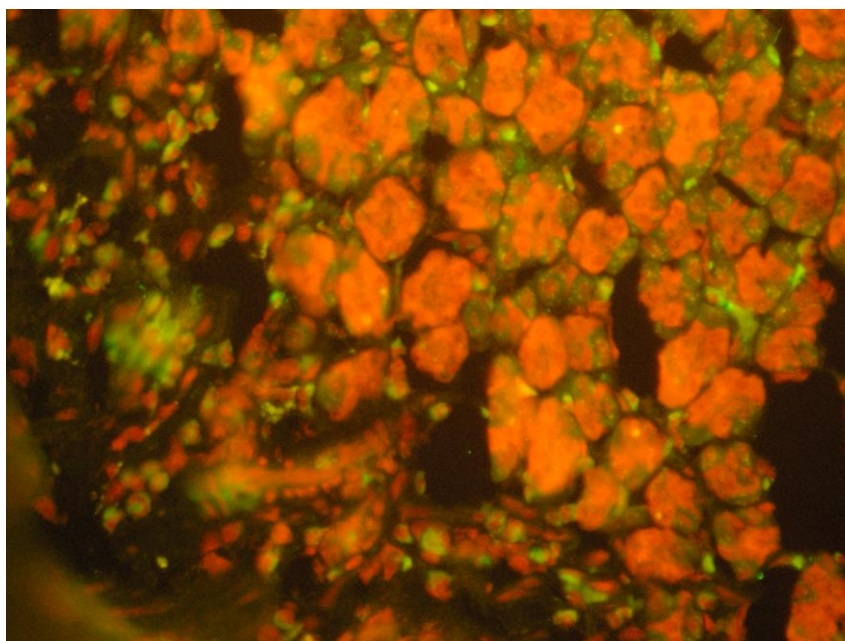


Рисунок 7.10. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка самця віком 9 міс при лікуванні омепразолом. Зб. $\times 400$

При використанні екзогенного мелатоніну в комбінації з омепразолом МПМК 1-го і 2-го типів присутні у рівній кількості, а кількість 3-го типу перевищує показник інтактних тварин на 3 % (рис. 7.11).

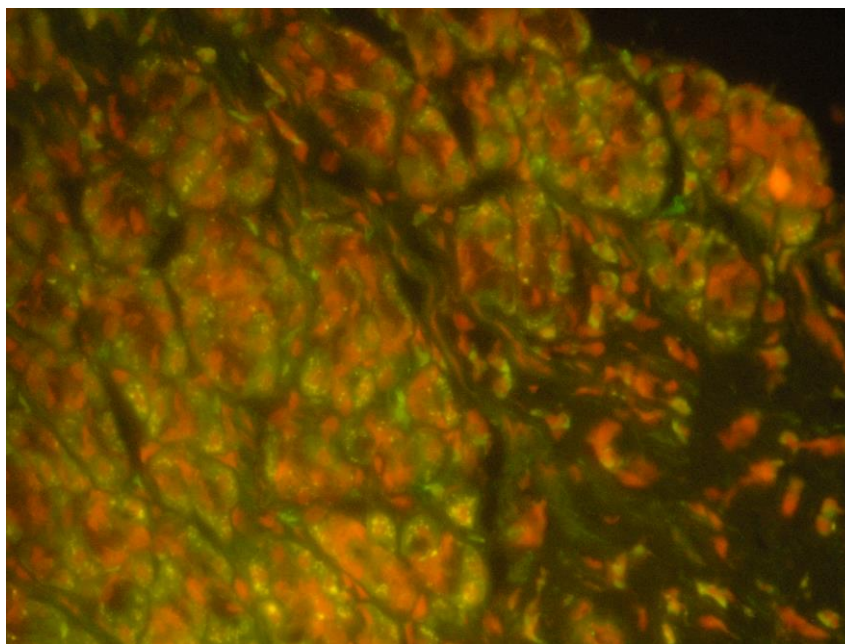


Рисунок 7.11. Мелатонін-позитивно-мічені клітини слизової оболонки шлунка самця віком 9 міс при лікуванні мелатоніном і омепразолом. Зб.×400

Отримані в ході біохімічного, морфологічного, гістологічного та імуногістохімічного досліджень результати свідчать, що мелатонін покращує противиразкову активність вже відомого ІІІ омепразола. Механізм противиразкової активності, на нашу думку, складається із покращення мікроциркуляції в СОШ внаслідок розслаблюючого впливу мелатоніну на гладку мускулатуру кровоносних судин, антиоксидантної дії та проліферативних процесів, що стосуються не тільки стимуляції репарації епітеліальних клітин, а і власних – мелатонін-продукуючих клітин СОШ.

Висновки

1. Застосування мелатоніну як додаткового засобу для лікування виразкового ураження шлунка чинило виражену нормалізуючу дію на стан біохімічних показників цитолізу, пригнічувало процеси вільнорадикального окиснення, стимулювало антиоксидантний захист.

2. Під впливом комплексної терапії з використанням екзогенного мелатоніну відувалося зменшення кількості та глибини виразкових дефектів, нормалізувався місцевий кровотік у СОШ, підвищувався мукоїдний синтез.

3. Включення екзогенного мелатоніну до схеми лікування виразкового

ураження шлунка вело до стимуляції процесів проліферації мелатонін-продукуючих клітин та нормалізації як їх кількості, так і якісного складу.

Матеріали цього розділу оприлюднені в наступних публікаціях дисертанта:

1. Гнатюк В. В. Стан системи пероксидації ліпідів та антиоксидантного захисту в слизовій оболонці шлунка при виразках на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Бюлетень XIII чтений им. Подвысоцкого: тези доп. – Одесса. – 2014. – С. 69.

2. Гнатюк В. В. Морфо-біохімічне дослідження стану слизової оболонки шлунка з виразковим ураженням при лікуванні екзогенним мелатоніном / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Бюлетень XVI чтений им. Подвысоцкого, тези доп. – 18–19 мая 2017 г. – Одесса. – 2017. – С. 80–82.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Протягом останніх років в Україні спостерігається значний ріст кількості захворювань органів травлення [132], що зумовлене складною екологічною ситуацією, зловживанням алкоголем, неконтрольованим прийомом медикаментозних препаратів [20]. Виразкова хвороба – це хронічне захворювання шлунка і дванадцятипалої кишки, яке перебігає циклічно, характеризується сезонністю, морфологічно – утворенням виразок СОШ і ДПК у період загострення [207].

У даний час виразкова хвороба шлунка і ДПК є поширеним в усьому світі захворюванням, на яке страждають 10–15 % усього дорослого населення [1, 65, 133, 240]. Тільки в Україні число зареєстрованих хворих складає 5 млн. чоловік, при цьому кожен другий лікується в стаціонарі, а кожен третій втрачає працездатність повторно протягом одного року [132]. Нерідко ВХ є причиною інвалідності, вона може давати тяжкі ускладнення, які у деяких випадках призводять до летальних наслідків, зокрема при виразковій кровотечі, при оперативних втручаннях летальність складає 9,1–9,9 %, що зумовлює медичну й соціальну значущість проблеми [139]. Виникає це захворювання у людей будь-якого віку, але частіше у віці 30–40 років. Американські вчені наводять дані про те, що це захворювання зустрічається у 10 % осіб чоловічої статі. Причому міське населення хворіє на ВХ частіше, ніж сільське, чоловіки хворіють у 3–5 рази частіше, ніж жінки [20, 90, 159, 216].

Слід зазначити, що кількість лікарських засобів, які застосовуються для консервативного лікування ВХШ та ДПК на сьогоднішній день перевищує 500, а методів лікування – 1000, що свідчить про їх недостатню ефективність. ВХ – це поліетіологічне захворювання, що виникає як наслідок розладів гуморальної та ендокринної регуляції, секреторних і моторних процесів, а також порушень захисних механізмів слизової оболонки гастродуоденальної

зони [167].

Серед гуморальних регуляторних факторів секреторної та моторної функції шлунка провідне значення належить пептидним гормонам і біогенним амінам, які синтезуються і виділяються клітинами APUD-системи, що входить до ДНЕС. При цьому, в APUD-системі виявлені не тільки гормони, що регулюють діяльність органів травлення (гастрин, соматостатин, глюкагон, секретин, тощо), але і такі як АКТГ, серотонін, мелатонін, кортизол, тироксин та інші, які традиційно належать до гормонів гіпофіза, епіфіза, надниркових та щитоподібної залоз. Особливе місце серед клітин APUD-системи займає гастроентеропанкреатична ендокринна система, маса клітин якої навіть більше, ніж маса всіх ендокринних залоз разом узятих [267].

Унікальне регуляторне значення для роботи нервової та ендокринної систем має епіфіз, здатний інтегрувати різні екзогенні й ендогенні сигнали, трансформуючи їх у гормональну відповідь. Усі біологічні ритми в організмі тварин та людини перебувають у суворій підпорядкованості водію ритму, який розташований в супрахіазматичних ядрах гіпоталамуса. Гормоном-посередником, який доносить сигнали до органів і тканин, є мелатонін. В останні роки роль мелатоніну в організмі людини викликає підвищену увагу лікарів та науковців. Це пов'язано з біоритмологічними [46, 47, 86, 122], антиоксидантним [228, 243], імуномодулюючим [25, 239] та іншими ефектами мелатоніну, що забезпечують нормальну життєдіяльність організму. У ссавців джерелом мелатоніну є епіфіз, де він синтезується із незамінної для людини амінокислоти – триптофану, це так званий пінеальний мелатонін. Відомо, що в перші роки життя синтез мелатоніну в епіфізі збільшується, а потім протягом усього життя поступового та повільно знижується [267]. Але вміст мелатоніну в організмі обумовлений не тільки секрецією пінеалоцитів, але і екстрапінеальними джерелами його синтезу, а саме: апудоцитами шлунково-кишкового тракту та повітряних шляхів, печінки, нирок, надниркових залоз, парагангліїв та позаендокринних

клітин (природні кілери, тучні клітини, еозинофільні лейкоцити та ін.) [144, 217]. Рівень мелатоніну в крові схильний до значних коливань під дією таких факторів, як вік, стать, сон, світло, температура навколишнього середовища, дія електромагнітних полів тощо [270]. Добре відомо, що синтезу мелатоніну притаманні циркадні та циркануальні ритми [86, 198, 207, 280]. Інтерес науковців саме до сезонних особливостей синтезу мелатоніну пов'язаний з однією із найзагадковіших проблем сучасної медицини – проблемою сезонних загострень захворювань, до яких належить і виразкова хвороба.

Разом із тим не менший інтерес для науковців становить розвиток виразкової хвороби у чоловіків молодого віку [65]. Вплив епіфіза на статевий розвиток і репродукцію вивчені достатньо [197, 215, 246, 282], у той же час залежність розвитку виразкового ураження від вмісту тестостерону, взаємозв'язок між рівнем тестостерону і мелатоніну практично не досліджені.

Крім того, в науковій літературі практично не розглянуті питання морфології та функції мелатонін-продукуючих клітин СОШ, їх роль у патогенезі виразкової хвороби. Тому метою нашого дослідження стало обґрунтування ролі, особливостей синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну, з'ясування гормональних та імунних механізмів у патогенезі виразкової хвороби шлунка у щурів різної статі та віку.

Експериментальні дослідження проведені на 552 нелінійних щурах різної статі віком 3, 9, 15 та 20 міс, що відповідає віку людини 14, 29–30, 43–44 та 55–56 років [52].

Першим етапом нашої роботи стало вивчення вмісту мелатоніну в сироватці крові в різні сезони року в щурів різної статі та віку. Визначення рівня мелатоніну проводили методом імуноферментного аналізу ELISA. Для визначення циркануального ритму секреції мелатоніну дослідження проводили протягом року в різні сезони: осінь (жовтень), зима (січень), весна (березень) та літо (липень) в умовах природного освітлення без впливу штучних джерел світла. Співвідношення світло/темрява в різні періоди досліді було наступним: осінь – 10/14, зима – 8/16, весна – 12/12, літо – 16/8.

У ході проведеного дослідження нами встановлено, що у літній період найбільший вміст мелатоніну присутній у самців віком 15 міс – $314,33 \pm 14,18$ пмоль/л, у самок віком 3 міс – $310,39 \pm 12,91$ пмоль/л, найменший – у щурів обох статей віком 20 міс (у самців – $262,37 \pm 14,25$ пмоль/л, у самок – $200,95 \pm 13,85$ пмоль/л).

Восени рівень мелатоніну опускався до найнижчого відносно інших сезонних досліджень та був на 47 %, 58 %, 50 % і 51 % нижчим, ніж влітку, у самців віком 3, 9, 15 та 20 міс відповідно ($p \leq 0,05$). У самок відносно літа вміст мелатоніну в сироватці був відповідно віку нижчим на 49 %, 52 %, 40 %, 38 % ($p \leq 0,05$). Найменший вміст мелатоніну встановлений у самців віком 9 міс – $164,12 \pm 9,62$ пмоль/л.

У наступному сезоні – взимку – вміст мелатоніну знову підвищується у тварин обох статей. Найбільший його рівень спостерігається у тварин віком 3 міс ($303,37 \pm 7,57$ пмоль/л – у самців і $319,28 \pm 22,36$ пмоль/л – у самок), з достовірним зниженням його рівня до віку 20 міс (на 18 % – у самців, на 42 % – у самок) відносно щурів віком 3 міс.

Навесні рівень мелатоніну знову починає знижуватися. У всіх вікових групах щурів-самців він був нижчим як відносно зимових показників, так і показників влітку на 34 %, 49 %, 42 %, 43 % та 36 %, 53 %, 47 %, 46 % відповідно ($p \leq 0,05$) з найнижчим рівнем у самців віком 20 міс – $140,54 \pm 8,43$ пмоль/л та 9 міс – $142,33 \pm 7,18$ пмоль/л. У щурів-самок показники навесні також були нижчими відносно вмісту мелатоніну взимку на 24 %, 29 %, 40 %, 27 % у віці 3, 9, 15 та 20 міс та відносно вмісту мелатоніну влітку на 21 %, 32 %, 40 %, 33 % ($p \leq 0,05$) відповідно віку.

Оцінюючи коливання рівня мелатоніну в різні сезони у щурів різної статі було встановлено, що достовірна різниця між його рівнем присутня взимку між щурами віком 20 міс, навесні – між віковими групами 3 та 9 міс, влітку – між віковими групами 15 та 20 міс.

Таким чином, порівнюючи показники вмісту мелатоніну в різні сезони нами встановлено, що у щурів усіх вікових груп і різної статі найбільший

рівень мелатоніну спостерігався в літній та зимовий періоди, а найменший – восени та навесні. Вважається, що восени та взимку у зв'язку зі зменшенням освітлення рівень мелатоніну в організмі повинен збільшуватися, а навесні та влітку, навпаки, знижуватися [14]. Оцінюючи отримані в наших дослідженнях дані щодо сезонних коливань вмісту мелатоніну в сироватці крові встановлено, що влітку в усіх вікових групах цей показник був найвищим, що не збігається з даними деяких наукових праць [14], але узгоджується з даними іншої праці [270], де обговорюються питання наявності високої екскреції 6-сульфтоксимелатоніну – метаболіту мелатоніну в сечі саме влітку вночі. Цей факт пояснюється дослідниками впливом на синтез та секрецію мелатоніну не тільки тривалості світлового дня, а і змінами вертикального компонента геомагнітного поля Землі [143]. Таким чином, отримані дані свідчать, що цикл світло-темрява хоча і є потужним, але не єдиним фактором зовнішнього середовища, який регулює формування біоритмів у пінеальній залозі. Також, на нашу думку, слід враховувати екстрапінеальні джерела синтезу мелатоніну, гормон із яких також може потрапляти в кровотік [145], а отже бути частиною мелатоніну, що визначається під час аналізу. Найменший вміст мелатоніну у щурів обох статей було виявлено восени та навесні, що узгоджується з даними літератури, де обговорюються питання існування сезонного фізіологічного десинхронозу в період біологічної весни та осені [164].

Порівнянням вмісту мелатоніну між віковими групами встановлено, що найменший його вміст восени у щурів-самців віком 9 міс; взимку, навесні та влітку – у щурів віком 20 міс. У самок – у всі сезони найнижчий вміст мелатоніну присутній у тварин віком 20 міс. При цьому привертає увагу, що зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові у самок відбувається поступово від найвищого у тварин віком 3 міс до найнижчого у самок віком 20 міс. Найбільший рівень мелатоніну в сироватці був у щурів віком 3 міс обох статей, за винятком літнього сезону, коли у щурів-самців віком 15 міс він був недостовірно вищим відносно щурів віком 3 міс. Таким чином, при

порівнянні вмісту мелатоніну в різних вікових групах найбільший у всі сезони як у самців, так і у самок визначений у віці 3 міс (відповідає віку людини 14 років), найменший – у щурів віком 20 міс (відповідає віку 55–56 років). Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури, де автори відмічають зниження вмісту мелатоніну у людей похилого віку у зв'язку з віковою інволюцією пінеальної залози [4, 122]. Водночас у нашому дослідженні був визначений низький вміст мелатоніну ще і у самців активного репродуктивного віку 9 міс восени (відповідає віку 29–30 років), що потребувало подальших досліджень.

Отримавши відомості про зміни рівня мелатоніну в крові в різні сезони, які свідчать про існування циркануального ритму секреції, вікові та статеві відмінності його кількості, наступним етапом нашого дослідження стало вивчення вмісту тестостерону – чоловічого статевого гормону в сироватці крові у щурів різного віку та статі. Тестостерон – є головним гормоном, що підтримує сексуальну функцію у чоловіків, забезпечує взаємодію між нервовою, ендокринною та судинною системами та впливає на функціонування репродуктивної системи жінок [2]. Також особливу увагу науковців та лікарів привертає питання залежності розвитку виразкової хвороби, інфаркту міокарда, гіпертонічної хвороби від статі та віку [216, 222, 255], а для виразкової хвороби – ще і наявність сезонних загострень у осінньо-весняний період з високим рівнем захворюваності у чоловіків молодого віку [65]. Саме ці особливості і стали основою для обрання напрямком дослідження саме рівня тестостерону.

На початку роботи одночасно із визначенням мелатоніну нами були проведені визначення рівня тестостерону у сироватці крові щурів різного віку та статі в різні сезони року. При дослідженні циркануального ритму секреції тестостерону найвищий вміст гормону встановлено восени у щурів-самців віком 9 міс – $7,58 \pm 0,53$ нмоль/л, 15 міс – $6,77 \pm 0,48$ нмоль/л та у щурів-самок віком 3 міс – $4,12 \pm 0,05$ нмоль/л.

У щурів однієї статі – самців віком 3, 9 та 15 міс показники

тестостерону були найвищими восени та достовірно перевищували рівень тестостерону взимку в 1,7–2,3 раза та в 1,4–1,5 раза влітку ($p \leq 0,05$). Достовірні відмінності між рівнем тестостерону восени та навесні між щурами цього віку відсутні. У щурів-самців віком 20 міс найменший вміст тестостерону спостерігається взимку, як і в інші сезони відносно щурів-самців інших вікових груп. При цьому достовірна різниця між рівнями тестостерону в цій віковій групі в різні сезони року відсутня, що є важливим показником старіння, яке відбувається в організмі чоловіків [15]. Отже, нами був встановлений чіткий циркануальний ритм секреції тестостерону у щурів-самців: низький взимку з поступовим збільшенням до високого восени в усіх вікових групах, що співпадає з даними літератури [158].

У щурів-самок на відміну від самців вміст тестостерону не має чіткої залежності від сезону року. Найбільший його рівень в сироватці крові був восени, взимку та влітку у тварин віком 3 міс, а навесні – 9 міс. Найменший, як і у щурів-самців, спостерігається у всі сезони у самок віком 20 міс з достовірною різницею лише між самками віком 3 та 20 міс восени ($p \leq 0,05$).

Таким чином, отримані результати свідчать, що зміни тривалості світлового дня впродовж року мають достовірний вплив на вміст тестостерону в сироватці крові щурів-самців з підйомом восени та зниженням взимку в усіх вікових групах. Для щурів-самок такий циркануальний ритм секреції тестостерону не встановлений.

Отримавши дані щодо змін, які відбуваються у вмісті мелатоніну та тестостерону в сироватці крові впродовж року, наступним етапом нашої роботи було визначення наявного кореляційного зв'язку між синтезом цих гормонів та оцінювання його сили. Для цього нами був обрахований коефіцієнт кореляції r -Пірсона, що характеризує як напрямок, так і силу зв'язку між двома величинами [109]. Оцінку щільності зв'язку проводили за – Таблицею Чедока [253].

Згідно з отриманими результатами встановлено, що між мелатоніном та тестостероном у вікових групах 3, 9 та 15 міс у щурів обох статей присутній

негативний кореляційний зв'язок, який характеризується тим, що при збільшенні кількості одного показника інший зменшується, та навпаки [225]. Установлений кореляційний зв'язок значно відрізнявся між самцями та самками в різні сезони року.

Так, у щурів-самців восени щільність зв'язку дорівнювала -0,62; -0,92; -0,70 у віці 3, 9, 15 міс, що відповідає сильному для щурів віком 9 міс, дуже сильному – для щурів 15 міс та значному – для щурів віком 3 міс. У щурів віком 20 міс, навпаки. щільність зв'язку була слабкою та прямою 0,17, що свідчить про відсутність зв'язку між мелатоніном і тестостероном у старих самців. Взимку у щурів-самців віком 3, 9 та 15 міс взаємозв'язок залишався зворотним негативним, але з помірною щільністю – відповідає коефіцієнтам кореляції -0,33; -0,50; -0,46 відповідно та був зовсім відсутній у щурів віком 20 міс – $r = 0,02$. Зміни, що відбулися навесні у рівні мелатоніну та тестостерону щурів-самців призвели до збільшення щільності зв'язку у щурів-самців віком 3, 9, 15 міс, але як і взимку у самців віком 20 міс, він був відсутній. Влітку був встановлений зв'язок помірної щільності -0,38; -0,42; -0,46 у щурів-самців віком 3, 9 та 15 міс відповідно. При цьому в самців віком 20 міс він був відсутній, змінивши напрямок на негативний $r = -0,04$.

Досліджуючи коефіцієнти кореляції для самок у різні сезони встановлено слабкий (0,12) прямий зв'язок восени у самок віком 9 міс, взимку – у самок 15 міс (0,15) та влітку – в самок віком 3 міс (0,19). Слабкий зворотний зв'язок був визначений у щурів-самок взимку у вікових групах 3 та 9 міс (-0,19 та -0,20 відповідно), навесні у вікових групах 9 та 20 міс (-0,12 та -0,20). В інших вікових групах у різні сезони він був відсутній, що вказує на відсутність взаємозв'язку у щурів-самок між синтезом мелатоніну та тестостерону.

Таким чином, тільки для щурів-самців віком 3, 9 та 15 міс у різні сезони року був притаманний зворотній кореляційний зв'язок між вмістом гормонів, що свідчить про існування впливу мелатоніну на рівень тестостерону. Отримані результати співпадають із даними авторів щодо

вираженої антигонадотропної дії мелатоніну [22]. Зниження вмісту мелатоніну в крові стимулює виділення гіпофізом статевих гормонів – лютеїнізуючого та фолікулостимулюючого [145]. У роботі Е.І. Плехової та співавт. викладені результати дослідження рівня мелатоніну у здорових хлопчиків-підлітків у процесі статевого созрівання. Представлені у роботі дані свідчать про достовірно нижчі значення епіфізарного гормону у хлопців, які знаходяться на ранніх етапах статевого розвитку [69]. Дані спостереження дозволяють припустити, що відсутність вираженого підйому рівня мелатоніну в нічний час у період статевого розвитку створює умови для формування принципово інших взаємовідносин епіфіза і гіпоталамо-гіпофізарно-гонадного комплексу, що супроводжується посиленням гормонопродукуючої активності гонад. Однак у дівчат такі зміни відмічені не були. У наших дослідженнях [43] також спостерігалась відсутність такого зв'язку у щурів-самок, що дозволяє нам стверджувати, що не тільки мелатонін впливає на вміст тестостерону, а й високі рівні тестостерону, що були визначенні у самців, але відсутні у самок при сезонних коливаннях [32, 36], мають вплив на секрецію мелатоніну.

Установлений високий взаємозв'язок із сильною та дуже сильною щільністю між гормонами у щурів-самців віком 9 та 15 міс, що відповідає віку людини 29–45 років (період статевої активності), восени – період фізіологічного десинхронозу – може бути поясненням сезонного загострення виразкової хвороби у чоловіків молодого віку.

Після визначення змін у секреції мелатоніну та тестостерону в різні сезони року, коли відбувається природне коливання освітлення, наступним етапом нашого дослідження стало вивчення їх вмісту в сироватці крові при порушенні світлового режиму. Останнім часом, а саме після появи електрики та її повсюдного використання, уклад життя сучасної людини дуже змінився. Ці зміни викликані перш за все штучним збільшенням тривалості світлового дня, що неминуче вплинуло на спосіб життя усіх верств населення, починаючи від маленьких дітей та закінчуючи людьми похилого віку. Більше

того, деякі особи (переважно репродуктивного віку) значну частину свого життя проводять в умовах цілодобового освітлення. Це стосується не тільки 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, хворіє на безсоння, спілкується або працює на комп'ютері у нічний час, а також багато часу проводить перед монітором [266]. 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 і захворювань внутрішніх органів [46, 48, 191]. Саме тому наступним етапом нашого дослідження було визначення вмісту мелатоніну у щурів різної статі та віку на тлі світлового десинхронозу.

У ході дослідження встановлено, що на тлі десинхронозу відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей та різного віку. Найбільше зниження вмісту мелатоніну відносно контролю відбулося у щурів-самців віком 9 міс – на 31 %, в той час як у самок цієї вікової групи показник був нижче на 18 % і становив $197,22 \pm 10,71$ пмоль/л і $236,72 \pm 10,16$ пмоль/л відповідно. Також значними були зниження вмісту мелатоніну відносно контролю у щурів обох статей віком 20 міс – на 23 % у самців та 24 % у самок ($p \leq 0,05$). У вікових групах 3 та 15 міс вміст мелатоніну в сироватці крові знижувався майже однаково у самців і самок – 18 % та 19 % – у самців, 16 % та 22 % – у самок ($p \leq 0,05$) та становив при десинхронозі $250,26 \pm 16,73$ пмоль/л у самців віком 3 міс, $235,93 \pm 16,67$ пмоль/л – у самців віком 15 міс, $267,78 \pm 14,90$ пмоль/л у самок віком 3 міс та $201,02 \pm 13,85$ пмоль/л у самок віком 15 міс. Цілодобове освітлення призвело і до зміни співвідношення рівнів мелатоніну між віковими групами. Так, у самців контрольної групи найнижчий показник рівня мелатоніну встановлений у щурів віком 20 міс – $249,97 \pm 13,46$ пмоль/л,

який був достовірно нижчим вмісту мелатоніну в інших вікових групах. При десинхронозі найнижчі показники визначені у щурів-самців віком 9 міс – $197,22 \pm 10,71$ пмоль/л, що було майже на рівні показника щурів віком 20 міс – $192,50 \pm 19,16$ пмоль/л та на 21 % ($p \leq 0,05$) нижче відносно щурів віком 3 міс (у контрольних групах різниця між цим показником у відповідних групах була 5 %). Порівнюючи показники вмісту мелатоніну у щурів-самців і самок встановлено, що в контрольних групах у щурів-самців віком 3 та 9 міс вміст мелатоніну в сироватці крові був на 5 % і 9 % нижче вмісту мелатоніну у щурів-самок відповідного віку. І навпаки, у щурів-самців віком 15 та 20 міс вміст мелатоніну в сироватці крові був на 13 % і 36 % більшим за показник самок відповідного віку. На фоні порушення освітлення, незважаючи на загальне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові як у щурів-самців, так і у щурів-самок, більш високі показники мелатоніну збереглися у щурів-самців у віці 15 і 20 міс – на 17 % і 30 % відносно самок, та більш низькі у щурів-самців віком 3 і 9 міс – на 7 % і 17 % відповідно. При цьому достовірна різниця в 17 % була наявна тільки між віковими групами 9 міс.

Таким чином, встановлено, що цілодобове освітлення сприяє зниженню вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей, із найменшими рівнями у щурів обох статей віком 20 міс, що відповідає віку людини 55–56 років, та у щурів-самців віком 9 міс, що відповідає віку людини 29–30 років. Отримані дані підтверджують, що порушення ритму освітлення, яке є причиною розвитку зовнішнього світлового десинхронозу, призводить до зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові, що узгоджується з даними літератури [55]. І якщо відомостей про зниження рівня мелатоніну в організмі людини з віком достатньо у науковій літературі [15, 122, 254], то відомості про зниження мелатоніну у статевозрілих чоловіків працездатного віку відсутні. Отримані дані дозволяють припустити, що «світлове забруднення», яке виникає внаслідок роботи або відпочинку в нічній час, при трансконтинентальних перельотах, та, як наслідок, зниження рівня мелатоніну в організмі у чоловіків цієї вікової

групи може призводити до хвороб, що пов'язані з мелатонінодефіцитом – виразкової, гіпертонічної, епілепсії та інших [83, 101, 191, 233].

Отже, порушення ритму освітлення призводить до порушення функції багатьох органів і систем [6, 8, 12, 67]. Згідно з сучасними уявленнями роль провідного водія ритму відіграють СХЯ гіпоталамуса. Через контакти з гіпоталамічними нейроендокринними клітинами, що містять рилізінг-гормони, СХЯ регулюють добові ритми секреції гормонів гіпофіза та надсилають свої сигнали до розташованих на периферії ендокринних залоз (надниркові, щитоподібна та статеві залози), викликаючи ритмічні зміни рівня синтезованих ними гормонів. Основною залозою, що забезпечує організм інформацією про зміни світлового режиму, є пінеальна, а трансміттером цієї інформації – мелатонін. Як ми вже зазначали раніше, підвищення вмісту мелатоніну в крові чинить антигонадотропну дію на синтез гіпофізом лютеїнізуючого та фолікулоstimулюючого гормонів [69], які є основними регуляторами синтезу тестостерону в організмі [152]. Тому одночасно з вивченням вмісту мелатоніну в сироватці крові при десинхронозі ми визначали і рівень тестостерону у щурів різної статі та віку.

Установлено, що на фоні цілодобового освітлення відбувається достовірне підвищення вмісту тестостерону в усіх вікових групах як щурів-самців, так і щурів-самок. Найбільший вміст тестостерону в сироватці крові на тлі десинхронозу визначений у щурів-самців віком 15 міс – $5,09 \pm 0,33$ нмоль/л, що було на 42 % вище від показника контролю – $3,59 \pm 0,57$ нмоль/л ($p \leq 0,05$). У щурів-самців віком 9 міс рівень тестостерону при десинхронозі був нижчим відносно щурів віком 15 міс на 6 % – $4,81 \pm 0,37$ нмоль/л ($p \geq 0,05$), але його підвищення відносно контролю складало 44 % ($p \leq 0,05$). Також значне підвищення – на 40 % відносно контролю спостерігалось в групі щурів віком 3 міс ($p \leq 0,05$). У самців віком 20 міс показник зростання рівня тестостерону при десинхронозі був значно нижчий від інших вікових груп та склав 14 % відносно контролю ($p \geq 0,05$) – це було найменше підвищення в групі щурів-самців, що пояснюється віковими

змiнами в системi регуляцiї ендокринної функцiї.

У щурiв-самок пiдвищення вiмiсту тестостерону на тлi десинхронозу було незначним вiдносно контролю у всiх вiкових групах. При цьому зберiгалася тенденцiя зниження вiмiсту тестостерону з вiком з найвищого у самок вiком 3 мiс – $4,04 \pm 0,11$ нмоль/л, до найнижчого у самок вiком 20 мiс $3,63 \pm 0,11$ нмоль/л, як i в контролi.

Були встановленi i статевi вiдмiнностi мiж вiмiстом тестостерону: у щурiв-самцiв вiн був достовiрно вищий за вiмiст тестостерону у щурiв-самок у вiцi 9 та 15 мiс на 25 % та 35 % вiдповiдно та недостовiрним у вiцi 3 мiс – на 14 %. У старих щурiв вiком 20 мiс на тлi десинхронозу вiмiст тестостерону був на 7 % вищий у самок вiдносно самцiв.

Таким чином, найвищий вiмiст тестостерону на тлi десинхронозу встановлений як у самцiв, так i у самок у вiцi 9 та 15 мiс, що вiдповiдає репродуктивному перiоду людини 20–45 рокiв. При порiвняннi вiмiсту тестостерону у щурiв рiзної статi найбільший рiвень був визначений у самцiв вiком 9 та 15 мiс. Отриманi данi пiдтверджують наші висновки, що змiни освiтлення впливають на рiвень тестостерону в кровi у щурiв обох статей та рiзного вiку.

Визначивши змiни вiмiсту гормонiв у кровi при десинхронозi, ми вирахували коефiцiєнти кореляцiї. З'ясовано, що пiд впливом цiлодобового освiтлення у щурiв рiзного вiку присутнiй негативний зворотний зв'язок як у щурiв-самцiв, так i у щурiв-самок. У самцiв визначається кореляцiйний зв'язок сильної щiльностi у тварин вiком 3, 15 та 20 мiс – $-0,88$; $-0,89$ i $-0,70$ вiдповiдно та дуже сильний $-0,96$ у щурiв вiком 9 мiс. Вiдносно контролю вiдбулося збiльшення щiльностi в 2,6 раза в щурiв вiком 3 мiс, в 2,2 раза – у вiцi 9 мiс та 2 рази – у самцiв вiком 15 мiс. Особливи змiни вiдбулися у старих щурiв вiком 20 мiс, якщо в контролi зв'язок мiж мелатонiном i тестостероном був вiдсутнiй ($r = 0,02$), то при десинхронозi це був сильний щiльний зв'язок ($r = -0,70$).

Як i у старих самцiв, значнi змiни вiдбулися в коефiцiєнтах

кореляційного зв'язку самок: щільність зв'язку збільшилася від слабкого в групі контролю до помірного у самок віком 3 та 20 міс (-0,43 та -0,35 відповідно) і значного у самок віком 9 та 15 міс (-0,66 та -0,56 відповідно).

Отже, отримані дані ще раз підтвердили існування зв'язку між секрецією мелатоніну епіфізом та тестостерону гонадами. Зниження вмісту мелатоніну, що розвивається при світловому десинхронозі, призводить до підвищення рівня тестостерону незалежно від віку та статі, що свідчить про формування нового механізму нейрогормонального зв'язку між центральними та периферичними органами ендокринної системи – єдиного як для самців, так і для самок. При цьому необхідно зауважити, що все ж таки більшу щільність зв'язку мають самці відносно самок.

Вважають, що основним джерелом мелатоніну, який виконує функцію водія ритму різноманітних функцій в організмі, є епіфіз [99, 267]. Однак, майже в 400 разів більше цього індоламіну синтезується в клітинах ШКТ, у тому числі слизової оболонки шлунка [97, 148]. Таким чином, у механізмі розвитку виразкових уражень шлунка мають поєднуватися як патологічні зсуви синтезу епіфізарного мелатоніну при змінах світлового режиму (десинхроноз), так і безпосередньо порушення синтезу мелатоніну нейроендокринними клітинами APUD-системи шлунка при їх деструкції. Тому наступним етапом нашого дослідження стало вивчення вмісту мелатоніну в сироватці крові у щурів з виразковим ураженням шлунка.

Дослідження проводили на щурах обох статей різного віку. Виразкове ураження шлунка моделювали методом спирто-преднізолонового ураження [195]. Пошкодження СОШ призвело до достовірного зниження вмісту мелатоніну у всіх експериментальних групах відносно контролю. Найменший вміст мелатоніну при виразковому ураженні встановлений у самців віком 9 та 20 міс – $174,0 \pm 12,9$ пмоль/л та $141,5 \pm 21,4$ пмоль/л відповідно. Рівень мелатоніну у самців віком 9 міс був на 26 % вірогідно ($p \leq 0,05$) нижчий, ніж у щурів віком 3 міс та на 16 % – порівняно зі щурами віком 15 міс ($p \geq 0,05$). У щурів віком 20 міс рівень мелатоніну був нижчий на

40 % та 32 % відносно груп тварин віком 3 і 15 міс ($p \leq 0,05$). У самок найнижчий рівень мелатоніну встановлений у тварин віком 20 міс – $143,3 \pm 12,2$ пмоль/л, що було достовірно нижче показників інших вікових груп, найвищий рівень – у самок віком 3 міс – $252,6 \pm 13,7$ пмоль/л.

Порівнюючи вміст мелатоніну в сироватці крові щурів-самців та щурів-самок при виразковому ураженні СОШ встановлено, що у щурів-самців віком 3, 9 та 20 міс вміст мелатоніну був нижчим порівняно зі вмістом мелатоніну у щурів-самок, і тільки у щурів-самців віком 15 міс він перевищував показник самок на 4 % ($p \geq 0,05$). Найбільше зниження мелатоніну встановлене у віці 9 міс: на 39 % – у самців та на 23 % – у самок відносно контролю та 20 міс – 43 % та 22 % відповідно ($p \leq 0,05$).

Отже, отримані результати свідчать, що виразкове ураження шлунка, призводить до зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей та всіх вікових груп, що, на нашу думку, пов'язано із пошкодженням ентерохромафінних клітин СОШ, а саме мелатонін-продукуючих клітин. Привертає увагу те, що незважаючи на відсутність достовірної різниці між вмістом мелатоніну у самців та самок на фоні виразкового ураження шлунка, загальний рівень його зниження у самців більший (22–43 % відносно контролю), ніж у самок (21–23 %). Найбільші статеві відмінності у рівнях зниження мелатоніну встановлені у віці 9 міс (відповідає віку людини 29–30 років) та 20 міс (відповідає віку людини 55–56 років). Це дозволяє припустити, що саме у чоловіків віком 29–30 та 55–56 років виразкове ураження призводить до значного пошкодження екстрапінеальних джерел синтезу мелатоніну та більш тяжкого перебігу виразкової хвороби з розвитком ускладнень, що співпадає з даними літератури [65, 216, 255].

Як і у попередніх наших дослідженнях, одночасно із визначенням вмісту мелатоніну, ми вивчали і рівень тестостерону в сироватці крові піддослідних щурів.

У ході проведеного експерименту встановлено, що при виразковому ураженні СОШ відбувається підвищення рівня тестостерону в сироватці

крові щурів обох статей різного віку. Достовірне підвищення вмісту гормону відносно контролю в 1,5, 1,8 та 1,6 раза встановлене у щурів-самців віком 3, 9, 15 міс відповідно з найбільшим рівнем у щурів віком 9 міс – $5,95 \pm 0,76$ нмоль/л. У щурів-самок підвищення відносно контролю було незначним – у 1,05, 1,12, 1,11, 1,07 раза у віці 3, 9, 15 та 20 міс відповідно ($p \geq 0,05$).

Виразкове ураження СОШ призвело до зміни співвідношення між рівнями тестостерону у щурів однієї статі, але різного віку, а саме: в контрольній групі щурів-самців найнижчий рівень тестостерону був у щурів віком 20 міс – $3,01 \pm 0,28$ нмоль/л, що було менше ніж у щурів віком 3 міс на 9 %, 9 міс – на 10 % та 15 міс – на 16 % без достовірної різниці; при виразковому ураженні СОШ відбувся значний підйом вмісту тестостерону у щурів віком 3, 9 та 15 міс відносно старих щурів віком 20 міс з достовірною різницею відносно щурів віком 9 та 15 міс на 47 % та 46 % відповідно, та різницею у 39 % відносно щурів віком 3 міс.

У самок при виразковому ураженні СОШ також відбувся підйом рівня тестостерону в сироватці крові в усіх вікових групах – на 5 % у віці 3 міс, на 12 % – у віці 9 міс, на 11 % – у віці 15 міс та на 7 % – у віці 20 міс відносно контролю ($p \geq 0,05$). Найнижчий вміст тестостерону при виразковому ураженні СОШ у самок встановлений, як і в контролі, у віці 20 міс – $3,52 \pm 0,19$ нмоль/л, що було на 8 % нижче, ніж у самок віком 3 міс.

Виразкове ураження СОШ призвело і до змін у різниці між вмістом тестостерону у щурів одного віку, але різної статі: у щурів-самців віком 9 та 15 міс вміст тестостерону був на 45–46 % вищий, ніж у самок відповідного віку ($p \leq 0,05$), в той час як у контролі різниця була відсутня.

Таким чином, пошкодження екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну при виразковому ураженні СОШ також призводить до підвищення вмісту тестостерону в сироватці крові як у самців, так і у самок різного віку подібно до десинхронозу, що був викликаний порушенням функції епіфіза. Максимальне підвищення відбувається у статевозрілих

щурів-самців віком 9 і 15 міс як відносно контролю, так і по відношенню до рівня тестостерону у самок з виразковим ураженням СОШ, що дозволяє стверджувати про існування особливих механізмів взаємозв'язку між рівнем тестостерону та мелатоніну.

Тому наступним етапом нашого дослідження був розрахунок коефіцієнтів кореляційного зв'язку між мелатоніном і тестостероном при пошкодженні екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну – СОШ.

Установлені при виразковому ураженні СОШ коефіцієнти кореляції у щурів-самців відповідали високій та дуже високій щільності зв'язку: $-0,87$ – у щурів віком 3 міс, $-0,95$ – у щурів віком 9 міс, $-0,98$ – у щурів віком 15 міс, $-0,80$ – у щурів віком 20 міс; та перевищували показники контролю в 2,6 раза у щурів віком 3 міс в 1,9–2 рази – у віці 9 і 15 міс відповідно. Пошкодження СОШ призвело до таких змін у вмісті тестостерону та мелатоніну, що у щурів-самців віком 20 міс з'явився негативний зворотний зв'язок високої щільності ($r = -0,80$), який був відсутній у контролі ($r = 0,02$).

Також негативний кореляційний зв'язок відносно контролю збільшився і у щурів-самок: у 2,8 раза – у віці 3 міс, у 3,6 раза – у віці 9 міс, дорівнюючи $-0,54$ та $-0,72$ відповідно, що відповідає зв'язку значної та сильної щільності. У самок віком 15 та 20 міс спрямованість зв'язку змінилася з прямого на зворотній та була значною у самок віком 15 міс ($-0,67$) та помірною у самок віком 20 міс ($-0,36$).

Порівнюючи коефіцієнти кореляційного зв'язку самців і самок встановлено, що щільність зв'язку була вищою у самців усіх вікових груп.

При порівнянні щільності зв'язку при десинхронозі та при виразковому ураженні СОШ привертає увагу те, що у щурів-самців віком 3 та 9 міс щільність зв'язку була однаковою і відповідала сильному та дуже сильному, а у щурів віком 15 та 20 міс при виразковому ураженні незначно, але перевищувала показники при десинхронозі. У щурів-самок усіх вікових груп коефіцієнти кореляційного зв'язку були більшими при виразковому ураженні, ніж при десинхронозі у всіх вікових групах. Отже, порушення

екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну має не менший, а навіть більший вплив на синтез тестостерону гонадами, який характеризується тим, що зниження вмісту мелатоніну призводить до підвищення вмісту тестостерону у сироватці крові з високим коефіцієнтом кореляції у щурів всіх вікових груп та обох статей з дуже сильною щільністю у щурів-самців віком 9 та 15 міс.

Установивши, що вміст мелатоніну та тестостерону змінюється як під впливом порушення освітлення, так і при безпосередньому пошкодженні СОШ, наступним етапом нашого дослідження було визначення вмісту цих гормонів у сироватці крові при одночасному порушенні різних джерел синтезу мелатоніну.

У ході проведеного дослідження встановлено, що вміст мелатоніну достовірно знижувався у всіх вікових групах щурів обох статей. Найменший рівень мелатоніну визначено у щурів-самців віком 9 міс – $93,96 \pm 16,33$ пмоль/л та щурів обох статей віком 20 міс. При цьому встановлений найменший вміст мелатоніну у щурів віком 20 міс як у самців, так і у самок – $83,35 \pm 13,11$ пмоль/л та $92,09 \pm 10,83$ пмоль/л, який мав різне співвідношення із показниками мелатоніну інших вікових груп. У самців зниження вмісту мелатоніну було таким, що низький рівень у щурів віком 20 міс не був достовірним відносно інших вікових груп, на відміну від щурів-самок, де зберігалася, як у контролі, достовірна різниця відносно інших вікових груп. Відносно контролю найбільше зниження відбулося у щурів обох статей віком 9 та 20 міс у 3 рази – у самців, в 2 рази – у самок ($p \leq 0,05$). Порівнюючи рівень мелатоніну у щурів різної статі встановлено, що у щурів-самців при виразковому ураженні на тлі десинхронозу його вміст нижчий від вмісту в щурів-самок в усіх вікових групах із достовірною різницею у віці 9 міс, яка склала 32 %.

Отже одночасне пошкодження різних джерел синтезу мелатоніну призвело до зниження його вмісту у всіх експериментальних групах. З метою більш детального аналізу важливості різних джерел у формуванні загального

пулу мелатоніну в сироватці крові ми провели порівняння кількості мелатоніну в сироватці при виразковому ураженні на тлі десинхронозу з десинхронозом та виразковим ураженням окремо. Установлено, що у щурів-самців одночасне порушення як центрального джерела синтезу мелатоніну під час світлового десинхронозу, так і екстрапінеального джерела при виразковому ураженні СОШ викликає достовірне зниження рівня мелатоніну як відносно щурів з десинхронозом, так і відносно щурів з виразковим ураженням. У щурів-самців з виразковим ураженням СОШ на тлі десинхронозу вміст мелатоніну в сироватці крові був в 2,1–2,3 раза нижчий відносно рівня мелатоніну у щурів з десинхронозом та в 2–1,7 раза відносно щурів із виразковим ураженням СОШ ($p \leq 0,05$). Подібні зміни спостерігаються і у щурів-самок усіх вікових груп: при виразковому ураженні СОШ на тлі десинхронозу вміст мелатоніну був нижчий в 1,4–1,6 раза відносно самок з десинхронозом та відносно самок з виразковим ураженням СОШ ($p \leq 0,05$).

Таким чином, проведений аналіз дозволяє стверджувати, що у сироватці крові присутній мелатонін із різних джерел синтезу, а низький вміст мелатоніну в сироватці крові щурів різної статі та віку з виразковим ураженням СОШ на тлі десинхронозу пов'язаний як зі зниженням його продукції у пінеальному джерелі у зв'язку із світловим десинхронозом, так і зменшенням секреції мелатоніну у мелатонін-продукуючих клітинах шлунка при пошкодженні СОШ.

Установивши зміни мелатоніну у щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу, ми підійшли до вивчення вмісту тестостерону в цих експериментальних умовах.

У ході проведеного дослідження нами було встановлено, що на фоні цілодобового освітлення та виразкового ураження шлунка відбувалося підвищення рівня тестостерону у тварин різної статі та віку. Найвищий вміст тестостерону в сироватці крові було визначено у щурів-самців у віці 3, 9 та 15 міс – $5,28 \pm 0,42$ нмоль/л, $6,09 \pm 0,59$ нмоль/л та $6,07 \pm 0,40$ нмоль/л

відповідно. Підвищення було достовірним відносно тварин контрольної групи на 60–69 %. У щурів-самців віком 20 міс також спостерігалось підвищення рівня тестостерону до $3,75 \pm 0,56$ нмоль/л, але воно було незначним порівняно з іншими віковими групами. При цьому вміст тестостерону у щурів цієї вікової групи був достовірно найнижчим відносно тварин іншого віку, що не спостерігалось у групі контролю.

У щурів-самок також встановлене підвищення рівня тестостерону в усіх вікових групах відносно контролю: на 18 % у віці 9 міс ($p \leq 0,05$), на – 15 % у віці 15 міс та на 12 % у віці 3 та 20 міс. Порівнянням показників рівня тестостерону у щурів-самок встановлено, що найвищий його рівень був у віці 3 міс – $4,38 \pm 0,44$ нмоль/л – це більше, ніж у самок інших вікових груп, але без достовірної різниці.

Аналіз рівня тестостерону у щурів різної статі показав більш високий його рівень у щурів-самців відносно самок у віці 3, 9 та 15 міс з достовірною різницею в 1,4 та 1,5 раза тільки у вікових групах 9 та 15 міс.

Таким чином, отримані дані свідчать, що стан одночасного десинхронозу та виразкового ураження шлунка, який супроводжується зниженням вмісту мелатоніну в сироватці крові, призводить до підвищення рівня тестостерону у всіх експериментальних групах з найбільшим підйомом у щурів-самців віком 9 та 15 міс і у щурів-самок віком 3 міс.

З метою визначення щільності цього зв'язку між умістом мелатоніну та тестостерону були розраховані коефіцієнти кореляції при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу. Установлено, що помірний зворотний кореляційний зв'язок, що існував у щурів-самців віком 3, 9 та 15 міс і був відсутній у щурів віком 20 міс контрольної групи, збільшився до сильного $-0,85$; $-0,85$; $-0,88$ та $-0,70$ відповідно. Коефіцієнти кореляції при виразковому ураженні СОШ на тлі десинхронозу, визначені у щурів-самок, були найвищими відносно інших експериментальних моделей у віці 3 та 9 міс та відповідали сильній щільності зв'язку $-0,73$.

На відміну від самок коефіцієнти кореляції у щурів самців усіх вікових

груп були незначно нижчими, ніж у щурів з десинхронозом та виразковим ураженням СОШ при окремому моделюванні цих патологічних станів, що, на нашу думку, пов'язане зі змінами у СОШ, які відбуваються при цих станах та були визначені у наших подальших дослідженнях.

Отже, в останні роки мелатонін розглядають як провідний регулятор нейро-гуморальних взаємовідносин між центральними та периферичними ендокринними залозами. У нормі його функціональна активність перебуває в протифазі з діяльністю гіпофіза. Якщо гіпофіз за рахунок тропних гормонів активує ендокринну функцію, то епіфіз, навпаки, її гальмує [141]. Враховуючи, що процес синтезу тестостерону знаходиться під контролем гіпоталамо-гіпофізарної системи та реалізується за механізмом зворотного зв'язку на двох рівнях: гіпоталамічному та гіпофізарному [16, 84], необхідно обговорювати наявність зв'язку і між рівнями мелатоніну та тестостерону безпосередньо. У наших дослідженнях доведено, що зниження вмісту мелатоніну на фоні порушення режиму освітлення (десинхронозі) призводило до достовірного підвищення вмісту тестостерону у щурів обох статей та різного віку, що свідчить про зниження вже відомого гальмівного впливу епіфізарного мелатоніну на синтез гонадотропних гормонів гіпофіза: ФСГ і ЛГ [145]. При вивченні рівнів мелатоніну та тестостерону при виразковому ураженні шлунка встановлено, що пошкодження екстрапінеальних джерел синтезу також призводить до зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові та підвищення рівня тестостерону [38, 43, 44]. І якщо можливий взаємозв'язок між мелатоніном із центрального джерела синтезу – епіфіза та тестостероном обговорювався у науковій літературі [141, 238, 245], то в наших дослідженнях показане існування такого зв'язку і між екстрапінеальним мелатоніном із СОШ та чоловічим статевим гормоном. Одночасне пошкодження центрального та периферичного джерела синтезу мелатоніну показало присутність у крові мелатоніну із різних джерел та їх одночасний вплив на рівень тестостерону. Визначені коефіцієнти кореляції підтвердили наявність зворотного негативного зв'язку між мелатоніном та

тестостероном, який мав дуже сильну та сильну щільність у щурів-самців віком 9 та 15 міс у різних експериментальних умовах. Це дозволяє нам стверджувати, що саме особливості взаємодії, які виникають між мелатоніном, гіпофізом та тестостероном у щурів-самців цих вікових груп робить їх групою ризику в розвитку виразкової хвороби шлунка.

Наявність отриманих результатів можливо пояснити розвитком таких механізмів, що виникають в організмі при десинхронозі та виразковому ураженні шлунка: порушення пінеального та екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну впливає на синтез тестостерону через гіпоталамо-гіпофізарну систему. У свою чергу, підвищення секреції тестостерону має вплив на N-ацетилтрансферазу, пригнічуючи її активність, що призводить до гальмування процесів перетворення серотоніну в N-ацетилсеротонін і, як наслідок, до зниження рівня мелатоніну з формуванням порочного кола (рис).

Установивши зміни, що відбуваються у вмісті мелатоніну та тестостерону крові при різних експериментальних станах, та визначивши схему розвитку цих взаємовідносин, ми перейшли до наступного дослідження – безпосереднього вивчення стану мелатонін-продукуючих клітин СОШ. Відомо, що мелатонін-продукуючі апудоцити травного тракту вважаються головним джерелом екстрапінеального мелатоніну, тому усі подальші дослідження були присвячені вивченню стану мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунка. Обрання саме СОШ обумовлене високою захворюваністю працездатного населення розвинутих країн світу на виразкову хворобу, хронічний гастрит, гастроєзофагальнорефлюксну хворобу та інші захворювання ШКТ. У багатьох наукових дослідженнях [46, 48, 83], представлений зв'язок між існуванням зовнішнього та внутрішнього десинхронозів та розвитком різних захворювань ШКТ, зокрема виразкової хвороби.

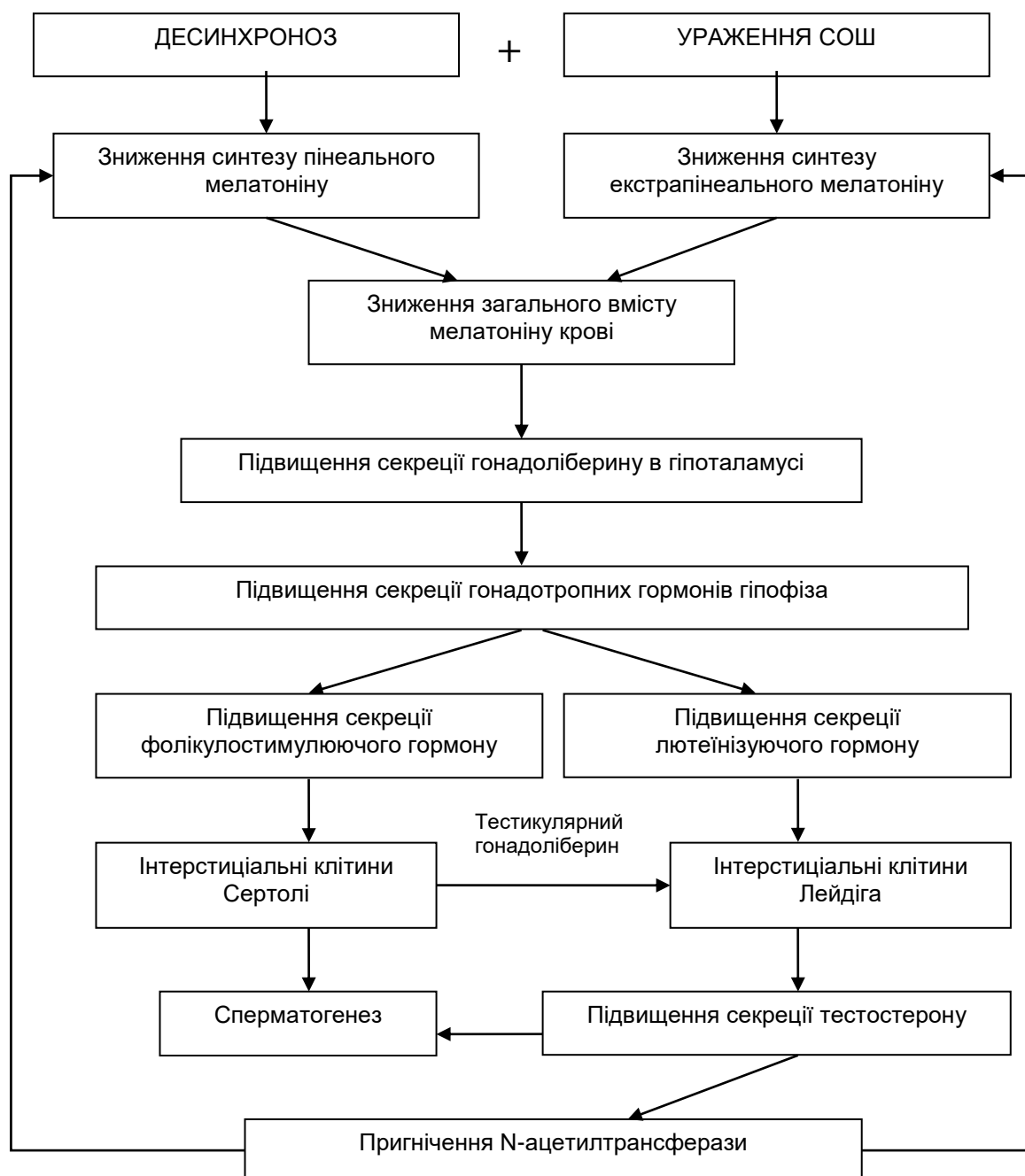


Рисунок. Вплив десинхронозу та виразкового ураження СОШ на синтез і секрецію чоловічого статевого гормону – тестостерону

При цьому існують поодинокі праці [60, 77], в яких розглядається безпосередньо стан мелатонін-продукуючих клітин. Якщо брати до уваги знання про важливість цього джерела мелатоніну для організму, то це і стало основою наших подальших досліджень.

Спочатку було проведено дослідження морфології та кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин (МПК) слизової оболонки шлунка

імуногістохімічним методом у щурів різної статі в осінньо-зимовий період. Обрання сезонів для проведення експерименту було обумовлене раніше отриманими результатами вивчення вмісту мелатоніну в сироватці крові: найбільший вміст мелатоніну взимку, а найменший – восени [36].

На початку дослідження було встановлено, що МПМК переважно розташовані в базальних і середніх відділах трубчастих залоз СОШ, що співпадає з даними літератури щодо розташування ентохромафінних клітин (ЕС-клітин) [27]. Визначено, що МПМК СОШ представлені трьома типами клітин: дрібні клітини діаметром 3,8–7,6 мкм, що знаходяться переважно в базальному відділі шлункової залози (1-й тип), великі клітини діаметром від 11 до 17 мкм без гранул у цитоплазмі (2-й тип) та великі клітини з гранулами в цитоплазмі, які займають базальний та середній відділ залози (3-й тип). Установлені нами відмінності у будові МПМК СОШ, на нашу думку, свідчать про різний ступінь їх зрілості: наймолодшими є дрібні клітини 1-го типу, що розташовані у базальному відділі шлункової залози, по мірі дозрівання вони збільшуються до великих клітин 2-го типу та займають середній відділ залози. При цьому в них з'являються гранули, що накопичують специфічні біологічно активні сполуки – у нашому випадку мелатонін – і це клітини 3-го типу, що здатні секретувати мелатонін як паракринно, так і ендокринно. Наявність ендокринної секреції із екстрапінеальних джерел була доведена у наших попередніх дослідженнях [31, 35, 38, 41].

При аналізі зрізів СОШ в різні сезони року було встановлено, що восени кількість МПМК нижча за їх кількість взимку як у щурів-самців, так і у щурів-самок – на 13 % у самців та на 7 % – у самок ($p \leq 0,05$). Одночасно присутні статеві відмінності між кількістю МПМК у щурів різної статі – восени 19 %, взимку – 13 % з більш високим рівнем у щурів-самок ($p \leq 0,05$).

Аналіз співвідношення показав, що в усіх дослідних зразках переважають клітини 1-го та 2-го типів як у самців, так і у самок. При цьому у самок це співвідношення не змінюється в залежності від сезону, в той час як у самців восени кількість клітин 1-го типу на 12 % більша, ніж взимку, а взимку,

навпаки, більша кількість клітин 2-го типу.

Отже отримані результати свідчать, що МПМК СОШ представлені різними за морфологічною будовою типами клітин, що, на нашу думку, пов'язане з різними функціями, які вони виконують. Установлено, що зміни тривалості світлового дня в різні сезони має вплив і на екстрапінеальні джерела синтезу мелатоніну, зокрема мелатонін-продукуючі клітини СОШ із низьким рівнем восени відносно рівня МПМК взимку в щурів обох статей [230]. На фоні зменшення загальної кількості МПМК в СОШ відбуваються і зміни співвідношення різних типів клітин, особливо у щурів-самців, з більшою кількістю молодих клітин 1-го типу восени та підвищенням рівня зрілих клітин 2-го типу взимку, що, на нашу думку, свідчить про наявність у клітин 2-го типу протекторних властивостей по відношенню до клітин 1-го типу і було підтверджено у наших подальших дослідженнях.

Як відомо, порушення власних біологічних ритмів організму між собою (внутрішній десинхроноз) і ритмів організму з навколишнім середовищем (зовнішній десинхроноз) призводить до розвитку морфофункціональних змін у тканинах та захворювань внутрішніх органів [77, 83, 245]. При цьому дослідженням морфологічних змін у різних тканинах при мелатонінодефіциті присвячено небагато досліджень [21, 100], а робіт, де б були представлені відомості про стан мелатонін-продукуючих клітин при зовнішньому десинхронозі немає, що і стало метою нашого наступного дослідження. Експерименти були проведені на зразках пілоричного відділу СОШ у щурів різної статі віком 9, 15 та 20 міс групи інтактного контролю та при десинхронозі.

Установлено, що у щурів групи інтактного контролю кількість МПМК достовірно знижується з віком як у самців, так і у самок. Найвища кількість МПМК була визначена у щурів обох статей віком 15 міс і склала $856,3 \pm 45,19/\text{мм}^2$ у самців та $835,5 \pm 47,68/\text{мм}^2$ – у самок, що було вище відносно показника тварин віком 9 міс на 16 % ($p \leq 0,05$) та 1 % відповідно, а відносно щурів віком 20 міс – на 41 % та 36 % ($p \leq 0,05$). Найменша кількість МПМК

спостерігається у щурів обох статей віком 20 міс, що було достовірно нижче відносно щурів віком 9 міс на 30 % у самців та 26 % у самок.

На тлі цілодобового освітлення кількість МПМК вірогідно знижується у щурів обох статей та всіх вікових груп за винятком щурів-самок віком 20 міс, у яких достовірне зниження було відсутнє. У самців кількість МПМК відносно контролю знижувалася на 30 % у віці 9 міс, 36 % – у щурів віком 15 міс та 27 % – у щурів віком 20 міс ($p \leq 0,05$). У самок достовірне зниження на 22 % та 23 % відбулося тільки у вікових групах 9 та 15 міс ($p \leq 0,05$). Старі щури-самки залишилися нечутливими до порушень освітлення, зі зниженням кількості МПМК лише на 3 % ($p \geq 0,05$).

Не менш важливим показником, ніж загальна кількість клітин, було їх співвідношення в СОШ, що свідчило про різну реакцію мелатонін-продукуючих клітин на порушення ритмів освітлення. Так, у групах інтактного контролю щурів-самців віком 9 та 15 міс переважають клітини 1-го та 2-го типу: з більш високим відсотком клітин 1-го типу у самців віком 9 міс – 40 % та нижчим у самців 15 міс – 27 %. Та навпаки, більш високою кількістю клітин 2-го типу – 60 % у щурів-самців віком 15 міс і 27 % клітин 1-го типу. Клітини 3-го типу у цих вікових групах представлені однаково – 13 %. Вікові зміни, що відбуваються у всіх тканинах нашого організму торкнулися і кількості МПМК, а саме: у щурів-самців віком 20 міс у зразках переважали клітини 1-го та 3-го типу – 50 % та 43 % відповідно. У той же час у щурів-самок інтактного контролю різні типи МПМК представлені достатньо пропорційно у всіх вікових групах з переважанням в усіх зразках клітин 1-го та 2-го типу та складали від 80 % до 92 % сумарної кількості.

На тлі десинхронозу, як вже було відмічено, знижується загальна кількість клітин в усіх вікових групах, але зниження це відбувається за рахунок різних типів клітин. Так, у самців віком 9 міс зниження відбувається за рахунок клітин 2-го та 3-го типів на 36 % та 10 % відповідно. Кількість клітин 1-го типу при десинхронозі у щурів цієї вікової групи збільшується більш ніж у 2 рази і складає 86 %. Подібні зміни спостерігаються і у щурів-самців віком 15 міс, а

саме: зменшення клітин 2 типу на 45 % та достовірне в 2,8 раза збільшення кількості МПМК 1-го типу. Навпаки, у щурів-самців віком 20 міс на тлі десинхронозу ще більше підвищується кількість МПМК 3-го типу на 8 % відносно контролю та становить 51 %. На відміну від самців у самок віком 9 та 15 міс десинхроноз не викликає значних зсувів у співвідношенні МПМК, але ж все-таки призводить до підвищення кількості МПМК 3-го типу у щурів віком 9 міс з 14 % до 25 %, та незначному (на 2 %) зниженню цих клітин у самок віком 15 міс – до 18 %. На відміну від самок репродуктивного віку, у старих самок віком 20 міс спостерігається значний підйом кількості клітин 3-го типу, які сягають рівня 46 % та є основним типом клітин у досліджуваних зразках, як і у самців цього віку.

Отримані дані можуть свідчити, що з віком можливе зниження вмісту мелатоніну в загальному пулі за рахунок кількісного зменшення популяції клітин, а не за рахунок зменшення його вмісту в самих ентерохромафінних клітинах. Достовірно нижчий рівень МПМК у щурів-самців віком 9 міс, які, як відомо, мають вищий рівень статевої активності в порівнянні з 15-місячними щурами-самцями, а також відомості про вміст мелатоніну та тестостерону в сироватці крові дозволяють стверджувати, що МПМК СОШ також беруть участь у механізмах взаємовідносин дифузної нейроендокринної системи та гіпоталамо-гіпофізарно-гонадного комплексу, які супроводжують посилення гормонопродукуючої активності гонад.

Високий вміст МПМК 3-го типу у щурів-самців віком 20 міс інтактного контролю та при десинхронозі, а також у щурів-самок дозволяє припустити, що утворення цих клітин є реакцією на зниження рівня загального мелатоніну в сироватці крові, що спостерігається при віковій інволюції епіфіза та десинхронозі [15, 74, 76]. При цьому на тлі десинхронозу у молодих та зрілих самців (9 та 15 міс) клітини цього типу в зразках відсутні, що, вірогідно, пов'язане з екзокринним та інтерстиціальним викидом мелатоніну із клітин 3-го типу для реалізації захисних механізмів СОШ та нормалізації периферичних нейрогормональних взаємовідносин, а їх дефіцит може бути причиною більш

високого рівня захворюваності на виразкову хворобу у чоловіків віком від 20 до 40 років. Збільшення кількості в цих вікових групах (9 та 15 міс) клітин 1-го та 2-го типу є проявом процесів, що є результатом функціонального навантаження на систему МПМК СОШ.

З метою підтвердження такого висновку нами були проведені дослідження стану МПМК у щурів різного віку та статі при виразковому ураженні СОШ.

При вивченні зрізів СОШ близько 10 % (39 зрізів із 402) не підлягали аналізу у зв'язку з присутністю наявного запального процесу, який проявлявся порушенням будови слизової оболонки та набряком. Запальний процес та виразкове ураження СОШ призвели до достовірного зниження кількості МПМК відносно контролю: на 52 %, 60 % та 31 % – у щурів-самців віком 9, 15 та 20 міс відповідно, на 35 %, 34 % та 23 % – у щурів-самок ($p \leq 0,05$). Кількість МПМК у щурів-самців була достовірно нижча порівняно до МПМК СОШ щурів-самок у всіх вікових групах: в 1,5 раза в віці 9 міс, в 1,6 раза у щурів віком 15 міс та в 1,4 раза у віці 20 міс ($p \leq 0,05$). При цьому між щурами однієї статі, але різного віку різниця була відсутньою. Найменша кількість визначена у щурів-самців віком 15 міс – $342,6 \pm 19,8 / \text{мм}^2$, у щурів-самок віком 9 міс – $548,4 \pm 35,3 / \text{мм}^2$.

На фоні зниження загальної кількості МПМК відбувався і перерозподіл різних типів клітин. У щурів-самців віком 9 міс у дослідних зразках відсутні клітини 3-го типу, кількість клітин 1-го та 2-го типів дорівнює 52 % та 48 % відповідно. Найбільших змін зазнали клітини 1-го типу, кількість яких збільшилася на 12 % відносно контролю, а розміри зменшилися в 1,5–2 рази. Ще більш значні зміни відбулися у слизовій оболонці щурів віком 15 міс, де МПМК на 100 % представлені тільки клітинами 1-го типу. У самців віком 20 міс у зразках збереглися клітини всіх типів: 1-го – 49 %, 2-го – 41 %, 3-го – 10 % зі зниженням клітин 1-го типу на 33 %, та підвищенням клітин 2-го на 34 % ($p \leq 0,05$).

У щурів-самок при виразковому ураженні також збільшується кількість

клітин 1-го типу у всіх вікових групах від 1 % – у щурів віком 9 міс до 5–6% у щурів віком 15 та 20 міс, на 1–5 % знижується кількість МПМК 3-го типу. Отже, виразкове ураження СОШ призводить до достовірного зниження кількості МПМК як у щурів-самців, так і у щурів-самок усіх вікових груп. При цьому значні зміни у співвідношенні та морфологічній будові різних клітин спостерігаються тільки у щурів-самців віком 9 та 15 міс (відповідає віку людини 29–45 років) – відсутність клітин 3-го типу, що, на нашу думку, виконують захисну функцію, призводить до більш наявних деструктивних змін у СОШ тварин цих вікових груп, що дозволяє віднести представників цієї вікової групи до групи ризику розвитку запально-деструктивних захворювань шлунка, зокрема виразкової хвороби.

Мелатонін, що здатний опосередковувати свої ефекти крім гуморального (ендокринного) шляху також нейрогуморальним, епикринним і паракринним шляхами, достатньо вивчений у фізіологічному аспекті. При цьому праці в яких би розглядався вплив одночасного пошкодження центрального та периферичного джерела його синтезу в науковій літературі відсутні. Тому наступним етапом нашого дослідження було визначення впливу на МПМК СОШ світлового десинхронозу та виразкового ураження СОШ.

Дослідження проведене на щурах різної статі віком 9, 15 та 20 міс, що упродовж 14 діб знаходилися в умовах цілодобового освітлення, на 15-ту добу експерименту дослідним тваринам моделювали виразкове ураження СОШ шляхом внутрішньошлункового введення спирто-преднізолонової суміші. Забір зразків із СОШ проводили на 3-ю добу виразкового пошкодження СОШ (18-й день експерименту).

Встановлено, що одночасне пошкодження різних джерел синтезу мелатоніну – пінеального при десинхронозі та екстрапінеального при виразковому ураженні СОШ призводить до достовірного зниження кількості МПМК у тварин різного віку та статі [202]. У щурів-самців кількість МПМК була меншою, ніж у контролі в 2,6 раза у віці 9 міс, в 2,7 раза – у віці 15 міс та 1,5 раза у щурів віком 20 міс ($p \leq 0,05$). Найменшу кількість МПМК було

визначено у щурів віком 9 міс – $278,8 \pm 21,06/\text{мм}^2$, що було на 11 % нижче, ніж у щурів віком 15 міс та 18 % – відносно щурів віком 20 міс ($p \geq 0,05$). У щурів-самок зниження було меншим. Але ж також достовірним у 1,9 раза в самок віком 9 та 15 міс і 1,5 раза у віці 20 міс ($p \leq 0,05$). Найнижча кількість МПМК – $417,3 \pm 25,31/\text{мм}^2$ у самок віком 20 міс. Порівнюючи зміни кількості МПМК у щурів різної статі встановлена достовірно нижча кількість МПМК у самців відносно самок на 35 % у віці 9 міс, 30 % у віці 15 міс та 19 % у віці 20 міс ($p \leq 0,05$).

Відбулися і зміни у співвідношенні різних типів клітин. Так, у щурів-самців віком 9 та 15 міс повністю відсутні клітини 3-го типу, а переважають 1-го типу – 75 % та 100 % відповідно. У самців відносно інтактного контролю кількість МПМК 1-го типу зменшилася на 18 %, а 3-го типу, навпаки, підвищилася на 6 %.

У щурів-самок при виразковому ураженні СОШ на тлі десинхронозу відбуваються подібні зміни, як у щурів-самців, але ступінь змін значно менший. У самок віком 9 та 15 міс відбулося збільшення кількості МПМК 1-го типу до 52 % та 49 % відповідно зі зменшенням кількості МПМК 2-го та 3-го типу. При цьому МПМК 3-го типу були представлені в усіх досліджуваних зразках, а зміни були більш наявні у самок віком 15 міс, ніж у 9-місячних. У самок віком 20 міс, як і у самців, відбувся перерозподіл МПМК в бік клітин 3-го типу з підвищенням їх кількості на 25 % відносно контролю. Взагалі МПМК СОШ самок віком 20 міс були представлені усіма типами МПМК у рівних пропорціях – 32 %, 35 % та 33 % відповідно. Отже, виявлені значні відмінності у співвідношенні різних типів клітин між самцями та самками. Відсутність у самців віком 9 та 15 міс (відповідає віку людини 29–45 років) клітин 2-го та 3-го типу свідчить про наявні структурно-морфологічні зміни, що відбуваються в СОШ із порушенням механізмів її захисту, обумовлених паракринним механізмом вивільнення мелатоніну та реалізацією його антиоксидантних, репаративних, іміномодулюючих властивостей, та можуть бути підґрунтям високої захворюваності на виразкову хворобу в чоловіків у віці 20–45 років

[65].

На сьогодні підтверджено, що місцем синтезу мелатоніну в шлунку є мелатонін-продукуючі клітини, проте залишається дискусійним питання їх локалізації в різних відділах шлунка, що пов'язане з незначною кількістю наукових праць щодо визначення ЕС-клітин та безпосередньо мелатонін-продукуючих клітин СОШ [127, 214]. Так, згідно з одними джерелами, МПМК переважно розташовані у фундальному відділі шлунка, інші автори у своїх дослідженнях вказують на переважно їх локалізацію у пілоричному відділі [61, 76]. З метою вирішення цього питання нами була вивчена кількість МПМК у пілоричному та фундальному відділах шлунка у інтактних щурів-самців віком 15 міс і при патологічних станах: світловий десинхроноз, експериментальна виразка шлунка та їх поєднання.

Установлено, що у щурів групи інтактного контролю, які 14 діб знаходилися в умовах природного освітлення, кількість МПМК у фундальному відділі $987,9 \pm 39,68/\text{мм}^2$ на 15 % перевищувала кількість МПМК у пілоричному відділі $856,3 \pm 45,19/\text{мм}^2$ ($p \leq 0,05$). В умовах цілодобового освітлення впродовж 14 діб відбулося зниження кількості МПМК в обох відділах шлунка: на 35 % у фундальному та 36 % у пілоричному відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$). При цьому кількість МПМК у фундальному відділі залишалася достовірно вищою, ніж у пілоричному на 17 %.

У групі з виразковим ураженням СОШ також відбувалися зміни МПМК зі зниженням їх загальної кількості до $415,6 \pm 38,06/\text{мм}^2$ у фундальному відділі та $342,6 \pm 19,85/\text{мм}^2$ – у пілоричному. Кількість МПМК у фундальному відділі була меншою відносно інтактного контролю в 2,3 рази, у пілоричному – в 2,5 рази ($p \leq 0,05$). Відносно щурів з десинхронозом визначена кількість МПМК при виразковому ураженні також була нижчою в 1,5 та 1,6 рази у фундальному та пілоричному відділах відповідно ($p \leq 0,05$). При цьому зберігалася співвідношення між відділами з більш високим рівнем МПМК у фундальному відділі на 18 % відносно пілоричного ($p \geq 0,05$).

Значні зміни у кількості МПМК у різних відділах шлунка відбулися у

щурів, що впродовж 14 днів знаходилися в умовах цілодобового освітлення (десинхроноз), а потім були піддані впливу спирто-преднізолонової суміші внутрішньошлунково з розвитком виразкового ураження СОШ (пошкодження екстрапінеальних джерел синтезу). Кількість МПМК у фундальному відділі зменшилася до $330,3 \pm 25,36/\text{мм}^2$, що було в 3 рази нижче відносно інтактного контролю, в 1,9 раза – відносно щурів з десинхронозом та в 1,3 раза – відносно щурів з виразковим ураженням ($p \leq 0,05$). Кількість МПМК у пілоричному відділі ($314,9 \pm 33,3/\text{мм}^2$) була на 5 % нижчою відносно фундального та в 2,7 раза відносно щурів інтактного контролю, в 1,7 раза – відносно щурів з десинхронозом, в 1,1 раза – відносно щурів з виразковим ураженням СОШ ($p \leq 0,05$).

Аналіз співвідношення різних типів МПМК показав, що МПМК фундального відділу реагують на різні патологічні стани тільки зниженням загальної кількості клітин без суттєвої зміни співвідношення різних типів, у той час як МПМК пілоричного відділу мають значні зсуви у різних типах клітин. Так, при десинхронозі у фундальному відділі співвідношення МПМК складає 63 % – 21 % – 16 % – клітини 1-2-3-го типів відповідно, що незначно відрізняється від показників інтактних тварин – 60 % – 29 % – 11 %. У той же час у пілоричному відділі відбуваються значні зміни зі зменшенням клітин 2-го та 3-го типів та збільшенням клітин 1-го – 76 % – 15 % – 9 % відносно контролю 27 % – 60 % – 13 %. Виразкове пошкодження призвело у фундальному відділі до зменшення кількості клітин 3-го типу на 4 % та підвищення клітин 1-го типу на 6 %, у той час як у пілоричному відділі клітини 2-го та 3-го типів зовсім відсутні, а спостерігаються тільки клітини 1-го типу.

Одночасний вплив на дослідних тварин десинхронозу та виразкового ураження СОШ призвів до підвищення кількості МПМК 1-го типу у фундальному відділі до 74 % та відсутності клітин 3-го типу. У пілоричному відділі, як і при виразковому ураженні, були присутні тільки клітини 1-го типу.

Отже, згідно з отриманими результатами кількість МПМК у фундальному відділі достовірно перевищує МПМК пілоричного відділу у щурів інтактного

контролю та при десинхронозі. На фоні виразкового ураження та поєднання десинхронозу і виразкового ураження СОШ зберігається співвідношення між МПМК із більшою кількістю у фундальному відділі відносно пілоричного, але без достовірної різниці, що, на нашу думку, пов'язане із деструктивними процесами, які розвиваються в СОШ. Різні патологічні стани викликають майже пропорційне зниження загальної кількості МПМК у обох відділах шлунка, але різний вплив на типи МПМК. Зміни, що відбуваються у співвідношенні різних типів клітин, мають однакову тенденцію, що свідчить про існування одного механізму регулювання їх росту та функції, але ж більш значні зміни у морфологічній будові МПМК пілоричного відділу свідчать про значно більшу чутливість цього відділу шлунка до зовнішніх патологічних впливів порівнянно з фундальним відділом, та дозволяють пояснити більш часте виразкове ураження саме пілоричного відділу шлунка, ніж фундального.

Функціональні порушення синтезу та секреції пінеального мелатоніну на фоні порушення освітлення мали достовірний вплив на МПМК СОШ. Однак повної відсутності регулюючого впливу пінеального мелатоніну тут не спостерігалося. Тому наступним етапом нашого дослідження стало вивчення кількості МПМК у щурів з пінеалектомією. Визначення кількості МПМК проводили у фундальному та пілоричному відділах шлунка [28]. Встановлено, що при повному припиненні синтезу мелатоніну епіфізом кількість МПМК у СОШ як фундального, так і пілоричного відділів збільшилася на 39 % та 35 % ($p \leq 0,05$). Одночасно відбулися зміни і у співвідношенні різних типів МПМК, що переважно торкнулися збільшення кількості МПМК 3-го типу в обох відділах шлунка. Отримані результати свідчать про розвиток компенсаторного збільшення клітин периферичного джерела на фоні відсутності центрального.

У подальшому нами був проведений порівняльний аналіз змін, які відбуваються у кількості мелатоніну в сироватці крові та МПМК у СОШ при різних патологічних станах.

Визначено, що при десинхронозі, який був викликаний цілодобовим освітленням, відбувається зниження як рівня мелатоніну в сироватці крові, так і

кількості МПМК у СОШ. Найбільше зниження кількості МПМК відбулося у щурів-самців віком 15 міс, що відповідає віку людини 43-44 роки. При цьому, у щурів-самців віком 9 міс ми спостерігали практичне однакове зниження як рівня мелатоніну у крові, так і кількості МПМК СОШ – 31 % та 30 % відповідно порівняно з інтактним контролем ($p \leq 0,05$).

У той же час ступінь зниження кількості МПМК СОШ у щурів віком 15 та 20 міс більший за зниження рівня мелатоніну в крові – 36 % та 27 % проти 19 % та 23 %. Отримані дані можна пояснити порушенням репаративних властивостей СОШ, які, ймовірно, пов'язані зі зниженням кількості мелатоніну в сироватці крові із центрального джерела синтезу – епіфізу, а також фізіологічним віковим зниженням здатності клітин СОШ до репарації. З іншого боку, отримані результати, дозволяють нам припустити, що у розвитку захворювань шлунка, пов'язаних з мелатонінодефіцитом у молодому віці – 29–30 років (відповідає віку щурів 9 міс), провідною ланкою патогенезу є зниження кількості епіфізарного мелатоніну, в той час як у чоловіків старшого віку – 44–45 років (відповідає віку щурів 15 міс) переважають морфологічні зміни, що відбуваються у периферичному джерелі синтезу мелатоніну.

При виразковому ураженні кількість МПМК достовірно ($p \leq 0,05$) знижується у всіх вікових групах відносно контролю: на 52 % – у молодих, на 60 % – у зрілих, та найменше зниження спостерігається у старих щурів – на 31 %, що можна пояснити наявністю вже існуючих атрофічних процесів у СОШ у віці 20 міс і узгоджується з даними літератури [113, 189, 229] та достовірною різницею між кількістю МПМК у щурів віком 20 міс відносно щурів віком 9 та 15 міс у тварин контрольних груп у нашому експерименті. При цьому рівень мелатоніну в сироватці крові більше знижується у щурів віком 9 та 20 міс. На наявний ступінь зниження кількості мелатоніну в плазмі крові у щурів віком 20 міс, крім виразкового пошкодження екстрапінеального джерела впливає вікова інволюція епіфіза, що спостерігається у людей та тварин [75, 189]. Значне зниження мелатоніну в сироватці крові у щурів-самців віком 9 міс, що відповідає віку людини 29–30 років при виразковому ураженні свідчить про

формування нових нейрогормональних відносин, що формуються на фоні дефіциту екстрапінеального, і як результат – загального мелатоніну в сироватці крові, та, як було доведено у наших дослідженнях, пов'язані з особливостями синтезу тестостерону [33, 34, 39, 40, 42, 44, 236], та пояснює статеві особливості захворюваності на виразкову хворобу [56].

Одночасно із дослідженням вмісту мелатоніну в сироватці крові ми вивчали зміни, що відбуваються у системі вільнорадикального окиснення та імунокомпетентних клітин при десинхронозі та виразковому ураженні шлунка [30].

Дослідження були проведені на щурах різної статі віком 9 та 20 міс, які впродовж 14 діб знаходилися в умовах цілодобового освітлення. Установлено, що порушення ритмів освітлення призводить до достовірного підвищення кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів як у самців, так і у самок. У щурів-самців ДК та ТБК-реактанти підвищуються на 31 % та 40 % відповідно – у молодих щурів (9 міс) та 27 % і 26 % відповідно у старих (20 міс) відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$). У щурів-самок ДК та ТБК-реактанти підвищувалися на 27 % та 26 % відповідно у молодих, на 18 % та 20 % – у старих. При цьому присутні статеві відмінності, що свідчать про більше порушення у системі ПОЛ у самців відносно самок. На тлі десинхронозу відбуваються зміни у показниках окиснювальної модифікації білків з достовірним підвищенням їх кількості у самців на 44 % та 17 % віком 9 та 20 міс відповідно та самок віком 9 міс на 37 %. У щурів-самок віком 20 міс показник збільшився на 16 % відносно контролю ($p \geq 0,05$). Значні зміни відбулися у кількості кінцевих продуктів метаболізму NO в плазмі крові – у щурів-самців віком 9 міс кількість продуктів окиснення монооксиду азоту збільшувалася в 2 рази, а у самок в 1,2 рази порівняно з контролем ($p \leq 0,05$). У щурів віком 20 міс збільшення показника було у самців на 15 %, а у самок – на 10 % відносно контролю ($p \geq 0,05$). При цьому на тлі десинхронозу рівень NO метаболітів у щурів-самців віком 9 міс був вищий за рівень щурів-самок відповідного віку, а у старих щурів – навпаки.

Одночасно з дослідженням показників ПОЛ ми визначали зміни основних ферментів АОС. Установлено, що порушення освітлення призводить до зниження активності антиоксидантних ферментів плазми. При цьому наявні статеві відмінності – у щурів-самців показники знижуються більше ніж у самок відповідного віку відносно контролю, а саме: у щурів-самців та самок віком 9 міс СОД – на 38 % і 30 %, каталаза – на 38 % і 32 %, ГП – на 39 % і 31 %, ГТ – на 21 % і 19 % ($p \leq 0,05$) відповідно, у старих щурів-самців та самок – СОД на 47 % і 40 %, каталаза – на 30 % і 41 % ($p \leq 0,05$), ГП – на 21 % ($p \leq 0,05$) і 11 %, ГТ – на 33 % і 17 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Отже, порушення режиму освітлення призводить до порушення у системі ферментів АОС та накопичення продуктів ПОЛ, що є додатковим фактором, який сприяє розвитку різних патологічних станів в організмі, зокрема виразкового ураження шлунка.

Не менш важливу захисну функцію у нашому організмі відіграють імунокомпетентні клітини, що формують клітинний та гуморальний імунітет нашого організму. Існує достатня кількість праць [25, 168], де розглядаються питання порушення у системі імунного захисту при десинхронозі. При цьому роботи, де б були розглянуті питання зміни імунокомпетентних клітин при порушенні обох джерел синтезу мелатоніну відсутні, що і стало метою наших наступних експериментів. Дослідження проведені при різних патологічних станах: десинхронозі, виразці, виразці на тлі десинхронозу [29]. Установлено, що при всіх експериментальних станах відбувається достовірне зниження Т-лімфоцитів (CD 19+) – на 55 % у щурів із виразкою шлунка, на 58 % – у щурів з десинхронозом та 56 % у щурів при поєднаній патології. При цьому реакція субпопуляцій Т-лімфоцитів – Т-хелперів, Т-супресорів і В-лімфоцитів на різні експериментальні умови була різною: у щурів з виразковим ураженням СОШ кількість Т-хелперів і В-лімфоцитів зменшилася відносно контролю в 1,9 та 1,3 раза ($p \leq 0,05$), а кількість Т-супресорів збільшилася на 26 %. Навпаки, при десинхронозі кількість Т-хелперів і В-лімфоцитів збільшилася в 1,6 та 1,2 раза, а Т-супресорів знизилася на 20 %.

Зміни у співвідношенні різних типів лімфоцитів призвели до зниження імунорегуляторного індексу в 2,3 раза при виразці, що є ознакою реакції імунної системи на розвиток запального процесу, та підвищення імунорегуляторного індексу у щурів з десинхронозом, що притаманно розвитку гуморального типу імунної відповіді. В умовах одночасного впливу на організм експериментальних тварин десинхронозу та виразкового ураження СОШ відбувається збільшення Т-хелперів в 1,6 раза відносно інтактного контролю, у 3 рази відносно щурів з виразкою ($p \leq 0,05$) та недостовірне зменшення відносно групи з десинхронозом на 2 %. Рівень Т-супресорів знижувався на 10 % відносно щурів з групи інтактного контролю та 26 % відносно щурів з виразкою і збільшувався на 12 % відносно тварин з десинхронозом ($p \leq 0,05$). Кількість В-лімфоцитів збільшувалася на 18 % відносно контролю та була в 1,5 раза вища відносно щурів з виразковим ураженням ($p \leq 0,05$). Таким чином, і десинхроноз, і виразкове ураження СОШ, призводять до змін в системі імунокомпетентних клітин, які мають протилежну спрямованість, що пов'язане з активацією різних ланок імунної відповіді. В умовах одночасного впливу на організм експериментальних тварин десинхронозу та виразкового ураження СОШ зміни, що спостерігалися, мали тенденцію, подібну до змін при десинхронозі, що свідчить про провідну роль пінеального мелатоніну в регуляції імунної відповіді у порівнянні з екстрапінеальними джерелами синтезу.

На підставі отриманих даних ми можемо стверджувати про існування регуляторної ролі пінеального і екстрапінеального мелатоніну у розвитку гастральних виразок, що реалізується як за рахунок механізмів пригнічення системи антиоксидантного захисту, активації процесів вільнорадикального окиснення, зміною імунної відповіді в крові та проліферативних процесів МПК у СОШ при порушенні синтезу мелатоніну епіфізом – пінеальний мелатонін, так і за рахунок порушення місцевих захисних механізмів у СОШ, що пов'язані зі змінами у системі екстрапінеального мелатоніну.

Отримані результати дозволяють рекомендувати додаткове призначення мелатоніну до базисної терапії НР-негативних виразок, що потребувало експериментального підтвердження. Тому наступним етапом нашого дослідження стало вивчення біохімічних і морфологічних показників СОШ у щурів з виразковим ураженням шлунка при лікуванні екзогенним мелатоніном. Групою контролю були щури з виразковим ураженням без лікування, до групи порівняння увійшли щури, що отримували монотерапію класичним інгібітором протонної помпи – омепразолом (1,2 мг/кг), щури основної експериментальної групи отримували комплексне лікування омепразолом (1,2 мг/кг) та мелатоніном (0,2 мг/кг). Препарати вводили внутрішньошлунково у вигляді суспензії один раз на день впродовж 14 діб після моделювання виразки. Були дослідженні показники ПОЛ (ТБК-реактанти) та АОС (СОД) в гомогенатах СОШ і показники цитолізу (АлАТ, АсАТ) та репарації (загальний білок) в крові.

Установлено, що при виразковому ураженні СОШ у тварин без лікування в гомогенатах тканин шлунка збільшувалася кількість ТБК-реактантів на 69 %, в крові збільшувалися показники цитолізу – АлАТ на 74 %, АсАТ – на 84 %. При цьому активність ферменту антиоксидатного захисту СОД у тканинах зменшувалася на 52 %, а рівень загального білка в крові на 41 % ($p \leq 0,05$). При лікуванні омепразолом вміст ТБК-реактантів та АлАТ знизився на 25 %, АсАТ – на 29 % відносно тварин без лікування ($p \leq 0,05$). Спостерігалися підвищення показників СОД та загального білка на 26 і 27 % відповідно ($p \leq 0,05$). При одночасному введенні щурам омепразолу та мелатоніну відбувалася нормалізація всіх показників до рівня інтактних тварин: рівень ТБК-реактантів зменшився на 34 %, АлАТ – на 36 %, АсАТ – на 38 % відносно контролю ($p \leq 0,05$) та був нижчим відносно щурів, що отримували лікування лише омепразолом на 12 %, 15 % і 13 % відповідно ($p \leq 0,05$). Одночасно підвищувалася активність СОД на 43 % відносно контролю та 10 % відносно щурів з лікуванням монотерапією ($p \leq 0,05$), та рівень загального білка – на 38 % відносно контролю ($p \leq 0,05$) та 8 % відносно щурів, яких лікували омепразолом

($p \geq 0,05$). Отримані результати свідчать, що додавання до стандартної терапії омепразолом екзогенного мелатоніну зменшує інтенсивність процесів перекисної деструкції мембран і процесів цитолізу, і підтверджує антиоксидантні і мембраностабілізуючі властивості мелатоніну.

Також нами було проведене морфологічне вивчення СОШ щурів з виразковим ураженням при лікуванні екзогенним мелатоніном. Установлено, що при використанні монотерапії омепразолом кількість тварин, у яких зберігалися виразки у шлунку склала 50 %, на відміну від щурів, що отримували комплексне лікування, де цей показник був – 33 % (2 щури із 6). Площа виразок при лікуванні омепразолом зменшилася в 6 разів, а при комплексному лікуванні в 12 разів ($p \leq 0,05$) відносно щурів без лікування. Виразковий індекс групи контрольної патології – 14,2 зменшувався при лікуванні омепразолом до 1,1, а при лікуванні екзогенним мелатоніном і омепразолом до 0,4, що сприяло підвищенню противиразкової активності з 92 % при монотерапії до 97 % – при комплексній.

Як показало мікроскопічне дослідження при лікуванні омепразолом зменшувалася наявність ерозивного пошкодження слизової шлунка. Ступінь ураження залозистих трубок у дефектах був у межах 1/3 довжини залоз. Поза зонами пошкодження структура слизової на багатьох ділянках була звичайною. Тварин, у яких ще залишилися ознаки виразкового ураження, менше, ніж тварин контрольної патології, але у них ще спостерігалися набряк строми та підслизового шару вогнищевого характеру, гемокапілярні розлади, які супроводжувалися діapedезними крововиливами та порушенням структури залоз. При цьому відносно контролю кількість геморагій зменшилася в 3 рази, гіперемія та складчастість – у 2,5 раза, а набряк – у 5 разів, активність мукоїдного секрету збільшилася в 1,6 раза ($p \leq 0,05$).

У щурів, що одночасно отримували лікування омепразолом і мелатоніном, відбувалося значне покращення морфологічного стану шлунка. Лише у двох щурів знайдено по одній дрібній ерозії з середньою площею виразок $1,2 \pm 0,7 \text{ мм}^2$. У досліджених зонах СОШ спостерігалось не дуже помітне

зниження висоти покривних клітин з нечисленними злуцненнями. У цілому, слизова мала типовий морфологічний малюнок, кількість геморагій, гіперемії та порушення складчастості зменшилися у 5–6 разів. У щурів, що отримували комбіноване лікування, інтенсивність ушкодження СОШ знизилася у 7 разів; гемокапілярних розладів – у 5 разів; глибина пошкодження залоз – у 4 рази відносно тварин контрольної патології ($p \leq 0,05$). Збереженість ділянок СОШ і потужність мукоїдної секреції зросли у 2 рази відносно контролю та відповідали показнику інтактного контролю ($p \leq 0,05$). Дослідженням МПМК СОШ встановлено, що використання монотерапії омепразолом призводить до збільшення кількості МПМК в 1,6 раза відносно щурів без лікування ($p \leq 0,05$). Одночасне призначення омепразолу та мелатоніну сприяло збільшенню кількості МПМК в 2 рази відносно щурів, що не отримували лікування, та в 1,3 раза відносно щурів, що лікувалися виключно омепразолом ($p \leq 0,05$). Є відмінності і у співвідношенні різних типів МПМК. При виразковому ураженні СОШ МПМК представлені тільки клітинами 1-го та 2-го типів – 52 % та 48 % відповідно. При лікуванні омепразолом у дослідних зразках з'являються клітини 3-го типу – 3 %, а при комплексному лікуванні їх кількість навіть перевищує показники інтактного контролю: 16 % – при лікуванні, 13 % – у інтактних тварин.

Отже, результати досліджень біохімічних, морфологічних, гістологічних та імунногістохімічних показників підтвердили, що додавання екзогенного мелатоніну до стандартної терапії омепразолом сприяє прискоренню репарації виразки за рахунок нормалізації мікроциркуляції в СОШ, внаслідок розслаблюючого впливу мелатоніну на гладку мускулатуру кровоносних судин, антиоксидантної дії та стимуляції проліферативних процесів не тільки епітеліальних клітин, а і власних мелатонін-продукуючих клітин СОШ.

Таким чином, проведені нами дослідження пояснюють сезонність загострення ВХ розвитком фізіологічного десинхронозу, що виникає внаслідок зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові в осінньо-весняний період. Установлений низький рівень мелатоніну у щурів-самців віком 9 та 15 міс у ці

сезони, що пояснює більш високий рівень захворюваності на ВХ у чоловіків молодого віку. Дослідження рівня мелатоніну впродовж року та при різних патологічних станах – світловому десинхронозі, виразковому ураженні СОШ та їх поєднання довели присутність в крові мелатоніну із різних джерел синтезу – як пінеального, так і екстрапінеального, що підтверджує паракринний механізм дії екстрапінеального мелатоніну. Установлений кореляційний зв'язок між мелатоніном і тестостероном не тільки підтвердив існування вже відомої антигонадотропної дії мелатоніну, а і дозволяє нам стверджувати про існування зворотного впливу тестостерону на мелатонін, коли високий рівень тестостерону, що встановлений у щурів-самців репродуктивного віку на тлі як десинхронозу, так і ураження СОШ, через гальмування N-ацетилтрансферази впливає на рівень мелатоніну та призводить до формування порочного кола (рис.), що пояснює більш високу частоту захворюваності на ВХІІІ саме у чоловіків.

Вивчення стану мелатонін-продукуючих клітин СОШ при різних патологічних станах показало існування декількох типів цих клітин, які виконують різну функцію у захисті СОШ та участі у формуванні загального пулу мелатоніну в організмі. Дослідження взаємозв'язку між змінами вмісту мелатоніну та мелатонін-продукуючими клітинами СОШ при світловому десинхронозі та виразковому ураженні СОШ показало, що провідною ланкою патогенезу ВХІІІ у молодому віці є мелатонінодефіцит, пов'язаний із порушенням центрального джерела синтезу мелатоніну, в той час як у щурів зрілого та старечого віку первинними є зміни екстрапінеального джерела синтезу – мелатонін-продукуючих клітин СОШ.

Виявлені порушення секреції як пінеального, так і екстрапінеального мелатоніну призводять до зниження антиоксидантного захисту та імунної відповіді, накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів, які є ланками патогенезу розвитку ВХІІІ та нормалізуються під впливом екзогенного мелатоніну, що дозволяє рекомендувати його як додаткову терапію при НР-негативних виразках шлунка.

ВИСНОВКИ

У роботі представлено теоретичне узагальнення і нове розв'язання актуальної науково-практичної проблеми – ролі статевих та вікових особливостей синтезу мелатоніну і тестостерону в патогенезі виразкової хвороби шлунка, що дозволяє патогенетично обґрунтувати принципи корекції даного патологічного процесу.

1. Установлено циркануальний ритм секреції мелатоніну у щурів обох статей різного віку з найменшим рівнем мелатоніну в крові восени та навесні, що свідчить про розвиток сезонного фізіологічного десинхронозу в період біологічної весни та осені. В усі сезони найбільший рівень мелатоніну в крові як у самців, так і у самок визначався у щурів віком 3 міс (відповідає віку людини 14 років), а найменший – у тварин віком 20 міс (відповідає віку людини 55–56 років). У той же час восени низька концентрація мелатоніну була характерна для самців активного репродуктивного віку (9 міс), що відповідає віку людини 29–30 років.

2. Показано, що на тлі світлового десинхронозу відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей усіх вікових груп. Максимальне зниження рівня мелатоніну при десинхронозі виявлене у щурів-самців віком 9 міс – на 31% ($p < 0,05$) та у самців і самок віком 20 міс – відповідно на 23 % і 24 % ($p < 0,05$) відносно інтактного контролю. При виразковому ураженні шлунка рівень мелатоніну в сироватці крові у тварин усіх вікових груп знизився як у щурів-самців, так і щурів-самок (відповідно на 22–43% і 21–23% відносно контролю, $p < 0,05$). Поєднання виразкового ураження слизової оболонки шлунка з десинхронозом призводить до зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів усіх вікових груп, якщо порівнювати з інтактними тваринами, щурами з десинхронозом і тваринами з виразковим ураженням слизової оболонки шлунка.

3. Виявлено циркануальний ритм секреції тестостерону у щурів-самців.

В усіх вікових групах він характеризується високим рівнем гормону восени та низькою його концентрацією в крові взимку. Найвищий рівень тестостерону встановлено у самців 9- та 15-місячного віку восени, що збігається з періодом фізіологічного десинхронозу та дефіциту мелатоніну. При світловому десинхронозі та виразковому ураженні слизової оболонки шлунка відбувається достовірне підвищення вмісту тестостерону у щурів усіх вікових груп як чоловічої, так і жіночої статі, при цьому максимальний рівень гормону був характерний для самців віком 9 та 15 міс. При поєднанні виразкового ураження слизової оболонки шлунка з десинхронозом відбувається достовірне підвищення рівня тестостерону як відносно інтактного контролю, так і окремо у тварин з десинхронозом і гастральними виразками. При цьому зростання даного показника у самців було більш вираженим, ніж у самок.

4. Установлено негативний зворотний зв'язок між рівнем мелатоніну і тестостерону у статевозрілих щурів-самців у всі сезони року. Найсильніший кореляційний зв'язок між вмістом цих гормонів у крові виявлено у 9- та 15-місячних самців в осінній період. Світловий десинхроноз і виразкове ураження шлунка, а також їх поєднання значно посилюють негативний зворотний зв'язок між показниками секреції мелатоніну і тестостерону у щурів різної статі у всіх вікових групах. Одержані результати свідчать про виражену антигонадотропну дію мелатоніну у статевозрілих щурів-самців і водночас про гальмівний вплив високих концентрацій тестостерону на секрецію мелатоніну.

5. Установлено, що мелатонін-позитивно-мічені клітини розташовані в базальних і середніх відділах трубчастих залоз слизової оболонки шлунка, морфологічно представлені трьома типами клітин та знаходяться переважно у фундальному відділі органа. Незалежно від статі їхня кількість восени менша, ніж узимку, при цьому у самців їх значно менше, ніж у самок в обидва сезони. При десинхронозі, виразковому ураженні шлунка та їх поєднанні має місце статистично достовірне зменшення загальної кількості

мелатонін-позитивно-мічених клітин у різних відділах слизової оболонки шлунка як у самців, так і в самок. Найбільше зниження цього показника виявили у групах самців 9 і 15-місячного віку.

6. У щурів-самців контрольної групи, а також після пінеалектомії кількість апудоцитів у фундальному відділі шлунка більш ніж на 20 % перевищує їхню кількість у пілоричному. Видалення епіфіза спричиняє компенсаторне підвищення кількості мелатонін-продукуючих клітин як у фундальному (на 39 %), так і в пілоричному (на 35 %) відділах.

7. Зменшення рівня мелатоніну при десинхронозі супроводжується розвитком оксидативного стресу в організмі щурів різного віку та статі, але особливо у статевозрілих самців. Про це свідчить підвищення рівня ТБК-реактантів (в 1,3 раза) і зниження активності супероксиддисмутази і каталази крові (в 1,6 раза).

8. На тлі десинхронозу виявлене порушення специфічної імунної реактивності, на що вказують зменшення в крові відсоткового вмісту Т-лімфоцитів за рахунок Т-супресорів (в 1,3 раза) і підвищення рівня В-лімфоцитів (в 1,2 раза). При виразковому ураженні шлунка зміни цих показників мали протилежну спрямованість: при загальному зниженні рівня Т-лімфоцитів уміст Т-супресорів зростав в 1,2 раза, а кількість Т-хелперів і В-лімфоцитів зменшувалася відповідно в 1,9 і 2 рази.

9. Додавання до стандартної терапії омепразолом екзогенного мелатоніну мало позитивний ефект, що виявляв себе суттєвим покращенням динаміки показників вільнорадикального окиснення, а отже і зменшенням вираженості оксидативного стресу. На цьому фоні пригнічувалися процеси цитолізу, зменшувалася кількість і глибина виразкових дефектів за рахунок стимуляції процесів проліферації мелатонін-продукуючих клітин, утворення слизу і нормалізації місцевого кровообігу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авраменко А. А. К вопросу о необходимости тестирования на НР-инфекцию больных гастропатией и о безопасности применения ингибиторов протонной помпы в гастроэнтерологической практике / А. А. Авраменко // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2016. – № 1 (1). – С. 9–15.
2. Агаджанян Н. А. Липидный и гормональный обмен у здоровых мужчин в различные сезоны года / Н. А. Агаджанян, И. В. Радыш, А. Ф. Хисамутдинов // Казанский медицинский журнал. – 2009. – Т. 90. № 6. – С. 776–779.
3. Анисимов В. Н. Мелатонин роль в организме, применение в клинике / Владимир Николаевич Анисимов. – Спб. : Изд-во «Система», 2007. – 40 с.
4. Анисимов В.Н. Хронометр жизни / В.Н. Анисимов // Природа. – 2007. – № 7. – С. 3–10.
5. Анисимов В. Н. Эпифиз, биоритмы и старение организма / В. Н. Анисимов // Успехи физиологических наук. – 2008. – Т.39, № 4. – С. 40–65.
6. Анисимов В. Н. Старение женской репродуктивной системы и мелатонин / В. Н. Анисимов, И. А. Виноградова. – СПб. : «Система», 2008 – 44 с.
7. Анисимов В. Н. Синдром ускоренного старения при воздействии канцерогенных факторов окружающей среды / В. Н. Анисимов // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 8. – С. 817–833.
8. Анисимов В. Н. Световой режим, мелатонин и рак / В. Н. Анисимов // 2-ая международная конференция «Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской приматологии», 8-10 августа 2011 г. – Сочи, Розсип. – С. 15–19.
9. Арав В. И. Метод экстирпации эпифиза у белых крыс / В. И. Арав, С. М. Слюсарев, Е. В. Слюсарев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, № 9. – С. 258–360.
10. Арутюнян А.В. Полифункциональное антиоксидантное действие

мелатонина / А. В. Арутюнян, Л. С. Козина // 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований : всерос. наук.-практ. конф. : мат. конф. – СПб, 2008. – С 4–5.

11. Арушанян Э. Б. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин – универсальный естественный адаптоген / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Успехи физиологических наук. – 2012. – Т. 43, № 2. – С. 82–100.

12. Арушанян Э. Б. Значение эпифизарного гормона мелатонина для педиатрии и педиатрической фармакологии / Э. Б. Арушанян // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 116–122.

13. Ахмедова И. А. Влияние биоритмов как законов жизнедеятельности на работоспособность человека / И. А. Ахмедова // Вестник Ставропольского государственного университета. – 2005. – № 40. – С. 129–35.

14. Бондаренко Л. О. Порівняльна оцінка впливу пори року на формування нічного піку мелатоніну у молодих статевозрілих та старих щурів / Л. О. Бондаренко // Физиологический журнал. – 1992. – Т. 38, № 2. – С. 111–114.

15. Бондаренко Л. А. Некоторые гормональные механизмы ускоренного старения при гипопинеализме / Л. А. Бондаренко // Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології : наук.-практ. конф. (14 Данилевські читання), 2015 р., тези допов. – Х., 2015. – С. 14–20.

16. Бондаренко Л. А. Пинеальная железа и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная система: хронобиологические и возрастные аспекты: монографія / Л. А. Бондаренко, Г. И. Губина-Вакулик, А. Р. Геворкян; под ред. Ю. И. Караченцева, Н. А. Кравчун. – Харьков: Изд-во «С.А.М.», 2013. – 608 с.

17. Булик Р. Є. Участь пептидів шишкоподібної залози у забезпеченні функцій фотоперіодичності системи головного мозку та нирок (огляд літератури та власні дослідження) / Р. Є Булик, І. І. Заморський, В. П. Пішак // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т. 16, № 3 (63), Ч. 2. – С. 67–71.

18. Бурчинский С. Г. Мелатонин и его возможности в неврологической практике / С. Г. Бурчинский // Український вісник психоневрології. – 2013. – Т. 21, № 1 (74). – С. 112–117.

19. Васендин Д. В. Медико-биологические эффекты мелатонина: некоторые итоги и перспективы изучения / Д. В. Васендин // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2016. – № 3 (55). – С. 171–178.
20. Виразкова хвороба і інші виразки шлунку та 12 палої кишки / Точка доступу: http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/vn_med_alerg/classes_stud/uk/med/lik/ptn/основи%20внутрішньої%20медицини/4/13.%20виразкова%20%20хвороба.htm
21. Влияние экспериментального десинхроноза на органы иммунной системы у крыс WAG и НИСАГ / А.В. Шурлыгина, Е.В. Мельникова, Н.Г. Пантелеева и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 5. – С. 611–615.
22. Воздействие мелатонина и пептидов эпифиза на катехоламинергическое звено гипоталамической регуляции репродуктивной функции крыс / И. В. Милютина, А. В. Коренева, М. Г. Степанов, А. В. Арутюнян // Нейрохимия. – 2010. – Т. 27, № 3. – С. 221–229.
23. Возможности применения мелатонина для коррекции различных патологических состояний (Обзор литературы) / Л. И. Мальцева, Е. А. Гафарова, Г. Х. Гарипова, Ф. А. Фаттахова // Практическая медицина. – 2007. – № 1 (20). – С. 16–19.
24. Вознесенская Т. Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий / Т. Г. Вознесенская // Русский медицинский журнал. – 2006. – Т. 14, № 9. – С. 694–697.
25. Возрастные изменения лейкоцитарной формулы и морфометрических параметров больших гранулярных лимфоцитов крови крыс при различных режимах освещения // Л. Б. Узенбаева, И. А. Виноградова, А. Г. Голубева [и др.] // Успехи геронтологии. – 2006. – № 19.—С. 79–84.
26. Вылегжанина Т. А. Диффузная эндокринная систем (APUD-система) : учеб.-метод. пособие / Тамара Александровна Вылегжанина. – Минск: БГМУ, 2008. – 35 с.
27. 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.

28. Гнатюк В. В. Гістологічне та морфометричне дослідження слизової оболонки шлунка щурів після пінеалектомії / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2013. – № 2, т. II (32-II). – С. 99–101.

29. Гнатюк В. В. Особенности синтеза иммунокомпетентных клеток у крыс с гастральными язвами при световом десинхронозе / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вестник КАЗНМУ. – 2013. – № 5 (1). – С. 81–83.

30. Гнатюк В. В. Гендерні та вікові особливості вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту при десинхронозі / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2014. – Т. 18, № 2. – С.363–366.

31. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в щурів-самців різного віку при виразкових ураженнях шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Патологія. – 2015. – № 2 (34). – С. 31–34.

32. Гнатюк В. В. Дослідження циркануальних ритмів синтезу мелатоніну в сироватці крові щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2015. – № 3, т. 1 (41-I). – С. 117–123.

33. Гнатюк В. В. Порівняльна характеристика стану мелатонін-позитивно-мічених клітин шлунка у щурів різної статі на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стомат. академії.- 2015. – Т.15, № 3 (51). – С. 165–167.

34. Гнатюк В. В. Імуногістохімічне дослідження стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка при десинхронозі у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стомат. академії. – 2015. – Т.15, № 4 (52). – С. 216–220.

35. Гнатюк В. В. Дослідження рівнів мелатоніну в сироватці крові у

щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Світ медицини та біології. – 2015. – № 4 (54). – С. 106–108.

36. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.

37. Гнатюк В. В. Рівень мелатоніну у щурів-самців різного віку з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2016. – № 3 (45). – С. 132–137.

38. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

39. Гнатюк В. В. Дослідження кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різного віку та статі з виразковим ураженням шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Експериментальна і клінічна медицина. – 2016. – № 3(72). – С. 14–17.

40. Гнатюк В. В. Дослідження екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну у щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Медицина сьогодні и завтра. – 2016. – № 1 (70). – С. 10–14.

41. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу на рівень мелатоніну крові та екстрапінеальні джерела синтезу мелатоніну у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник морської медицини. – 2016. – № 3 (72). – С. 41–47.

42. Гнатюк В. В. 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 / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2016. – Т. XV, №3 (57). – С. 30–33.

43. Гнатюк В. В. Дослідження рівня тестостерону у щурів різної статі

та віку на тлі десинхронозу та виразкового ураження шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, №4 (56), Ч.3. – С. 35–38.

44. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, No 10. – P. 534–546.

45. Губин Г. Д. Классификация десинхронозов по причинному фактору и механизмам развития. Два принципа хронотерапии десинхронозов / Г. Д. Губин, Д. Г. Губин // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 1. – С. 50.

46. Губин Д. Г. Молекулярные механизмы циркадианных ритмов и принципы развития десинхроноза / Д. Г. Губин. – Успехи физиологических наук. – 2013. – Т. 44, № 4. – С. 65–87.

47. Губин Д. Г. Околонедельные (циркасептальные) ритмы в физиологии (обзор) / Д. Г. Губин. – Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1, Ч.8. – С. 1268–1272.

48. Губина-Вакулик Г.И. Длительное круглосуточное освещение как фактор ускоренного старения пинеальной железы / Г. И. Губина-Вакулик, Л. А. Бондаренко, Н. Н. Сотник // Успехи герантологии. – 2007. – Т. 20, № 1. – С. 92–95.

49. Дегтерева Е. В. Влияние трансмеридианных перелётов на здоровье человека / Е. В. Дегтерева // Молодой ученый. – 2014. – №1 (60). – С. 164–166.

50. Диагностика и лечение внутренних болезней: Руководство для врачей: в 3-х т. / под общ. ред. Ф. И. Комарова. Т.3. Болезни органов пищеварения и системы крови / Ф. И. Комаров, И. И. Хазанов, А. В. Калинин [и др.]; под ред. Ф. И. Комарова, А. И. Хазанова. – М. : Медицина, 1992. – 528 с.

51. Дизрегуляторная патология: Руководство для врачей и биологов / под ред. Г. Н. Крыжановского. – М. : Медицина, 2002. – 632 с.

52. Доклінічне вивчення нешкідливих лікарських засобів, призначених для застосування в педіатрії. Методичні рекомендації / М. Ф. Денісова, Н.С.

Нікітіна, І. П. Дзюба та ін. – Київ, 2002. – 27 с.

53. Долгов Г. В. Биорегулирующая терапия в акушерстве и гинекологии / Г. В. Долгов, Ю. В. Цвелев, В. В. Малинин. – СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2004. – 144 с.

54. Дослідження пероксидної оксидації ліпідів та антиоксидантного захисту організму в клінічній практиці: метод. реком. / Б. В. Качоровський, В. Л. Новак, В. П. Руденко, М. Ю. Аношина. – Львів, 2002. – 20 с.

55. Дроговоз С. М. Хронофармакология для врача, провизора, студента: Учебник-справочник / Светлана Мефодиевна Дроговоз. – Х.: «Титул», 2016. – 376 с.

56. Жернакова Н. И. Клинико-эпидемиологические особенности течения язвенной болезни в различных возрастных группах / Н. И. Жернакова, Д. С. Медведев // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2010. – Т. 10, № 10. – С. 12–16.

57. Заболевания желудка и двенадцатиперстной кишки / Л. Д. Фирсова, А. А. Макарова, Д. С. Бородин, О. Б. Янова. – М. : Планида, 2011. – 52 с.

58. Западнюк В. И. Лабораторные животные / В. И. Западнюк. – К.: Вища школа, 1996. – 382 с.

59. Звягинцева Т. Д. Морфофункциональные особенности тучных клеток слизистой оболочки желудка при хронических эрозиях / Т. Д. Звягинцева, Я. К. Гаманенко // Кримський терапевтичний журнал. – 2008. – Т.1, № 1. – С. 82–84.

60. 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.

61. 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.

62. Евсюкова Е. В. Нейроэндокринная система легких человека / Е. В. Евсюкова // Физиология человека. – 2006. – Т. 32, № 4. – С. 121–130.
63. Энтерохромафинна клітина шлунково-кишкового тракту / Точка доступу: https://www.google.com/imgres?imgurl=http%3A%2F%2F1.bp.blogspot.com%2F-xEjq4ssRRNE%2FU0O25D0ulaI%2FAAAAAAAAAAJUU%2F7bgAEmWtBbU%2Fs1600%2FSerotonina1.jpg&imgrefurl=http%3A%2F%2Fdieta-paleolitica.blogspot.com%2F2014%2F04%2Fseguimos-con-los-microbios-de-nuestro.html&docid=apaZGWCu86dhhM&tbnid=pol02k3P8RVviM%3A&vet=10ahUKEwiciI_577fTAhXMWYwKHYGoVCoQMwhKKBwwNA..i&w=651&h=476&bih=660&biw=1366&q=Serotonina1&ved=0ahUKEwiciI_577fTAhXMWYwKHYGoVCoQMwhKKBwwNA&iact=mrc&uact=8
64. Ильина Т. Н. Влияние мелатонина на содержание витамина Е в органах крысы в условиях освещения / Т. Н. Ильина, Т. Р. Русколайнен, И. А. Виноградова // 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследования : всеросс. науч.-практ. конф.. – СПб., 2008. – С. 17–18.
65. Исламова Е. А. Возрастные особенности язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Е. А. Исламова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 5, № 4. – С. 569–571.
66. Исторические и морфофункциональные аспекты изучения эпифиза / А. В. Маликов, А. И. Ковальчук, Д. В. Бондарем [и др.] // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2014. – № 3 (82). – С. 16–19.
67. Казакевич В. Б. Роль мелатонина в центральной нервной системе / В. Б. Казакевич, М. А. Ибрахим // Труды БГУ. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2015. – № 1. – С. 42–51.
68. Казюлин А. Н. Использование ребамипида в качестве гастропротекторного и противовоспалительного препарата при лечении язвенной болезни, ассоциированной с *Helicobacter pylori* / А. Н. Казюлин // Лечебное дело. – 2016. – № 2. – С. 51–56.
69. Каладзе Н. Н. Итоги и перспективы изучения физиологических,

патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина / Н. Н. Каладзе, Е. М. Соболева, Н. Н. Скоромная // Здоров'я дитини. – 2010. – № 2 (23). – Точка доступу: <http://www.mif-ua.com/archive/article/12766>

70. Калашник С. В. Структурно-функціональна організація АПУД-системи органів дихання / С. В. Калашник, В. С. Бирка // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – 2014. – Т. 16, № 2 (59), Ч. 2. – С. 135–145.

71. Кветной И. М. Экстрапинеальный мелатонин: роль в хронобиологии и хрономедицине / И. М. Кветной // Вестник РУДН. – 2012. – №.7. – С. 126.

72. Клименко Н. А. Медиаторы патологии / Н. А. Клименко // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2001. – № 1. – С. 6–10.

73. Клопов М. И. Нейрогуморальная регуляция физиологических систем и обмена органических веществ у животных: учеб. пособие / М. И. Клопов, В. В. Арепьев, О. В. Першина. – М.: Изд-во ФГБОУ ВПО РГАЗУ, 2012. – 162 с.

74. Князькин И.В. Экстрапинеальный мелатонин в процессах ускоренного и преждевременного старения у крыс / И.В. Князькин. – Успіхи геронтології. – 2007. – Т. 21, № 1. – С. 80–82.

75. Князькин И .В. Мелатонин, старение и опухоли предстательной железы / И. В. Князькин // Успехи герантології. – 2008. – Т. 21, № 1. – С. 74–79.

76. Князькин И .В. Экстрапинеальный мелатонин в процессах ускоренного старения и преждевременного старения у крыс / И. В. Князькин // Успехи герантології. – 2008. – Т. 21, № 1. – С. 80–82.

77. Князькин И. В. Пинеальная железа и экстрапинеальные источники мелатонина в висцеральных органах при естественном старении человека / И. В. Князькин // Успехи герантології. – 2008. – Т. 21, № 1. – С. 83–85.

78. Ковальзон В. М. Мелатонин – без чудес / В. М. Ковальзон // Природа. – 2004. – № 2. – С. 12–19.

79. Ковальзон В. М. Мелатонин и сон / В.М. Ковальзон, А. М. Вейн // В

кн.: Мелатонин в норме и патологии. – М., 2004. – С. 182–197.

80. Колесникова Е. В. Медикаментозная профилактика и лечение гастропатий, связанных с приемом нестероидных противовоспалительных препаратов / Е. В. Колесникова, Т. А. Соломцева // Сучасна гастроентерологія. – 2016. – № 3 (89). – С. 91–96.

81. Колотилова М. Л. Нейрогенно-генетическая теория этиологии и патогенеза язвенной болезни / М. Л. Колотилова, Л. Н. Иванов / Вестник РАМН. – 2014. – № 7-8. – С. 10–16.

82. Коркушко О. В. Шишковидная железа: физиологическая роль в организме, функциональная недостаточность в пожилом возрасте, возможные пути коррекции / О. В. Коркушко, В. Б. Шатило // Медичний всесвіт. – 2003. – Т. 3, № 2. – С. 84–93.

83. Костенко Е. В. Десинхроноз 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.

84. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. О. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.

85. Лабунец І. Ф. Біоритми функціонального стану тимуса, імунної та нейроендокринної систем у людини: вплив віку, статі та патології / І. Ф. Лабунец // Патологія. – 2008. – Т. 5, № 2. – С. 118.

86. Лабунец И. Ф. Половые особенности возрастных изменений цирканнуальных ритмов функций эпифиза, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и тимуса у здоровых людей / И. Ф. Лабунец // Успехи герантологии. – 2013. – Т 26, № 1. – С. 97–104.

87. Литвиненко Г. И. Хронофармакологические свойства мелатонина / Г. И. Литвиненко // Бюлетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30, № 6. – С. 82–88.

88. Литвицкий П. Ф. Патофизиология: Учебник с прилож. 4-е изд., испр. и доп. / Петр Францович Литвицкий. – М.: Гэотар-медиа, 2009. – 496 с.

89. Лобанова Е. М. Сочетанное влияние дефицита кислорода и высокой

температуры на показатели метаболизма альвеолярных макрофагов / Е. М. Лобанова, А. Д. Таганович // Медицинский журнал. – 2005. – № 3. – С. 84–87.

90. Маев И. В. Язвенная болезнь / И. В. Маев, А. А. Самсонов. – М. : МИКЛОШ, 2009. – 428 с.

91. Маев И. В. Антибиотикорезистентность *Helicobacter pylori*: от клинического значения до молекулярных механизмов / И. В. Маев, Ю. А. Кучерявый, Д. Н. Андреев // Лечащий врач. – 2014. – № 2. – С. 34–40.

92. Малиновская Н. К. Роль мелатонина в регуляции функций желудочно-кишечного тракта / Н. К. Малиновская, С. И. Раппопорт // Клиническая медицина. – 1999. – № 8. – С. 4–9.

93. Малиновская Н. К. Мелатонин: вчера, сегодня, завтра / Н. К. Малиновская // Клиническая медицина. – 2002. – № 6. – С. 71–73.

94. Малиновская Н. К. Мелатонин и функции желудочно-кишечного тракта / Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – № 5. – 73–79.

95. Маршалл Дж. Клиническая биохимия / Джордж Маршалл. – СПб.: БИНОМ. – 2000. – 368 с.

96. Маслов Ю.С. Аспекты патогенеза язвенной болезни желудка двенадцатиперстной кишки / Ю. С. Маслов // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2012. – № 3 (39). – С. 75–80.

97. Мелатонин в норме и патологии / Ф. И. Комаров, С. И. Раппопорт, Н. К. Малиновская, В. Н. Анисимов. – М. : Медпрактика, 2004. – 308 с.

98. Мелатонин. Иммуномодулирующие эффекты / И. А. Громакова, П. П. Сорочан, Н. Э. Прохач [и др.] // Теор. и экспер. медицина. – 2007. – № 4. – С. 13–20.

99. Мелатонин: теория и практика / А. Ю. Беспалых, В. Я. Бродский, О. В. Бурлакова [и др.]; под ред. С. И. Раппорта, В. А. Голиченкова. – М. : ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2009. – 99 с.

100. Мелатонин и деторождение. Часть 2. Постимплантационный период / А. Ю. Молчанов, М. Г. Ивановская, О. В. Бурлакова [и др.] // Вестник

Московского Ун-та. Сер. 16. Биология. – 2014. – № 1. – С. 3–8.

101. 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.

102. Мелатонин как молекулярный маркер возрастной патологии / В. А. Зуев, Н. И. Трифонов, Н. С. Линькова, Т. В. Кветная // Успехи герантологии. – 2017. – Т. 30, № 1. – С. 62–69.

103. Мелатонин: перспективы применения в клинике / под ред проф. С. И. Рапопорт. – М.: ИМА-ПРЕСС, 2012. – 176 с.

104. Мендель В. Э. Человек и лекарство. Часть 2. / В. Э. Мендель, О. И. Мендель // РМЖ. – 2010. – № 6. – С. 336–341.

105. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники / Григорий Андреевич Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. – 1969. – 424 с.

106. Метельская В. А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15–18.

107. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванов, М.Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

108. Методы определения активности трансфераз и гидролаз. Метод. указания / И. Л. Вовчук, С. С. Чернадчук, З. Е. Захариева [и др.]. – Одесса, 2011. – 69 с.

109. 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.

110. Мильто И. В. Дисперсная эндокринная система и концепция APUD / И. В. Мильто, И. В. Суходоло, Е. А. Геренг // Морфология. Архив анат., гистол. и эмбриол. – 2011. – Т. 139, № 2. – С. 80–88.

111. Минухин А. С. Роль андрогенов в обеспечении сексуальной функции у мужчин / А. С. Минухин. – Проблемы эндокринной патологии. – № 1. – 2010. – С. 99–106.

112. Минухин А. С. Роль гормональных факторов в регуляции и обеспечении сексуальной функции мужчин / А. С. Минухин. – Проблемы эндокринной патологии. – № 1. – 2011. – С. 76–82.

113. Мозговой песок эпифиза при ишемии мозга / А. Н. Гулькова, И. В. Рева, Г. В. Рева [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 654–659.

114. Молчанов А. Ю. Мелатонин и деторождение. Часть 1. Доимплантационный период и имплантация / А. Ю. Молчанов, М. Г. Ивановская // Вестник Московского университета. Серия 16 Биология. – 2013. – № 2. – С. 3–8.

115. Морущко Ю. В. Значение мелатонина и кортизола в регуляции артериального давления у детей с первичной артериальной гипертензией / Ю. В. Марущко, Т. В. Гишак, А. С. Злобинец // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2012. – № 2. – С. 57–59.

116. Нарциссов Р. П. Применение п-нитротетразоля фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека / Р. П. Нарциссов // Архив анат., систол., эмбриол. – 1969. – № 5. – С. 85–91.

117. Нейроэндокринология мужской половой системы, плаценты и эндометрия / И. В. Князькин, И. М. Кветной, П. Н. Зезюлин, С. В. Филиппов. – СПб. : Деан, 2007. – 191 с.

118. Нервові шляхи регуляції процесів синтезу мелатоніну в епіфізі
Точка доступу: <http://fundamed.ru/int/211-rol-melatonina-v-zheludochno-kishechnom-trakte.html>

119. Налетов А. В. Влияние вирулентных штаммов *Helicobacter pylori* на тяжесть течения хронической гастродуоденальной патологии в детском возрасте / А. В. Налетов // Сибирское медицинское образование. – 2015. – № 3. – С. 57–61.

120. Ниткин Д. М. Возрастной гипогонадизм / Д. М. Ниткин // Медицинские новости. – 2008. – № 8. – С. 19–22.

121. Новиков Д. К. Основы иммунологии. Учеб. пособие / Д. К.

Новиков, И. И. Генералов, Н. В. Железняк. – Витебск: изд-во ВГМУ, 2007. – 160 с.

122. 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 геронтологии. – 2007. – Т. 20, № 1. – С. 74–85.

123. Огнева О. И. Этиолого-иммунологические взаимосвязи при экспериментальном десинхронозу в условиях люминесцентного и светодиодного освещения / О. И. Огнева, М. В. Осиков // Здоровье и образование в XXI веке. – 2015. – Т. 17. – № 4. – С. 267–271.

124. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов [и др.] // Вопросы мед. химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26.

125. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин [и др.] – Новосибирск: АРГА, 2008. – 284 с.

126. О कोरोков А. Н. Диагностика болезней внутренних органов: Т. 1. Диагностика болезней органов пищеварения / А. Н. О कोरोков. – М. : Мед. лит., 2000. – 560 с.

127. Осадчук М. А. Влияние мелатонина в комплексной антихеликобактерной терапии на иммуногистохимические показатели эпителиоцитов желудка при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / М. А. Осадчук, А. А. Сибряев // Клиническая медицина. – 2012. – № 12. – С. 48–52.

128. Осадчук М. А. Н. рyлогі-негативная язвенная болезнь: современное состояние проблемы / М. А. Осадчук, А. М. Осадчук, А. А. Сибряев // РЖГГК. – 2014. – № 1. – С. 4–9.

129. Основні причини високого рівня смертності в Україні [Електронний ресурс]/ Новости медицины и фармации. – 2010. – № 22 (350). – Точка доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/15170>

130. Особенности мелатонинового обмена и гормонального статуса

женщин в зависимости от латерализации плаценты в предродовом периоде в различные сезоны года / Н. А. Рогова, Т. Л. Боташева, В. В. Авруцкая [и др.] // Современные проблемы науки и образования – 2013. – № 4. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=9946> (дата обращения: 12.02.2017).

131. Основні етапи біосинтезу мелатоніну в епіфізі / Точка доступу: https://lib.rus.ec/i/97/466497/i_085.png

132. Очередько А. Н. Оценка эффективности программы реабилитации у пациентов с впервые выявленным эпизодом язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / А. Н. Очередько, Н. Н. Кизлова // ScienceRise: Medical Science. – 2016. – № 6 (2). – С. 46–50.

133. Передерий В. Г. Современные представления о причинах возникновения и лечении язвенной болезни / В. Г. Передерий, С. М. Ткач // Мистецтво лікування. – 2007. – 2(38). – С. 4-6.

134. Пішак В. П. Шишкоподібна залоза – головний ендокринний організатор білядобового періодизму / В. П. Пішак, Р. Є. Булик // Інтегративна антропологія. – 2011. – № 2 (18). – С 32–36.

135. Пішак В. П. Участь мелатоніну в генетичній і гормональній регуляції функцій жіночої репродуктивної системи / В. П. Пішак // Международный эндокринологический журнал. – 2012. – № 4 (44). – С 51 – 54.

136. Пішак В. П. Молекулярно-генетичні механізми часової організації фізіологічних функцій у ссавців (огляд літератури та власні дані) / В. П. Пішак, Р. Є. Булик, К. В. Власова // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Т. 18, № 1 (69). – С. 172–177.

137. Пишак В. П. Никотинзависимый оксидантный стресс и роль мелатонина / В. П. Пишак, М. И. Кривчанская, О. А. Громик // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2013. – Т. 8, № 4. – С. 17–19.

138. Плехова Е. И. Мелатонин и его возможное участие в функционировании щитовидной железы в пубертатном периоде / Е. И Плехова, С. И. Турчина // Проблемы эндокринной патологии. – 2011. – № 2. – С. 29–35.

139. Прогнозирование рецидива кровотечения у пациентов при остром

язвенном гастродуоденальном кровотечении / Е. А. Ярошенко, В. И. Дибенко, В. И. Ципоко [и др.] // Клінічна хірургія. – 2013. – № 6. – С. 11–14.

140. Психовегетативные нарушения у больных с функциональными расстройствами верхних отделов желудочно-кишечного тракта / С. М. Рыкова, А. П. Погромов, Г. М. Дюкова, А. М. Вейн // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2003. – № 3. – С. 21–26.

141. Разыграев А. В. Пути циркадианного контроля продукции гонадотропин-рилизинг-гормона / А. В. Разыграев, Г. О. Керкешко, А. В. Арутюнян // Журнал акушерства и женские болезни. – 2011. – Т. 60, № 2. – С. 88–98.

142. Райхлин Н. Т. АПУД-система: структура, функция, патология / Н. Т. Райхлин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – № 3. – С. 34–36.

143. Рапопорт С. И. Эпифиз – орган-мишень биотропного действия естественных магнитных волн / С. И. Рапопорт, Н. К. Малиновская // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 13–15.

144. Райхлин Н. Т. Синтез мелатонина в энтерохромаффинных клетках / Н. Т. Райхлин, И. М. Кветной // Архив патологии. – 1976. – № 1. – С. 21–25.

145. Регуляция антиоксидантного гомеостаза и системы детоксикации организма гормоном мелатонином. Роль мелатонин-зависимых рецепторов в реализации этой функции / И.Ф. Беленичев, Ю.И. Губский, Е.Л. Левицкий [и др.] // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – № 2. – С. 2–16.

146. Регуляція синтезу тестостерону / Точка доступу: http://biochemistry.ru/biohimija_severina/img/B5873p612-a1.jpg

147. Роль апуд-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.

148. Роль диффузной эндокринной системы и клеточного гомеостаза эпителиоцитов слизистой оболочки желудка в возникновении и течении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / А. М. Осадчук, М. А. Осадчук,

Е. А. Исламова, И. М. Кветной // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – № 4. – С.19–24.

149. Роль циркадных факторов и мелатонина в возникновении эпилептических пароксизмов / Г. Н. Авакян, С. В. Денисова, О. М. Олейникова, С. А. Курбанова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2007. – № 9. – С. 85–92.

150. Руководство по геронтологии и гериатрии: в 4-х т. / под ред. акад. РАМН, проф. В. Н. Ярыгина, проф. А. С. Мелентьева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – Т. 2. Введение в клиническую гериатрию. – 784 с.

151. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника: руководство / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Петрова. – М. : Медицина, 1996. – 341 с.

152. Свешников А. А. Половая функция мужчин при действии стресс-факторов чрезвычайной интенсивности / А. А. Свешников, Н. В. Шарипов. – М. : Академия Естествознания, 2013. – 222 с.

153. Седов В. М. Возможности применения мелатонина в лечении больных хирургическими заболеваниями / В. М. Седов, М. М. Плисс, М. Б. Фишман // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. – 2015. – Т. XXII, № 3. – С. 20–24.

154. Семак И. В. Физиологические и биохимические механизмы регуляции циркадианных ритмов / И. В. Семак, В. А. Кульчицкий // Труды Белорусского госуниверситет. – 2007. – Т.2, Ч.1. – С. 17–37.

155. Семенов Д. В. Порівняльне вивчення проти виразкової активності субстанції аронії чорноплідної на різних моделях виразки шлунка щурів /Д. В. Семенов // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 1 (30). – С. 39–45.

156. Семичева Т. В. Эпифиз: современные данные о физиологии и патологии / Т. В. Семичева, А. Ю. Гарибашвили // Проблемы эндокринологии – 2000. – № 4. – С. 38–45.

157. 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.

158. Содержание тестостерона и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей в зависимости от типа продуктивности, возраста и сезона года / Х. А. Амерханов, А. И. Абилов, Г. В. Ескин [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 2. – С. 59–66.

159. Соколова Г. Н. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка / Г. Н. Соколова, В. Б. Потапов. – М. : Анахарсис, 2009. – 328 с.

160. Смирнов А. Н. Ядерные рецепторы мелатонина / А. Н. Смирнов // Биохимия. – 2001. – Т. 66, № 1. – С. 28–36.

161. Соколовский В. В. Гистохимические исследования в токсикологии / Виктор Владимирович Соколовский. – Л. : Медицина, 1971. – 176 с.

162. Сошина А. А. Особенности клинической картины и прогноз у пациентов, освидетельствованных в бюро медико-социальной экспертизы в связи с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / А. А. Сошина, В. В. Сергеева, Т. В. Зиняева // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94, № 1. – С. 124–127.

163. Степанов Ю. М. Гастроентерологічна допомога населенню України: основні показники здоров'я та ресурсне забезпечення у 2011 р. / Ю. М. Степанов, І. Ю. Скирда // Гастроентерологія. – 2013. – № 1(47). – С. 8–11.

164. Степанова С. И. Биоритмологические проблемы адаптации / Светлана Ивановна Степанова. – М. : Наука, 1986. – 244 с.

165. Судаков К. В. Функциональные системы организма в динамике патологических состояний / К. В. Судаков // Клиническая медицина. – 1997. – № 10. – С. 4–11.

166. Сывороточные фосфолипиды, показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как дополнительные неинвазивные маркеры активности хронического вирусного гепатита С / Н. И. Гейвандова, А.

В. Ягода, Д. А. Гудзовская и др. // Рос. журн. гастроэнтерол. гепат. колопроктол. – 2008. – № 6 – С. 38–42.

167. Тимченко А. Н. Основы биоритмологии. Учебно-метод. Пособие / Анна Николаевна Тимченко. – Харьков, 2012. – 148 с.

168. Труфакин В. А. Лимфоидная система – циркадианная временная организация и десинхроноз / В. А. Труфакин, А. В. Шурлыгина, С. В. Мичурина // Бюлетень СО РАМН. – 2012. - Т. 32, № 1. – С. 5–12.

169. Ультрамiкроскопiчнi змiни пiнеальної залози, що викликані стрессом за умов світлової депривації / Ю. В. Ломакіна, В. П. Пішак, Р. Є. Булик, М. І. Кривчанська // Вісник ЛНУ ім. Т. Г. Шевченко. – 2011. – № 18 (229). – С. 115–121

170. Ульцерогенез в среднем и пожилом возрасте: роль нейроэндокринных клеток желудка, продуцирующих серотонин / А. М. Стояков, Н. И. Жернакова, А. Н. Ильницкий, В. И. Бессарабов // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 4. – С. 81–82.

171. Унфікований медичний протокол медичної допомоги дітям із виразковою хворобою шлунка та дванадцятипалої кишки. Наказ МОЗ України № 59 від 29.01.2013 // Современная педиатрия. – 2014. – № 2 (58). – С. 83–88.

172. Фадеев П. А. Язвенная болезнь / Павел Александрович Фадеев. – М. : ООО «Издательство Оникс»: ООО «Издательство «Мио и Образование», 2009. – 128 с.

173. Фадееенко Г. Д. Роль мелатоніну у патогенезі функціональних розладів травного каналу / Г. Д. Фадееенко, О. Г. Гапонова // Ліки людини. – 2008. – № 4 (120). – С. 98–100.

174. Фадееенко Г. Д. Место висмута субцитрата в комплексной терапии пациентов с язвенной болезнью, ассоциированной с *Helicobacter pylori* / Г. Д. Фадееенко, Е. В. Колесникова // Сучасна гастроентерологія. – 2015. – № 1 (81). – С. 37–43.

175. Хайдарова Ф. А. Тестостерон и качество жизни женщин (обзор литературы) / Ф. А. Хайдарова, С. С. Нигматова // Международный

эндокринологический журнал. – 2012. – № 2 (42). – С. 137–142.

176. Хронобиология и хрономедицина / под ред. Ф. И. Комаров, С. И. Рапопорт. – М. : «Триада-Х», 2000. – 488 с.

177. Хронофармакология наглядно (Хронофармакология в таблицах и рисунках): Справочник – учебное пособие / под ред. С. М. Дроговоз. – Х., «Титул», 2014. – 128 с.

178. Хронофизиология, хронофармакология и хронотерапия / Н. А. Агаджанян, В. И. Петров, И. В. Радыш, С. И. Краюшкин // Москва-Волгоград, 2005. – 335 с.

179. Циммерман Я. С. Концепция патогенеза язвенной болезни (обоснование) / Я. С. Циммерман // Клиническая медицина. – 1994. – № 4. – С. 65–67.

180. Циммерман Я. С. Концепция патогенеза язвенной болезни и перспективы ее излечения / Я. С. Циммерман, И. И. Телянер // РЖГГК. – 1998. – № 3. – с. 35–41.

181. Циммерман Я. С. Клиническая гастроэнтерология. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 416 с.

182. Циммерман Я. С. Язвенная болезнь: актуальные проблемы этиологии, патогенеза, дифференцированного лечения. Клиническая медицина. – 2012. – № 8. – С. 11–18.

183. Циммерман Я.С. Язвенная болезнь: актуальные проблемы этиологии, патогенеза, дифференцированного лечения // Нерешенные и спорные проблемы современной гастроэнтерологии.– М.: МЕДпресс-информ, 2013. – С. 85–107.

184. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й Сокей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

185. Черний В. И. Нарушение иммунитета при критических состояниях: особенности диагностики / В. И. Черний, А. Н. Нестеренко // Внутренняя медицина. – 2007. – № 4 (4). – Точка доступа: <http://www.mif->

ua.com/archive/article/2835.

186. Чижиков Д. А. Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки: фокус на идиопатические язвы и вегетативную регуляцию (обзор) / Д. А. Чижиков, Т. В. Копытова, В. И. Борисов // Медицинский альманах. – 2016. – № 1 (41). – С. 34–38.

187. Шандра О. О. Вплив дельтарану та мелатоніну на стан імунної системи щурів за умов експериментального контактного дерматиту / О. О. Шандра // Фізіологічний журнал. – 2014. – Т. 60, № 1. – С. 78–83.

188. Шаталин Б. О. Влияние мелатонина на окислительный метаболизм семенников на фоне действия нитратной интоксикации и рентгеновского облучения/ Б. О. Шаталин, В. А. Костенко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – № 3 (47). – С. 42–44.

189. Шишкоподібна залоза: патоморфологія, патологічна фізіологія, фармакологія / В. П. Пішак, Р. Є. Булик, І. І. Заморський, С. С. Ткачук. – Чернівці, 2012. – 264 с.

190. Шурлыгина А. В. Основы хронобиологии и хрономедицины в схемах и таблицах. Методическое пособие. // Анна Вениаминовна Шурлыгина. – Новосибирск, 2001. – 31 с.

191. Эпилепсия и гормон эпифиза: современное состояние проблемы / О. М. Олейникова, Е. Н. Карева, М. А. Богомазова [и др.] // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2011. – Т. 3, № 4. – С. 22–27.

192. Энтерохромаффинные клетки – основной источник мелатонина в организме / И. И. Кветной, Н. Т. Райхлин, В. В. Южаков, И. Э. Ингель // Бюллетень эксп. биол. и мед. – 1999. – Т. 127, № 4. – С. 366–370.

193. Яглов В. В. Новые концепции биологии диффузной эндокринной системы: итоги и перспективы ее изучения / В. В. Яглов, Н. В. Яглова // Вестник РАМН. – 2012. – № 4. – С. 74–81.

194. Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки: история взглядов на патогенез и лечение / В. И. Совалкин, Г. Р. Бикбавова, Л. М. Смирнова, Н. С. Кокухина // Омский научный вестник. – 2013. – № 2 (124). – С.

54–58.

195. Яковлева Л. В. Экспериментальне вивчення нових противиразкових препаратів / Л. В. Яковлева, Г. В. Оболенцева, Л. П. Брюзгінова // Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек.; за ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 321–333.

196. Ярмолинская М. И. Мелатонин и генитальный эндометриоз – новые возможности терапии / М. И. Ярмолинская, Д. В. Зайцев, С. Ш. Тхазапличаева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015. – Т. LXIV, № 1. – С. 67–75.

197. Яроцкая Н. В. Возможности применения мелатонина в гинекологии / Н. В. Яроцкая, Е. В. Занько // Репродуктивна ендокринологія. – 2017. – № 2 (34). – С. 96–100.

198. Яшенко С. Г. Изменение сезонной ритмики экскреции 6-гидроксимелатонинсульфата у студентов при использовании различных источников искусственного освещения и физической активности / С. Г. Яшенко // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 2, ч. 3 (58). – С. 289–291.

199. Helicobacter Pylori-отрицательные язвы желудка и двенадцатиперстной кишки: распространенность, тактика ведения и лечения / И. Л. Кляритская, А. М. Абугазле Халед, И. А. Вильцанюк, М. Г. Курченко // Сучасна гастроентерологія. – 2004. – № 6. – С. 33–37.

200. A review of Helicobacter pylori diagnosis, treatment, and methods to detect eradication / E. Ganza-Gonzalez, G. I. Perez-Perez, H. J. Maldonado-Garza, F. J. Bosques-Padilla // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, № 6. – P. 1438–1449.

201. Advances in interactions between glucocorticoid hormones and circadian gene expression / Y. H. Ni, T. Wu, L. Wang [et al.] // Yi Chuan. – 2008. – Vol. 30, № 2. – P. 135–141.

202. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronization in rats / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, T. A. Kozub, V. V. Chikitkina, L. V. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104.

203. Araujo M. B. Etiopathogenesis of peptic ulcer: back to the past? / M. B. Araujo, P. Borini, R. C. Guimaraes // *Arg. Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 51, № 2. – P. 155–161.
204. Ardent J. Melatonin as a chronobiotic / J. Ardent, D. J. Skene // *Sleep Medicine Reviews*. – 2005. – Vol. 9, № 1. – P. 25–39.
205. Arendt J. Melatonin and human rhythms / J. Arendt // *Chronobiology International*. – 2006. – Vol. 23, № 1&2. – P. 21–37.
206. Bubenik G. A. Gastrointestinal melatonin: localization, function and clinical relevance / G. A. Bubenik // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2002. – Vol. 47, № 10. – P. 2336–2348.
207. Bubenik G. A. Melatonin and aging: prospects for human treatment / G. A. Bubenik, S. J. Konturek // *Journal of physiology and pharmacology*. – 2011. – Vol. 62, № 1. – P. 13–19.
208. Bendz L. M. Melatonin treatment for insomnia in pediatric patients with attention-deficit/hyperactivity disorder / L. M. Bendz, A. C. Scates // *Ann Pharmacother*. – 2010. – Vol. 44, № 1. – P. 185–191.
209. Claustrat B. The basic physiology and pathophysiology of melatonin / B. Claustrat, J. Brun, G. Chazot // *Sleep Medicine Reviews*. – 2005. – Vol. 9, № 1. – P. 11–24.
210. Claustrat B. Melatonin: Physiological effects in humans / B. Claustrat, J. Leston // *Neurochirurgie*. – 2015. – Vol. 61, № 2-3. – P. 77–84.
211. Current perspectives in NSAID-induced gastropathy / M. Sinha, L. Gautam, P. K. Shukla [et al.] // *Mediators Inflammation*. – 2013. – Vol. 2013, Article ID 258209, 11 pages. Точка доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/258209>.
212. Daily variation and light responsiveness of mammalian clock gene, Clock and BMAL1, transcripts in the pineal body and different areas of brain in rats / M. Namihira, S. Honma, H. Abe [et al.] // *Neuroscience Letters*. – 1999. – Vol. 267. – P. 69–72.
213. Damaging actions of testosterone on cysteamine-induced gastroduodenal ulceration and vascular leakage in the rat / F. László, C. Varga, C. Montoneri, F.

Drago // *European Journal Pharmacology*. – 1997. – Vol. 337, № 2-3. – P. 275–278.

214. Effect of exposure to extremely low frequency magnetic fields on melatonin levels in calves is seasonally dependent / T. Kolbabova, E. Pascal Malkemper, L. Bartos [et al.] // *Scientific Reports*. – 2015. – № 5. – Точка доступа: <https://www.nature.com/articles/srep14206>

215. Effect of melatonin on androgen receptor and catalase mRNA / C. Rodriguez, R.M. Sainz, S. Antolin [et al.] // *European Journal of anatomy*. – 2017. – Vol. 3, № 3. – P. 127–135.

216. Epidemiology of perforated peptic ulcer: age- and gender-adjusted analysis of incidence and mortality / K. Thorsen, J. A. Soreide, J. T. Kvalov [et al.] // *World J. Gastroenterol*. – 2013. – Vol. 19, № 3. – P. 347–354.

217. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions / Dario Acuna-Castroviejo, Germaine Escames, Carmen Venega // *Cellular and Molecular life Sciences*. – 2014. – Vol. 71, № 16. – P. 2997–3025.

218. Freedman L. P. *Molecular biology of steroid and nuclear hormone receptors* / L. P. Freedman. – Birkhausen: Boston, 1997. – 450 p.

219. Functional melatonin receptors in the human prostate epithelial cells / E. Gilad, M. Laudon, H. Matzkin [et al.] // *Endocrinology*. – 1996. – Vol. 137 (4). – P. 1412–1417.

220. *Gastrointestinal Melatonin: Cellular identification and biological role* / I. G. Kvetnoy, I. E. Ingel, T. V. Kvetnaia [et al.] // *Neuroendocrinology Letters*. – 2002. – № 23. – P. 121–132.

221. Graham D. Y. *History of Helicobacter pylori, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer* / D. Y. Graham // *World Journal Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 20, № 18. – P. 5191–5204.

222. Gutef E. H. *Prevalence of Helicobacter pylori infection with peptic ulcer diseases in Iraqi patients* / E. H. Gutef // *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. – 2016. – Vol. 3, № 4. – P. 479–482.

223. Hagymasi K. *Helicobacter pylori infection: new pathogenetic and clinical aspects* / K. Hagymasi, Z. Tulassay. – 2014. – Vol. 21, № 21. – P. 6386–6399.

224. Hawkey C. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy / C. Hawkey // *Gastroenterology*. – 2000. – Vol. 119, № 2. – P. 521–535.
225. *Helicobacter pylori*-negative, non-steroidal anti-inflammatory drug: negative idiopathic ulcers in Asia / K. Iijima, T. Kanno, T. Koike, T. Shimosegawa // *World Journal Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 20, № 3. – P. 706–713.
226. *Helicobacter pylori iceA*, Clinical Outcomes, and Correlation with *cagA*: A Meta-Analysis / Seiji Shiota, Masahide Watada, Osamu Matsunari [et al.] // *PLOS*. – 2012. – Точка доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030354>
227. Hildenbrandt G. Chronobiological aspects of physical therapy and cure treatment. *Handbuch der Baden und klima heilkunde* / G. Hildenbrandt // Stuttgart, 1962. – P. 730–785.
228. Hong-Mei Z. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions / Z. Hong-Mei, Z. Yigiang // *Pineal Research*. – 2014. – Vol. 57, № 2. – P. 131–146.
229. Hnatiuk V. V. The study of the relationship between the levels of melatonin in the blood serum and melatonin-positive-labeled cells in ulcerative lesions of the stomach in male rats of different age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2016. – Vol. 6, № 9. – P. 524–530.
230. Hnatiuk V. V. Characteristics of melatonin-positive-labeled cells of gastric mucosa amount in rats of different sexes in autumn and winter / V. V. Hnatiuk // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2016. – Vol. 6, № 11. – P. 622–628.
231. Immortalized cells from the rat suprachiasmatic nucleus express functional melatonin receptors / M. A. Rivera-Bermudez, M. I. Masana, G. M. Brown, [et al.] // *Brain Research*. – 2004. – Vol. 1002, № 1-2. – P. 21–27.
232. Influence of photoperiod duration and light-dark transitions on entrainment of *Per1* and *Per2* gene and protein expression in subdivisions of the mouse suprachiasmatic nucleus / S. Sosniyenko, R. A. Hut, S. Daan, A. Sumova // *European Journal of Neuroscience*. – 2009. – Vol. 30, № 9. – P. 1802–1814.
233. Jet lag: trends and coping strategies / J. Waterhouse, T. Reilly, G. Atkinson, B. Edwards // *The Lancet*. – 2007. – Vol. 369, № 9567. – P. 1117–1129.

234. Johnsson A. Light, circadian and circannual rhythms. Solar Radiat Human Health / A. Johnsson. – Oslo, 2008. – P. 57–75.

235. Kachi T. Pineal-Digestive Organ Relations: Physiological and Pathophysiological Significance of Melatonin in the Digestive System / T. Kachi, M. Kurushima // Hirosaki Medical Journal.– 2000.– Vol. 51. – P.93–108.

236. Kononenko N. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / N. Kononenko, V. Hnatiuk // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.

237. Konturek S. J. Melatonin in gastroprotection against stress-induced acute gastric lesions and healing of chronic gastric ulcers / S. J. Konturek, P. C. Konturek, T. Brzozowski // Journal of Physiology and Pharmacology. – 2006. – Vol. 57, № 5. – P. 51–66.

238. Li C. Melatonin and male reproduction / C. Li, X. Zhou // Clinica Chimica Acta. – 2015. – Vol. 446. – P.175–180.

239. Mahaveer S. Melatonin: functions and ligands / S. Mahaveer, R. J. Hemant //Drug Discovery Today. – 2014. – Vol. 19, № 9. – P. 1410–1418.

240. Malfertheiner P. Peptic ulcer disease / P. Malfertheiner, F. K. Chan, K. E. McColl // Lancet. – 2009. – Vol. 374, № 9699. – P. 1449–1461.

241. Management of Helicobacter pylori infection – the Maastricht IV / Florence Consensus Report / P. Malfertheiner, F. Megraud, Colm A O'Morain [et al.] // Gut. – 2012. – Vol. 61, № 5. – P. 646–664.

242. Melatonin administration alters semen quality in healthy men / R. Luboshitzky, Z. Shen-Orr, R. Nave [et al.] // Journal Andrology. – 2002. – Vol. 23, № 4. – P. 572–578.

243. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable / Lucien C. Manchester, Ana Coto-Montes, Jose Antonio Boga [et al.] // Pineal Research. – 2015. – Vol. 59, № 4. – P. 403–419.

244. Melatonin and adjustment to phase shift / J. Arendt, S. Deacon, J. English [et al.] // Journal of Sleep Research. – 1995. – Vol. 4, №. 2. – P. 74–79.

245. Melatonin and its correlation with testosterone in polycystic ovarial

syndrome / P. Jaine, M. Jain, C. Haldar [et al.] // *Journal of Human Reproductive Sciences*. – 2013. – Vol. 6, № 4. – P. 253–258.

246. Melatonin and human reproduction: Shedding light on the darkness hormone / V. Srinivasan, W. D. Spence, S. R. Pandi-Perumal [et al.] // *Gynecol Endocrinol*. – 2009. – Vol. 25, № 12. – P. 779–785.

247. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen / V. N. Anisimov, I. G. Popovaich, M. A. Zabezhinski [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2006. – Vol. 1757, № 5-6. – P. 573–589.

248. Melatonin excretion with affect disorders over age 60 / D. F. Kripke, S. D. Youngstedt, K. M. Rex [et al.] // *Psychiatry Research*. – 2003. – Vol. 118, № 1. – P. 47–54.

249. Melatonin improves the fertilization ability of post-ovulatory aged mouse oocytes by stabilizing ovastacin and Juno to promote sperm binding and fusion / X. Dai, Y. Lu, M. Zhang [et al.] // *Human Reproduction*. – 2017. – Vol. 32, № 3. – P. 598–606.

250. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits / S. Tordjman, S. Chokron, R. Delorme [et al.] // *Current Neuropharmacology*. – 2017. – Vol. 15, № 3. – P. 434–443.

251. Melatonin replacement restores the circadian behavior in adult rat Leydig cells after pinealectomy / A. Z. Baburski, S. J. Sokanovic, M. M. Janjic // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 2015. – Vol. 413. – P. 26–35.

252. Mechanisms of Esophageal Protection, Gastroprotection and Ulcer Healing by Melatonin. Implications for the Therapeutic use of Melatonin in Gastroesophageal Reflux Disease (GERD) and Peptic Ulcer Disease / I. Brzozowska, M. Strzalka, D. Drozdowicz [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. – 2014. – Vol. 20, № 30. – P. 4807–4815.

253. Mukaka M. M. Statistics corner: A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research / M. M. Mukaka // *Malawi Medical Journal*. – 2012. – Vol. 24, № 3. – P. 69–71.

254. Mukherjee A. Melatonin membrane receptor (MT1R) expression and

nitro-oxidative stress in testis of golden hamster, *Mesocricetus auratus*: An age-dependent study / A. Mukherjee, C. Halder // *Experimental Gerontology*. – 2015. – Vol. 69. – P. 211–220.

255. Oh S. Epidemiological and genome-wide association study of gastritis or gastric ulcer in Korean populations / Sumin Oh, Sejong Oh // *Genomics & Informatics*. – 2014. – Vol. 12, № 3. – P. 127–133.

256. Oluwole F. S. Antiulcer Effects of Melatonin in Wistar Rats –The Roles of Gastric Mucous, Antioxidants and Zinc / F. S. Oluwole, C. E. Ajieh, J. T. Ayoade // *African Journal of Biomedical Research*. – 2016. – Vol. 19, № 3. – P. 235–239.

257. Pineal calcification is associated with symptomatic cerebral infarction / A. Kitkhuandee, K. Sawanyawisuth, N. P. Johns [et al.] // *Stroke Cerebrovascular Diseases*. – 2014. – Vol. 23, № 2. – P. 249–253.

258. Peak of circadian melatonin rhythm occurs later within the sleep of older subjects / J. F. Duffy, J. M. Zeitzer, D. W. Rimmer [et al.] // *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. – 2002. – Vol. 282, № 2. – P. 297–303.

259. Peptic ulcers after the Great East Japan earthquake and tsunami: Possible existence of psychosocial stress ulcers in humans / T. Kanno, K. Iijima, Y. Abe [et al.] // *J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 48, № 4. – P. 483–490.

260. Photoperiod differentially regulates the expression of *Per1* and *ICER* in the pars tuberalis and the suprachiasmatic nucleus of the Siberian hamster / S. Messenger, D. G. Hazlerigg, J. G. Mercer, P. J. Morgan // *European Journal of Neuroscience*. – 2000. – Vol. 12. – P. 2865–2870.

261. Prevalence of *Helicobacter pylori* *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, *babA2*, and *oipA* genotypes in patients with upper gastrointestinal diseases / Hossein Sedaghat, Rezvan Moniri, Raika Jamali [et al.] // *Iranian Journal of Microbiology*. – 2014. – Vol. 6, № 1. – P. 14–21.

262. Prevalence of *Helicobacter pylori* *vacA*, *cagA*, *cagE*, *oipA*, *iceA*, *babA2* and *babB* genotypes in Iranian dyspeptic patients / Hossein Dabiria, Fereshteh Jafaric, Kaveh Baghaeic [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. – 2017. – Vol. 105. – P. 226–230.

263. Psychological Stress Increases Risk for Peptic Ulcer, Regardless of

Helicobacter pylori Infection or use of Non-steroidal Antiinflammatory Drugs / S. Levenstein, S. Rosenstock, R. K. Jacobsen, T. Jorgensen // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2015. – Vol. 13, № 3. – P. 498–506.

264. Putative melatonin receptors in benign prostate tissue / M. Laudon, E. Gilad, H. Matzkin [et al.] // *Journal Clinical Endocrinology Metabolism.* – 1996. – Vol. 81. – P. 1336–1342.

265. Randomised clinical trial: efficacy and safety of vonoprazan vs. lansoprazole in patients with gastric or duodenal ulcers – results from two phase 3, non-inferiority randomised controlled trials / H. Miwa, N. Uedo, J. Watari [et al.] // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* – 2017. – Vol. 45, № 2. – P. 240–252.

266. Rebekah Mullaney Light From Self-Luminous Tablet Computers Can Affect Evening Melatonin, Delaying Sleep. / Rebekah Mullaney // *Rensselaer.* – 2012. – Точка доступа: <http://www.newswise.com/articles/light-from-self-luminous-tablet-computers-can-affect-evening-melatonin-delaying-sleep>.

267. Reiter R. J. Melatonin: Exceeding Expectations / R. J. Reiter, Du-Xian Tan, A. Galano // *Physiology Published.* – 2014. – Vol. 29, № 5. – P. 325–333

268. Rodriguez J. C. Sleep problems in the elderly / J. C. Rodriguez, J. M. Dzierzewski, C. A. Aleesi // *Medical Clinics of North America.* – 2015. – Vol. 99, № 2. – P. 431–439.

269. Roesler B. M. Virulence Factors of *Helicobacter pylori*: A Review / B. M. Roesler, E. M. A. Rabelo-Goncalves, J. M. R. Zeitune // *Clinical Medicine Insights: Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 7. – P. 9–17.

270. Seasonality of pineal melatonin production in the rat: possible synchronization by the geomagnetic field / H. Bartsch, C. Bartsch, D. Mecke, T. H. Lippert // *Chronobiology International.* – 1994. – Vol. 11, № 1. – P. 21–26.

271. Skene D. J. Human circadian rhythms: physiological and therapeutic relevance of light and melatonin / D. J. Skene, J. Arendt // *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine.* – 2006. – Vol. 43, № 5. – P. 344–353.

272. Shiu S. Y. W. Biology of G-protein coupled melatonin receptors in the

epididymis and prostate of mammals / S. Y. W. Shiu, L. Li, J. T. Y. Wong // *Chinical Medical Journal*. – 1997. – Vol. 110. – P. 648–655.

273. Schwartz W. J. Circadian rhythms: a tale of two nuclei / W. J. Schwartz // *Current Biology*. – 2009. – Vol. 19, № 11. – P. 460–462.

274. Subudhi B. B. Updates in Drug Development Strategies against Peptic ulcer / B. B. Subudhi, S. P. Sahoo, P. K. Sahu // *Journal of Gastrointestinal and Digestive System*. – 2016. – Vol. 6, N 2. – P. 398 – Точка доступа: [https://www.omicsonline.org/open-access/updates-in-drug-development-strategies-against-peptic-ulcer-2161-069X-1000398.php?aid=72237DOI: 10.4172/2161-069X.1000398](https://www.omicsonline.org/open-access/updates-in-drug-development-strategies-against-peptic-ulcer-2161-069X-1000398.php?aid=72237DOI:10.4172/2161-069X.1000398)

275. Suprachiasmatic control of melatonin in rats: Inhibitory and stimulatory mechanisms / S. Perreau-Lentz, A. Kalsbeek, M. L. Garidou [et al.] // *European Journal of Neuroscience*. – 2003. – Vol. 17. – P. 221–228.

276. Tan D. X. Melatonin: A potent endogenous hydroxyl radical scavenger / D. X. Tan // *Endocrine Journal*. – 2007. – Vol. 1. – P. – 57–60.

277. Temporal expression of seven clock genes in the suprachiasmatic nucleus and parastuberalis of the sheep: evidence of internal coincidence timer / G. Lincoln, S. Messenger, H. Andersson, D. Hazlerigg // *PNAS*. – 2002. – Vol. 99, № 21. – P. 13890–13895.

278. Th1 and Th2 in Human IVF Pregnancy with Allogenic Fetus / V. P. Chernyshov, L. E. Tumanova, I. A. Sudoma, V. I. Bannikov // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2008. – Vol. 59, № 4. – P. 352–358.

279. The effect of diurnal variation on clinical measurement of serum testosterone and other sex hormone levels in men / D. J. Brambilla, A. M. Matsumoto, A. B. Araujo, J. B. McKinlay // *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*. – 2009. – Vol. 94, № 3. – P. 907–913.

280. The photoperiod, circadian regulation and chronodisruption; the suprachiasmatic nuclei and the pineal and gut melatonin / R. J. Reiter, S. Rosales-Corral, A. Coto-Montes A. [et al.] // *Journal Physiology and Pharmacology*. – 2011. – Vol. 62, № 3. – P. 269–274.

281. The role of female and male sex hormones in the healing process of preexisting lingual and gastric ulcerations / A. Machowska, A. Szlachcic, M. Pawlik [et al.] // *Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2004. – Vol. 55, № 2. – P. 91–104.

282. Trivedi A. K. Melatonin: an internal signal for daily seasonal timing / A. K. Trivedi, V. Kumar // *Indian Journal of Experimental Biology*. – 2014. – Vol. 52, P. 425–437.

283. Wen S. Helicobacter pylori virulence factors in gastric carcinogenesis / S. Wen, S.F. Moss // *Cancer letters*. – 2009. – Vol. 282, № 1. – P. 1–8.

ДОДАТКИ

Додаток 1

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Кононенко Н. М. Гістологічне та морфометричне дослідження слизової оболонки шлунка щурів після пінеалектомії / Н. М. Кононенко, В. В. Гнатюк // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2013. – № 2, т. II (32-II). – С. 99–101.
2. Гнатюк В. В. Особенности синтеза иммунокомпетентных клеток у крыс с гастральными язвами при световом десинхронозе / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вестник КАЗНМУ. – 2013. – № 5 (1). – С. 81–83
3. Гнатюк В. В. Гендерні та вікові особливості вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту при десинхронозі / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2014. – Т. 18, № 2. – С.363–366.
4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в щурів-самців різного віку при виразкових ураженнях шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Патологія. – 2015. – № 2 (34). – С. 31–34.
5. Гнатюк В. В. Дослідження циркануальних ритмів синтезу мелатоніну в сироватці крові щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2015. – № 3, т. 1 (41-I). – С. 117–123.
6. Гнатюк В. В. Порівняльна характеристика стану мелатонін-позитивно-мічених клітин шлунка у щурів різної статі на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стомат. академії. – 2015. – Т. 15, № 3 (51), Ч. 1. – С. 165–167.
7. Гнатюк В. В. Імуногістохімічне дослідження стану мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка при десинхронозі у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Укр. мед. стомат. академії. – 2015. – Т. 15, № 4 (52). – С. 216–220.

8. Гнатюк В. В. Дослідження рівнів мелатоніну в сироватці крові у щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Світ медицини та біології. – 2015. – № 4 (54). – С. 106–108.

9. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.

10. Hnatiuk V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronosis in rats / V. Hnatiuk, N. Kononenko, T. Kozub, V. Chikitkina, L. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – No 6 (255). – P. 99–104.

11. Гнатюк В. В. Рівень мелатоніну у щурів-самців різного віку з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2016. – № 3 (45). – С. 132–137.

12. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

13. Гнатюк В. В. Дослідження кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у щурів різного віку та статі з виразковим ураженням шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Експериментальна і клінічна медицина. – 2016. – № 3(72). – С. 14–17.

14. Гнатюк В. В. Дослідження екстрапінеального джерела синтезу мелатоніну у щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко, Г. А. Божок // Медицина сьогодні и завтра. – 2016. – № 1 (70). – С. 10–14.

15. Hnatiuk V. V. The study of the relationship between the levels of melatonin in the blood serum and melatonin-positive-labeled cells in ulcerative lesions of the stomach in male rats of different age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol.6, № 9. – P. 524–530.

16. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу на рівень мелатоніну крові та екстра-пінеальні джерела синтезу мелатоніну у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Вісник морської медицини. – 2016. – № 3 (72). – С. 41–47.

17. Гнатюк В. В. 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 / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2016. – Т. XV, №3 (57). – С. 30–33.

18. Гнатюк В. В. Дослідження рівня тестостерону у щурів різної статі та віку на тлі десинхронозу та виразкового ураження шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, №4 (56), Ч. 3. – С. 35–38.

19. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, No 10. – P. 534–546.

20. Hnatiuk V. V. Characteristics of melatonin-positive-labeled cells of gastric mucosa amount in rats of different sexes in autumn and winter / V. V. Hnatiuk // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 11. – P. 622–628.

21. Kononenko N. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / N. Kononenko V. Hnatiuk, // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.

22. Гнатюк В. В. Стан системи пероксидації ліпідів та антиоксидантного захисту в слизовій оболонці шлунка при виразках на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Бюллетень XIII чтений им. Подвысоцкого : тези доп., 25–26 трав. 2014 р – Одесса, 2014. – С. 69.

23. Гнатюк В. В. Дослідження мелатонін-продукуючих клітин слизової

оболонки шлунка у щурів різного віку та статі / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 2–3 берез. 2015 р. – Харків, 2015. – С. 44–45.

24. Гнатюк В. В. Порівняльна характеристика рівнів мелатоніну у щурів різної статі та віку в осінньо-весняний період / В. В. Гнатюк // Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 берез. 2016 р. – Харків, 2016. – С. 22–23.

25. Гнатюк В. В. Циркануальний ритм синтезу тестостерону у щурів-самців різного віку / В. В. Гнатюк // Бюлетень XV чтений им. Подвысоцкого: тези доп., 26–27 мая 2016 г. – Одесса, 2016. – С. 52–53.

26. Гнатюк В. В. Рівень мелатоніну у сироватці крові щурів за умов виразкового ураження шлунка / В. В. Гнатюк // Сучасні аспекти медицини та фармації – 2016 : всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 12–13 травня 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С.15–16.

27. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу та виразкового ураження шлунка на рівень мелатоніну в сироватці крові у щурів-самок різного віку / В. В. Гнатюк // Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції : тези доповідей VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, 5–7 жовтня 2016 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2016. – С. 59.

28. Гнатюк В. В. Визначення рівнів тестостерону у щурів-самців різного віку на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Медична наука в практику охорони здоров'я : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених, 9 грудня 2016 р. – Полтава, 2016. – С. 88.

29. Гнатюк В. В. Визначення рівня тестостерону у щурів різного віку та статі при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк // Ендокринна патологія у віковому аспекті : матеріали XIV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 24–25 листопада 2016 р. – Харків, 2016. – С. 19–20.

30. Гнатюк В. В. Кореляційний зв'язок вмісту мелатоніну та

тестостерону у статевозрілих щурів різної статі на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк // Актуальні питання медичної теорії та практики : матеріали міжнар. науково-практ. конф., 9–10 грудня 2016 р. – Дніпро, 2016 – С. 22–24.

31. Гнатюк В. В. Зміни вмісту мелатоніну та кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин слизової оболонки шлунка у щурів-самок під впливом світлового десинхронозу / В. В. Гнатюк // Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії : матеріали міжнарод. наук.-практ. конф., 16–17 грудня 2016 р. – Одеса, 2016. – С 111–113.

32. Гнатюк В. В. Вплив десинхронозу та виразкового ураження шлунка на вміст тестостерону в сироватці крові щурів різної статі / В. В. Гнатюк // Актуальні питання біології та медицини : матеріали XIV Міжрегіональної наукової конференції, 22–23 грудня 2016 р. – Старобільськ, 2017. – С. 68–70.

33. Гнатюк В. В. Циркануальні ритми синтезу тестостерону у статевозрілих щурів різної статі / В. В. Гнатюк // Актуальні питання біології та медицини : матеріали XIV Міжрегіональної наукової конференції, 22–23 грудня 2016 р. – Старобільськ, 2017. – С. 71–73.

34. Гнатюк В. В. Морфо-біохімічне дослідження стану слизової оболонки шлунка з виразковим ураженням при лікуванні екзогенним мелатоніном / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Бюллетень XVI чтений им. Подвысоцкого : тези доп., 18–19 мая 2017 г. – Одесса, 2017. – С. 80–82.

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Наукова конференція «XII читання ім. В. В. Підвисоцького», Одеса, 23–24 травня 2013 р. – публікація, доповідь.
2. Наукова конференція «XIII читання ім. В. В. Підвисоцького», Одеса, 25–26 травня 2014 р. – публікація, доповідь.
3. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Чотирнадцяті Данилевські читання)», Харків, 2–3 березня 2015 р. – публікація.
4. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (П'ятнадцяті Данилевські читання)», Харків, 10–11 березня 2016 р. – публікація.
5. XXXIII Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів. Сучасна фармакотерапія хронічної обструктивної патології легень», Харків, 8–9 квітня 2016 р. – доповідь.
6. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2016», Запоріжжя, 12–13 травня 2016 р. – публікація.
7. Наукова конференція «XV читання ім. В. В. Підвисоцького», Одеса, 26–27 травня 2016 р. – публікація, доповідь.
8. VII Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції», Харків, 5–7 жовтня 2016 р. – публікація, доповідь.
9. XIV науково-практична конференція з міжнародною участю «Ендокринна патологія у віковому аспекті», Харків, 24–25 листопада 2016 р. – публікація.
10. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я», Полтава, 9 грудня 2016 р. –

публікація, доповідь.

11. Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні питання медичної теорії та практики: матеріали», Дніпро, 9–10 грудня 2016 р. – публікація.

12. Міжнародна науково-практична конференція «Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії», Одеса, 16–17 грудня 2016 р. – публікація.

13. XIV Міжрегіональна наукова конференція «Актуальні питання біології та медицини», Старобільськ, 22–23 грудня 2016 р. – публікація.

14. Наукова конференція «XVI читання ім. В. В. Підвисоцького», Одеса, 18–19 травня 2017 – публікація, доповідь.

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
(навчальної) роботи Вінницького
національного медичного університету
ім. М. І. Пирогова МОЗ України
проф. Ю. Й. Гумінський
"15" травня 2017 року

Акт впровадження

результатів дисертаційної роботи Гнатюк В.В. за темою:
«Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та
екстраінсального мелатоніну при гастральних виразках»

Назва пропозиції для впровадження: циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстраінсального мелатоніну в нормі та при гастральних виразках.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Гнатюк Валерія Валеріївна.

Джерела інформації:

1. Hnatiuk V. V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronization in rats / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, T. A. Kozub, V. V. Chikitkina, L. V. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104.
2. Hnatiuk V. V. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.
3. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.
4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхропозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 10. – P. 534–546.
5. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

Базова установа, яка проводить впровадження: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; кафедра патологічної фізіології.

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять.

Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.

Зауваження і пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри патологічної фізіології
Вінницького національного медичного університету
д.мед.н., професор



П. А. Рикало



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Запорізького державного медичного
університету МОЗ України

д-р М. О. Абраменко

" 5 " травня 2017 року

Акт впровадження

результатів дисертаційної роботи Гнатюк В.В. за темою:
«Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну при гастральних виразках»

Назва пропозиції для впровадження: циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну в нормі та при гастральних виразках.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Гнатюк Валерія Валеріївна.

Джерела інформації:

1. Hnatiuk V. V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronization in rats / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, T. A. Kozub, V. V. Chikitkina, L. V. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104.
2. Hnatiuk V. V. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.
3. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, П. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.
4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, П. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 10. – P. 534–546.
5. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, П. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

Базова установа, яка проводить впровадження: Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології.

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріалі лекцій і практичних занять.

Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.

Зауваження і пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри патологічної фізіології
Запорізького державного медичного університету
д.мед.н., професор

О. В. Ганчева



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»

професор

Бобирьов В.М.

» червня 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозиції для впровадження: циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрагіпсального мелатоніну в нормі та при гастральних виразках.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Гнатюк Валерія Валеріївна.

Джерела інформації:

1. Hnatiuk V. V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronization in rats / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, T. A. Kozub, V. V. Chikitkina, L. V. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104.

2. Hnatiuk V. V. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.

3. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.

4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 10. – P. 534–546.

5. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

Базова установа, яка проводить впровадження: : ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», кафедра патофізіології. Обговорено на засіданні кафедри 10.05.2017 р., протокол № 18.

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріалі лекцій і практичних занять з теми «Патофізіологія ендокринної системи».

Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.

Зауваження і пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патофізіології
ВДНЗУ «Українська медична
стоматологічна академія», професор

Костенко В.О.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор Івано-Франківського
національного медичного університету
МОЗ України проф. Грещенко І. М.
« 22 / 05 2017 року**Акт впровадження**результатів дисертаційної роботи Гнатюк В.В. за темою:
«Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та
екстрагінеального мелатоніну при гастральних виразках»

1. Назва пропозиції для впровадження: циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрагінеального мелатоніну в нормі та при гастральних виразках.

2. Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Гнатюк Валерія Валеріївна.

3. Джерела інформації: 1) Hnatiuk V. V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronization in rats / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, T. A. Kozub, V. V. Chikitkina, L. V. Gally // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104; 2) Hnatiuk V. V. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45; 3) Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у шурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102; 4) Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові шурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронізації / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 10. – P. 534–546; 5) Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у шурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології.

5. Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять.

6. Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.

7. Зауваження і пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження
завідувач кафедри патологічної фізіології
Івано-Франківського національного
медичного університету,
доктор медичних наук, професор

Л. М. Заяць

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Одеського національного медичного
університету МОЗ України
професор

Бажора Ю.І.

2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозицій для впровадження: Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрагінеального мелатоніну в нормі та при гастральних виразках.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Гнатюк Валерія Валеріївна.

Джерела інформації:

1. Hnatiuk V. V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronization in rats / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, T. A. Kozub, V. V. Chikitkina, L. V. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104.
2. Hnatiuk V. V. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.
3. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.
4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 10. – P. 534–546.
5. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

Базова установа, яка проводить впровадження: Одеський державний медичний університет МОЗ України, кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять.

Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.

Зауваження і пропозиції: не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології, протокол № 10 від 10 травня 2017 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедрою загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України
д.мед.н., професор

Р.С.Вастьянов



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Національного фармацевтичного
університету МОЗ України
проф. А.А. Котвіцька
2017 року

Акта впровадження

результатів дисертаційної роботи Гнатюк В.В. за темою:
«Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну при гастральних виразках»

Назва пропозиції для впровадження: циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну в нормі та при гастральних виразках.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології ПФаУ Гнатюк Валерія Валеріївна.

Джерела інформації:

1. Hnatiuk V. V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronization in rats / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, T. A. Kozub, V. V. Chikitkina, L. V. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104.

2. Hnatiuk V. V. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.

3. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.

4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 10. – P. 534–546.

5. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

Базова установа, яка проводить впровадження: Національний фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології.

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять.

Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.

Зауваження і пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри патологічної фізіології
Національного фармацевтичного університету
д.мед.н., професор

Н.М. Кононенко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з науково-педагогічної
 роботи Харківського національного
 медичного університету МОЗ України
 проф. В. Д. Марковський
 2017 року

Акт впровадження

результатів дисертаційної роботи Гнатюк В.В. за темою:
«Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну при гастральних виразках»

Назва пропозиції для впровадження: циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну в нормі та при гастральних виразках.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Гнатюк Валерія Валеріївна.

Джерела інформації:

1. Hnatiuk V. V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronization in rats / V. V. Hnatiuk, N. N. Kononenko, T. A. Kozub, V. V. Chikitkina, L. V. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104.

2. Hnatiuk V. V. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.

3. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.

4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 10. – P. 534–546.

5. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

Базова установа, яка проводить впровадження: Харківський національний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології.

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять.

Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.


Зауваження і пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри патологічної фізіології

Харківського національного медичного університету

д.мед.н., професор

 О. В. Ніколаєва

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Харківської медичної академії
післядипломної освіти МОЗ України
проф. В.Г. Марченко
"10" травня 2017 року

Акт впровадження

результатів дисертаційної роботи Гнатюк В.В. за темою:
«Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну при гастральних виразках»

Назва пропозиції для впровадження: циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну в нормі та при гастральних виразках.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології, 61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12, здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ Гнатюк Валерія Валеріївна.

Джерела інформації:

1. Hnatiuk V. Age and sex characteristics of melatonin-positive-labeled cells of the gastric mucosa in desynchronosis in rats / V. Hnatiuk, N. Kononenko, T. Kozub, V. Chikikina, L. Galiy // Georgian medical news. – 2016. – № 6 (255). – P. 99–104.

2. Hnatiuk V. V. The study of the circannual relationship between the activity of the epiphysis and gonads in rats of different sex and age / V. V. Hnatiuk, N. M. Kononenko // Malaysian Journal Pathology. – 2017. – Vol. 39 (1). – P. 39–45.

3. Гнатюк В. В. Вивчення взаємозв'язку між активністю епіфізу та гонад у щурів-самців в різні сезони року / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 96–102.

4. Гнатюк В. В. Взаємозв'язок між рівнями мелатоніну та тестостерону в сироватці крові щурів-самців з виразковим ураженням шлунка на тлі десинхронозу / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, № 10. – P. 534–546.

5. Гнатюк В. В. Визначення рівня мелатоніну у щурів різної статі та віку при виразковому ураженні шлунка / В. В. Гнатюк, Н. М. Кононенко // Гастроентерологія. – 2016. – № 4 (62). – С. 72–76.

Базова установа, яка проводить впровадження: Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, кафедра клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії.

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять.

Термін впровадження: 2016-2017 навчальний рік.

Зауваження і пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри клінічної патофізіології,
топографічної анатомії та оперативної хірургії
Харківської медичної академії післядипломної освіти
д.мед.н., доцент



І.Ю. Багмут