

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД  
“ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО”**

**ЛОМАКІНА ЮЛІЯ В'ЯЧЕСЛАВІВНА**

УДК 591.149.1:577.3]:599.323.4

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІЙ НИРОК У ЩУРІВ, ЩО ЗАЗНАЛИ СТРЕСУ ЗА  
ЗМІНЕНОГО ФОТОПЕРІОДУ**

**14.03.04 – патологічна фізіологія**

**Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук**

**Тернопіль – 2009**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України.

**Науковий керівник:** член-кореспондент АПН України, доктор медичних наук, професор, **Пішак Василь Павлович**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, м. Чернівці.

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор **Ткачук Світлана Сергіївна**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, м. Чернівці, завідувач кафедри фізіології\$

доктор медичних наук **Шатило Валерій Броніславович**, провідний науковий співробітник відділення клінічної фізіології та патології внутрішніх органів, завідувач терапевтичним відділенням Інститута геронтології АМН України, м. Київ/

Захист відбудеться 25 червня 2009 р. о 14 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у державному вищому навчальному закладі “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського” МОЗ України (46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці державного вищого навчального закладу “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8).

Автореферат розісланий 23 травня 2009 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор медичних наук, професор

Я. Я. Боднар

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Однією з актуальних проблем сучасної фундаментальної та прикладної медицини є вивчення закономірностей функціонування організму, що старіє, відповідно до умов існування, з'ясування впливу зовнішніх чинників на різноманітні структури організму і дослідження механізмів адаптації до дії довкілля (Fassoulaki A. et al., 2007, Мельник П. В. 2002; Holden C. P., Storey K. B., 2000). Розуміння характеру морфофункціональних змін та адаптаційних реакцій організму і окремих органів при впливах екстремальних чинників середовища дасть можливість керувати цими реакціями і підвищити резистентність організму (Кононенко В. А., Калініченко О. В., 2002).

Арушанян Э. Б., Бейер Е. В. (2006) зазначають, що в регуляції гомеостазу значну роль відіграють циркадіанні ритми залежно від характеру поведінкових реакцій і координаційних відношень між системами адаптації організму. Доведено (Коркушко О. В., Шатило В. Б., 2006), що з віком адаптаційні можливості організму значно знижуються, що потребує пошуку геропротекторних засобів для їх відновлення.

Важливе місце в регуляції гомеостазу при стресових реакціях відіграють нирки. Цьому органу притаманна чітка циркадіанна періодичність, яка порушується на ранніх етапах розвитку патологічних процесів. Незважаючи на значну кількість публікацій, присвячених патофізіології нирок (Prosser R. A. et al., 2008; Shah S. V., 2005) залишається нез'ясованою структура хроноритмів їх екскреторної, іонорегулювальної та кислоторегулювальної функцій у старіючого організму на фоні іммобілізаційного стресу за зміненого фотоперіоду. У багатьох наукових працях про старіння ссавців виділяють основні структури, причетні до цього процесу, до яких належить і шишкоподібна залоза (нейротрансмітер циркадіанних ритмів) (Пішак В. П. та співавт., 2008; Анисимов В. Н., 2007). Її основний гормон – мелатонін – володіє вираженим хроноритморегулювальним впливом. Його продукція зменшується як при дії світлового подразника, так і при старінні. Враховуючи, що екзогенні епіфізарні сполуки індольної та пептидної природи можуть бути ефективними в профілактиці вікових змін та нормалізації функцій старіючого організму, ми вважали за доцільне визначити морфофункціональний стан нирок та шишкоподібної залози під впливом стресу на фоні зміненого фотоперіоду, оскільки відомості щодо цієї проблеми носять фрагментарний характер.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, генетики та гістології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці) “Вплив стресу та солей важких металів на хроноритми функцій нирок та морфологічні показники деяких ендокринних органів” (№ державної реєстрації 0104U009025). Автор є співвиконавцем зазначеної теми та виконавцем фрагменту: “Вікові особливості функцій нирок у старих щурів, що зазнали стресу за зміненого

фотоперіоду”. Тема дисертації затверджена проблемною комісією “Патологічна фізіологія та імунологія” (протокол №50 від 26.01.2006 року).

**Мета дослідження:** з’ясувати механізми стрес-індукованих змін морфофункціонального стану нирок та шишкоподібної залози щурів старечого віку за зміненого фотоперіоду та оцінити можливу роль пептидів шишкоподібної залози в механізмах корекції порушень постстресорних змін.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити морфологічний, ультрамікроскопічний і функціональний стан нирок старих щурів за різного фотоперіоду та при стресі.

2. Встановити динаміку світлооптичних, електронномікроскопічних та функціональних перебудов шишкоподібної залози за різної тривалості світлового режиму та в умовах іммобілізації.

3. Дослідити гістохімічні особливості будови шишкоподібної залози та нирок за світлового та іммобілізаційного стресу.

4. Проаналізувати стан про- та антиоксидантної системи крові щурів, які перебували в стресових умовах.

5. Застосувати мелатонін та епіталон з метою корекції морфофункціональних, гістохімічних та біохімічних стрес-індукованих змін при гіпопінеалізмі та обґрунтувати доцільність їх використання.

*Об’єкт дослідження:* морфофункціональні порушення нирок та шишкоподібної залози за умов стрес-реакції.

*Предмет дослідження:* особливості функціонального і морфологічного стану нирок та епіфіза мозку щурів старечого віку після впливу іммобілізаційного стресу за умов різної функціональної активності шишкоподібної залози.

*Методи дослідження:* хронобіологічні (моделювання гіпофункції шишкоподібної залози), біохімічні (визначення концентрації у крові та сечі катіонів натрію, калію, креатиніну, білка, вивчення активності каталази, в еритроцитах – вмісту малонового альдегіду, у плазмі крові – вмісту HS-груп, продуктів окисної модифікації білків та церулоплазміну), фізіологічні (визначення швидкості клубочкової фільтрації, екскреторної фракції іонів натрію, кліренсу одновалентних катіонів, процесів проксимальної та дистальної реабсорбції іонів натрію), морфологічні (визначення морфологічного стану ниркових каналців та пінеалоцитів шишкоподібної залози), гістохімічні (вивчення співвідношення кислих та основних білків у клітинах досліджуваних органів), мікроденситометричні (виявлення світлих та темних клітин шишкоподібної залози), електронномікроскопічні (визначення ультрамікроскопічного стану нирок та епіфіза мозку), статистичні (математична обробка отриманих результатів).

**Наукова новизна отриманих результатів.** На підставі оцінки результатів комплексного дослідження вперше визначені особливості функціонального та морфологічного стану нирок і

шишкоподібної залози старих щурів, що перебували за зміненого фотоперіоду та іммобілізаційного стресу. Доведено виникнення менш суттєвих структурних перебудов та змін інтегральних показників хроноритмів екскреторної, іоно- та кислоторегулювальної функцій нирок у старих щурів за умов впливу іммобілізаційного стресу, ніж за умов семидобового цілодобового освітлення.

Обґрунтовано взаємозв'язки між морфологічними змінами нирок щурів старечого віку та функціональними порушеннями ренальних процесів паралельно із патологічними змінами епіфіза мозку під дією гострого іммобілізаційного стресу.

Гістохімічними дослідженнями співвідношення між “кислими” та “основними” білками (коефіцієнт окиснювальної модифікації білків) пінеалоцитів шишкоподібної залози встановлено, що світловий подразник сприяє істотному його збільшенню в темних пінеалоцитах, а одногодина іммобілізація – у світлих. Максимального зростання в обох типах клітин шишкоподібної залози зазнав показник при утримуванні стресованих тварин за гіперлюмінізованих умов. Коефіцієнт окиснювальної модифікації білків в епітелії звивистих каналців нирок досягав максимальних змін щодо інтактної групи тварин при поєднаній дії стресорів.

На підставі комплексного вивчення характеру реагування системи пероксидного окиснення білків отримано переконливі докази фото- та стрес-індукованого її порушення в старих щурів за вищенаведених умов експерименту. Найбільші зміни прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в крові спричинені іммобілізацією за умов подовження фотофази. Вони проявлялися посиленням процесів вільно радикального окиснення на фоні виснаження систем антиоксидантного захисту в старих щурів.

Застосування в старих щурів мелатоніну (2,5 мг/кг маси), на відміну від епіталону (0,5 мкг/кг маси тіла), сприяє ефективнішій нормалізації показників структурно-функціонального стану шишкоподібної залози та нирок, а також процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та білків крові після впливу іммобілізаційного і світлового стресових чинників.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані результати конкретизують патогенез порушень функцій нирок за умов іммобілізаційного стресу на фоні зміненого фотоперіоду та патогенетично обґрунтовують необхідність подальших експериментальних і клінічних досліджень, доцільність використання сполук стреспротекторної дії особами, які зазнали стресового впливу. Результати роботи розширюють уяву про механізми постстресорних змін у тканині нирок та ШЗ із хроноритмічною перебудовою основних функцій нирок, і, зокрема, участь у них нейроендокринного трансміттера – мелатоніну.

Підтверджена доцільність використання як природних, так і синтезованих пептидних препаратів для корекції морфофункціональних та гістохімічних порушень нирок та шишкоподібної залози.

Результати роботи впроваджені в науковий та навчальний процеси на кафедрі патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; на кафедрах Буковинського державного медичного університету; використовуються в науково-дослідній роботі НДІ медико-екологічних проблем МОЗ України (м.Чернівці); на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського державного медичного університету; на кафедрі нормальної фізіології Московської медичної академії імені І. М. Сеченова.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно підібрана та проаналізована література з проблеми дослідження. Особисто проведені експериментальні, макроскопічні, морфологічні, морфометричні дослідження, статистична обробка, аналіз і узагальнення отриманих результатів, сформульовані основні положення та висновки дисертаційної роботи. Спільно з науковим керівником здійснено розробку основних теоретичних і практичних положень роботи, зроблено узагальнення, висновки та практичні рекомендації. Біохімічні та функціональні дослідження хронобіологічного й функціонального стану досліджуваних органів і біологічних рідин щурів проведені в наукових лабораторіях Буковинського державного медичного університету за безпосередньої участі дисертанта. Електронномікроскопічні дослідження здійснені на базі Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, за консультативної допомоги д.біол.н., професора К. С. Волкова. Отримані результати статистично опрацьовані, проаналізовано механізми змін екскреторної, іонорегулювальної та кислотовидільної функцій нирок у щурів із різною функціональною активністю шишкоподібної залози та тварин, яким моделювали одногодинний іммобілізаційний стрес. Підготовлено наукові роботи до друку, написано всі розділи дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення і загальні висновки дисертаційної роботи викладені та одержали позитивну оцінку на науково-практичній конференції з міжнародною участю “Хронобіологія і хрономедицина: теоретичні та клінічні перспективи” (Чернівці, 2006); III Міжнародній конференції студентів та аспірантів “Молодь та поступ біології” (Львів, 2007); V International Conference of Student Research groups of Medical University of Warsaw “Medical problems in the year 2007” (Poland, Starogard Gdanski, 2007); Всеукраїнській науково-практичній конференції “Актуальні проблеми сучасної морфології” (Луганськ, 2008); міжнародному симпозиумі, присвяченому 80-річчю з дня народження акад. РАМН Н. А. Агаджаняна “Адапционная физиология и качество жизни: проблемы традиционной и инновационной медицины” (Москва, 2008); науково-практичній конференції “Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень” (Тернопіль, 2008); міжнародній Львівсько-Люблінській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Сучасні аспекти експериментальної та клінічної біохімії” (Люблін, Польща, 2008); науково-практичній конференції “Вікові аспекти схильності організму до шкідливого впливу ксенобіотиків» (Чернівці, 2008);

науково-практичній конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (Тернопіль, 2008); підсумкових наукових конференціях співробітників Буковинського державного медичного університету (Чернівці, 2005-2008).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опублікована 22 наукові праці, з них 7 (одноосібних – 5) – у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України, 12 – у матеріалах конгресів, з’їздів, конференцій. Отримано три патенти України на корисну модель.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 250 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту викладений на 140 сторінках) і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалу і методів дослідження, двох розділів (восьми підрозділів), аналізу результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел (288 бібліографічних описів, із них 139 - іноземні), додатків. Робота ілюстрована 47 таблицями і 102 рисунками.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріал і методи досліджень.** Експериментальні дослідження проведені на 288 старих (у віці 20-24 міс.) нелінійних самцях білих щурів масою 0,28-0,36 кг. Вивчали вплив гіпофункції шишкоподібної залози (ШЗ), а також одногодинного іммобілізаційного стресу (ІС) на тлі фізіологічної та зниженої функції ШЗ на хроноритмічну організацію функцій нирок та їхні морфологічні особливості, на морфофункціональний стан епіфіза мозку, а також реактивну спроможність системи вільнорадикального окиснення ліпідів та білків (ВРОЛБ) крові.

Під час досліджень дотримувалися Директиви ЄЕС №609 (1986) та наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин». Досліди проведені згідно з вимогами комісії з біоетики БДМУ (протокол №3 від 16.02.2005).

Тварини з кожної серії досліду (І серія – тварини із фізіологічною функцією ШЗ, II серія – тварини із гіпофункцією ШЗ) розподілені на чотири експериментальні групи: 1 група – інтактні щури, які виводилися з експерименту одночасно з дослідними тваринами для визначення контрольних показників; 2 група – щури, яким моделювали гострий ІС; 3-ю групу складали тварини, яким вводили епіталон впродовж трьох днів; 4-тій групі тварин вводили мелатонін за тією ж схемою. На 8-му добу експерименту досліджували хроноритми екскреторної, іонорегулювальної і кислотовидільної функцій нирок, функціональні зміни ШЗ, морфологічні особливості нирок та епіфіза мозку, а також показники анти-та прооксидантної системи крові.

Із метою з’ясування шляхів корекції стрес-індукованих морфофункціональних змін епіфіза мозку та нирок залежно від активності ШЗ, застосовано мелатонін внутрішньочеревино (Sigma, США) у дозі 2,5 мг/кг маси тіла (впродовж трьох останніх днів експерименту, останню ін’єкцію –

за одну годину до ІС, який моделювали на 8-му добу). Для порівняння репаративної активності мелатоніну до моделювання ІС використовували також синтетичний пептид ШЗ – епіталон у дозі 0,5 мкг/кг маси щура, внутрішньом'язово (Санкт-Петербурзький інститут біорегуляції та геронтології ПЗО РАМН, Росія). Препарати вводили щурам впродовж 3-х діб на 6, 7, 8-му доби експерименту. На 8-му добу експерименту, починаючи з 7-ої доби, у кожній групі тварин збирали сечу з 4-годинним інтервалом для встановлення особливостей хроноритмічної організації основних ниркових функцій старих щурів, у кожній із серій експериментів проводили дослідження о 08.00, 12.00, 16.00, 20.00, 24.00 та 04.00 год.

Отримані індивідуальні хронограми для кожної тварини групували за принципом ідентичності максимальної акрофази і розраховували методом косинор-аналізу пересічні для кожної групи хронограм мезор, амплітуду і фазову структуру (за інтервалом часу між акро- та батифазою). Діагностика десинхронозу ґрунтувалася на основі аналізу змін характеристик мезору (середньодобового рівня), амплітуди, акрофази та форми кривої циркадіанного ритму.

Екскреторну функцію нирок оцінювали за величинами абсолютного та відносного діурезу, концентрації та екскреції іонів калію в сечі, концентрації креатиніну в сечі, швидкості клубочкової фільтрації, концентрації креатиніну в плазмі крові, відносної реабсорбції води, концентраційного індексу ендogenous креатиніну, концентрації та екскреції білка в сечі (А. К. Меєрзон, 1968; В. М. Магальяс, А. И. Михеев, 2001).

Іонорегулювальну функцію оцінювали за показниками екскреції іонів натрію та їх концентрації в сечі, абсолютної і відносної реабсорбції катіона, фільтраційного заряду та кліренсу іонів натрію, натрій-калієвого коефіцієнта сечі, концентрації іонів натрію в плазмі крові, концентраційного індексу іонів натрію, величин проксимального та дистального транспорту. Концентрацію іонів натрію та калію в сечі і плазмі крові реєстрували методом фотометрії полум'я на фотометрі "ФПЛ-Г" (Стеновая Е. А., 2001).

Кислотовидільну функцію нирок характеризували за концентрацією активних іонів водню в сечі (рН сечі), екскрецією активних іонів водню, титрованих кислот і аміаку (Sauve R. et al., 2000). Визначення рН сечі здійснювали за допомогою мікробіоаналізатора "Redelkys" (Угорщина), концентрацію кислот і аміаку в сечі – методом титрування (Шюк О., 1982).

Стандартизації показників функцій нирок досягали доведенням їх до одиниці на 100 г маси тіла тварини або об'єму клубочкового фільтрату на 100 мкл.

Для проведення гістологічних досліджень парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином (Venegucci F., 2001). Мікроденситометричним методом розподіляли клітини ШЗ на світлі та темні. При комп'ютерній мікроспектрометрії з використанням гістохімічної методики з бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво обраховували коефіцієнт Р (співвідношення кислих та основних білків) у клітинах нирок та ШЗ.



Ультраструктурні особливості будови клітин нирок та пінеалоцитів вивчали в електронному мікроскопі EMB-100 LM.

Вміст у плазмі крові мелатоніну визначали на запрограмованих апаратах «Wellwash 4 Mk 2», iEms Incubator/ Shaker «MULTISCAN ASCENT» виробництва «LABYSYSTEMS» (Фінляндія) із використанням тест-системи Direct Saliva MELATONIN ELISA фірми BUGELMANN (Швейцарія) у відповідності з рекомендаціями фірми. Концентрацію мелатоніну позначали у пг/мл.

В еритроцитах визначали вміст малонового альдегіду (МА), вивчали активність каталази (КТ), у плазмі крові досліджували вміст HS-груп, продуктів окисної модифікації білків (ОМБ) та церулоплазміну (ЦП) за стандартними методиками (Мещишен І.Ф., Григор'єва Н.П., Камышников В.С., 2003).

Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПЕВМ «Pentium-4» за допомогою програм «Excel-7», «Statgraphics» (США) і «Косинор-аналіз». Різницю в середніх тенденціях між групами дослідження, враховуючи нормальний розподіл даних (за критерієм Shapiro-Wilk), оцінювали за допомогою параметричного критерію Стьюдента. Враховуючи малий об'єм порівнюваних вибірок, для надійності висновків додатково застосували непараметричний критерій Mann-Whitney, який давав значення вірогідності близькі до критерію Стьюдента.

#### **Результати дослідження та їх обговорення.**

**Морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку на тлі ІС.** Одногодинне утримування щурів в іммобілізаційних клітках-пеналах віддзеркалилося: порушенням синусоїдального характеру ритму діурезу, дисбалансом механізмів гомеостазу іонів калію, зростанням відносної реабсорбції води, значною протеїнурією, натрійурезом, гальмуванням натрій-водневого антипорту, що спричинило зростання рН сечі в досліджувані інтервали доби. Крім того, слід звернути увагу на підвищення амплітуд ритмів більшості досліджуваних показників, що свідчить про напруження компенсаторних механізмів, спрямованих на забезпечення гомеостазу. За таких умов експерименту біохімічно встановлено вірогідне зниження рівня мелатоніну до  $17,5 \pm 1,0$  пг/мл порівняно з інтактною групою щурів

При гістологічному дослідженні нирок у кірковій речовині відмічена зерниста дистрофія в епітелії звивистих канальців, яка охоплює  $85,0 \pm 1,4$  % клітин, на 80 % перевищуючи показник щодо такого в інтактних щурів. Виявлена загальна ішемізація кіркової речовини, особливо – капілярних петель клубочків. В епітелії проксимальних канальців рівень ОМБ підвищився на 44 %.

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку стресованих тварин виявлено зменшення співвідношення між темними і світлими пінеалоцитами на 11 % щодо інтактної групи тварин. Коефіцієнт Р порівняно зі значеннями інтактних тварин зріс і становив у світлих пінеалоцитах  $1,125 \pm 0,014$ ,  $p < 0,001$  (в інтактної групи –  $0,941 \pm 0,008$ ), у темних пінеалоцитах, навпаки, зменшився до

1,240±0,016,  $p=0,029$  (в інтактних – 1,189±0,012). Ультрамiкроскопiчно виявлено ознаки гiпофункцiї пiнеалоцитiв.

Вивчення процесiв ВРОЛБ в кровi за даних умов експерименту показало зростання показникiв МА на 45,5 %, а рiвень ОМБ пiдвищився удвiчi стосовно даних iнтактних тварин. Це свiдчить про зростання окиснювальних процесiв в органiзми щурiв, яких пiддали IC. Вiдмiчається також зниження активностi каталази та вiмiсту HS-груп внаслiдок стресового впливу на 51,5 % та 42,6 % вiдповiдно.

***Вплив мелатонiну на стрес-iндукованi змiни морфофункцiонального стану нирок та епiфіза мозку старих щурiв.*** На основi отриманих результатiв корекцiї стрес-iндукованих змiн мелатонiном, виявлено нiвелювання ефектiв стресу щодо порушення швидкостi клубочкової фiльтрацiї та рiвня азотемiї, зниження мезора екскрецiї бiлка та концентрацiї його в сечi, натрiйурезу, тенденцiю до нормалiзацiї структур хроноритмiв рН сечi, екскрецiї кислот, що титруються, та амiаку.

При гiстологiчному дослiдженнi ШЗ виявлено вiдновлення спiввiдношення мiж свiтлими та темними пiнеалоцитами порiвняно зi стресованими тваринами. На субмiкроскопiчному рiвнi пiсля корекцiї постстресових змiн iнвагiнованi ядра бiльшостi пiнеалоцитiв вiдновлювали форму, мiтохондрiї залишилися видовженими з електроннощiльним матриксом, внаслiдок чого кристи погано контурувалися. Пiсля уведення мелатонiну з метою корекцiї наслiдкiв IC рiвень мелатонiну в плазми пiдвищився на 73 % щодо такого в iнтактних щурiв. Порiвняно зi стресованими тваринами цей показник збiльшився удвiчi (рис. 1).

Рис. 1. Рiвень мелатонiну в плазми кровi старих щурiв за умов IC та його корекцiї при фiзiологiчнiй функцiї шишкоподiбноi залози

Пiсля уведення екзогенного мелатонiну вiдбулося зменшення показникiв МА до 16,7 мкмоль/мл, що на 36 % ( $p<0,001$ ) менше вiд значень у стресованих тварин, а рiвня ОМБ – на 48,5 % ( $p<0,001$ ), що яскраво iлюструє позитивний ефект мелатонiну як скавенджера вiльних радикалiв. Вiдмiчається також вiрогiдне вiдновлення показникiв каталази, церулоплазми та HS-груп пiсля триденного уведення мелатонiну.

У цитоплазми свiтлих пiнеалоцитiв показник ОМБ знизився у середньому на 12 %, темних – на 5 %, а в епiтелiї проксимальних каналцiв – на 16 %.

***Вплив епiталону на морфофункцiональний стан нирок та ШЗ у тварин з IC.*** Передстресовi iн'екцiї епiталону спричинили зниження середньодобового рiвня дiурезу щодо групи щурiв, яких пiддали iмобiлiзацiї. Виявлено рiзке зниження рiвня швидкостi клубочкової фiльтрацiї в дослiджуванi промiжки доби (найсуттєвiше – у 3,5 раза о 8.00 год) (рис. 2).

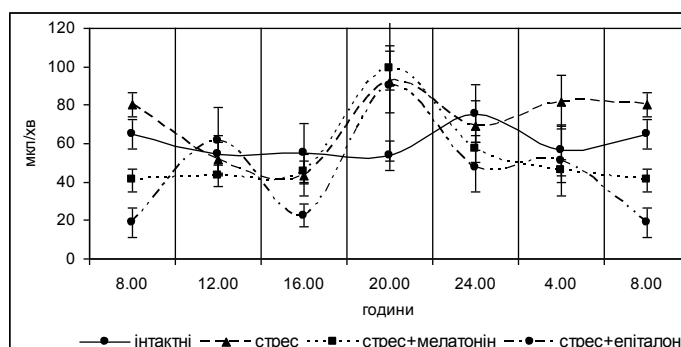


Рис. 2. Ефекти епіталону на стрес-індуковані зміни швидкості клубочкової фільтрації щурів

Після уведення епіталону упродовж періоду спостережень відзначали зниження екскреції іонів натрію з тенденцією до нормалізації. Хроноритм набував інверсного характеру відносно контрольних хронограм з акрофазою о 20.00 год і батифазою о 16.00 год. Середньодобовий рівень ритму перевищував показники інтактних тварин, а амплітуда ритму подвоювалася. Архітектоніка ритму натрій/калієвого коефіцієнта двофазна. Мезор ритму становив  $0,39 \pm 0,04$  од, а його амплітуда не зазнавала вірогідних змін щодо контролю. Середньодобовий рівень ритму коефіцієнта вищий, ніж у інтактних щурів і тварин, які знаходилися за умов стресу та уведення мелатоніну.

Як і корекція мелатоніном, застосування епіталону на фоні стресу проявлялося односпрямованістю дії стосовно екскреції кислот, що титруються. За стресових умов у період з 24.00 до 04.00 год реєстрували зростання виведення вказаних сполук, а ін'єкції епіталону нівелювали цей ефект. Застосування епіталону на фоні ІС спричинило суттєве зниження екскреції аміаку впродовж періоду спостережень, крім 12.00 год. Циркадіанний ритм однофазного характеру з акрофазою о 12.00 год, батифазу відзначали о 16.00 год.

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами порівняно з групою тварин після іммобілізаційного стресу склало  $1,50 \pm 0,019$  (світлих пінеалоцитів –  $60 \pm 1,9$  %, темних –  $35 \pm 1,4$  %). Розбіжність із інтактними тваринами становить  $p < 0,001$ . Ультрамیکроскопічні дослідження епіфіза мозку на фоні уведення епіталону подібні до картини на фоні застосування мелатоніну, що вказує на односпрямованість ефектів цих сполук.

Триденне уведення епіталону підвищило плазмовий рівень мелатоніну на 17,1 % щодо такого у щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес.

Гістохімічні дослідження вказують на відновлення шляхом триденного уведення епіталону рівня ОМБ при стресі у цитоплазмі світлих пінеалоцитів у середньому на 11 % ( $p < 0,001$ ), а в епітелії проксимальних каналців цей показник знизився на 15 % ( $p < 0,001$ ), що свідчить про ефективну антиоксидантну дію епіталону, але менш виражену, ніж мелатоніну.

Результати досліджень анти- та прооксидантної системи старих щурів, яким моделювали ІС та проводили корекцію епіталоном постімобілізаційних змін дозволили встановити зниження продуктів прооксидантної системи та активацію систем антиоксидантного захисту.

***Морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку за умов тривалої світлової експозиції.*** Гіпофункція ШЗ дезорганізує циркадіанну впорядкованість ренальних функцій порівняно з інтактними тваринами. Відбувається: порушення синусоїдального характеру ритму діурезу, істотне зниження середньодобового рівня сечовиділення на фоні зростання амплітуди коливань його ритму; дисбаланс механізмів гомеостазу іонів калію з високою концентрацією вказаних катіонів у сечі; інверсія ритму концентрації креатиніну в плазмі крові; порушення обміну іонів натрію з вираженим натрійурезом; вірогідне зниження середньодобового рівня, а також антифазна структура ритму рН сечі; виражене зменшення екскреції активних іонів водню з максимумом у денний період доби та інвертованою структурою ритму; порушення архітектоники ритму екскреції титрованих кислот без вірогідних змін мезору та амплітуди ритму; істотне зростання амплітуди ритму амонійного коефіцієнту на тлі знижених показників мезору.

Світлова стимуляція спричинює значні зміни у співвідношенні світлих і темних пінеалоцитів. Зокрема, коефіцієнт співвідношення знизився у 3,5 раза досягнувши рівня  $0,38 \pm 0,015$  ( $p < 0,001$ ). Рівень ОМБ підвищився у всіх досліджуваних елементах. Дослідження субмікроскопічної організації епіфіза мозку характеризують пригнічення функціональної активності пінеалоцитів. У нирковій тканині виявлені кількісно незначні ознаки альтерації (дистрофія, некроз, апоптоз), відсоток патологічно змінених клітин становив  $7,0 \pm 0,02$  %, коефіцієнт Р в епітелії проксимальних каналців нирок зріс на 3 %, досягнувши значення  $0,901 \pm 0,011$  ( $p < 0,05$ ).

Рівень мелатоніну знизився на 33 %, склавши 14,1 пг/мл ( $p < 0,001$ ), що вказує на пригнічення функціональної активності ШЗ при тривалій експозиції світлом.

Семидобове освітлення посилило у 2,5 раза ОМБ плазми крові ( $p < 0,001$ ) та активацію каталази на 24,6 % ( $p < 0,001$ ).

***Вплив одногодинного іммобілізаційного стресу на морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку за умов гіпофункції епіфіза мозку.*** Порушення хроноритмів функцій нирок за вказаних умов експерименту супроводжувалися зниженням мезору співвідношення з дезорганізацією архітектоники ритму; порушенням процесів ультрафільтрації і фазової структури ритму швидкості клубочкової фільтрації; значним зростанням середньодобового рівня екскреції іонів калію та їх концентрації в сечі, зміщенням положення акро- і батифази ритму щодо інтактних тварин; вираженою протеїнурією, зниженням амплітуди ритму концентрації білка в сечі та антифазною його структурою; підвищенням мезору екскреції іонів натрію, концентрації катіона в сечі впродовж всього періоду спостережень; інверсним характером ритму натрій/калієвого

коефіцієнта; вірогідним збільшенням рН сечі на фоні зростання екскреції іонів водню та зниження виведення титрованих кислот протягом досліджуваних часових інтервалів.

За наведених умов експерименту рівень мелатоніну знизився майже у півтора раза, склавши 14,1 пг/мл ( $p < 0,02$ ) щодо рівня в інтактних тварин, що вказує на пригнічення функціональної активності шишкоподібної залози за умов аддитивної дії стресу та семидобової гіперліюмінізації.

Гістологічна та ультраструктурна організація підтверджували більш виражені та глибокі зміни пінеальної залози та нирок. Зміщення співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами у бік останніх, зменшення співвідношення між “кислими” та “основними” білками в пінеалоцитах та нефроцитах, зростання вмісту МА, ОМБ, ЦП також підтверджують виражену патогенну дію іммобілізаційного стресу на фоні постійного освітлення.

***Вплив мелатоніну на стрес-індуковані зміни морфофункціонального стану нирок та епіфіза мозку старих щурів за умов гіпофункції шишкоподібної залози.*** Після застосування мелатоніну спостерігали хроноритмічні перебудови постресорних змін архітекτονіки та фазової структури ритмів більшості показників основних ниркових функцій у бік наближення до контрольних показників. Виявлено нівелювання амплітуд хроноритмів, що, як ми вважаємо, є важливою діагностичною ознакою на межі переходу дезадаптації в адаптацію.

Виявлено також зростання співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами майже удвічі порівняно зі стресованими тваринами на фоні тривалого освітлення до  $0,75 \pm 0,02$  (світлих пінеалоцитів –  $43 \pm 1,3$  %, темних –  $57 \pm 1,4$  %) з вірогідною відмінністю  $p < 0,001$ , що вказує на позитивну дію мелатоніну як антистресового засобу. Однак при цьому це співвідношення залишалось удвічі меншим ніж у інтактних тварин. Електронномікроскопічними дослідженнями епіфіза мозку встановлено, що для більшості пінеалоцитів характерними є активація ядерця та відповідні зміни, що супроводжуються зростанням секреторної діяльності пінеалоцитів.

На світлооптичному рівні дослідженням структур нирок відмічено зернисту дистрофію в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $54 \pm 1,9$  %, та зменшилася після триденного уведення мелатоніну майже удвічі щодо клітин цього типу у стресованої групи тварин.

За умов 7-добового освітлення та іммобілізаційного стресу уведення мелатоніну спричинило підвищення рівня ендogenousного аналога в інтактних тварин до 23,0 пг/мл, що вказує на стимуляцію вироблення ендogenousного мелатоніну.

Крім того, нами встановлено, що ін'єкції мелатоніну особинам, які зазнали стресу за умов постійного освітлення, наближають до норми рівень МА, знижують показники ОМБ та ЦП в крові старих щурів (табл. 1).

Таблиця 1

**Про- та антиоксидантний стан крові старих щурів за умов гіпофункції епіфіза мозку ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Показник	Умови досліджу			
	Інтактні	Гіпофункція ШЗ	Гіпофункція ШЗ + стрес	Гіпофункція ШЗ + стрес+мелатонін
Малоновий альдегід, мкмоль/мл	18,0±0,84	17,9±0,48	28,8±0,52 p<0,001	18,1±0,35 p <sub>1</sub> <0,001
Окиснювальна модифікація білків, мкмоль/г білка	0,68±0,04	1,74±0,03 p<0,001	1,99±0,03 p<0,001	0,84±0,05 p<0,05; p <sub>1</sub> <0,001
Церулоплазмін, мг/л	298,0±4,21	311,0±5,05	388,0±4,41 p<0,001	270,0±8,00 p<0,02; p <sub>1</sub> <0,001
Каталаза, мкмоль/хв·л	12,6±0,85	15,7±0,26 p<0,01	7,68±0,14 p<0,001	16,6±0,88 p<0,01; p <sub>1</sub> <0,001
НС-групи, мкмоль/мл	0,75±0,01	0,72±0,02 p<0,001	0,43±0,02 p<0,001	0,68±0,03 p<0,05; p <sub>1</sub> <0,001

**Примітки:** p – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин без уведення мелатоніну

**Вплив епіталону на морфофункціональний стан ШЗ та нирок на фоні ІС за умов постійного освітлення.** Вивчення циркадіанного ритму діурезу в стресованих тварин, яким проводили корекцію епіталоном дозволило встановити, що архітектоніка ритму сечовиділення носила інверсний характер щодо хронограм у стресованих тварин та синфазну порівняно з інтактними тваринами з підвищенням середньодобового рівня діурезу на 26 % щодо групи щурів, яких піддали іммобілізації. Хроноритм швидкості клубочкової фільтрації набував синусоїдального характеру з акрофазою о 20.00 год і батифазою о 12.00 год та підвищенням рівня показника вдвічі о 20.00 год порівняно зі стресованою групою тварин. Швидкість ультрафільтрації збільшувалася паралельно зі зростанням рівня концентрації креатиніну в плазмі крові (рис. 3).

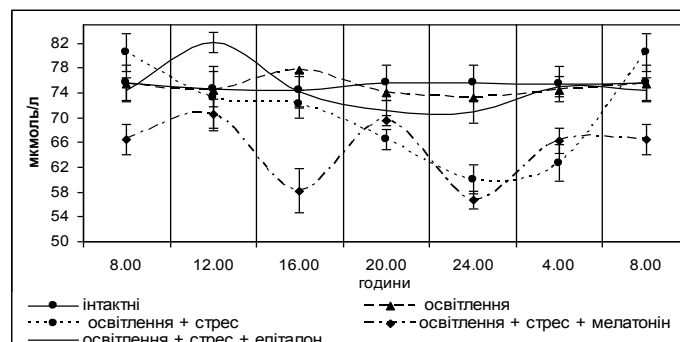


Рис. 3. Хроноритми концентрації креатиніну в плазмі крові за умов уведення епіталону стресованим щурам при гіпофункції шишкоподібної залози

Середньодобовий рівень ритму перевищував показники стресованих щурів без уведення тетрапептиду на 8 % і наближався до такого в інтактних тварин. Амплітуда ритму значно вища, ніж в інтактній групі тварин. Отже, у даному випадку епіталон нормалізує зміни, спричинені знерухоменням на фоні цілодобового освітлення. Структура ритму відносної реабсорбції води мала інверсний характер як відносно інтактної групи тварин, так і щодо тварин, яким моделювали ІС на фоні пригніченої функції ШЗ. Мезор ритму становив  $98,83 \pm 0,04\%$  і залишався нижчим, ніж у стресованих тварин (рис. 4).

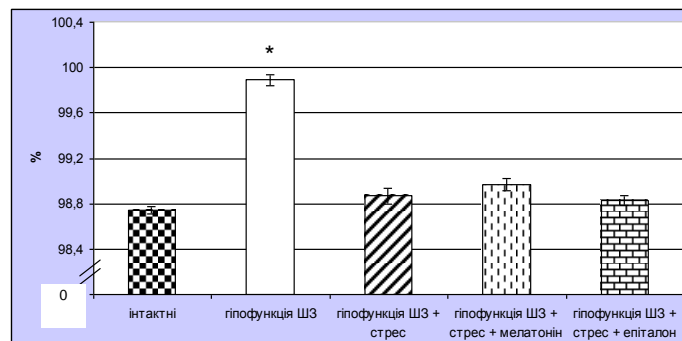


Рис. 4. Середньодобові рівні ритмів відносної реабсорбції води в щурів, яким проводили корекцію змін епіталоном, спричинених стресом та світловою експозицією

Уведення епіталону стресованим щурам призводило до вірогідного зниження рівня концентрації іонів калію в сечі та їх екскреції порівняно з тваринами, яких стресували. Упродовж усього періоду спостережень архітектоніка ритму натрій/калієвого коефіцієнта двофазна (рис. 5). Мезор ритму становив  $1,95 \pm 0,37$  од, а його амплітуда зменшилася на 38 % щодо інтактної групи тварин. Середньодобовий рівень коефіцієнта вищий, ніж в інтактних щурів та тварин, яким за умов стресу вводили мелатонін. Це дає можливість стверджувати, що епіталон стимулює підвищення натрій/калієвого коефіцієнта.

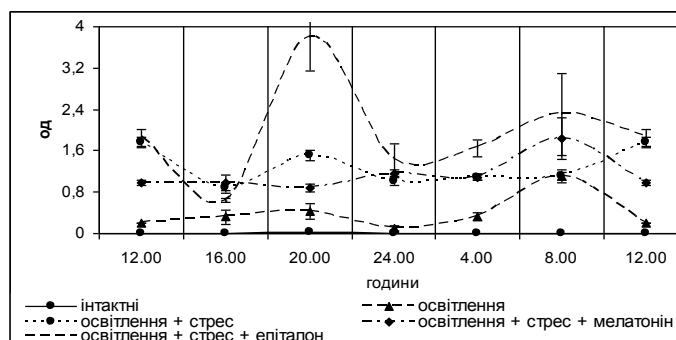


Рис. 5. Хроноритми натрій/калієвого коефіцієнта в щурів за умов уведення

## епіталону стресованим щурам

Хроноритмічні перебудови кислоторегулювальної функції проявлялися суттєвим зниженням середньодобового рівня рН сечі порівняно з щурами, яким корекцію не проводили. Як і при корекції мелатоніном, застосування епіталону на фоні стресу проявляло односпрямованість стосовно екскреції кислот, що титруються. На відміну від мелатоніну, епіталон на фоні гіпофункції ШЗ спричинив суттєве зниження екскреції аміаку впродовж періодів спостережень, крім 08.00 год.

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку виявлено підвищення співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами, яке підвищилося на 42 % після уведення епіталону на фоні повного освітлення та ІС, що вказує на позитивну антистресорну дію препарату. Коефіцієнт Р становив у світлих пінеалоцитах  $1,310 \pm 0,041$  із незначною різницею щодо стресованих тварин при цьому ж світловому проміжку. У темних пінеалоцитах коефіцієнт ОМБ не відреагував на уведення епіталону.

Досліджуваний показник ОМБ як у світлих, так і в темних пінеалоцитах наближався до такого в інтактних тварин, але з вірогідною відмінністю ( $p < 0,001$ ), а в епітелії проксимальних каналців нирок –  $1,079 \pm 0,007$  ( $p < 0,001$ ), щодо коефіцієнта ОМБ у щурів, які зазнали стресу при постійному семидобовому освітленні, наближуючись до показника в інтактних тварин. Порівняння результатів дослідження дозволяють стверджувати, що епіталон як коректор ОМБ у пінеалоцитах старих щурів менш ефективний, на відміну від природного хронобіотика мелатоніну.

Прояви зернистої дистрофії в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $79 \pm 1,3$  % клітин, зменшилися на 11 % після уведення епіталону щодо групи тварин, яким моделювали ІС за умов ідентичного світлового режиму.

Субмікроскопічні дослідження епіфіза вказують на репаративну здатність епіталону, а саме – відновлення структури ядер більшості пінеалоцитів із переважанням еухроматину, відновлення будови основних органел.

Триденне уведення епіталону підвищило плазмовий рівень мелатоніну на 34 % (до  $16,8 \pm 1,7$  пг/мл, з вірогідністю  $p < 0,05$ ) щодо середнього рівня мелатоніну у плазмі крові щурів, яким моделювали ІС, але відновлення рівня плазмового мелатоніну щодо інтактної групи тварин досягти не вдалося, як при застосуванні екзогенного мелатоніну. Рівень мелатоніну в плазмі старих щурів після триденного уведення епіталону менший на 20 % від рівня досліджуваного гормону в інтактних щурах.

ІС за умов зміненого фотоперіоду спричинив значну активацію пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків на фоні зниження антиоксидантного захисту (зменшення активності каталази та вмісту HS-груп).



На підставі отриманих даних встановлено, що застосуванням епіталону не завжди вдається досягти нормалізації досліджуваних показників, як це прослідковується у випадку ін'єкцій стресованим щурам епіфізарного мелатоніну.

Наведені результати свідчать про виражену дезорганізацію морфофункціонального і біохімічного стану органів у старіючих щурів під дією іммобілізаційного стресу і переконують у суттєвій інтегративній ролі епіфізарного мелатоніну, а також не менш важливій ролі синтетичного тетрапептиду – епіталону – як коректорів вказаних стрес-індукованих змін.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі розкрито нові, раніше невідомі, закономірності морфофункціональних та біохімічних перебудов шишкоподібної залози та нирок старих щурів при іммобілізаційному стресі та гіпопінеалізмі. Застосування мелатоніну та епіталону дає можливість вирішити важливе наукове завдання експериментального обґрунтування оптимізації профілактики вікового ренального десинхронозу.

1. Іммобілізаційний стрес у старих щурів призвів до змін інтегральних показників хроноритмів екскреторної, іоно- та кислоторегулювальної функцій нирок – зниження мезору сечовиділення з компенсаторним підвищенням відносної реабсорбції води, азотемії, зростання середньодобового рівня та інверсії ритму натрій- і калійурезу, зсуву рН сечі в бік ацидозу, збільшення екскреції титрованих кислот зі зростанням амплітуди ритму у всі періоди доби щодо параметрів інтактних тварин. Поєднання іммобілізації та семидобової світлової експозиції мало адитивний ефект стосовно перелічених показників .

2. Структурно-функціональні порушення шишкоподібної залози при гіпопінеалізмі, змодельованому тривалою світловою стимуляцією, проявлялися суттєвим збільшенням середнього відсотку темних пінеалоцитів, звуженням просвітів каналців ендоплазматичного ретикулуму в пінеалоцитах, зменшенням кількості мітохондрій, які при цьому характеризувалися оксифільним матриксом і нечисельними кристами, а також зниженням концентрації мелатоніну в плазмі крові до 14,1 пг/мл ( $p < 0,05$ ) щодо інтактних особин. Знерухомлення за постійного освітлення обтяжувало порушення морфофункціонального стану пінеалоцитів старих тварин порівняно з ізольованою дією стресорів.

3. Світловий стрес сприяє істотному збільшенню співвідношення між “кислими” та “основними” білками (коефіцієнт окиснювальної модифікації білків) у темних пінеалоцитах ( $1,430 \pm 0,01$ ,  $p < 0,05$ ), а одногодина іммобілізація – у світлих ( $1,125 \pm 0,012$ ,  $p < 0,05$ ). Максимального зростання в обох типах клітин шишкоподібної залози показник зазнав при утримуванні іммобілізованих тварин за гіперлюмінізованих умов, сягаючи у світлих пінеалоцитах значення  $1,340 \pm 0,018$  ( $p < 0,001$ ), а в темних –  $1,625 \pm 0,023$  ( $p < 0,001$ ). Коефіцієнт окиснювальної

модифікації білків в епітелії звивистих каналців нирок зазнав максимальних змін щодо інтактної групи тварин при поєднаній дії стресорів, досягнувши рівня  $1,324 \pm 0,024$  ( $p < 0,001$ ).

4. Як тривала світлова стимуляція, так і знерухомлення посилюють вільнорадикальне окиснення ліпідів та білків і пригнічують антиоксидантний захист у старих щурів. Найсуттєвіші зміни показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в крові спричинені іммобілізацією за умов збільшення фотофази, що виражалися посиленням процесів вільнорадикального окиснення (вміст малонового альдегіду збільшився на 55,6 %, окиснювальна модифікація білків зросла втричі) на фоні виснаження антиоксидантної системи (зниження активності каталази і рівня HS-груп на 38,4 % і 32,7 % відповідно).

5. Мелатонін (2,5 мг/кг маси) та епіталон (0,5 мкг/кг маси тіла) справляють позитивний ефект щодо відновлення постстресорних змін структурно-функціонального стану шишкоподібної залози, нирок, та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Однак, мелатонін має суттєвіший вплив на функціональні показники нирок, посилення антиоксидантного захисту, зниження інтенсивності ліпопероксидації, а епіталон – на морфологічний стан нирок та шишкоподібної залози.

#### **СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Ломакіна Ю. В. Вплив мелатоніну та пептидного біорегулятора епіталону на морфологічно змінені структури нирок старих щурів за умов іммобілізаційного стресу та гіпофункції епіфіза мозку / Ю. В. Ломакіна // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2007. – Т. 7, № 20. – С. 263–266.
2. Ломакіна Ю. В. Вплив мелатоніну на показники про- та антиоксидантного стану крові старих щурів за зміненого фотоперіоду та іммобілізаційного стресу / Ю. В. Ломакіна // Буковинський медичний вісник. – 2007. – Т. 11, № 4. – С. 108–110.
3. Ломакіна Ю. В. Вплив фотоперіодів та іммобілізаційного стресу на пінеалоцити та корекція їхніх змін у старих щурів (гістологічне та ультраструктурне дослідження / Ю. В. Ломакіна // Український морфологічний альманах. – 2008. – Т. 6, №1. – С. 100—104.
4. Ломакіна Ю. В. Порівняльна характеристика коригувальної дії мелатоніну та епіталону на морфологічно змінені структури нирок старих щурів внаслідок дії іммобілізаційного стресу за умов гіперфункції шишкоподібної залози / Ю. В. Ломакіна // Вісник морфології. – 2008. – Т. 14, №1. – С. 212–214.
5. Ломакіна Ю. В. Стрес-індуковані зміни про- та антиоксидантного стану крові старих щурів за умов уведення синтетичного біорегулятора за різних режимів освітлення / В. П. Пішак, Ю. В. Ломакіна // Вісник наукових досліджень. – 2008. – Т. 51, № 2. – С. 49–50 (Дисертант провела огляд літератури, брала участь у дослідженнях, підготувала матеріали до публікації).

6. Патент на корисну модель 35208 Україна, МПК (2008) А61К 31/00. Спосіб корекції епіталонем показників про- та антиоксидантного стану крові при експериментальному моделюванні іммобілізаційного стресу у старих щурів на фоні зміненого фотоперіоду [Текст] / В. П. Пішак, Ю. В. Ломакіна; заявник та патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № у 200813568; заявл. 21.03.2008 ; опубл.10.09.2008, Бюл. №6. – 4 с. (Внесок дисертанта – самостійно провела експериментальні дослідження та статистичну обробку отриманих результатів дослідження).
7. Патент на корисну модель 34455 Україна, МПК (2008) А61К 31/00. Застосування епіталону як препарату для корекції змін про- та антиоксидантного захисту при стресі в експерименті [Текст] / В. П. Пішак, Ю. В. Ломакіна, В. Г. Висоцька, Р.Є. Булик; заявник та патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № у 200803519; заявл. 19.03.2008 ; опубл.11.08.2008, Бюл. №6. – 4 с. (Внесок дисертанта – приймала безпосередню участь у отриманні експериментальних даних та їх аналізі).
8. Патент на корисну модель 18785 Україна, МПК (2006) А61В 10/02. Спосіб біохімічної діагностики тубуло-інтерстиційного компонента [Текст] / В. П. Пішак, М. В. Дікал., В. Г. Висоцька, В. М. Магальяс, Ю. В. Ломакіна; заявник та патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № у 200606156; заявл. 02.06.2006 ; опубл.15.11.2006, Бюл. №11. – 6 с. (Внесок дисертанта – приймала участь у пошуку та аналізі літературних даних).
9. Ломакіна Ю. В. Гістологічні та ультраструктурні критерії ефективності корекції мелатоніном та епіталонем пінеалоцитів старих щурів після іммобілізаційного стресу / В. П. Пішак, Ю. В. Ломакіна, І. С. Давиденко // Проблемы старения и долголетия. – 2008 – Т. XVII, № 1. – С. 3–8 (Автор самостійно здійснила пошук та аналіз літературних даних).
10. Lomakina J. V. Comparison of renal functions indexes in the conditions of exogenous melatonin administration one hour before the immobilizing stress / Pishak V. P, M. I. Grytsyuk, J. V. Lomakina // Annales Universitatis Mariae Curie-Sclodowska. – 2008. – Vol. XXI, № 2, 33. – P. 187–189 (Дисертант особисто провела статистичну обробку отриманих результатів, підготувала матеріали до видання).
11. Особливості хроноритмічних змін функцій нирок за умов гіперфункції шишкоподібної залози / Н. В. Черновська, Н. М. Шумко, Ю. М. Вепрюк, Ю. В. Ломакіна // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10., № 4. – С. 196–200 (Здобувач провела огляд літератури, проаналізувала отримані матеріали, брала участь у підготовці їх до друку).
12. Lomakina U. V. Histochemical information about oxidative protein modification in dark and light rat's pinealocytes / U. V. Lomakina, V. P.Pishak, I. S. Davidenko // V International Conference of Student Research groups of Medical University of Warsaw. – Starogard Gdanski, 5<sup>th</sup>–6<sup>th</sup> July 2007y. – Poland, 2007. – P. 32–33 (Автором проведено огляд літератури та аналіз отриманих результатів).

13. Ломакіна Ю. В. Окиснювальна модифікація білків у світлих та темних пінеалоцитах щурів (за гістохімічними даними) / В. П. Пішак, Ю. В. Ломакіна, І. С. Давиденко // Патологоанатомічна діагностика хвороб людини: здобутки, проблеми, перспективи : Всеукр. наук.-практ. конф., присв. 100-річчю з дня народження Н. М. Шінкермана. – 21—22 трав. 2007 р. : тези доп. – Чернівці : Бук. держ. мед. ун-т, 2007. – С. 143–145 (Здобувач особисто провела статистичну обробку отриманих результатів, підготувала матеріали до видання).
14. Ломакіна Ю. В. Вплив іммобілізаційного стресу на функціональний стан нирок за умов нормального функціонування шишкоподібної залози / М. І. Грицюк, Ю. В. Ломакіна // Молодь та поступ біології : III Міжнар. конф. студ. та аспір. – 23-27 квітня 2007 р. : тези доп. – Львів, 2007. – С. 462-463 (Автор самостійно здійснила пошук та аналіз літературних даних).
15. Ломакіна Ю. В. Структурная организация и окислительная модификация белков пинеалоцитов старых крыс в зависимости от длительности фотопериода / В. П. Пишак, Ю. В. Ломакіна, М. И. Грицюк // Адаптационная физиология и качество жизни: проблемы традиционной и инновационной медицины : Междунар. симп., посв. 80-летию акад. РАМН Н. А. Агаджаняна – 14–16 мая 2008 г. : тезисы док. – Москва : РУДН, 2008. – С. 1—3 (Автор самостійно провела забір матеріалу, здійснила пошук та аналіз літературних даних).
16. Ломакіна Ю. В. Мікроскопічні та ультрамікроскопічні зміни пінеалоцитів шишкоподібної залози старих щурів, що обумовлені дією іммобілізаційного стресу / Ю. В. Ломакіна // V Міжнар. мед. - фарм. конф. студ. і мол. вчених, присв. 600-річчю Чернівців 1–3 квіт. 2008 р. : тези доп. – Чернівці : Бук. держ. мед. ун-т, 2008. – С. 216.
17. Ломакіна Ю.В. Вивчення впливу іммобілізаційного стресу на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу у старих щурів за умов гіперфункції шишкоподібної залози / Ю. В. Ломакіна, Р. Є. Булик // Діагностичні центри — медико-біологічні аспекти діагностичного процесу : Наук.-практ. конф. з міжнар. участю 2—3 листопада 2007 р. : тези доп. — Рівне, 2007. — С. 95—96 (Автор самостійно провела дослідження, здійснила статистичну обробку даних).
18. Ломакіна Ю.В. Ультрамікроскопічні маркери стрес-реакції нирок у старих щурів в умовах світлової депривації / Ю. В. Ломакіна // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : Всеукр. наук.-практ. конф. 29—30 трав. 2008 р. : тези доп. — Тернопіль : Терноп. держ. мед. ун-т імені І. Я. Горбачевського, 2008. — С. 77—79.
19. Стрес-індуковані зміни екскреторної функції нирок у старих щурів за умов гіпфункції епіфіза мозку / Ю. В. Ломакіна, В. П. Пішак, В. Г. Висоцька, Н. М. Шумко // Розвиток наукової думки – 2008 : Всеукр. наук.-практ. конф. 10 жовт. 2008 р. : тези доп. — Миколаїв, 2008. — С. 61-63 (Дисертант здійснила забір матеріалу, статистично обробила отримані результати, підготувала тези до публікації).

20. Ломакіна Ю. В. Хроноритмічні перебудови екскреторної функції нирок старих щурів за поєданого впливу іммобілізаційного стресу та світлової експозиції / Ю. В. Ломакіна, В. П. Пішак, В. Г. Висоцька // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : Наук.-практ. конф. 6—7 листопада 2008 р. : тези доп. — Тернопіль : Терноп. держ. мед. ун-т імені І. Я. Горбачевського, 2008. — С. 133 (Здобувач провела забір матеріалу, статистично обробила отримані результати, підготувала тези до публікації).
21. Дія важких металів на хроноритми функціонального стану нирок / В. Г. Висоцька, Р.Є. Булик, Ю. В. Ломакіна, Н. В. Черновська // Вікові аспекти схильності організму до шкідливого впливу ксенобіотиків : Наук.-практ. конф. 18—19 вересня 2008 р. : тези доп. — Чернівці, 2008. — С. 58-59.
22. Ломакіна Ю. В. Ефективність застосування мелатоніну щодо стрес-індукованих змін хроноритмів екскреторної функції нирок у старих щурів / Ю. В. Ломакіна // Актуальні питання урології : Всеукр. наук.-практ. конф. 23-24 жовтня 2008 р. : тези доп. — Чернівці, 2008. — С. 123-125 (Дисертантом виконано експериментальну частину роботи, зроблено аналіз та узагальнення даних).

#### АНОТАЦІЯ

**Ломакіна Ю. В. “Вікові особливості функцій нирок у щурів, що зазнали стресу за зміненого фотоперіоду” – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України, Тернопіль, 2009.

Дисертацію присвячено вивченню впливу іммобілізаційного стресу за умов гіпофункції шишкоподібної залози на хроноритми морфофункціональної активності нирок та епіфіза мозку у старих щурів, а також шляхів корекції мелатоніном і епіталоном порушень, спричинених стресовими чинниками.

Уперше за допомогою сучасних методів дослідження з’ясовано добові хроноритми ренальних функцій нирок, мікро- й ультрамікроскопічні перебудови нирок та шишкоподібної залози, активність системи про- та антиоксидантного захисту у старих щурів за умов дії одногодинного іммобілізаційного стресу на фоні стандартного освітлення та гіпофункції шишкоподібної залози.

Доведено роль епіфізарного гормону мелатоніну та пептидного біорегулятора епіталону в корекції порушень хроноритмів досліджуваних показників, що виникають внаслідок дії патогенних чинників різної етіології (іммобілізаційного стресу та зміненого освітлення).

Застосування мелатоніну та епіталону справляють позитивні ефекти щодо відновлення постстресорних змін структурно-функціонального стану шишкоподібної залози, нирок та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Однак, мелатонін має суттєвіший вплив на функціональні показники нирок, посилення антиоксидантного захисту, зниження інтенсивності ліпопероксидації, а епіталон – на морфологічний стан нирок та шишкоподібної залози.

**Ключові слова:** нирки, хроноритми, стрес, старі щури, мелатонін, епіталон.

## АННОТАЦІЯ

**Ломакина Ю. В. “Возрастные особенности функций почек у крыс в условиях стресса при измененном фотопериоде” – Рукопись.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение “Тернопольський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського” МЗ України, Тернополь, 2009.

Диссертация посвящена изучению влиянию иммобилизационного стресса при гипофункции шишковидной железы на хроноритмы морфофункциональной активности почек и эпифиза мозга у старых крыс и коррекции мелатонином и эпиталоном нарушений, вызванных стрессовыми факторами.

Впервые с помощью современных методов исследования выявлены суточные хроноритмы функциональной активности почек, а также микро- и ультрамикроскопические перестройки почек и шишковидной железы и активность системы про- и антиоксидантной защиты у старых крыс при условии воздействия одночасового иммобилизационного стресса в норме и при гипофункции шишковидной железы.

Иммобилизационный стресс у старых крыс привел к изменению интегральных показателей хроноритмов экскреторной, ионо- и кислоторегулирующей функций почек – снижению мезора мочеиспускания с компенсаторным повышением относительной реабсорбции воды, азотемии, увеличением среднесуточного уровня и инверсии ритма натрий- и калийуреза, сдвигу рН мочи в сторону ацидоза, увеличению экскреции титрированных кислот с повышением амплитуды ритма во все периоды суток по отношению к параметрам интактных животных. При сочетанном действии иммобилизации и семидневной световой экспозиции, показатели почечных функций существенно ухудшались сравнительно с изолированным действием указанных факторов.

Структурно-функциональные изменения шишковидной железы при гипопинеализме проявлялись существенным увеличением среднего процента темных пинеалоцитов, сужением просветов канальцев эндоплазматического ретикулума в пинеалоцитах, уменьшением количества митохондрий, которые при этом характеризовались оксифильным матриксом и

немногочисленными кристами, а также снижением концентрации мелатонина в плазме крови до 14,1 пг/мл ( $p < 0,05$ ) по отношению к интактным животным. При иммобилизации и постоянном освещении усугублялись нарушения морфофункционального состояния пинеалоцитов старых крыс по сравнению с изолированным действием стрессоров.

Световой стресс приводит к существенному увеличению соотношения между “кислыми” и “основными” белками (коэффициент окислительной модификации белков) в темных пинеалоцитах ( $1,430 \pm 0,01$ ,  $p < 0,05$ ), а одночасовая иммобилизация – в светлых ( $1,125 \pm 0,012$ ,  $p < 0,05$ ). Коэффициент окислительной модификации белков в эпителии канальцев почек достигал максимальных значений по отношению к интактной группе животных при сочетанном воздействии стрессоров –  $1,324 \pm 0,024$  ( $p < 0,001$ ).

Показано, что как продолжительная световая стимуляция, так и иммобилизация усиливают свободнорадикальное окисление липидов и белков и угнетают антиоксидантную защиту у старых крыс.

Установлена роль эпифизарного гормона мелатонина и пептидного биорегулятора эпیتالона в регуляции циркадианных нарушений, которые возникают в результате действия патогенных факторов разной этиологии (иммобилизационного стресса и измененного освещения).

Показано, что применение мелатонина и эпیتالона вызывает положительный эффект по отношению к восстановлению постстрессорных изменений структурно-функционального состояния шишковидной железы, почек, и прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза. Однако, мелатонин обладает более существенным влиянием на функциональные показатели почек, активацию антиоксидантной защиты, снижение интенсивности липопероксидации, а эпیتالон – на морфологическое состояние почек и шишковидной железы.

**Ключевые слова:** почки, хроноритмы, стресс, старые крысы, мелатонин, эпیتالон.

## SUMMARY

**Lomakina J.V. Age related peculiarities of rat's renal functions under influence of immobilizing stress and altered photoperiod. – Manuscript.**

The thesis for obtain a scientific degree of Candidate of Medical Science on the specialty 14.03.04 – pathological physiology. – The State Higher educational establishment “Ternopil State Medical University, named after I.Ya. Gorbachevsky” Ministry of Public Health of Ukraine, Ternopil, 2009.

The thesis deals with the research of the influence of immobilizing stress in condition of hypofunction of pineal gland on chronorhythms of morphofunctional renal and pineal activity in old rats and correction by melatonin and epithalon the violations caused by stress-factors.

With a help of modern methods of investigation, the circadian chronorhythms of the functional renal activity, also micro- and ultrastructural changes of kidneys and pineal gland and activity of pro- and

antioxydative protection in old rats under conditions of 1-hours immobilizing stress action on the background of physiological and hypofunction of pineal gland.

It has been investigated the role of epiphysical hormone-melatonin and peptide bioregulator epithalon in regulation of circadian violations, which caused by pathogenic factors of the different etiology (immobilizing stress and duration of light). The pointed indole and synthetic peptide of pineal gland has been found to have stressprotective ability.

Was shown, that administration of exogenous melatonin and epithalon has positive influence to renew poststressors changes of morfofunctional condition of pineal gland, kidneys and pro-antioxidative homeostasis. However, melatonin has better ability to renew functional renal characteristics, to increase antioxidative protection, to decrease intensity of peroxidation, but epithalon – to restore morphofunctional changes in kidneys and pineal gland.

**Key words:** kidneys, chronorhythms, stress, old rats, melatonin, epithalon.