

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

*На правах рукопису*

**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**

**ДИСЕРТАЦІЯ**

на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

**Науковий керівник:**

**Пішак Василь Павлович**

**член-кореспондент АПН України,  
Здоктор медичних наук, професор**

Чернівці – 2008

## ЗМІСТ

	Перелік умовних скорочень.....	5
	ВСТУП.....	6
Розділ 1.	СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК СТАРИХ ЩУРІВ У НОРМИ ТА ПАТОЛОГІЇ (огляд літератури).....	14
1.1.	Хроноритмічна характеристика живого.....	14
1.2.	Сучасні уявлення про роль епіфізарних пептидів мозку та їх вплив на організм, що старіє.....	19
1.3.	Стрес – як провідний чинник порушення хроноритмічної впорядкованості функціонального стану організму.....	26
1.4.	Хроноритмічна особливість морфофункціонального стану нирок за умов впливу різних зовнішніх чинників..	30
Розділ 2.	МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	36
2.1.	Підбір лабораторних тварин.....	36
2.2.	Опис експериментальних моделей .....	36
2.3.	Екскреторна, іоно- та кислоторегулювальна функції нирок, методи їх вивчення.....	38
2.4.	Методи вивчення морфологічних особливостей нирок та шишкоподібної залози.....	40
2.5.	Вивчення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів та	

---

---

Розділ 3.	МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ТА ЕПІФІЗА МОЗКУ ЗА ЗВИЧАЙНОГО СВІТЛОВОГО РЕЖИМУ.....	45
3.1.	Морфофункціональний стан нирок за стандартного режиму освітлення у старих щурів.....	45
3.2.	Морфофункціональний стан нирок та шишкоподібної залози на фоні одногодинного іммобілізаційного стресу.....	58
3.3.	Застосування мелатоніну для корекції стрес-індукованих змін морфофункціонального стану нирок та шишкоподібної залози старих щурів.....	74
3.4.	Вплив епіталону на морфофункціональний стан нирок та шишкоподібної залози на фоні одногодинного іммобілізаційного стресу .....	92
Розділ 4.	ЗМІНИ СТРУКТУРИ НИРОК ТА ШИШКОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ У СТАРИХ ЩУРІВ НА ФОНІ СВІТЛОВОЇ СТИМУЛЯЦІЇ.....	115
4.1.	Морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку за умов тривалої світлової експозиції.....	115
4.2.	Вплив одногодинного іммобілізаційного стресу на морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку за умов	

	гіпофункції шишкоподібної залози.....	4 132
4.3.	Корекція мелатоніном стрес-індукованих змін морфофункціонального стану нирок та шишкоподібної залози старих щурів за умов світлової стимуляції .....	154
4.4.	Вплив епіталону на морфофункціональний стан шишкоподібної залози та нирок на фоні одногодинного іммобілізаційного стресу за умов постійного освітлення .....	183
Розділ 5.	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	199
	ВИСНОВКИ .....	214
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	216
	ДОДАТКИ.....	251

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АКТГ	– адренокортикотропний гормон
АОС	– антиоксидантна система
ВП	–вазоінтестинальний пептид
ІС	– одногодинний іммобілізаційний стрес
МА	– малоновий альдегід
МТ	– мелатонін
НА	– норадреналін
НСК	– нейросекреторні клітини
ОМБ	– окиснювальна модифікація білків
ПВЯ	– паравентрикулярні ядра
ПОЛ	– перекисне окиснення ліпідів
СОЯ	– супраоптичні ядра
СОД	- супероксиддисмутаза
СХЯ	– супрахізматичні ядра гіпоталамуса
ХНН	– хронічна ниркова недостатність
ЦНС	– центральна нервова система
ЦР	– циркадіанний (білядобовий) ритм
ЦП	– церулоплазмін
ШКФ	– швидкість клубочкової фільтрації
ШКТ	– шлунково-кишковий тракт
ШЗ	– шишкоподібна залоза
6-SOM	– 6-сульфатоксимелатонін

## ВСТУП

**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 [38, 72, 231]. 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 [64, 69].

Арушанян Э. Б. та Бейер Е. В. зазначають, що в регуляції гомеостазу значну роль відіграють циркадіанні ритми залежно від характеру поведінкових реакцій і координаційних відношень між системами адаптації організму [5-10]. Доведено, що з віком адаптаційні можливості організму значно знижуються, що потребує пошуку геропротекторних засобів для їх відновлення [46, 140].

На думку Hurd и Ralph [204], хронологічним маркером старіння, критерієм біологічного віку є початок зміни циркадіанної хроноструктури зрілого віку, що проявляється зменшенням амплітуд біопроектів, зміною конфігурації акрофаз, посиленням спектру ультрадіанних складових у ритмічній структурі біосистеми, – відбувається спонтанна внутрішня десинхронізація. Вона насамперед віддзеркалюється на еферентній ланці складних механізмів регуляції водно-сольового і кислотно-лужного балансу – нирках [25].

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 [20, 120, 144, 154, 164] залишається нез'ясованою структура хроноритмів їх екскреторної, іонорегулювальної та кислотнорегулювальної 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) [1, 23, 86, 181]. Її основний гормон – мелатонін – володіє вираженим хроноритморегувальним 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.

Потребує поглибленого вивчення морфофункціональний стан нирок та шишкоподібної залози при тривалому фотоперіоді та іммобілізаційному стресі, що дасть змогу з'ясувати механізми хронізації патології нирок за умов вказаних впливів. Разом із тим, це необхідно як для розуміння патогенезу десинхронозу при іммобілізаційному стресі на фоні зміненого фотоперіоду, так і для розробки методів профілактики та лікування ренальної вікової патології.

Наведені факти й послужили підставою для вивчення функції і особливостей морфологічного стану нирок та шишкоподібної залози саме в щурів старечого віку.

**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.

#### **Задачі дослідження**

1. Вивчити морфологічний, ультрамікроскопічний та 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 науково обґрунтувати доцільність їх застосування.

*Об’єкт дослідження:* вплив стресового та світлового чинників на нирки та шишкоподібну залозу.

*Предмет дослідження:* патогенетичні механізми змін 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 та шишкоподібної залози старих щурів, що перебували за зміненого фотоперіоду та іммобілізаційного стресу. Доведено виникнення менш виражених структурних перебудов та змін інтегральних показників хроноритмів екскреторної, іоно- та кислоторегулювальної функції нирок у старих щурів за умов впливу іммобілізаційного стресу, ніж за умов семидобового освітлення.

Обґрунтовано взаємозв'язки між морфологічними змінами в тканинах нирки 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 одногодинна іммобілізація – у світлих. Максимального зростання в обох типах клітин шишкоподібної залози зазнав показник при утримуванні стресованих тварин за гіперліюмінізованих умов. Коефіцієнт окиснювальної модифікації білків в

епітелії звивистих каналців зазнав максимальних змін щодо інтактної групи тварин при поєднаній дії стресорів

На підставі комплексного вивчення характеру реагування системи перикисного окиснення ліпідів отримано переконливі докази фото- та стрес-індукованого її порушення в старих щурів за вищенаведених умов експерименту. Найбільші зміни показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в крові спричинені іммобілізацією за умов збільшення фотофазы. Вони проявлялися посиленням процесів вільнорадикального окиснення на фоні виснаження систем антиоксидантного захисту старих щурів.

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

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

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

**Впровадження результатів досліджень.** Результати роботи впроваджені в науковий та навчальний процеси на кафедрах медичної біології, генетики та гістології, фізіології, патологічної фізіології та патологічної анатомії 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 патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; на кафедрі нормальної фізіології Московської медичної академії імені І. М. Сеченова. За результатами досліджень отримано три патенти України на корисну модель UA (України) №35208 “Спосіб корекції епіталонном показників про- та антиоксидантного стану крові при експериментальному моделюванні іммобілізаційного стресу у старих щурів на фоні зміненого фотоперіоду”; №34455 UA (України) “Застосування епіталону як препарату для корекції змін про- та антиоксидантного захисту при стресі в експерименті”; №17321 UA (України) “Спосіб біохімічної діагностики тубуло-інтерстиційного компонента”; посвідчення на раціоналізаторські пропозиції “Спосіб профілактики та лікування Віта-мелатоніном як регулятором циркадіанних ритмів сну” (№ 31/07), “Спосіб діагностики окиснювальної модифікації білків у темних та світлих пінеалоцитах щурів (за гістологічними даними)” (№ 32/07), “Спосіб впливу Віта-мелатоніну на покращення сну та на стресову стабільність серцево-судинної системи (ССС) у людей похилого віку” (№ 34/07 ), “Спосіб профілактики еномеланіном нефротоксичної дії солей важких металів: алюмінію, талію, свинцю” (№ 36/07), “Спосіб біохімічної діагностики тубуло-інтерстиційного компоненту” (№ 57/06).

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно підібрана та проаналізована література з проблеми дослідження. 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 та висновки. 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:

- 1) науково-практичній конференції з міжнародною участю “Хронобіологія і хрономедицина: теоретичні та клінічні перспективи” (м.Чернівці, 2006);
- 2) III Міжнародній конференції студентів та аспірантів. “Молодь та поступ біології” (м.Львів, 2007);
- 3) Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених “Медицина наука – 2007” (м. Полтава, 2007);
- 4) Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження Н.М.Шінкермана “Патологоанатомічна діагностика хвороб людини: здобутки, проблеми, перспективи” (м.Чернівці, 2007);
- 5) V International Conference of Student Research groups of Medical University of Warsaw “Medical problems in the year 2007” (Poland, Starogard Gdanski, 2007);
- 6) науково-практичній конференції “Діагностичні центри – медико-біологічні аспекти діагностичного процесу”(м.Рівне, 2007);
- 7) Всеукраїнській науково-практичній конференції “Актуальні проблеми сучасної морфології” (м.Луганськ, 2008);
- 8) міжнародному симпозіумі, присвяченому 80-річчю з дня народження акад. РАМН Н.А. Агаджаняна “Адаптационная физиология и качество жизни: проблемы традиционной и инновационной медицины” (г.Москва, 2008);

- 9) науково-практичній конференції “Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень” (м.Тернопіль, 2008);
- 10) V міжнародній медико-фармацевтичній конференції студентів і молодих вчених, присвяченій 600-річчю Чернівців (м.Чернівці, 2008);
- 11) міжнародній Львівсько-Люблінській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Сучасні аспекти експериментальної та клінічної біохімії” (м.Люблін, Польща, 2008);
- 12) науково-практичній конференції “Вікові аспекти схильності організму до шкідливого впливу ксенобіотиків» (м.Чернівці, 2008);
- 13) Всеукраїнській науково-практичній конференції “Розвиток наукової думки-2008” (м.Миколаїв, 2008);
- 14) науково-практичній конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (м.Тернопіль);
- 14) підсумкових наукових конференціях співробітників Буковинського державного медичного університету (м.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 деклараційних патенти України на корисну модель.

**Обсяг і структура 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, списку використаних джерел (288 бібліографічних описів, із них 139 - іноземні), додатків. Робота ілюстрована 47 таблицями і 102 рисунками.

# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК СТАРИХ ЩУРІВ У НОРМІ ТА ПАТОЛОГІЇ

*(огляд літератури)*

### 1.1. Хроноритмічна характеристика живого

Однією з фундаментальних закономірностей Всесвіту є наявність природних циклів (ритмів), зумовлених астрономічними явищами. Завдяки оберту Землі навколо своєї вісі, а також оберту навколо сонця, відбуваються ритмічні процеси, що стали звичними для землян: зміна дня та ночі, зміна сезонів року з відповідними змінами природних умов, флори та фауни [202].

Усім живим організмам властиві біоритми, які проявляються в періодичній зміні життєдіяльності та, як найбільш точний годинник, відмірюють час.

Для виміру часу зазвичай використовують певну повторювальну подію. Таким чином, біологічний ритм, що характеризує циклічну послідовність біологічних процесів, можна розглядати, як форму прояву часу в живих системах. Тривалість біоритмів - довжина періоду - є природною одиницею виміру біологічного часу [247]. Тобто, ритмічність – це основна властивість живого організму, його невід’ємна складова.

Цілісне розуміння білкових молекул чи високоорганізованих істот неможливе без урахування фактора часу [9]

У ритмології при визначенні функції, заданої на певному відрізку, важливо знати деякі інтегральні характеристики, що дозволяють охарактеризувати поведінку функції на відрізку в цілому. Однією з таких характеристик і є середнє значення або мезор. Середньоперіодична величина (середнє значення, що приймається функцією за період) – важливий параметр біологічного ритму, який дозволяє надати інтегральну оцінку біологічного процесу за повний цикл його коливань [110, 190].

У біологічному ритмі виділяють дві основні фази: активну і пасивну. Положення і довжина активної фази біоритму визначаються тим інтервалом його часу, впродовж якого довжина функції вище мезора, і, навпаки, пасивна фаза визначається тим відрізком часу, коли значення функції нижче величини мезора. Також розглядають такі звичні терміни в біоритмології, як амплітуда (розмах

коливань по одну, або по обидві сторони від мезора) і період (відстань між двома акрофазами) [9]. Співвідношення тривалості активної і пасивної фаз у різних біоритмах неоднакові, але тривалість активної фази поряд з амплітудою ритму суттєва для величини функції [177].

Ритмічна активність властива навіть поодинокій клітині, причому виявилось, що надто складно порушити хід клітинного годинника, не знищивши при цьому клітину. Діяльність такого годинника базується на тому, що в клітині відбуваються постійні динамічні зміни, які пов'язані з процесами обміну та отримання енергії. Одні речовини в клітині постійно розпадаються, а інші синтезуються, внаслідок чого існують незатихаючі коливання їхньої концентрації. Усі біохімічні процеси, що лежать в основі структури і функції клітини та організму в цілому відбуваються не одночасно, а їхні швидкості не сталі. Усі ці процеси співдружні між собою в часі таким чином, що виникає певний ритм чергування підвищення та зниження інтенсивності кожного з них [209, 229].

Отже, існують певні особливості взаємоіснування зовнішніх та внутрішніх ритмів. У найпростішому випадку тварина чи рослина лише реагує на надходження із зовнішнього середовища постійно повторюваних сигналів. Якщо не буде сигналів, то зрозуміло, що не виникне й реакція. Це так звані екзогенні, або зовнішні ритми (коливання освітленості, температури, геомагнітного поля та вологості), для забезпечення яких не потрібні особливі внутрішні механізми – наприклад, «пташиний годинник», який залежить від освітленості. На іншому кінці шкали знаходяться ендогенні (внутрішні) ритми, періодичність яких не залежить від зовнішніх сигналів. До числа процесів, що проявляють ендогенні ритми, відносяться робота серця, екскреція електролітів [183, 207], синтез мінералокортикоїдів, періодичні коливання електричного потенціалу кори великих півкуль та інші. У людини вивчено понад 900 фізіологічних функцій клітин, органів і систем організму, яким властива добова ритмічність. У природних умовах особливо важливим є білядобовий, чи циркадіанний, ритм (ЦР) з періодом, близьким до 24-ох годинах, що сформувався внаслідок добових коливань впливу зовнішніх геофізичних чинників. Експериментально доведено, що з широкого комплексу періодичних коливань реальний вплив на власні ритми хроноперіодичної системи здійснюють зміни освітленості, температури,

геомагнітного поля та вологості [232, 287]. Інтенсивність більшості фізіологічних процесів впродовж доби має тенденцію підвищуватися в ранкові години та знижуватися в нічний час. Приблизно в ці ж години підвищується чутливість органів чуттів: людина вранці краще чує, краще розрізняє відтінки кольорів. Тому, урахування біоритмів організму людини дозволить науково обґрунтувати застосування лікарських препаратів при лікуванні різних захворювань [215].

Крім того, у всіх дослідних живих істот та рослин може спостерігатися сукупність ендogenous та екзогенного ритмів, які виникають під впливом періодично повторюваних зовнішніх сигналів та не зникають після припинення їхньої дії. Тобто, хроноперіодична система, яка присутня на всіх рівнях організації живого організму [111], генерує коливання власної активності з частотами, які наближені до частот основних зовнішніх геофізичних циклів (добових, місячних, річних). Ця система здатна захоплювати зовнішні часозадавачі (Zeitgeber) [11] і, таким чином, синхронізувати власну активність із зовнішніми ритмічними змінами. Тобто фотоперіод (тривалість добової чи сезонної освітлюваності) є для гомойотермних тварин, у тому числі й для людини [281], основним часозадавачем (датчиком часу або зовнішнім синхронізувальним чинником). Іншими словами, фотоперіод – повноправний «попереджуючий» (предикативний) фактор для хроноперіодичної системи [34].

Встановлено щонайменше 6 ключових генів, які відіграють роль у системі циркадіанного годинника мишей (Clock, Bmal1, mPer1, mPer2, mCry1, mCry2) (Nagai K. et. al, 1999). Clock і Bmal1 належать до позитивних елементів, що діють на ділянки mPer і mCry генів та ініціюють їх транскрипцію. Коли рівні PER і CRY досягають достатньої кількості, гени взаємодіють між собою й інгібують в ядрі дію Clock/Bmal1 на етапі їх транскрипції. У кінцевому результаті за принципом зворотнього зв'язку пригнічується mPer- і mCry- транскрипція, а комплекс Clock/Bmal1, у свою чергу, повертається до нового циклу транскрипції [218, 262].

Згідно з сучасними уявленнями, на роль провідного водія ритму (пейс-мекера) добового періодизму в головному мозку ссавців претендують супрахіазматичні ядра гіпоталамуса (СХЯ) [230].

Базуючись на фотоперіодизмі інформація від СХЯ передається циркадіанним підсистемам – формуються хронобіологічні функціональні блоки з



різними мозковими структурами. Саме серед подібних блоків провідне місце займає взаємодія СХЯ і головного ендокринного організатора білядобового періодизму – епіфіза мозку [5, 85]. Супрахізматичним ядрам притаманні властивості осциляторів: по-перше, вони є ендогенними пейсмейкерами, тобто мають місце власні циркадіанні частоти нейрональної активності; по-друге, здатні вловлювати ритм зовнішнього синхронізатора – фотоперіоду, за допомогою прямого та опосередкованого зв'язку з сітківкою ока синхронізуючи власні ритми із зовнішнім фотоперіодом; по-третє, вони – головні синхронізатори для багатьох ендогенних вроджених ритмів ссавців [34]. Інформацію про ритми, які генеруються СХЯ, доносить до органів гормон мелатонін, що, в основному продукується епіфізом мозку. Імпульси із СХЯ регулюють циркадіанну епіфізарну діяльність через норадренергічні нейрони верхніх шийних гангліїв, відростки яких досягають пінеалоцитів. Ритм продукції мелатоніну носить циркадний характер: починає підвищуватись у вечірній час, досягає максимуму в середині ночі і прогресивно знижується до мінімуму вранці [9]. Світло, шляхом впливу на СХЯ, дозозалежно пригнічує секрецію мелатоніну ШЗ. Тому, будь-які зміни його продукції, що виходять за рамки нормальних фізіологічних коливань, можуть призвести як до неузгодженості біологічних ритмів всередині організму (внутрішній десинхроноз), так і до неузгодженості між ритмами організму та зовнішнього середовища (зовнішній десинхроноз) [66]. Внутрішній та зовнішній десинхронози можуть бути причинами різних патологічних станів, або ж супроводжувати захворювання внутрішніх органів [5]. На основі експериментальних та клінічних спостережень встановлено, що видалення ШЗ, стресові ситуації [123], голодування, роботи по змінах, перельоти через кілька часових поясів змінюють структуру біоритмів. Порушення продукції мелатоніну можуть бути причиною раптової смерті новонароджених [282], ідіопатичної кишкової кольки новонароджених [284], різних порушень сну [266]. Діє мелатонін через рецептори, які є на клітинних мембранах практично всіх органів і тканин [157]. Можливо, цим пояснюється тісний зв'язок між функціонуванням ШЗ й ендокринних залоз, а також роль останніх у підтриманні циркадіанних ритмів організму, хоча ці механізми на сьогодні не є достатньо вивченими і дискутуються [5].

Своєрідність участі епіфіза мозку у формуванні циркадіанних ритмів вдається виявити зі зміною довжини фотоперіоду або інверсією світлового режиму [168, 169]. Досліджено, що при видаленні епіфіза мозку в щурів видозмінювалася часова динаміка плавання, збільшувалася депресивність тварин, а в комбінації з осліпленням, навпаки, реєстрували протилежну картину, посилювалася чутливість до дизритмічного ефекту стресу [5, 6].

Удосконалення циркадіанної часової організації, і зокрема циркадіанних ритмів – провідної ланки в цілісній ритмічній системі організму, що поєднує всі його фрагменти в єдине ціле – досягається в процесі онтогенезу [9].

На думку багатьох авторів, хронологічним маркером старіння, критерієм біологічного віку є початок зміни циркадіанної хроноструктури зрілого віку, що проявляється зменшенням амплітуд біопроектів, зміною конфігурації акрофаз, посиленням спектру ультрадіанних складових у ритмічній структурі біосистеми – відбувається спонтанна внутрішня десинхронізація. Hurd и Ralph досліджували роль циркадіанного ритму при старінні золотистих хом'ячків з мутацією ритмоводія tau в СХЯ гіпоталамуса. Спостереження довели, що мутантні хом'ячки мали на 20% меншу тривалість життя, ніж контрольні. Коли ж у головний мозок старих мутантних хом'ячків імплантували супрахіазматичні ядра від плодів нормальних хом'ячків, відмічали відновлення нормальної тривалості життя [204]. Автори доводять, що такий же ефект будуть мати впливи, спрямовані на нормалізацію циркадіанного ритму. Зруйнування осцилятора (СХЯ) призводить до скорочення тривалості життя тварин. Наприклад, порушення функції циркадіанного гену *Per 2* викликає передчасне старіння та збільшує чутливість мишей до гамма-радіації. Мутації в генах циркадіанного ритму *Clock/Clock* у мишей призводять до розвитку ожиріння та метаболічного синдрому [239], а також до передчасних порушень естрального циклу та зниження фертильності [171].

Отже, не викликає сумніву, що проблема хроноритмології є надзвичайно актуальною для усіх ланок медико-біологічних наук. Подальшого дослідження вимагають головні компоненти фундаментальної організації циркадіанної системи ссавців, в якій чільне місце посідає провідний ендокринний організатор білядобового періодизму – шишкоподібна залоза.

## 1.2. Сучасні уявлення про роль епіфізарних пептидів мозку та їх вплив на організм, що старіє

Виключно важлива роль шишкоподібної залози як синхронізатора біологічних ритмів в організмі людини та тварин сприяла тому, що фізіологія, біохімія та морфологія, а також ультраструктура цього органа широко досліджується впродовж останніх десятиріч. Відомо, що пінеальна залоза є частиною фотоперіодичної системи, яка здатна сприймати зміни рівня освітленості навколишнього середовища через сітківку, звідки по ретиногіпоталамічному шляху імпульси надходять до супрахіазматичного, і в меншому ступені - до супраоптичного ядер гіпоталамуса. У подальшому інформація надходить до пінеальної залози, індукує в ній біохімічні перетворення індолів, співвідношення між якими безпосереднім чином залежить від режиму освітлення [213].

Шишкоподібна залоза опосередковує вплив чинників навколишнього середовища на фізіологічні процеси в організмі й цим самим забезпечує високий ступінь адаптації організму до умов довкілля, які постійно змінюються. Поряд із гіпоталамо-гіпофізарним комплексом пінеальна залоза залучається до формування множинних адаптаційних відповідей організму на стресорний вплив, головним чином внаслідок впливів з боку краніального шийного ганглія та ЦНС у I фазу загального адаптаційного синдрому та за рахунок дії гормонів кори надниркових залоз у II фазу [219, 230]. Біохімічні основи адаптації організму – це, в першу чергу, реакції ендокринної системи на особливості дії природних геохімічних і антропогенних чинників [286]. Шишкоподібна залоза, як ендокринний орган у структурі мозку, відіграє особливу роль у формуванні адаптивних реакцій, регулює цілу низку життєво важливих процесів [49]. Ця регуляція є циклічною, тому, на думку багатьох дослідників, ШЗ є регулятором "біологічного годинника" в організмі [89, 162].

Майже у всіх хребетних тварин у структурах головного мозку присутня шишкоподібна залоза. У людини цей орган розміщений у серединній площині глибоко під півкулями головного мозку, в каудальній частині III шлуночка над стовщенням мозолистого тіла, між задніми відділами зорових пагорбів. У шишкоподібній залозі розрізняють паренхіму та строму. Паренхіма складається з

пінєальних та нейрогліальних клітин. Основою гістологічної будови шишкоподібної залози є клітини-пінєалоцити. Вони становлять близько 80% паренхіми органа. Окрім пінєалоцитів до структури органа належать астроцити, фібробласти, гліальні та епендимальні клітини. Залозу пронизують сполучно-тканинні тяжі, які розділяють її на окремі частки, фолікули або «розетки», а інколи навіть мінеральні інфільтрати, що мають назву «мозковий пісок».

Відомо два класи гормонів шишкоподібної залози: пептидної та індольної природи, останні інтенсивно вивчаються [2]. Зокрема, встановлено, що поліпептидні речовини епіфіза володіють діуретичними властивостями, тоді як МТ не виявляв подібного ефекту [196, 264].

Значна частина МТ (біля 80%) секретується в клітинах пінєальної залози [158, 168, 173]. Меншою кількістю він утворюється в сітківці ока, гардерових залозах, шлунково-кишковому тракті, дихальних шляхах, підшлунковій залозі, надниркових залозах, щитоподібній залозі, плаценті, тимусі, мозочку, сечостатевої системі [235, 260]. Показаний також синтез МТ в неендокринних клітинах: тромбоцитах, ендотеліоцитах, базофільних і еозинофільних лейкоцитах [42].

Секреція МТ характеризується різноманітними ритмами: циркадіанними, сезонними, віковими [156, 163]. Встановлено, що концентрація цього індолу шишкоподібної залози в плазмі крові зменшується в осіб із вираженою патологією [249], спадає вона й з віком [267], але у довгожителів його рівень є достатньо високим. Зниження секреції МТ в людей літнього віку тісно пов'язане з процесами старіння мозку [153]. Виявлено, що в щурів при старінні в СХЯ гіпоталамуса знижується чутливість рецепторів до мелатоніну [226]. Хоча є й дані, що рівень продукції епіфізарного МТ не корелює з віком [181, 205]. Максимальна концентрація МТ в плазмі крові реєструється близько третьої години ранку. Утворення МТ чітко підпорядковане сезонній періодичності: восени синтез гормону зростає, а навесні, навпаки, зменшується [153].

МТ є сильним і ефективним ендогенним перехоплювачем (скавенджером) вільних радикалів. Цей епіфізарний індоламін взаємодіє з високотоксичним гідроксильним радикалом, забезпечує місцевий захист проти окиснювального пошкодження біомолекул у клітині. Отже, МТ діє в першому ешелоні захисту як неферментний антиоксидант. МТ і структурнозв'язані з ним метаболіти трипто-

фану, залучені до запобігання окиснювального стресу в усіх живих організмах, починаючи від морських водоростей і закінчуючи людиною [12, 198].

МТ здатний безпосередньо нейтралізувати вільні радикали, захищаючи в першу чергу ДНК, а потім ліпіди і білки від вільно радикального ушкодження в будь-якій клітині організму, а не лише в клітинах, які мають рецептори до нього. Це забезпечується здатністю розчинятися у воді й ліпідах, проникати через мембрани й судинно-тканинні бар'єри [62]. Паралельно наведеним механізмам МТ шляхом активації ферментів посилює утворення глутатіону, стимулює супероксиддисмутази та каталази, внаслідок чого зміщується баланс між антиоксидантними і прооксидантними ферментами на користь останніх [43, 140, 227].

Виявлено, що постійне освітлення викликає зміни кількості й поліпептидного складу білка гліальних проміжних філаментів. Такі цитоскелетні перебудови свідчать про розвиток астрогліозу. В умовах постійного освітлення в нервовій тканині зростає інтенсивність ПОЛ і знижується рівень відновленого глутатіону. Уведення МТ (10 мг/кг) сприяє зниженню дії оксидативного стресу в гліальних клітинах [68, 178].

Підтверджено, що уведення МТ старим щурам навіть у низьких концентраціях (0,05 та 0,5 мг/кг) викликає сповільнення процесів вільнорадикального окиснення, а антиоксидантний ефект гормону посилюється зі збільшенням дози. У зимовий період спостерігаються більш значні зміни досліджуваних показників, хоча напрямок зареєстрованих зсувів не залежить від тривалості світлового дня [118].

Пошкодження шлунка, викликані стресом та ішемією-реперфузією, призводять до нагромадження в цільній крові активних форм кисню. Попереднє уведення МТ у дозах 1-10 мг/кг дозозалежно знижує кількість пошкоджень слизової оболонки шлунка та рівень активних форм кисню в цільній крові. Ймовірно, що зниження дії стресу та ішемії-реперфузії відбувається внаслідок гальмування утворення вільних радикалів та стимуляції синтезу простагландинів [121].

Перцов С. С. і Пірогова Г. В. (2004) вивчали вплив гострого стресорного навантаження та екзогенного МТ в різних дозах на інтенсивність ПОЛ. Відмічено, що стресорне навантаження не призводить до змін рівня малонового альдегіду (МА) в гіпоталамусі, сенсомоторній корі та печінці активних і пасивних щурів, які отримували фізіологічний розчин. Вплив МТ на вміст МА

залежав від дози речовини. Так, у дозах 0,5 і 2,0 мг/кг грмон підвищував, а в дозі 1,0 мг/кг знижував вміст МА в печінці. Такі дані вказують, що механізм дії МТ зводиться до змін інтенсивності ПОЛ у центральних та периферичних тканинах організму [76]. Також дослідники вивчали вплив гострого стресорного навантаження та екзогенного МТ на органи-мішені стресу в щурів. Уведення МТ у дозах 0,5, 1,0 та 2,0 мг/кг у звичайних умовах викликало збільшення відносної маси тимуса в активних щурів та підвищення відносної маси надниркових залоз в активних і пасивних щурів. При ін'єкції МТ виявлено тенденцію до збільшення відносної маси селезінки. Стресорне навантаження призвело до інволюції тимуса та гіпертрофії надниркових залоз в активних і, особливо, у пасивних тварин, що отримували фізіологічний розчин. МТ знижував вираженість або запобігав інволюції тимуса в умовах стресу, проте не змінював відносної маси надниркових залоз. Відносна маса селезінки в активних щурів, які отримували МТ у дозах 0,5 та 1,0 мг/кг, знижувалася після стресового навантаження. Наведені результати дозволяють констатувати, що МТ впливає на функціональний стан органів-маркерів стресу [118].

На даний час активно проводяться фізіологічні та морфологічні дослідження шишкоподібної залози в старіючих організмах, оцінюється значення МТ у профілактиці старіння. Продемонстровано, що старіння супроводжується недостатністю функції шишкоподібної залози, а застосування екзогенного МТ може зберегти гомеостаз з віком і продовжити тривалість життя [108]. Експериментальними дослідженнями показано, що ріст кальцифікації шишкоподібної залози та зниження біосинтезу МТ з віком призводять до нестабільності циркадіанних ритмів [13, 35, 43]. Застосування МТ або трансплантата ШЗ може продовжити тривалість життя у гризунів [23]. Вважають, що МТ профілактично впливає на процес старіння наступним чином: корегує біологічний годинник до синхронізації з навколишнім середовищем, захоплює вільні радикали, модулює нейроендокринну систему, покращує імунітет, запобігає пошкодженню ядерної ДНК [46]. МТ може бути корисним для лікування захворювань, пов'язаних з передчасним старінням та для стимуляції *c-fos* генної експресії в супрахізматичному ядрі [62, 132, 194].

Дефіцит МТ в організмі людини може негативно впливати не тільки на

старіння, а й виступати патогенетичним чинником у виникненні інших хвороб. Показано, що дефіцит МТ може викликати хворобу Альцгеймера. Оскільки МТ діє як скавенджер гідроксильних радикалів, то мітохондрії мозкової тканини зазнають значного пошкодження гідроксильними радикалами [268]. Також експериментально доведено, що окремі неврологічні розлади (порушення мозкового кровообігу, нейродегенеративні захворювання головного мозку, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона) пов'язані з первинними або вторинними порушеннями в секреторній активності пінеальної залози, що дозволяє рекомендувати МТ для терапії різноманітної неврологічної патології [10, 194].

Наведено результати досліджень щодо ефектів МТ, які опосередковуються через його рецептори і залежать від амплітуди нічного піку секреції гормону, а також від тривалості його підвищеного вмісту в крові впродовж доби [9]. Певне відхилення від фізіологічних значень вказаних показників може призвести до небажаних наслідків. Використання екзогенного МТ в умовах недостатньої функції епіфіза, що спостерігається при старінні та різних захворюваннях, призводить до позитивних результатів внаслідок відновлення нормального рівня гормону в крові [172, 243].

Пошкодження дорзального гіпокампа та плавальний стрес у щурів викликають підвищення рівня епіфізарного МТ в плазмі крові. Передбачається існування гіпокампадно-епіфізарних функціональних зв'язків та участь цього хронобіологічного комплексу в організації відповіді на стрес [13].

Ткачук С.С. та співавт. (2002) досліджували довготривалі наслідки пренатального стресу на деякі нейропептидні та ендокринні показники участі МТ в механізмах стрес-реактивності. Встановлено, що в пренатально стресованих самців МТ втрачає модулювальний вплив на стрес-індукований рівень глюкокортикоїдів, пролактину в плазмі крові та рівень  $\beta$ -ендорфіну в гіпоталамусі [122-127].

Заячківська О. С. і співавт. (2006) вивчали рівень пошкодження гепатоцитів у щурів залежно від індивідуальних патологічних особливостей поведінки, попередньо тестованих в тесті «відкрите поле», як високорезистентні і низькорезистентні групи. Використовуючи гістологічні та біохімічні параметри оксидативного стресу автори довели, що уведений МТ здійснює гепатопротекцію через апатичні і  $\text{NO}_2$  медіюваний мембраностабілізуючий вплив [128].

Як свідчать спостереження останніх років, епіфізарний гормон МТ має чіткі імуномодулювальні властивості: здатний посилювати імунну реактивність в умовах її обмеження, проявляє імуностимулювальну активність, а на фоні імунної гіперактивності він може, навпаки, забезпечити супресивний ефект [30].

Значний спектр властивостей МТ дозволяє широко застосовувати його у клінічній та геріатричній практиці. Окрім біогенних амінів (МТ, серотонін) ще й регуляторні пептиди (ВІП, нейротензин, субстанція Р) визначають функціональну активність пінеальної залози. Отримано повідомлення щодо присутності в організмі пептидних біорегуляторів, які здатні забезпечувати інформаційний зв'язок між різними клітинними групами і, таким чином, впливати на їх функціональну активність [2]. Цей клас інформаційних молекул отримав назву цитомедина («клітинні медіатори»), які вдалося виділити з багатьох органів (гіпофіза, епіфіза мозку, тимуса). У різних цитомединах виявлено фракції пептидних комплексів із загальними фізико-хімічними властивостями, що пояснює не тільки їх специфічну, але й неспецифічну дію. Саме тому й проведено чисельні дослідження щодо комплексу поліпептидів, виділених із ШЗ методом оцтовокислої екстракції, який назвали епіталаміном, що володіє регулювальною дією на діяльність імунної, нервової та ендокринної систем [131]. На основі амінокислотного складу епіталаміну розроблений новий поліпептидний препарат епіталон - синтетичний тетрапептид (Ала-Глу-Асп-Глі), який, як передбачається може володіти більш високою біологічною активністю [129]. Комплексний аналіз функціональної морфології основних органів ендокринної та імунної систем – гіпофіза, ШЗ, надниркових залоз, тимуса та щитоподібної залози, продемонстрував, що епіталону властива модулювальна дія на імунний та ендокринний гомеостаз тварин за умов радіаційної моделі прискореного старіння. Уведення епіталону пригнічує процес синтезу рРНК в ядрах клітин надниркових залоз, стимулює функцію пінеалокитів, функцію щитоподібної залози та процеси гуморального й клітинного імунітету [37].

Паралельно з епіталоном вивчено вплив МТ і різних режимів освітлення на вміст білка, активність катепсинів В і D у лізосомальних фракціях печінки та нирок щурів. Активність катепсинів у лізосомальній фракції знижується з віком. Більш ранньому віковому зниженню активності катепсинів сприяло постійне



освітлення та світлова депривація. Відсутність чергування світла та темряви порівняно із стандартним почерговим освітленням викликає зниження як загальної, так і питомої активності катепсину в дослідних тварин. Уведення МТ та епіталона призводить до зниження активності катепсину D у печінці щурів лише при стандартному освітленні [108].

Проведено аналіз змін ферментної (супероксиддисмутаза, каталаза) і неферментної (вітамінів А і Е) ланок антиоксидантної системи в органах і тканинах щурів при різних світлових режимах і уведенні МТ та епіталону. В органах 6-місячних щурів виявляється відносно висока стійкість АОС до змін світлового проміжку, а також до уведення МТ та епіталону. Неферментна ланка АОС - вітаміни А і Е - більш чутливі як до світлового режиму, так і до ін'єкційних препаратів. Максимальну кількість змін активності антиоксидантних ферментів і жиророзчинних вітамінів під впливом препаратів відмічено в групі тварин, яких утримували при постійному освітленні, мінімальна - в умовах природної зміни дня та ночі. Дані зміни можна охарактеризувати як компенсаторні у відповідь на поступлення в організм МТ - потенційного антиоксиданту, або епіталону - речовини, що підвищує його секрецію. Очевидно, що вітамін Е в цьому випадку проявляв "конкурентну" з МТ функцію - функцію пастки для вільних радикалів. Найбільш чутливим до експериментальних впливів є рівень активності СОД і каталази в печінці та нирках, при цьому зміни під впливом МТ і постійної темряви в більшості випадків односпрямовані, однак під впливом МТ й епіталону відрізнялися [108].

Для перевірки гіпотези про нормалізувальний вплив пептидних препаратів епіфіза мозку на добові ритми мелатонінутворювальної функції ШЗ та ендокринної функції тимуса у практично здорових людей віком 60-74 роки вводили епіталамін, епіталон або фізіологічний розчин. Встановлено, що епіталамін має модулювальний вплив на функціональний стан епіфіза мозку. Епіталон, на відміну від епіталаміну підвищує концентрацію МТ не тільки вночі, але й ввечері, тобто в період фізіологічного підйому функціональної активності ШЗ, що вказує на більш високу його біологічну активність. Підвищення нічного піку МТ в плазмі крові супроводжується суттєвим покращанням (епіталамін) або нормалізацією (епіталон) добового ритму титру тимічного сироваткового

фактору. Отримані результати свідчать про можливість використання пептидних препаратів епіфіза для корекції вікових змін добових ритмів функціонального стану епіфіза мозку та тимуса при старінні [46].

Самкам мишей лінії СВА, починаючи з 6-місячного віку й впродовж подальшого життя, курсами (5 днів підряд щомісячно) вводили підшкірно епіталон у разовій дозі 0,1 мкг на тварину, який сповільнював вікові зміни естральної функції, зменшував рухову активність тварин, знижував температуру тіла, збільшував тривалість життя тварин, пригнічував у них вільнорадикальні процеси і розвиток спонтанних новоутворень. Тривале уведення епіталону не спричиняло несприятливого впливу на розвиток тварин. Дані свідчать про безпеку хронічного уведення епіталону й дозволяють рекомендувати його для застосування в клінічній практиці як геропротектора і засобу попередження розвитку вікової патології [2].

Дослідженнями Хавінсона В. Х. та співавт. (2005р.), доведено, що вікові зміни в епіфізі мають більш функціональний, ніж органічний характер, що робить можливим його корекцію. Окремі функції епіфіза у старих тварин покращувалися за умов обмеженого харчування та застосування S-аденозил-L-метіоніну або інгібіторів моноамінооксидази. Збільшення нічного піку секреції МТ у старих самок-макак відбувалося при уведенні епіталону. Також досліджені ефекти епіталону на тривалість життя мишей, щурів та дрозофіл, які співпадають із дією МТ [131]. Наведені повідомлення свідчать про важливе гомеостатичне значення індолів і пептидів ШЗ у забезпеченні хроноритмічної впорядкованості фізіологічних функцій та підтверджують ефективність їх застосування при старінні й впливі стресових чинників.

1.3. Стрес – як провідний чинник порушення хроноритмічної впорядкованості функціонального стану організму

Стрес визначають як сукупність неспецифічних біохімічних, фізіологічних та психічних реакцій організму у відповідь на вплив надзвичайного подразника (стресора) [284]. Його характеризують також як неспецифічний компонент фі-

зіологічних і патологічних реакцій, що супроводжують стан напруження, ступінь активації системи гомеостазу [255].

Оскільки практично всі показники життєдіяльності (біохімічні, фізіологічні, поведінкові тощо) проявляють свою періодичність, і, перш за все, циркадіанну ритміку, виникає питання, як змінюється відповідь організму на дію стресових чинників у біоритмічному аспекті?

Із позицій вчення про біоритми, адаптація – це тимчасове узгодження функціонального стану організму з умовами навколишнього середовища. На початку стресу, при порушенні синхронізації біоритмів організму та задавачів часу виникає ситуація зовнішнього десинхронозу [241].

Стрес-система – складний регуляторний комплекс, який допомагає координувати гомеостаз за звичайних умов і відіграє ключову роль в активації і регуляції змін в організмі, що формують адаптивну реакцію на стресори [246]. Згідно з сучасними дослідженнями, ця система складається з центральної і двох периферичних ланок, які здійснюють зв'язок нейрогуморального апарату з цілісним організмом. Центральна ланка знаходиться в гіпоталамусі, а також інших ділянках стовбура мозку та об'єднує три основних групи нейронів: 1) нейрони паравентрикулярного ядра гіпоталамуса, які виробляють кортикотропін-рилізінг-гормон (КРГ), що активує гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову систему; 2) нейрони паравентрикулярного ядра гіпоталамуса, які продукують гормон аргінін-вазопресин; 3) групи нейронів, які синтезують катехоламіни, головним чином норадреналін [181]. Периферичні ланки стрес-системи представлені двома основними відділами: 1) гіпофізарно-адреналовою віссю, яка активується КРГ і кінцевим продуктом якої є глюкокортикоїди, що виділяються з кори надниркових залоз під впливом АКТГ; 2) симпато-адреналовою системою, до якої входить симпатична нервова система й мозковий шар надниркових залоз, кінцевим продуктом її є катехоламіни [14, 152].

Більшість авторів дотримується думки, що стрес не є патологічним станом [113, 134]. Це динамічний процес психофізіологічної адаптації організму до навколишнього середовища, спроба збалансувати дестабілізуювальні зрушення стресорних впливів. Стрес перетворюється у паталогію тільки тоді, коли перевищує критичний поріг здатності до адаптації [33, 38, 101].

Розвиток загального адаптаційного синдрому тісно пов'язаний із функцією гіпоталамо-гіпофізарно-кортикальної системи. Останнім часом доведено, що навіть у перші години стресового впливу швидкість секреції глюкокортикоїдів у ряді випадків знижується [26, 30]. Стійке підвищення секреції гормонів кори надниркових залоз спостерігається тільки при тривалому і достатньо інтенсивному стресі [38, 133]. Водночас, участь надниркових залоз у розвитку загального адаптаційного синдрому не викликає сумніву, оскільки за їх відсутності стресорна реакція не розвивається [68, 84]. На даний час загальновідомо, що стрес – це одна з основних причин розладів функцій органів, різних хвороб, зниження опірності організму до інфекцій. Однак, як відомо, наслідки стресу зумовлюються не стільки стресорними чинниками, скільки відношенням до них організму, його початковим станом [36, 103, 274].

До основних центральних стрес-лімітувальних систем належать ГАМК-ергічна (система нейронів, що продукують  $\gamma$ -аміномасляну кислоту (ГАМК), яка здійснює гальмівний вплив на нейрони головного і спинного мозку) і опіоїдергічна система, що об'єднує нейрони в гіпоталамусі й секреторні клітини в гіпофізі, які продукують опіоїдні пептиди і також володіють гальмівною дією [263]. Отримано дані, які дозволяють додати до стреслімітувальних систем також систему генерації оксиду азоту та фізіологічну антиоксидантну систему, простагландини та їх рецептори [189].

У механізмах стресу велику роль відіграють зміни інтенсивності ПОЛ й антиоксидантного захисту [12, 256]. Вважають, що продукти ПОЛ можуть бути первинними медіаторами стресу [196]. Активація ПОЛ не тільки спричиняє аварійний викид антиоксидантів, а й ініціює реакцію інших стрес-реалізувальних систем, гуморальні продукти яких (катехоламіни й, особливо, глюкокортикоїди) мають антиоксидантну активність. Викид цих речовин у циркуляцію розвивається за принципом зворотного зв'язку у відповідь на зрушення окисного балансу в організмі. Наголошується, що при психоемоційному стресі активація стрес-реалізувальних систем можлива без первинної активації ПОЛ. У цьому випадку зростання пероксидації є наслідком значної гіперкатехолемії і пов'язане з особливостями метаболізму катехоламінів [147, 261].

Стрес є загальнобіологічною категорією, що дає підстави застосовувати цей термін для характеристики стану окремих органів, клітин, субклітинних структур [245]. Утім, більшість вчених схильні розглядати стрес як системну реакцію організму, посиляючись при цьому на теорію функціональних систем П. К. Анохіна [3]. У розвитку стрес-синдрому задіяні різні функціональні системи, що супроводжується дрейфуючим каскадоподібним механізмом передачі директивної інформації від однієї системи до іншої, починаючи з ЦНС [141]. Порушення регуляції стрес-системи, значною мірою пов'язане з недостатністю функції стрес-лімітувальних систем, призводить не лише до порушення реакції організму на стрес, але й до виникнення психічних та ендокринних розладів, захворювань системи кровообігу, імунної системи, обміну речовин чи формування схильності до цих захворювань [185].

Встановлено, що генетично детермінована й індивідуальна стійкість тварин до ушкоджень, викликаних емоційним стресом, пов'язана з величиною базального вмісту в гіпоталамусі і крові нейропептидів: субстанції Р,  $\beta$ -ендорфіну, пептиду дельта-сну [183]. Зокрема, доведено, що субстанція Р запобігає в щурів надмірному підвищенню рівня катехоламінів у крові при емоційному стресі й усуває викликану стресом артеріальну гіпертензію, а також знижує підвищений артеріальний тиск у тварин [275].

Вважають, що стрес — це адаптивна реакція, але за певних умов він може перетворюватися на ланку патогенезу багатьох захворювань, пов'язаних з порушенням нейрогуморальної регуляції та імунітету [65].

Хронічний ІС, якого зазнають самки протягом останнього тижня вагітності, викликає в дорослих нащадків так званий синдром пренатального стресу, який характеризується нейроендокринними порушеннями стрес-реактивності та статевої диференціації мозку. Віддаленими проявами патогенного впливу пренатального стресу на статево диференціацію мозку є демаскулінізація та фемінізація статевої поведінки в самців і зниження фертильності в самок [38, 133].

У тварин виникають різні стратегії адаптації до стресу. Стрессова реакція може протидіяти негативним ефектам старіння, а вплив на організм помірного сублетального стресу, що викликає стресову реакцію, може допомогти йому прожити довше [115]. Показано, що деякі помірні стресори (випромінювання,

тепловий і холодний шок, гіпергравітація, фізичне навантаження) збільшують тривалість життя, а гіпергравітація знижує ступінь поведінкового старіння. Механізми, що лежать в основі стресового збільшення тривалості життя, ще не вивчені, однак показано, що вони можуть включати метаболічну регуляцію та індукцію стресових білків [159, 259].

Показано, що стрес підвищує 5'-нуклеотидазну активність у гіпоталамусі і гіпокампі інтактних щурів, та не змінює її у тварин із гормональною блокадою гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи [73, 84, 139, 259, 265]. Активність аденозиндезамінази при стресі в гіпоталамусі як інтактних тварин, так і тварин із порушеною функцією гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи не змінювалася; у гіпокампі її активність підвищувалася в інтактних тварин і знижувалася в щурів за умов пригнічення функції гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи. У надниркових залозах при стресі активність ферменту утворення аденозину, незалежно від стану гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, не зазнавала змін [38, 208]. Активність ферменту метаболізму аденозину не змінювалася в надниркових залозах інтактних тварин і знижувалася в умовах пригнічення функції гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи [192].

Отже, не викликає сумніву, що складна система координованих взаємовідносин між екстра- та інтраренальними чинниками регуляції діяльності нирок забезпечується складними механізмами контролю нейроендокринної системи. Однак, багато аспектів цієї проблеми залишається нез'ясованими, зокрема біоритмічна регуляція ниркових функцій та її зв'язок із структурними перебудовами нирок. Наведені результати різнобічних досліджень щодо впливу стресових чинників на функціональний стан організму і слугували для нас причиною вивчення впливу гострого іммобілізаційного стресу на морфофункціональні характеристики нирок старих щурів.

#### 1.4. Хроноритмічна особливість морфофункціонального стану нирок за умов впливу різних зовнішніх чинників

Хронобіологія нирок полягає, головним чином, у вивченні добових, білядобових і сезонних ритмів. Структура біоритмів ренальних функцій

відображає етапи розвитку патологічного процесу в цьому органі. Чим сильніше виражений патологічний процес, тим більші перебудови спостерігаються у хроноритмах ниркової діяльності [120, 222].

Доведено, що добовий ритм зумовлений взаємозв'язком клубочкового й каналцевого апаратів нирки на підставі визначення ритмів осмолярності сечі, екскреції електролітів, водневих іонів, клубочкової фільтрації і каналцевої реабсорбції води, що підтверджено вивченням наведених характеристик у групі дітей з енурезом та гіперкальційурією [238].

Важлива роль у здатності підтримувати відносно постійний водно-мінеральний склад при різноманітних патологічних станах, у тому числі і при іммобілізаційному стресі, належить функціональній активності нирок. Доведено, що одногодинний іммобілізаційний стрес на фоні фізіологічної функції шишкоподібної залози спричиняє порушення часової організації функцій нирок: знижується мезор та збільшується амплітуда ритму сечовиділення; гальмується швидкість клубочкової фільтрації; мезор концентрації креатиніну в плазмі крові знижується; абсолютна й відносна реабсорбції іонів натрію знижуються, у перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату мезор екскреції іонів натрію зростає вдвічі, а амплітуда ритму знижується; зростає концентрація білка в сечі й екскреція іонів натрію за періоди спостережень. Наведене підвищення амплітуд ритмів свідчило про напруження адаптаційних процесів. Іммобілізаційний стрес в умовах гіперфункції шишкоподібної залози спричиняв зниження мезору діурезу; порушення архітекtonіки ритмів швидкості клубочкової фільтрації і відносної реабсорбції води. Адитивна дія зазначених чинників викликала зниження мезору концентрації іонів калію в сечі, зростання калійемії, креатинінемії і протеїнурії за денний проміжок доби. Порушення механізмів ниркового транспорту іонів натрію та кислоторегуляції вдень супроводжувалося активацією компенсаторних механізмів. Моделювання іммобілізаційного стресу в умовах гіпофункції шишкоподібної залози призводило до більш істотних змін інтегральних характеристик хроноритмів основних показників екскреторної, іонорегулювальної та кислоторегулювальної функцій нирок, ніж за умов гіперфункції залози. Виявлено залежність зміни часової організації основних ниркових функцій, викликаних іммобілізаційним стресом, від функціональної

активності шишкоподібної залози. Низькі амплітуди ритмів показників вказували на розвиток ознак десинхронозу [95, 143].

Також проведені дослідження щодо вивчення взаємозв'язків між уведенням сольових розчинів різної концентрації та екскреторною функцією нирок після гострого ІС, які характеризувалися послабленням ниркової здатності щурів щодо високих концентрацій уведеного натрію [164, 238, 239].

Нирки займають вагоме місце у забезпеченні динамічної рівноваги внутрішнього середовища організму. Вони, як і будь-яка інша біологічна система, характеризуються чіткою часовою організацією функцій, що підпорядковані чіткій циркадіанній періодичності й знаходяться під контролем багатьох екстраренальних гормональних впливів, серед яких важливу роль відіграє ключовий індол шишкоподібної залози – мелатонін [19, 86, 87, 287].

Доведено, що біологічні ритми модулюються різноманітними екзо- та ендогенними чинниками [89, 91, 104]. Оскільки в процесі онтогенезу всі види обміну речовин, функції органів і систем зазнають кількісних та якісних змін, цілком ймовірно передбачити, що й структура хроноритмів може суттєво змінюватися. Одним із органів із чітко циркадіанною організацією функцій є нирки [4, 59, 92, 142]. У процесі онтогенезу структура хроноритмів кислоторегулювальної, іонорегулювальної та екскреторної функцій нирок змінюється. Максимальних змін зазнає іонорегулювальна функція нирок, що проявляється різким зниженням екскреції іонів натрію за рахунок активації проксимального транспорту цього катіона [207, 252].

Хронобіологічна діяльність ниркових функцій за умов патології включає вивчення ритмів їхньої діяльності як при різних захворюваннях, так і ураженнях нирок, що дозволяє отримати уяву про стан ритмостазу в цілісному організмі.

Серед найбільш вивчених у ритмологічному відношенні функцій людського організму є виділення електролітів із сечею. Нирки вважають своєрідним органом-мішенню функцій систем регуляції [77].

Дослідженнями В. П. Пішака встановлено, що епіфіз у щурів контролює добовий ритм діурезу та іоновидільної функції нирок. Світлові подразники, як екзогенні чинники у формуванні добового ритму діяльності нирок, опосередковуються й через епіфіз. Після пінеалектомії розвивається десинхроноз діу-



ретичної реакції й іоновидільної функції нирок, що проявляється зменшенням амплітуди коливань, зміщенням ритму сечовиділення і калійурезу з нічного на денний період. Видалення ШЗ характеризується вираженим калійурезом, помірною гіпокалійемією, а також компенсованим ацидозом, що супроводжується зменшенням виведення вільних іонів водню та іонів амонію. Уведення епіфізектомованим тваринам екзогенного серотоніну призводить до зниження гломерулярної фільтрації, інтенсифікації реабсорбції води й об'єму реабсорбції іонів натрію, зменшення екскреції іонів натрію з сечею, що свідчить про прямі ефекти серотоніну на діяльність нирок. Уведення мелатоніну щурам, позбавлених епіфіза, призводить до гіпернатрійемії, у ранні терміни після операції підвищує екскрецію іонів натрію й фільтраційний заряд катіона, зменшує реабсорбцію іонів натрію переважно в проксимальному і, меншою мірою, в дистальному відділах нефрону, знижує виділення іонів калію з сечею, що свідчить про гальмування мелатоніном калійурезу [87, 91].

Функціональний стан нирок епіфізектомованих щурів у постнатальному онтогенезі досліджувала Н. В.Черновська (2002). Виявлено, що епіфіз регулює циркадіанні й сезонні ритми функцій нирок: після епіфізектомії порушується структура ритму діурезу, екскреції іонів натрію і калію, причому десинхроноз цих показників більш виражений у старих щурів і суттєвіший у весняно-літній період. Вплив гормону епіфізу мелатоніну на іоновидільну функцію нирок також залежить від віку: у молодих щурів він зменшує калійурез, у дорослих – натрійурез, у старих щурів знижує екскрецію обох електролітів, діурез і ШКФ.

Визначали синхронність ритмів із вивченням ритмів екскреції різних речовин [184]. Так, добові ритми екскреції води, калію, натрію, хлору, кальцію, магнію і титрованих кислот не збігаються. Dolores S. M. et. al. (2000) [159] виявили розходження в амплітуді ритму екскреції різних електролітів і мікроелементів, а Замощина Т. А., (2004), Castrop H. et al. (2003) не виявили паралелізму в ритмах виділення білка, сечовини, креатиніну, амінокислот, альдостерону, іонів водню, титрованих кислот, електролітів, а також відносної густини сечі у здорових дітей. Автори пояснювали це розходженнями в часі внутрішньониркових механізмів діяльності проксимального й дистального відділів нефрону [35, 104].

Вивчення хроноритмів іонорегулювальної функції нирок підтвердило, що в здорових людей акрофаза екскреції іонів натрію припадає на період з 16.00 до 19.00 год, з відносною амплітудою ритму 30-78% і мезором 0,08-0,19 ммоль/хв. При ХНН у фазі компенсації переважає циркадіанний ритм екскреції іонів натрію, амплітуда якого спочатку зростає до 85%, до того ж збільшується діапазон розташування акрофаз (від 2.00 до 23.00 год) [112].

При з'ясуванні ритмологічних особливостей кислотовидільної функції нирок виявили подібні зміни. У нормі екскреція титрованих кислот та аміаку має широкий діапазон розташування акрофаз (від 10 до 260°) і високу амплітуду (35-77%). Добові ритми ШКФ у здорових людей мають відносну амплітуду 20-42% з мезором 0,08-0,13 л/хв, а діапазон розташування акрофаз від 4.00 до 16.00 год. При ГНФ, ускладненому нирковою недостатністю, звужується і зміщується на більш пізні години діапазон фазово-амплітудних співвідношень, проте на пізніх стадіях ниркової недостатності відносна амплітуда, навпаки, зростає [112].

Встановлено, що раннім і високочутливим маркером цезієвої інтоксикації є порушення хроноритму водо- та іоновидільної функції нирок. Інтенсивність змін параметрів біоритмів віддзеркалює ступінь токсичної дії речовини на нирки. Порушення світлового режиму (постійна темрява, постійне освітлення) викликає дисфункцію ШЗ і виражений десинхроноз коливань діурезу та електролітурезу, що зумовлює особливий характер змін біоритмів при цезієвій інтоксикації [15, 16].

Вивчали циркадіанний ритм діурезу, електролітурезу, протеїнурії, активності ферментів, що беруть участь в обміні сечовини, аміаку, сечової кислоти, що свідчить про посилення діяльності нирок вночі. Виявлено ріст амплітуд підйомів і спадів кривих ритму, поява монотонного ритму з акрофазою вдень [78].

Корекцію електролітного гомеостазу доцільно проводити з урахуванням ритму електролітурезу: препарати натрію уводити зранку, кальцію – увечері [203, 240]. За даними Weber P. C. [280], гідро- і електролітуретичний ефекти фуросеміду залежать від часу прийому препарату: при прийомі до 10.00 – максимальне сечовиділення, о 13.00 – максимальний калійурез і о 17.00 – натрійурез.

Одним із актуальних наукових напрямків сучасної морфології є вивчення вікових особливостей будови й гістофізіології клітин, тканин та органів [23]. Прикладна значимість даної проблеми, наприклад стає

очевидною під час вибору донорських органів для трансплантації. Також на важливу роль вивчення морфологічних особливостей на світловому та електронному рівнях вказують досі остаточно не встановлені інформативні показники морфологічних змін нирки, без чого неможливо визначити терміни становлення механізмів компенсації та критичні періоди їх розвитку, уточнити механізми розвитку функціональної неповноцінності нирки для спрямованої медикаментозної хронотерапії, прогнозувати стан органа за результатами клінічного аналізу біопсії тощо.

Вказані результати досліджень свідчать про детермінованість ритмів нирок (ультрадіанних, циркадіанних, сезонних та ін.), однак залишаються невирішеними питання взаємозв'язку біоритмів нирок з різними регуляторними системами організму, механізмами їхнього розвитку, а також зі змінами, що виникають при впливі екзогенних і ендогенних чинників. Проте існуючі результати досліджень хроноритмічної організації функції нирок у здорових людей визначають необхідність їхнього поглибленого вивчення за умов патології.

Встановлено значимість десинхронозу діяльності нирок як прояв ранніх функціональних порушень. Хронобіологічний підхід дозволить оптимізувати процес діагностики, лікування і профілактики різних захворювань, зменшити ризик розвитку побічних явищ, запобігти формуванню толерантності до препаратів і скоротити термін досягнення бажаного клінічного ефекту при зменшенні разових, добових і курсових доз фармакологічних препаратів. Джерела літератури свідчать про детермінованість ритмів діяльності нирок, але не можна вважати вирішеним питання про взаємозв'язок біоритмів нирок із різними регуляторними системами організму, їхніх змін під впливом екзо- й ендогенних факторів. Крім того, багато інших аспектів цієї проблеми залишається ще нез'ясованими: недостатньо розкриті механізми біоритмологічної регуляції ниркових функцій у старих щурів, не визначено вплив гормонів ендокринного посередника хроноритмів – ШЗ – його пептиду мелатоніну та синтезованого тетрапептиду епіталону на структуру хроноритмів функції нирок, що є перспективними для удосконалення ранньої діагностики і профілактики ниркових захворювань.

Таким чином, вивчення вікових аспектів морфології адаптаційних і компенсаторних реакцій нирок має як теоретичне, так і клінічне значення.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Підбір лабораторних тварин

Експериментальні дослідження проведені на 288 старих (у віці 20-24 міс.) нелінійних самцях білих щурів масою 0,28-0,36 кг. Вивчали вплив гіпофункції ШЗ, а також 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. Тварини знаходилися на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до їжі та води за сталої температури (18-21<sup>0</sup>С) та вологості повітря по 5-7 тварин в окремих клітках.

Всі експерименти проведені у весняно-літній період для уникнення розбіжностей параметрів, чутливих до впливу сезонної ритмічності.

У зв'язку з тим, що адаптивні системи самок більш динамічні, надійні і мають більшу резервну потужність, а отже, саме у самців легше виявити нейрохімічні, ендокринні та морфологічні кореляти зрушень, викликаних впливом стресу, нами були обрані старі щури самці для з'ясування поставленої мети.

Усі дослідження проведені із дотриманням Директиви ЄЕС №609 (1986) та наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000р. „Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин”. Досліди проведені відповідно до вимог комісії з біоетики Буковинського державного медичного університету (протокол №3 від 16.02.2005р.).

#### 2.2. Опис експериментальних моделей

Під час проведення експериментальних досліджень ми розділили наведену кількість щурів на II серії, кожна з яких підрозділили на чотири групи. Отже, I серія – визначення морфофункціонального стану епіфіза мозку та нирок старих щурів при дії іммобілізаційного стресу на фоні фізіологічної активності ШЗ та

реактивної спроможності антиоксидантної системи крові за вказаних умов експерименту (n=144); II серія – визначення морфологічних та функціональних особливостей будови ШЗ та нирок, АОС крові в умовах стресу на фоні гіпофункції ШЗ (n=144).

Тварини з кожної серії досліду розподілені на чотири експериментальні групи: 1 група – інтактні щури, які виводилися з експерименту одночасно з дослідними тваринами для визначення контрольних показників (n=6); 2 група – щури, яким моделювали гострий ІС (n=6); 3-ю групу складала тварини, яким вводили епіталон впродовж трьох днів (n=6); 4-тій групі тварин вводили мелатонін за тією ж схемою (n=6). 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 внутрішньочеревинно (Sigma, США) у дозі 2,5 мг/кг маси, попередньо розчинивши у фізіологічному розчині, додавши декілька крапель етилового спирту (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.

По закінченні цього етапу досліду під легкою ефірною анестезією здійснювали евтаназію щурів о 14.00 год шляхом декапітації. У момент декапітації тва-

рин збирали кров в охолоджені центрифужні пробірки з гепарином, який використовувався як стабілізатор-антикоагулянт. Кров центрифугували впродовж 20 хв при 3000 об/хв, відбирали плазму для визначення відповідних показників.

Для аналізу та оцінки функціонального стану нирок основні показники, що вивчали, об'єднували в групи, які характеризували екскреторну, іонорегулювальну та кислотовидільну функції. Всього вивчали 34 показники.

Для моделювання фізіологічної та гіпорфункції пінеальної залози у дослідних тварин застосовували універсальний люмінесцентний підхід. Для контролю щурів утримували 7 діб за умов стандартного світлового режиму – LD (світло з 08.00 до 20.00 год, освітленість люмінесцентними лампами на рівні кліток 500 Лк. Умови для гіпофункції шишкоподібної залози: тварини перебували 7 діб за умов постійного освітлення (цілодобова світлова експозиція - LL). Режим постійного освітлення здійснювався за допомогою двох ламп денного світла, які розташовувались з двох боків клітки з тваринами і створювали рівномірний рівень освітлення інтенсивністю не менше 500 Лк. За даними літератури такий рівень освітлення зменшує продукцію мелатоніну до 90 % від існуючого в нічний час доби (Романов Ю.А., 2000; Lemaigre-Voreaux P., 1986).

### 2.3. Екскреторна, іонорегулювальна та кислотовидільна функції нирок та методи їх вивчення

#### Досліджувані показники ниркових функцій

Екскреторна функція	
1.	Діурез, мл/2 год
2.	Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л
3.	Екскреція іонів калію, мкмоль/2 год
4.	Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л
5.	Клубочкова фільтрація, мкл/хв
6.	Відносна реабсорбція води, %
7.	Концентраційний індекс ендogenous креатиніну, од
8.	Концентрація білка в сечі, мг%
9.	Екскреція білка, мг/2 год
10.	Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату

Іонорегулювальна функція	
11.	Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л
12.	Екскреція іонів натрію, мкмоль/2 год
13.	Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату
14.	Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л
15.	Фільтраційна фракція іонів натрію, мкмоль/хв
16.	Екскреторна фракція іонів натрію, мкмоль/хв
17.	Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв
18.	Відносна реабсорбція іонів натрію, %
19.	Концентраційний індекс іонів натрію, од
20.	Натрій/калієвий коефіцієнт, од
21.	Кліренс іонів натрію, мл/2 год
22.	Кліренс безнатрієвої води, мл/2 год
23.	Проксимальний транспорт іонів натрію, ммоль/2 год
24.	Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/ 2 год
25.	Проксимальний транспорт іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату
26.	Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату
Кислотовидільна функція	
27.	рН сечі
28.	Екскреція іонів водню, нмоль/2 год
29.	Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату
30.	Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/2год
31.	Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату
32.	<i>Екскреція аміаку, мкмоль/2 год</i>
33.	<i>Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату</i>
34.	Амонійний коефіцієнт

Результати обробляли статистично методом "Косинор-аналізу", а також параметричними методами варіаційної статистики. Діагностика десинхронозу ґрунтувалася на основі аналізу змін характеристик мезору (середньодобового рівня), амплітуди, акрофази та форми кривої циркадіанного ритму.

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).

Екскреторну функцію нирок оцінювали за величинами абсолютного та відносного діурезу, ШКФ, концентрації креатиніну в плазмі крові, відносної реабсорбції води, концентрації білка в сечі та його екскреції. Іоно-

регулювальну функцію оцінювали за показниками екскреції іонів натрію та їх концентрації в сечі, абсолютної та відносної реабсорбції катіона, фільтраційного заряду та кліренса іонів натрію, величин проксимального та дистального транспорту. Кислотовидільну функцію нирок характеризували за концентрацією активних іонів водню в сечі (рН сечі), екскрецією активних іонів водню, титрованих кислот і аміаку (Шюк О., 1982).

Концентрацію креатиніну в плазмі крові визначали за методом Поппера у модифікації Мерзона А.К. (Мерзон А.К., 1970), в сечі – за методикою Фоліна. Концентрацію білка в сечі вивчали фотоколориметрично за реакцією з сульфосаліциловою кислотою. Концентрацію іонів натрію та калію вивчали методом фотометрії полум'я на фотометрі “ФПЛ-І” (Берхин Е.Б., 1972).

Визначення рН сечі здійснювали за допомогою мікробіоаналізатора “Redelkys” (Угорщина), концентрацію кислот і аміаку в сечі – методом титрування (Рябов С.И., Наточин Ю.В., 1997). Аналіз і розрахунок функцій нирок проводили за відомими методами (Берхин Е.Б., Иванов Ю.И., 1972; Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н.; Шейман Д.А., 1997).

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

Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПЕВМ “Pentium-4” за допомогою програм “Excel-7”, “Statgraphics” (США) і “Косинор-аналіз”. Вірогідність різниці показників визначали з використанням t-критерію Стьюдента. В таблицях значення “р” наведені лише для вірогідних (р=0,05 або менше) різниць показників, що вивчалися.

#### 2.4. Методи вивчення морфологічних особливостей нирок та епіфіза мозку

Після декапітації о 14.00 год у дослідних тварин видаляли епіфіз мозку та одну нирку за загальноприйнятою методикою. Для гістологічних досліджень шматочки тканини фіксували впродовж 48 годин у 10% розчині нейтрального



забуференого формаліну, після чого проводили процедуру зневоднювання у висхідній батареї спиртів та парафінову заливку при температурі 56°C. На парафінових зрізах виконували методику забарвлення гематоксиліном і еозином (Venerucci F., 2001).

Документацію морфологічних змін здійснювали за допомогою цифрового фотоапарата Olympus C740UZ та мікроскопа ЛЮМАМ-8.

Кількісний аналіз цифрових зображень виконували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми ВидеоТест – Размер 5.0 (Санкт-Петербург, Россия, 2000г.). Різницю в середніх тенденціях між групами дослідження, враховуючи нормальний розподіл даних (за критерієм Shapiro-Wilk), оцінювали за допомогою параметричного критерію Стьюдента (непарний для незалежних вибірок, двосторонній). Враховуючи малий об'єм порівнюваних вибірок, для надійності висновків додатково застосували непараметричний критерій Mann-Whitney, який давав значення вірогідності близькі до критерію Стьюдента.

З метою оцінки внутрішньоклітинних змін у пінеалоцитах та тканині нирок вивчали ультраструктуру цих клітин. Для електронномікроскопічних досліджень одразу після знеживлення тварин пінеальну залозу та нирку обробляли стандартним шляхом: після трепанації черепа вилучали залозу і фіксували її в 2,5% розчині глютаральдегіду, який готували на фосфатному буфері Міллонга з активною реакцією середовища рН 7,2-7,4. Фіксований матеріал переносили у буферний розчин і промивали протягом 20-30 хв. Після цього впродовж 60 хв здійснювали постфіксацію матеріалу, використовуючи для цього 1% розчин чотириокису осмію на буфері Міллонга. Далі проводили дегідратацію матеріалу в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол відповідно до загальноприйнятої методики [10]. Ідентичні кроки були проведені з ниркою.

На мікротомах УМПТ-7 та ЛКБ-III виготовляли ультратонкі зрізи, які зафарбовували 1% водним розчином ураніл ацетату. Ультраструктурні особливості будови клітин нирок та ШЗ вивчали в електронному мікроскопі ЕМВ-100 ЛМ.

Шляхом мікроденситометричного методу на цифрових копіях зображень тканини шишкоподібної залози за допомогою комп'ютерної програми ВидеоТест - Размер 5.0 здійснювали попередні експерименти встановлення емпіричної межі щодо віднесення пінеалоцитів до світлого чи темного типу клітин. Межею

обрана величина оптичної густини забарвлення цитоплазми пінеалоцита у 0,065 відн.од. оптичної густини (величина оптичної густини забарвлення «0» відн.од. відповідає абсолютній оптичній прозорості, величина «1» відн.од. - абсолютній оптичній непрозорості). Пінеалоцити із середньою густиною забарвлення цитоплазми менше, ніж 0,065 відн.од. оптичної густини відносили до світлих пінеалоцитів, а із середньою густиною забарвлення цитоплазми у 0,065 відн.од. оптичної густини та вище – до темних пінеалоцитів відповідно.

Для визначення функціонального стану пінеальної залози під час стресу та оцінки напруженості тест-систем визначали в плазмі крові контрольних та дослідних тварин вміст мелатоніну. Одразу після декапітації кров тварин забирали у центрифужні пробірки, додаючи до неї гепарин в якості стабілізатора. Кров центрифугували, відбирали плазму і заморожували.

Дослідження кількісної оцінки концентрації в плазмі крові мелатоніну виконували 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. У тест-системі застосовано принцип конкурентного варіанту методу імуноферментного аналізу. Результати реакції враховували при довжині хвилі 450 нм та оброблялися за допомогою програми «Ascent». Концентрацію мелатоніну позначали у пг/мл. Отримані цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою пакету програм “Biostat” та “Excel” з використанням для оцінки вірогідності різниць окремих груп даних критерію Стьюдента. За статистично вірогідні вважали зміни при  $p \leq 0,05$ . Числові значення в таблицях та графіках наведені у вигляді середніх величин та їх стандартних похибок.

## 2.5. Вивчення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантної активності в еритроцитах та плазмі крові

За 24 години до експерименту тварин утримували без їжі з вільним доступом до води. Цільну кров стабілізували розчином ЕДТА (1,0 мг/мл крові), відділяли плазму (центрифугування при 3000 об/хв, 15 хв ) від еритроцитів (останні триразово промивали охолодженим фізіологічним розчином натрію хлориду). У плазмі крові визначали вміст церулоплазміну (ЦП) (Камышников В.С., 2003) і HS-груп (Мещишен І.Ф., Григор'єва Н.П., 2002); та ОМБ (Мещишен І.Ф., 1998). В еритроцитах – рівень малонового альдегіду та активність каталази (Камышников В.С., 2003).

В еритроцитах вміст *малонового альдегіду* визначали таким чином: у центрифужну пробірку вносили 1,3 мл дистильованої води, 0,2 мл розчину  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  (139 мг в 100 мл  $\text{H}_2\text{O}$ ) і 0,2 мл еритроцитів тричі відмитих в ізотонічному розчині  $\text{NaCl}$ . Старанно перемішували скляною паличкою і через 10 хв вносили 1 мл 0,8% тіобарбітурової кислоти. Проби перемішували скляною паличкою, через 5 хв вносили 0,3 мл 60% трихлороцтової кислоти та кип'ятили на водяній бані 10 хв. Проби охолоджували, центрифугували при 3000 об/хв 10 хв та визначали оптичну густину при 532 нм. Розрахунки вмісту малонового альдегіду проводили з урахуванням коефіцієнта молярної екстинкції  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  і виражали в нмоль/мл еритроцитів.

*Визначення каталази.* Принцип методу полягає в тому, що каталаза руйнує субстрат  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; кількість пероксиду водню вимірювали за допомогою молібдату амонію, який утворює стійкий забарвлений комплекс. Активність ферменту в центрифугатах тканин виражали в нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$ /хв мг тканини; у гемолізаті крові - в мкмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$ /хв л.

*Вміст HS-груп* у плазмі крові визначали за методикою, розробленою І.Ф.Мещишеним та Н.П. Григор'євою. Принцип методу полягає у взаємодії 5,5'-дитіобіс 2-нітробензойної кислоти (реактив Елмана) з вільними HS групами. У хімічну пробірку вносили 0,2 мл плазми, 0,1мл 1н  $\text{NaOH}$  (старанно пере-

міщували скляною паличкою), 3,7 мл 0,2 М фосфатного буфера рН=8,0 та 0,1 мл реактиву Елмана. Через 10 хв проби спектрофотометрували при 412 нм проти контролю, в який, на відміну від дослідної проби, замість досліджуваного матеріалу вносили 0,2 мл води. Результати виражали в мкмоль/мл у плазмі крові.

*Церулоплазмін* (ЦП). Принцип методу базується на окисненні *p*-феніл-ендіаміну за участю церулоплазміну. Ферментативну реакцію зупиняли додаванням натрію фтористого. За величиною оптичної густини утворених продуктів судили про концентрацію церулоплазміну, яку визначали модифікованим методом Ревіна та виражали в мг/л плазми крові.

Вміст *окисно модифікованих білків* у плазмі крові визначали за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням гідразонів характерного спектру поглинання. Про ступінь ОМБ судили по кількості утворених альдегідних і кетонних груп. Альдегідо- і кетонпохідні нейтрального характеру визначали при 370 нм, а основного характеру – при 430 нм. Вміст фенілгідразонів нейтрального характеру розраховували на основі коефіцієнта молярної екстинкції  $2,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

У центрифужні пробірки (обов'язково паралельні проби) вносили 0,8 мл 0,85% розчину NaCl, 0,2 мл плазми крові або гомогенату, 1 мл 0,1 М 2,4-динітрофенілгідразину, розчиненого в 2М соляній кислоті та 1 мл 10% трихлороцтової кислоти. У контрольні проби замість 2,4-динітрофенілгідразину додавали 1 мл 2М соляної кислоти. Пробі інкубували 1 год при 37°C, центрифугували 10 хв при 3000 об/ хв. Осад промивали тричі 5%-ою трихлороцтовою кислотою по 5 мл. До одержаного осаду додавали 5 мл 8 М розчину сечовини, витримували 5 хв у киплячій водянній бані до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 370 нм та 420 нм проти контролю. Вміст ОМБ при  $\lambda=370$  нм виражали в ммоль/г білка, при  $\lambda=430$  нм – в одиницях оптичної густини на 1г білка.

## РОЗДІЛ 3

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ЗА СТАНДАРТНОГО РЕЖИМУ ОСВІТЛЕННЯ У СТАРИХ ЩУРІВ**

Цей розділ присвячений встановленню закономірностей реакцій нирок на іммобілізаційний стрес та його корекцію за умов звичайного світлового режиму. У підрозділі 3.1 описано морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку старих щурів за фізіологічної функції шишкоподібної залози, враховуючи концентрацію мелатоніну та основні параметри процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у плазмі крові з паралельним вивченням імуногістохімічної характеристики окиснювальної модифікації білків (ОМБ) нирок та пінеальної залози. Основним напрямком підрозділу 3.2 обрано вивчення вищезазначених параметрів на фоні одногодинного іммобілізаційного стресу. Підрозділи 3.3 та 3.4 спрямовані на проведення фармакотерапевтичної корекції змін, викликаних іммобілізаційним стресом.

**3.1. Морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку за звичайного світлового режиму**

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку встановлено, що співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами складало  $1,77 \pm 0,028$  (світлих пінеалоцитів  $64 \pm 0,9\%$ , темних  $36 \pm 0,9\%$ ). Загалом морфологічна картина відповідала літературним даним щодо такої в інтактних тварин (рис. 3.1).

Мікроспектрометрично при використанні гістохімічної методики з бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво встановлено, що коефіцієнт Р, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив у світлих пінеалоцитах  $0,941 \pm 0,002$ , а у темних –  $1,189 \pm 0,012$  (рис. 3.2).

Субмікроскопічні дослідження за умов 12С:12Т показали, що для більшості пінеалоцитів характерні округло-овальні ядра з великими осміофільними ядерцями.

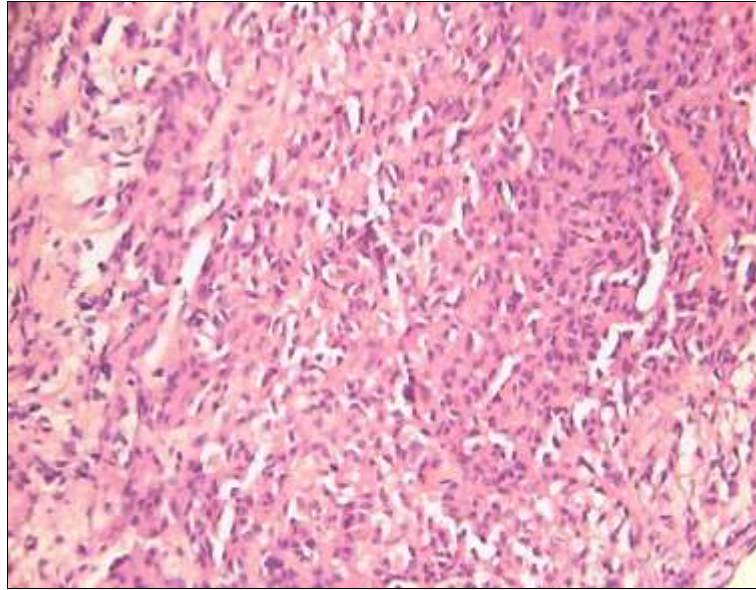


Рис. 3.1. Морфологічний стан епіфіза мозку старого щура за умов звичайного світлового проміжку. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

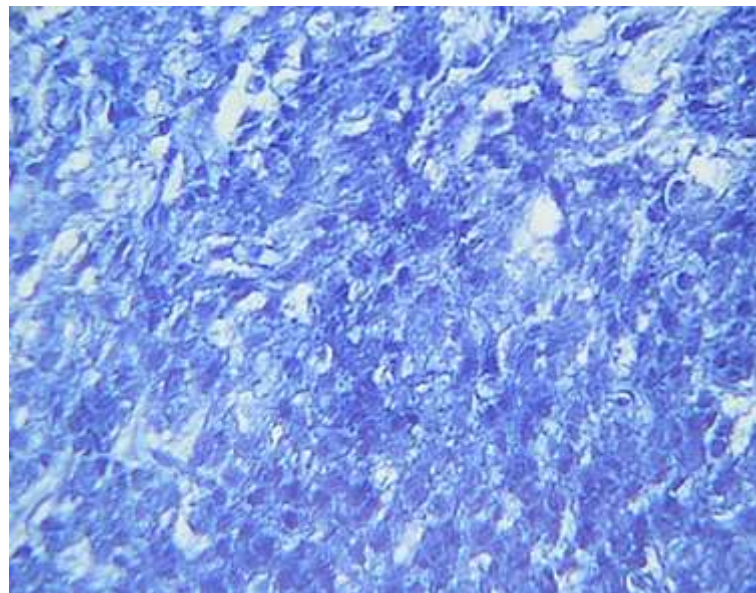


Рис.3.2. Світлова мікроскопія епіфіза старого щура при утриманні його за умов звичайного світлового проміжку. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

У каріоплазмі є невеликі грудочки гетерохроматину. Каріолема рівна і має відносно рівномірний перинуклеарний простір, чіткі ядерні пори. У цитоплазмі наявні різної величини, округлі осміофільні гранули серотоніну (рис. 3.3). Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулуму розширені, утворюють вакуолеподібні структури, великі мітохондрії мають осміофільний матрикс, наявні кристи.

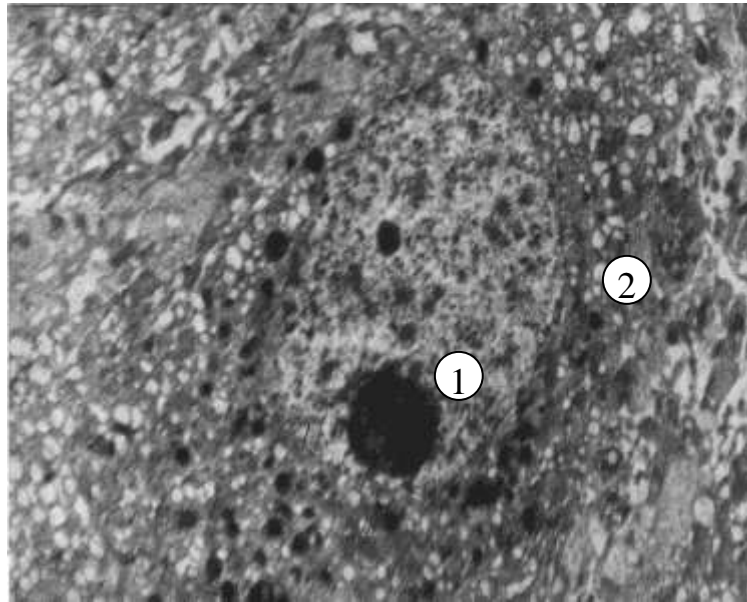


Рис. 3.3. Ультраструктура пінеалоцита при звичайному освітленні. Овальне ядро (1) з ядерцем. Гранули серотоніну (2).x 10 000.

При гістологічному дослідженні особливостей будови паренхіми і строми кіркової, мозкової речовини чи сосочка нирок не виявлено (рис. 3.4). Відсоток клітин з ознаками альтерації (дистрофія, некроз, апоптоз) становив  $0,5 \pm 0,02\%$ , що відповідає параметрам інтактних тварин обраного вікового періоду.

Згідно з комп'ютерною мікроспектрометрією при використанні гістохімічної методики з бромфеноловим синім за Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки встановлено, що коефіцієнт Р в епітелії проксимальних каналців становить  $0,882 \pm 0,009$  (рис. 3.5).

Електронномікроскопічно також особливих змін не відмічено. Фільтраційний бар'єр утворений цитоплазматичною зоною ендотеліоцитів, які лежать на тришаровій базальній мембрані (рис. 3.6).



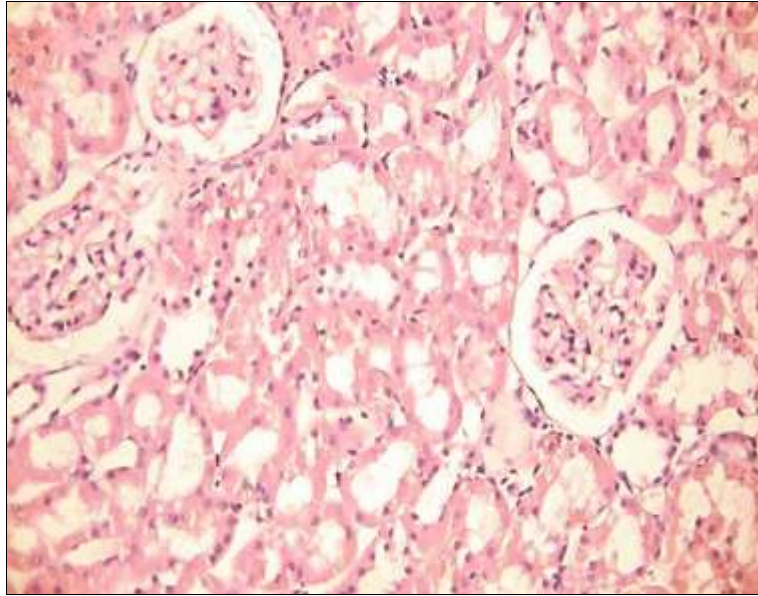


Рис. 3.4. Гістологічна картина кіркової речовини нирки старого щура за умов звичайного світлового проміжку. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

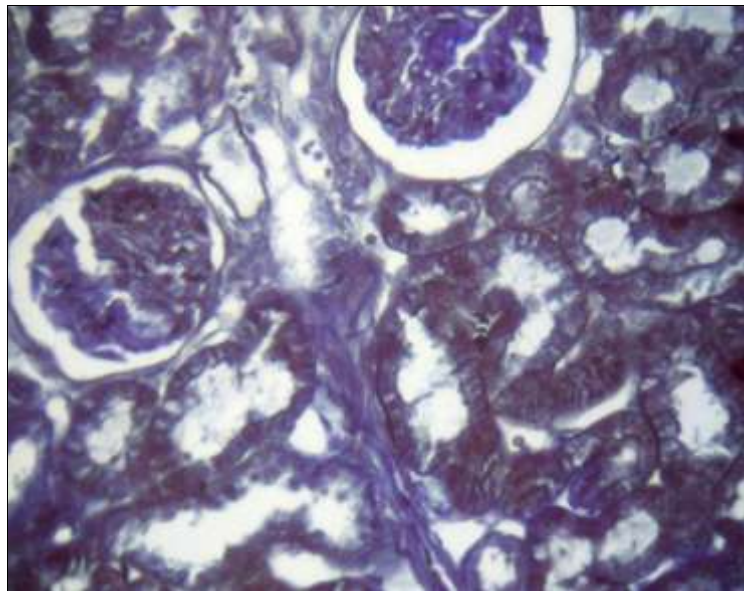


Рис. 3.5.Світлова мікроскопія кіркової речовини нирки старого щура .  
Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі»  
та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.



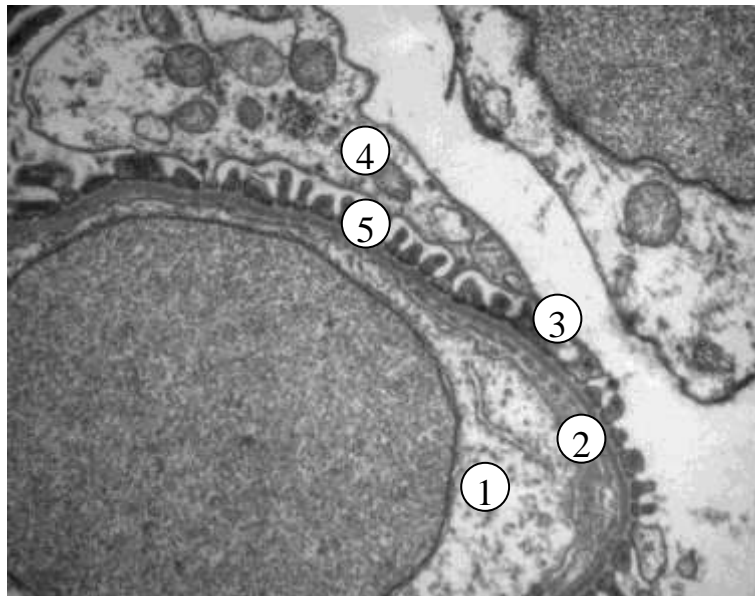


Рис. 3.6. Ультраструктура фільтраційного бар'єра нирки інтактного щура. Гемокапіляр (1) вистелений цитоплазматичною зоною ендотеліоцита (2), тришарова базальна мембрана (3), цитотрабекули (4) з цитопедикулами (5) подоцита. x 30 000.

Її електроннощільний шар містить дрібні фенестри, один світлий шар контактує з ендотеліоцитами сітки гемокапілярів, інший – є основою для подоцитів внутрішнього шару капсули Боумена-Шумлянського. Довгі вирости подоцитів – цитоподії утворюють дрібні ніжки цитотрабекул, між якими розміщені діафрагми. Для тварин старечого віку характерне часткове потовщення ендотеліоцитів і помірно розширені діафрагми між цитоподіями

Канальці нефрона утворені проксимальним відділом, петлею Генле та дистальним відділом. Епітеліоцити, які вистеляють проксимальні канальці, кубічної або призматичної форми (рис. 3.7). Еухроматинове ядро оточене каріолемою з неглибокими інвагінаціями і рівномірним перинуклеарним простором, містить електроннощільне ядрце. Апікальна поверхня епітеліоцитів має численні мікрворсинки, а базальна – складки плазмолемі. Цитоплазма заповнена багатьма мітохондріями з густою сіткою крист, містить лізосоми, рибосоми, комплекс Гольджі та нечисленні канальці ендоплазматичного ретикулуму. Дистальний відділ вистелений епітеліоцитами кубічної форми з базальною посмугованістю, яка утворена глибокими складками плазмолемі. В ядрі переважає еухроматин, розташовані 1-2 ядрця.

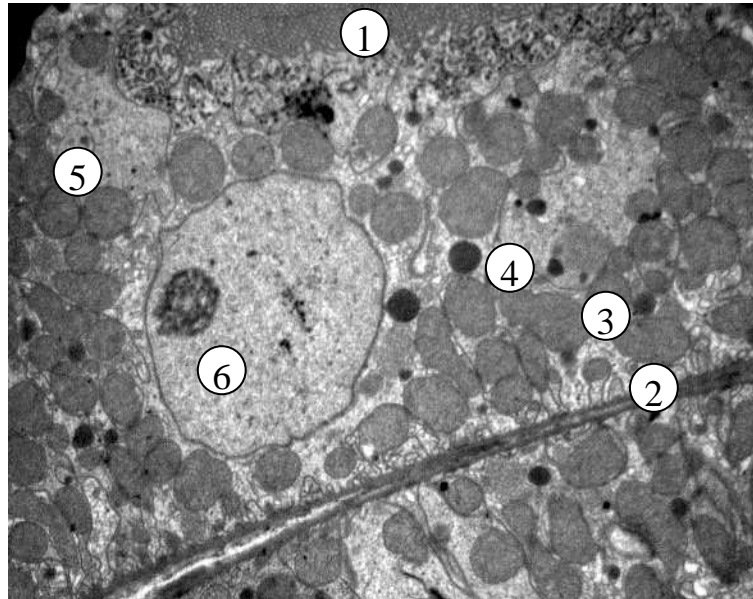


Рис. 3.7. Субмікроскопічна організація епітеліюцита проксимального каналця нефрона інтактного щура. Мікроборсинки (1) на апікальній поверхні, складки базальної плазмолеми (2), мітохондрії (3), лізосоми (4), вакуолі (5), ядро з ядерцем (6). x 15 000

У цитоплазмі наявні мітохондрії, рибосоми, цистерни комплексу Гольджі, вакуолі. Апікальна частина цитоплазми світліша, має менше органел.

При вивченні основних функцій нирок старих щурів впродовж доби за даних умов експерименту встановлені наступні закономірності. У тварин, які перебували за стандартного режиму освітлення максимум виділення сечі припадав на 24.00 год, батифазу спостерігали о 20.00 та 04.00 год (рис. 3.8). Хроноритм діурезу набував синусоїдального характеру, мезор становив  $1,82 \pm 0,11$  мкл/хв/100г з амплітудою  $16,6 \pm 3,98\%$  щодо середньодобового рівня.

Хронограма екскреції іонів  $K^+$  впродовж періоду спостереження однофазна. Акрофазу ритму екскреції катіона реєстрували опівночі, а мінімальні показники – о 12.00 год (рис. 3.9). При цьому середньодобовий рівень складав  $35,14 \pm 3,56$  мкмоль/л, амплітуда ритму –  $26,9 \pm 0,3\%$ .

Привертали увагу зміни швидкості гломерулярної фільтрації впродовж доби. Мезор перебував у межах  $60,06 \pm 3,34$  мкл/хв/100г, амплітуда ритму становила  $14,2 \pm 3,61\%$  від середньодобового рівня. Пік ультрафільтрації відзначали близько 24.00 год (рис. 3.10).

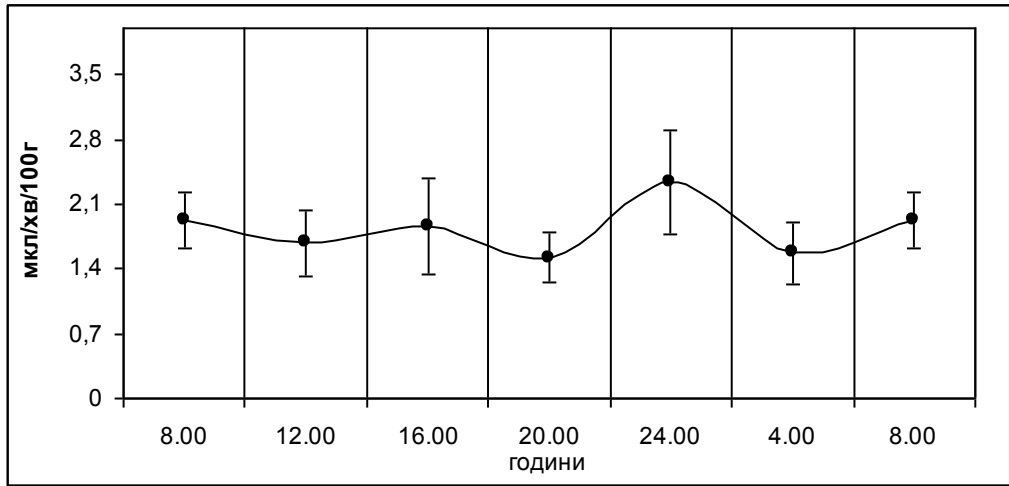


Рис. 3.8. Хроноритм діурезу в старих щурів, мкл/хв/100г

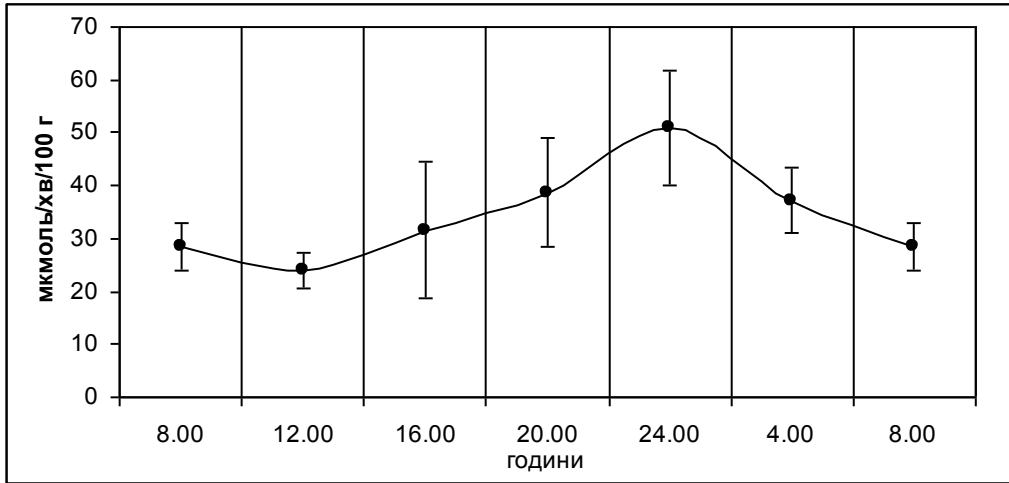


Рис.3.9. Хроноритм екскреції іонів  $K^+$ , мкмоль/хв/100г

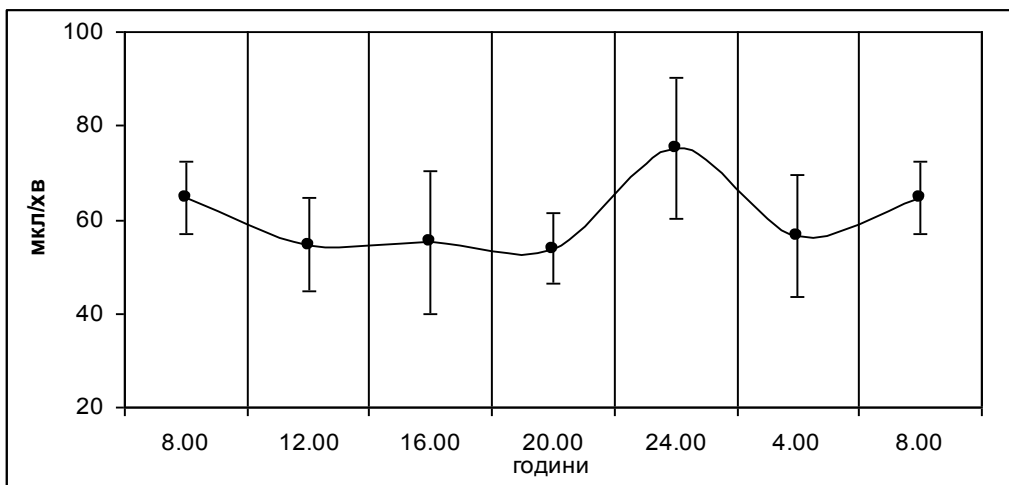


Рис.3.10. Хроноритм клубочкової фільтрації, мкл/хв

Такі коливання швидкості клубочкової фільтрації віддзеркалилися зростанням концентрації креатиніну в плазмі крові в нічний період та зниженням – у денний. Середньодобовий рівень становив  $75,22 \pm 0,22$  мкмоль/л, амплітуда  $0,7 \pm 0,24\%$ . Подібних змін зазнавав ритм концентраційного індексу ендогенного креатиніну в досліджувані інтервали (табл. 3.1).

Хроноритм відносної реабсорбції води характеризувався однофазністю. Найбільше значення показника було о 20.00 год, коли реєстрували мінімум діурезу. Батифаза ритму припадала на 16.00 год (табл. 3.1).

Добовий ритм екскреції білка набував синусоїдального характеру з максимальним значенням о 12.00 і 24.00 год та мініфазою о 16.00 год. Мезор склав  $0,71 \pm 0,05$  мг/хв, амплітуда не перевищувала  $20,3 \pm 3,11\%$  (табл. 3.4).

При перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату середньодобовий рівень становив  $1,17 \pm 0,05$  мг/100мкл з амплітудою близько  $12,8 \pm 4,12\%$ .

Впродовж періоду спостережень ритм екскреції іонів натрію однофазний. Його акрофаза припадала на 24.00 год з подальшим зниженням показника. Середньодобовий рівень становив  $0,37 \pm 0,04$  мкмоль/хв, при цьому амплітуда ритму не перевищувала  $18,3 \pm 4,9\%$ .

У перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату рівень екскреції досліджуваного катіона протягом доби складав  $0,63 \pm 0,04$  мг/100 мкл з амплітудою  $15,7 \pm 4,1\%$ .

Подібною характеристикою відзначався і ритм концентрації іонів  $\text{Na}^+$  в сечі. Акрофазу ритму реєстрували опівночі, а батифазу – близько 16.00 год. Мезор становив  $2,14 \pm 0,16$  ммоль/л з амплітудою  $18,3 \pm 4,9\%$  (табл. 3.2).

У старих щурів кислоторегулювальна функція нирок також відзначалася білядобовою періодичністю. Виявлено обернено пропорційну залежність архітектоніки ритмів екскреції іонів водню та рН сечі: із зменшенням екскреції катіона кислотність сечі збільшувалась. Динаміка екскреції кислот, що титруються набувала двофазного характеру з акрофазою о 20.00 та 24.00 год, батифазою о 08.00 та 16.00 год і середньодобовим рівнем  $21,65 \pm 1,38$  мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату (табл. 3.4). Коливання рівня титрованих кислот у нічний інтервал спостереження узгоджувалися зі змінами рН сечі (табл. 3.3).

Таблиця 3.1

Хроноритми екскреторної функції нирок старих тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник	Година					
	08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Діурез, мкл/хв/100г	1,93±0,298	1,68±0,353	1,86±0,213	1,52±0,276	2,34±0,567	1,57±0,332
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	5,05±0,253	5,09±0,265	5,09±0,308	5,07±0,254	5,05±0,253	5,06±0,251
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	146,11±14,938 p<0,05	158,75±21,250	153,75±25,875	247,77±40,987	247,22±43,148	253,88±44,938
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	28,42±4,567	23,98±3,516	31,62±9,007	38,73±10,133	50,83±10,830	37,23±6,109
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	75,55±2,851	74,62±2,859	74,50±2,812	75,55±2,851	75,56±2,852	75,53±2,850
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	64,76±7,818	54,60±9,886	55,15±10,125	53,82±7,615	75,41±15,026	56,61±13,016
Відносна реабсорбція води, %	98,76±0,068	98,69±0,099	98,63±0,098	98,83±0,055	98,75±0,084	98,78±0,075
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну	0,008±0,0004	0,007±0,0006	0,007±0,0006	0,008±0,0004	0,008±0,0006	0,008±0,0005
Концентрація білка в сечі, г/л	0,33±0,026	0,32±0,046	0,42±0,021 p<0,05	0,43±0,0246	0,43±0,031	0,40±0,030
Екскреція білка, мг/хв/100г	0,64±0,100	0,76±0,150	0,56±0,040	0,67±0,145	0,97±0,226	0,64±0,138
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	0,99±0,101	1,00±0,140	1,37±0,112	1,20±0,085	1,27±0,097	1,18±0,130

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

Таблиця 3.2

Хроноритми ниркового транспорту іонів натрію в старих тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник	Година					
	08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,83±0,185 p<0,05	1,87±0,140	1,75±0,125	2,33±0,222 p<0,05	2,77±0,265	2,27±0,154
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	0,33±0,033	0,29±0,043	0,31±0,086	0,35±0,065	0,61±0,117	0,34±0,055 p<0,05
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,53±0,042	0,57±0,043	0,56±0,040	0,66±0,086	0,80±0,057	0,66±0,070
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	132,50±5,833	132,81±6,406	133,75±5,937	132,50±5,833	132,51±5,836	132,52±5,831

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

Таблиця 3.3

Хроноритми кислоторегулювальної функції нирок у старих тварин ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )

Показник	Година					
	8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
pH сечі	5,43±0,093	5,56±0,073	5,63±0,082	5,67±0,148	6,18±0,448	5,57±0,084
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	1,42±0,225	1,25±0,268	1,41±0,394	1,15±0,222	1,89±0,503	1,18±0,256
Екскреція іонів водню, нмоль/ 100 мкл клубочкового фільтрату	2,17±0,131	2,33±0,184	2,47±0,186	2,09±0,114	2,34±0,220	2,18±0,138
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	27,22±2,808	18,54±3,071 p<0,05	17,05±5,030	21,11±3,945	24,35±3,563	21,64±3,855
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	29,40±2,365 p<0,05	35,12±4,412	29,41±3,182	41,51±7,175	36,44±5,295	42,41±5,842
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	18,74±1,953	10,39±1,772 p<0,02	10,54±2,137	9,44±1,276	13,08±1,846	13,60±2,914
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	29,40±2,365	20,09±1,814 p<0,05	22,09±2,139	17,60±1,744	21,00±4,072	27,01±4,784
Амонійний коефіцієнт	0,69±0,051	0,61±0,067	0,84±0,178	0,48±0,073	0,59±0,091	0,61±0,041

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

Таблиця 3.4

**Мезор і амплітуда хроноритмів показників досліджуваних функцій  
нирок у старих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні тварини	
	Мезор	Амплітуда (%)
Діурез, мкл/хв/100г	1,82±0,11	16,6±3,98
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	5,07±0,01	0,4±0,12
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	21,25±4,19	26,4±8,33
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	3,51±0,35	26,9±0,3
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	75,22±0,22	0,7±0,24
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	60,06±3,34	14,2±3,61
Відносна реабсорбція води, %	98,74±0,03	0,1±0,02
Концентраційний індекс ендogenousного креатиніну	0,01±0,002	5,2±2,42
Концентрація білка в сечі, г/л	0,38±0,02	12,9±4,53
Екскреція білка, мг/хв/100г	0,71±0,05	20,3±3,11
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	1,17±0,06	12,8±4,12
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	2,14±0,16	18,3±4,9
Екскреція іонів натрію, кмоль/хв/100г	0,37±0,04	3,21±2,58
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,63±0,04	15,7±4,1
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	132,77±0,17	0,4±0,11
рН сечі	5,67±0,08	4,6±1,24
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	1,38±0,10	19,8±3,41
Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	2,26±0,06	6,2±2,15
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	21,65±1,38	17,2±4,5
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	35,72±2,2	15,8±5,14
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	12,63±1,25	27,0±4,34
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	22,87±1,78	19,5±4,9
Аммонійний коефіцієнт	0,64±0,04	18,8±3,39



Аналізуючи хронограму ритму екскреції аміаку слід відмітити зниження величини показника у денні години, а починаючи з 20.00 год – зростання досліджуваного параметра з максимумом о 8.00 год (табл. 3.3). Середньодобовий рівень перебував у межах  $12,63 \pm 1,25$  мкмоль/хв з амплітудою  $27,0 \pm 4,34\%$  від мезору (табл. 3.4).

При визначенні амонійного коефіцієнта, виявлено акрофазу його ритму о 16.00 год. Мезор показника становив  $0,64 \pm 0,04$ , амплітуда не перевищувала  $18,8 \pm 3,39\%$  (табл. 3.4).

Отже, ренальні функції інтактних тварин характеризуються білядобовою періодичністю у межах вікових змін. Свідченням цього є прямопропорційна залежність між швидкістю фільтрації в клубочковому апараті нирок та діурезом, а також зворотня – між рівнем ультрафільтрації і концентрації креатиніну у плазмі крові.

Параметри кислоторегулювальної функції нирок вказують на зміщення активації процесів ацидогенезу з нічних на ранкові години порівняно із статевозрілими тваринами.

У подальшому визначали рівень мелатоніну і процеси вільнорадикального окиснення ліпідів та біополімерів у крові. За умов звичайного світлового періоду рівень мелатоніну у плазмі крові, перебував у межах  $21,0 \pm 1,8$  пг/мл. Стан оксидантної системи плазми старих щурів характеризували за вмістом малонового альдегіду (МА) та ОМБ, одних із кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Установлено, що за звичайного фотоперіоду рівень МА становив  $18,0 \pm 0,84$  мкмоль/мл, а ОМБ –  $0,68 \pm 0,04$  мкмоль/г білка. Основними показниками АОС, які ми вивчали для з'ясування реактивної здатності вільнорадикальних процесів обрано ЦП, (рівень якого за даних умов експерименту становив  $298 \pm 4,21$  мг/л), каталазу (із отриманням середніх значень  $12,6 \pm 0,85$  мкмоль/хв•л) та HS-груп з отриманням показника  $0,75 \pm 0,01$  мкмоль/мл. Наведені дані узгоджуються у цілому з літературними джерелами.

Зазначений стан крові щодо процесів ВРОЛБ супроводжувався певними змінами параметрів білків цитоплазми пінеалоцитів (рис. 3.2) та епітелію проксимальних каналців нирки (рис. 3.5).

Таким чином, за стандартного режиму освітлення у старих щурів спостерігається більша кількість світлих пінеалоцитів, ніж темних. У світлих пінеалоцитах та в епітелії проксимальних каналців нирок переважають кислі білки, на відміну від темних пінеалоцитів, де основних білків більше. Ультрамікроскопічні дослідження нирок та епіфіза мозку вказують на їхній фізіологічний стан. Біохімічне вивчення процесів пероксидації характеризує активні процеси ВРОЛБ у старих щурів.

### 3.2. Морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку на фоні ІС

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку стресованих тварин виявлені зміни у співвідношенні між світлими та темними пінеалоцитами порівняно з інтактною групою, яке становило  $1,12 \pm 0,024$  (світлих пінеалоцитів –  $53 \pm 1,6\%$ , що зменшилося на 11% щодо показників інтактних тварин, а темних навпаки зросло на 11%, що складало  $47 \pm 1,5\%$ ). Розбіжність із інтактними тваринами складала  $p < 0,001$  (рис. 3.11).

При комп'ютерній мікроспектрометрії з використанням гістохімічної методики з бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво коефіцієнт Р, порівняно із 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 –  $1,240 \pm 0,016$ ,  $p = 0,029$  (в інтактних –  $1,189 \pm 0,012$ ).

При ультрамікроскопічному дослідженні шишкоподібної залози за умов іммобілізаційного стресу показано, що в ядрах більшості пінеалоцитів зростають величини інвагінації, проте їх площа зменшена. У каріоплазмі наявні гранули гетерохроматину. Цитоплазма клітин компактна, щільно розташовані органели. Осміофільні гранули серотоніну поодинокі, невеликі. Канальці гранулярного ЕПР вузькі, як і цистерни комплексу Гольджі. Видовженої форми мітохондрії, мають електроннощільний матрикс, тому кристи погано виявляються (рис. 3.12). Такий субмікроскопічний стан свідчить про гіпофункцію пінеалоцитів.

Коефіцієнт Р в епітелії проксимальних каналців зріс до  $1,271 \pm 0,019$  (в інтактних –  $0,882 \pm 0,009$ ),  $p < 0,001$  (рис. 3.14).

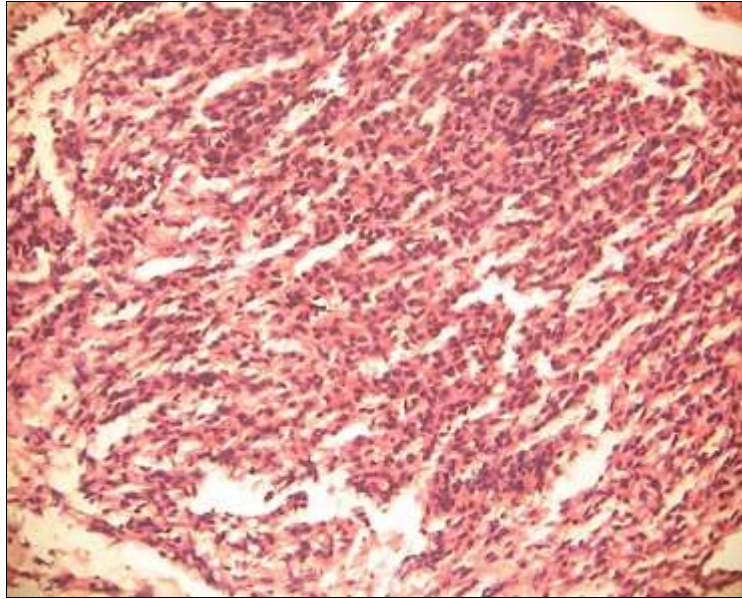


Рис. 3.11. Морфологічний стан епіфіза мозку старого щура при стресі.  
Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

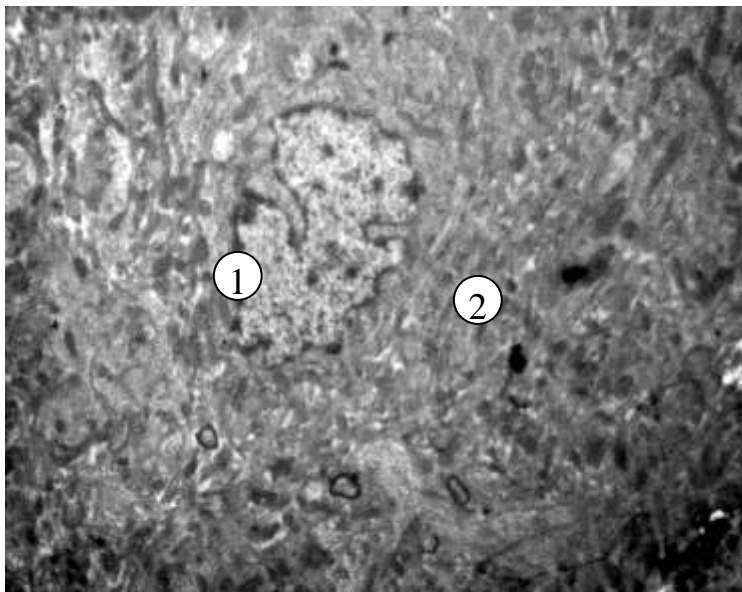


Рис. 3.12. Субмікроскопічний стан епіфіза мозку за умов іммобілізаційного стресу. Ядро з інвагінаціями (1), осміофільні гарнули серотоніну (2). x 7 000

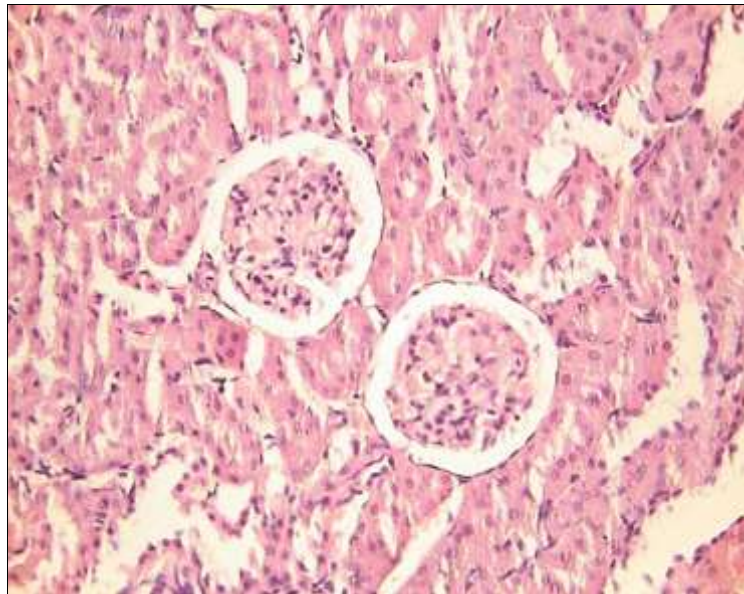


Рис. 3.13. Морфологічна організація кіркової речовини нирки старого щура при стресі. Гематоксилін і еозин. Об.20х, ок.10х.

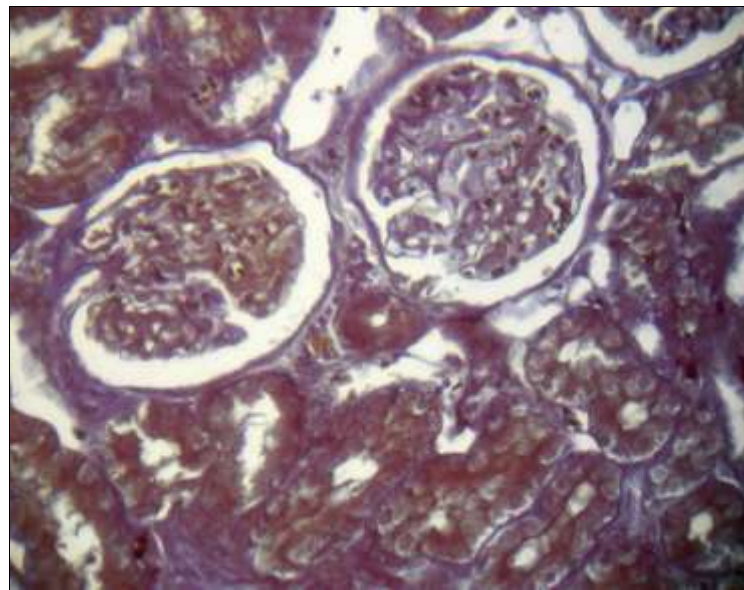


Рис. 3.14. Гістологічна структура кіркової речовини нирки старого щура при стресі. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40х, ок.10х.

При гістологічному дослідженні нирок у кірковій речовині відмічена зерниста дистрофія в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $85,0 \pm 1,4\%$  клітин, перевищуючи показник на 80 % щодо такого в інтактних щурів. Спостерігали розширення простору між зовнішнім та внутрішнім листками капсули клубочка. Мала місце загальна ішемізація кіркової речовини, особливо – капілярних петель клубочків (рис. 3.13). У мозковій речовині – повнокрів'я переважно в судинах мозкових променів. У сосочку нирки виявлено набухання більшості епітеліальних клітин.

Електронномікроскопічно ІС проявляється реактивними змінами ультраструктури компонентів фільтраційного бар'єру в складі ниркових тілець. Ущільнюється цитоплазма подоцитів, просвітлюється матрикс мітохондрій, пікнотично змінюється ядро, цитопедикული видовжуються і потовщуються, тому діафрагми зменшуються (рис. 3.15).

Епітеліоцити проксимального відділу нефрона під впливом ІС також зазнають субмікроскопічних змін. Розширюються і стають коротшими складки базальної плазмолемі. Канальці ЕПР і цистерни комплексу Гольджі розширені, наявна гіпертрофія мітохондрій, (рис. 3.16). Збільшуються ділянки гетерохроматину в ядрі, з'являються інвагінації каріолеми.

Утримування тварин за умов ІС призвело до істотних змін циркадіанної організації екскреторної функції нирок (табл. 3.5). Мезор діурезу нижчий від контролю на 12,1 %. Мінімальні показники сечовиділення реєстрували у проміжку з 16.00 до 20.00 год, коли рівень показника знижувався приблизно на 38% від контрольних величин. Характерно, що стресування щурів підвищувало амплітуду ритму із зміщенням акрофази на 20.00 год (рис. 3.17).

Такі зміни середньодобового рівня діурезу спричинені порушенням швидкості гломерулярної фільтрації. За дії стресового чинника швидкість ультрафільтрації знижувалася о 12.00, 16.00 та 24.00 год, (рис. 3.18) при цьому амплітуда перевищувала таку в інтактних щурів майже вдвічі (табл. 3.5, 3.6).

Поряд із зростанням ШКФ збільшувався рівень відносної реабсорбції води, що свідчить про збереження механізмів клубочково-канальцевого балансу.



Рис. 3.15. Ультраструктура фільтраційного бар'єра нирки щура за умов іммобілізаційного стресу. Змінений подоцит (1) з видовженими і потовщеними цитопедикулами (2). Стовщена ділянка базальної мембрани (3). Ендотеліоцит (4). x 10 000

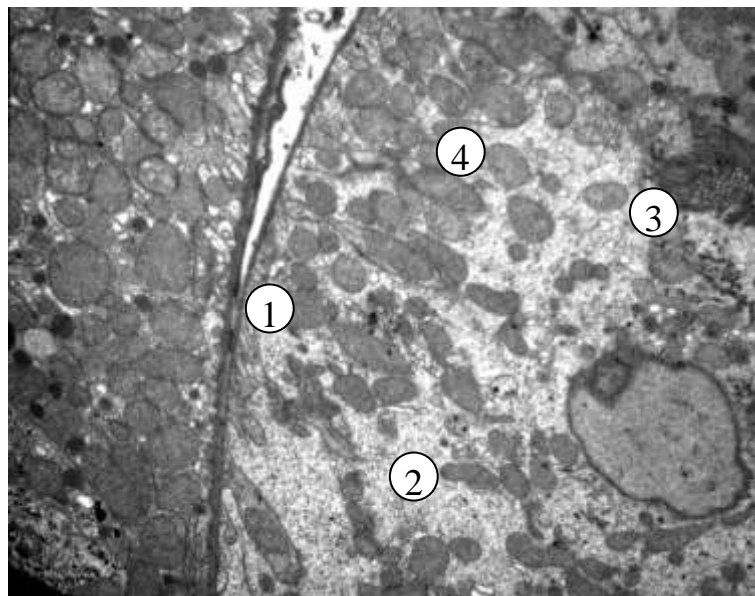


Рис. 3.16. Ультраструктура епітеліоцита проксимального відділу нефрона нирки щура за умов іммобілізаційного стресу. Короткі складки базальної плазмолемми (1), розширені каналці ендоплазматичного ретикулуму (2) і цистерни комплексу Гольджі (3), гіперплазія мітохондрій (4). x 15 000

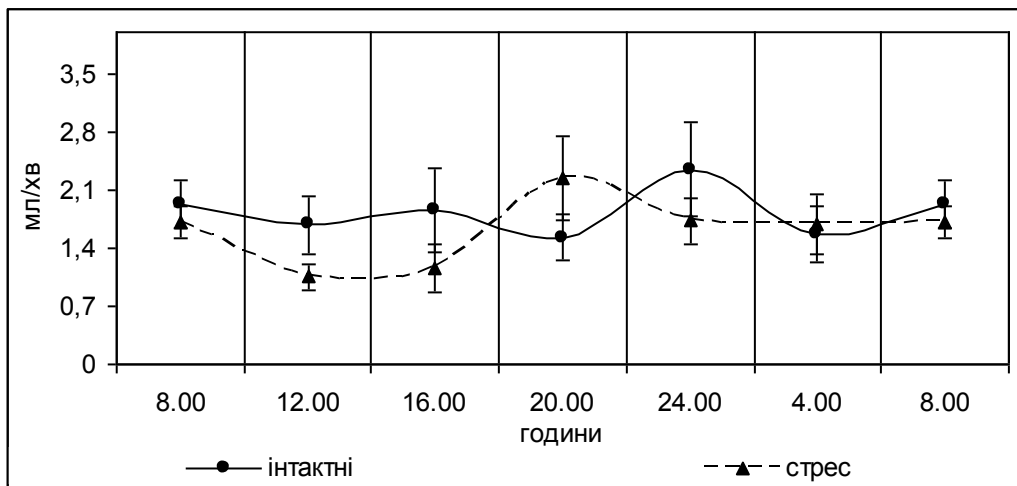


Рис. 3.17. Хроноритми діурезу в щурів за умов іммобілізаційного стресу.

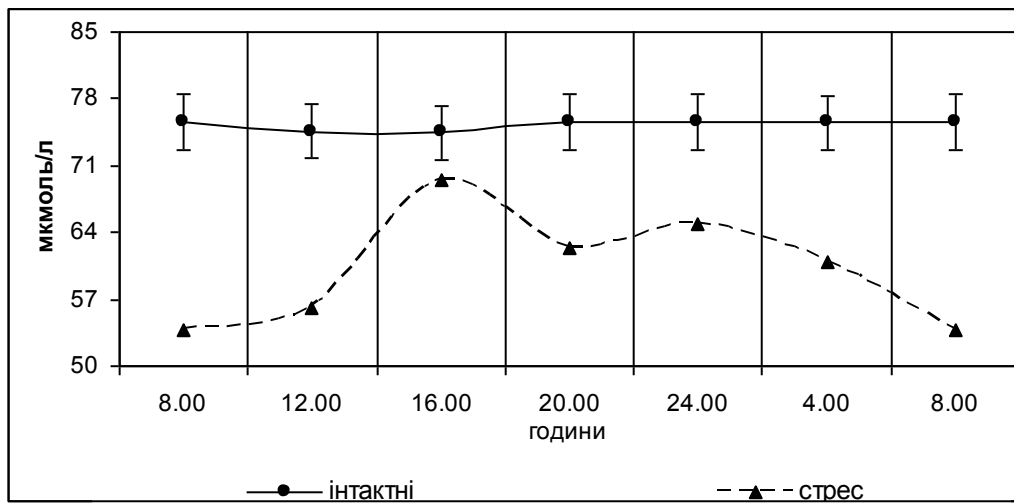


Рис. 3.18. Хроноритми швидкості клубочкової фільтрації в щурів за умов іммобілізаційного стресу .



Таблиця 3.5

Хроноритми екскреторної функції нирок стресованих старих тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Діурез, мкл/хв/100г	I	1,93±0,298	1,68±0,353	1,86±0,313	1,52±0,276	2,34±0,567	1,57±0,332
	II	1,71±0,201	1,05±0,151	1,16±0,287	2,24±0,512	1,73±0,278	1,69±0,367
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	I	5,05±0,253	5,09±0,265	5,09±0,308	5,07±0,254	5,05±0,253	5,06±0,251
	II	4,45±0,361	4,43±0,156 p<0,05	5,37±0,333	5,37±0,187	5,12±0,250	4,91±0,375
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	I	146,11±14,938	158,75±21,250	153,75±46,875	247,77±40,987	247,22±43,148	253,88±44,938
	II	26,33±2,166 p<0,001	15,62±2,187 p<0,001	21,66±1,722 p<0,001	25,25±1,541 p<0,001	27,00±2,833 p<0,001	22,66±1,916 p<0,001
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	I	28,42±4,567	23,98±3,516	31,62±13,007	38,73±10,133	50,83±10,830	37,23±6,109
	II	4,56±0,685 p<0,001	1,60±0,284 p<0,001	2,52±0,446 p<0,001	5,68±1,266 p<0,001	4,40±0,582 p<0,001	4,03±1,194 p<0,001
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	I	75,55±2,851	74,62±2,859	74,50±2,812	75,55±2,851	75,56±2,852	75,53±2,850
	II	53,83±1,416 p<0,001	56,00±2,001 p<0,001	69,50±3,166 p<0,001	62,33±2,502 p<0,001	64,83±2,611 p<0,001	61,00±2,833 p<0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	I	64,76±7,818	54,60±9,886	55,15±10,125	53,82±7,615	75,41±15,026	56,61±9,016
	II	80,00±6,351	51,84±8,553	43,60±10,987	92,09±25,731	69,40±13,086	81,51±23,747



Продовження таблиці 3.5

Відносна реабсорбція води, %	I	98,76±0,068	98,69±0,099	98,63±0,098	98,83±0,055	98,75±0,084	98,78±0,075
	II	99,11±0,051 p<0,001	99,13±0,026 p<0,001	98,85±0,071 p<0,01	98,87±0,079	98,90±0,101	99,05±0,052 p<0,01
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну	I	0,008±0,0004	0,007±0,0006	0,007±0,0006	0,008±0,0004	0,008±0,0006	0,008±0,0005
	II	0,011±0,0006 p<0,01	0,012±0,0004 p<0,001	0,009±0,0006 p<0,05	0,009±0,0007 p<0,001	0,010±0,0009	0,011±0,0007 p<0,001
Концентрація білка в сечі, г/л	I	0,33±0,026	0,32±0,046	0,42±0,021	0,43±0,0246	0,43±0,031	0,40±0,030
	II	0,50±0,031 p<0,01	0,69±0,039 p<0,01	0,54±0,031 p<0,01	0,88±0,099 p<0,001	0,68±0,068 p<0,01	0,62±0,035 p=0,004
Екскреція білка, мг/хв/100г	I	0,64±0,100	0,76±0,217	0,56±0,040	0,67±0,145	0,97±0,226	0,64±0,138
	II	0,88±0,049	0,75±0,037	0,65±0,088	2,00±0,245 p<0,05	1,16±0,258	1,07±0,149
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	I	0,99±0,101	1,00±0,120	1,37±0,112	1,20±0,085	1,27±0,097	1,18±0,130
	II	1,073±0,120	1,42±0,071 p<0,01	1,48±0,117	2,38±0,310 p<0,01	1,87±0,341	1,42±0,113

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з інтактними тваринами.

Таблиця 3.6

**Вплив іммобілізаційного стресу на мезор і амплітуду ритмів  
екскреторної функції нирок у старих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники	Інтактні (n=6)		Іммобілізаційний стрес (n=6)	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Діурез, мкл/хв/100г	1,82±0,11	16,6±3,98	1,6±0,16	27,1±6,67
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	5,07±0,01	0,4±0,12	4,94±0,17	8,6±2,91 p<0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	201,25±24,19	26,4±8,33	23,09±1,55 p<0,001	18,2±5,62
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	35,4±3,56	26,9±5,03	3,800±0,05 p<0,001	19,5±6,11
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	75,22±0,22	0,7±0,24	61,25±2,15 p<0,001	9,4±2,93 p<0,02
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	60,06±3,34	14,2±3,61	69,74±7,4	26,8±7,66
Відносна реабсорбція води, %	98,74±0,03	0,1±0,02	98,99±0,06 p<0,01	0,1±0,05
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну	0,01±0,002	5,2±2,42	0,01±0,001	12,1±4,03
Концентрація білка в сечі, г/л	0,38±0,02	12,9±4,53	0,65±0,05 p<0,001	20,7±4,22
Екскреція білка, мг/хв/100г	0,71±0,05	20,3±3,11	1,09±0,17 p<0,05	44,7±7,08 p<0,01

**Примітки:**

p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.

Стресування тварин викликало суттєве зниження екскреції іонів калію. Зокрема, о 04.00 год цей показник знижувався у 4 рази, о 20.00 год – втричі, (табл. 3.5). Подібно змінювалася концентрація іонів калію в сечі (рис. 3.19), мезор ритму якої підвищувався на 8 %. Амплітуди ритмів, подібно до попередніх випадків, також зростали.

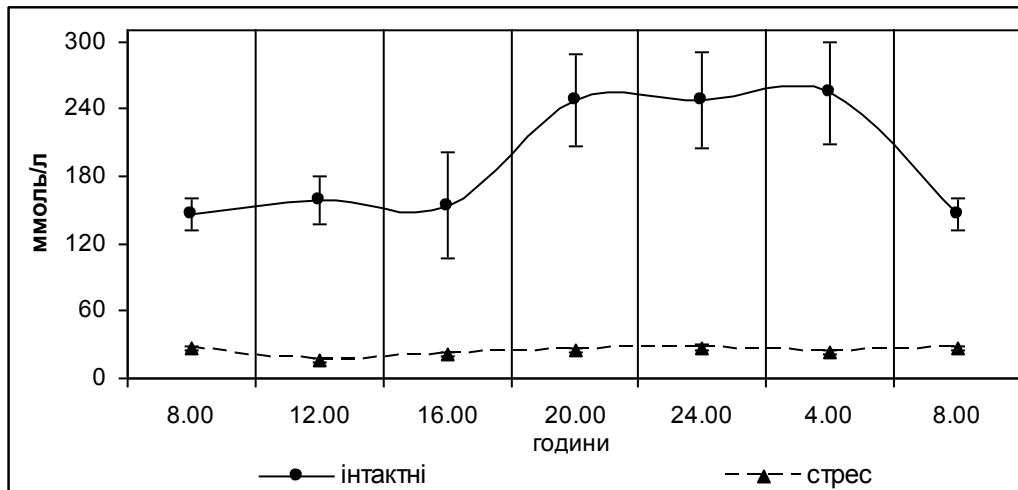


Рис. 3.19. Хроноритми концентрації іонів калію в сечі щурів за умов іммобілізаційного стресу.

Знерухомлення тварин впродовж 1 години призводило до вірогідного зростання концентрації білка в сечі практично у всі періоди спостереження. Ритм набував інверсного характеру відносно контрольних хронограм. При перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату середньодобовий рівень екскреції білка перевищував контрольні величини на 37 % і становив  $1,09 \pm 0,17$  мг/100 мкл клубочкового фільтрату з амплітудою 44,7 % (табл. 3.6).

Динаміка часових змін ниркового транспорту іонів натрію віддзеркалилася істотним зростанням натрійурезу. Циркадіанний ритм екскреції іонів натрію мав інверсний характер щодо контрольних хронограм, а його мезор у п'ять разів перевищував контрольні величини. Акрофазу ритму відмічали о 20.00 год (рис. 3.20).

Це призвело до високих значень концентрації досліджуваного катіона у сечі (табл. 3.6). Середньодобовий рівень цього показника значно вищий порівняно з контрольним. Батифаза ритму зміщувалася з 16.00 на 04.00 год, максимальні показники реєстрували о 12.00 та 20.00 год (табл. 3.6).

Така картина спостерігалася на фоні підвищеної амплітуди білядобових коливань щодо величин інтактних тварин (табл. 3.8). Архітектоніка ритму інверсна до контрольних хронограм, окрім 16.00 год (рис. 3.20).

Таблиця 3.7

Хроноритми ниркового транспорту іонів натрію старих стресованих тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	I	1,83±0,185	1,87±0,140	1,75±0,125	2,33±0,222	2,77±0,265	2,27±0,154
	II	12,33±2,138 p<0,001	16,87±1,437 p<0,001	14,66±1,083 p<0,001	16,08±0,972 p<0,001	10,41±1,028 p<0,001	6,33±0,805 p<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	I	0,33±0,033	0,29±0,043	0,31±0,086	0,35±0,065	0,61±0,117	0,34±0,055
	II	2,07±0,360 p<0,001	1,76±0,236 p<0,001	1,64±0,409 p<0,001	3,73±0,846 p<0,001	1,72±0,196 p<0,001	1,08±0,310 p<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	I	0,53±0,042	0,57±0,043	0,56±0,040	0,66±0,086	0,80±0,057	0,66±0,070
	II	2,60±0,427 p<0,001	3,50±0,307 p<0,001	3,94±0,210 p<0,001	4,29±0,248 p<0,001	2,74±0,338 p<0,001	1,45±0,216 p<0,01
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	I	132,50±5,833	132,81±6,406	133,75±5,937	132,50±5,833	132,51±5,836	132,52±5,831
	II	124,58±4,791	121,25±1,562	127,91±8,125	131,66±7,083	125,83±6,667	114,16±8,194
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	I	0,64±0,08	0,51±0,023	0,55±0,03	0,49±0,01	0,60±0,041	0,52±0,047
	II	0,49±0,109	1,18±0,178 p<0,01	0,68±0,030 p<0,02	0,65±0,046 p<0,01	0,39±0,038 p<0,01	0,30±0,058 p<0,02

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з інтактними тваринами; I – 12.00С:12.00Т, II – 12.00С:12.00Т+ стрес.

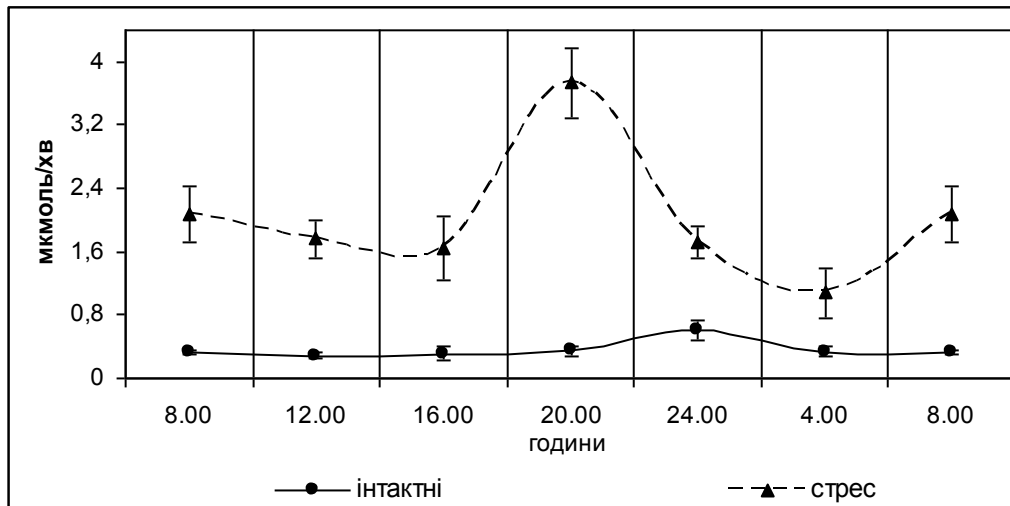


Рис. 3.20. Хроноритми екскреції іонів натрію в щурів за умов іммобілізаційного стресу на тлі фізіологічної функції ШЗ.

Таблиця 3.8

**Вплив іммобілізаційного стресу на мезор і амплітуду ритмів ниркового транспорту іонів натрію у білих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники	Інтактні (n=42)		Іммобілізаційний стрес (n=42)	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	2,14±0,16	18,3±4,9	12,78±1,55 p<0,001	31,0±7,93
Екскреція іонів натрію, кмоль/хв/100г	0,37±0,04	3,21±2,58	2,0±0,3 p<0,001	45,3±6,69 p<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,63±0,04	15,7±4,1	3,09±0,41 p<0,001	33,6±7,42
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	132,77±0,17	0,4±0,11	124,23±2,18 p<0,01	4,9±1,46 p<0,02

Примітки:

p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.

Зміни механізмів реабсорбції іонів натрію викликали порушення кислотовидільної функції нирок (табл. 3.9, 3.10). Зниження екскреції іонів водню за умов підвищеної екскреції іонів натрію вказувало на гальмування роботи натрій-водневого антипорту. Це віддзеркалилося підвищенням у всі періоди доби рівня рН сечі (рис. 3.21).

Таблиця 3.9

Хроноритми кислоторегулювальної функції нирок у старих стресованих тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
рН сечі	I	5,43±0,093	5,56±0,073	5,63±0,082	5,67±0,148	6,18±0,448	5,57±0,084
	II	7,67±0,258 p<0,001	7,62±0,218 p<0,001	8,25±0,101 p<0,001	7,51±0,364 p<0,001	8,41±0,254 p<0,001	6,23±0,404 p<0,001
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	I	1,42±0,225	1,25±0,268	1,41±0,394	1,15±0,222	1,89±0,503	1,18±0,256
	II	1,51±0,153	0,92±0,125 p=0,001	1,07±0,265	1,97±0,464	1,62±0,261	1,34±0,315
Екскреція іонів водню, нмоль/ 100 мкл КФ	I	2,17±0,131	2,33±0,184	2,47±0,186	2,09±0,114	2,34±0,220	2,18±0,138
	II	1,86±0,080	1,83±0,058 p<0,05	2,52±0,160	2,37±0,177	2,43±0,215	1,80±0,125
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	I	27,22±2,808	18,54±3,071	17,05±5,030	21,11±3,945	24,35±3,563	21,64±3,855
	II	8,37±1,839 p<0,001	3,14±0,622 p<0,001	6,30±2,294 p<0,001	8,18±2,835 p<0,001	5,62±1,685 p<0,001	11,73±4,763
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	35,12±4,412	29,41±3,182	41,51±7,175	36,44±5,295	42,41±5,842
	II	10,34±2,198 p<0,001	6,02±0,809 p<0,001	13,42±2,231 p<0,001	7,92±1,106 p<0,001	9,19±2,577 p<0,001	11,91±2,319 p<0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	I	18,74±1,953	10,39±1,772	10,54±2,137	9,44±1,425	13,08±1,846	13,60±2,914
	II	10,59±1,803 p<0,02	4,08±0,666 p<0,01	11,54±5,636	18,61±5,948	15,47±2,988	11,01±2,970
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	20,09±1,814	22,09±2,139	17,60±1,744	21,00±4,072	27,01±4,784
	II	13,02±1,641 p<0,001	8,06±0,958 p<0,001	20,50±5,846	19,37±0,899	22,38±1,715	14,06±2,249 p<0,05
Амонійний коефіцієнт	I	0,69±0,051	0,61±0,067	0,84±0,178	0,48±0,073	0,59±0,091	0,61±0,041
	II	1,52±0,189 p<0,01	1,35±0,054 p<0,001	1,48±0,218 p<0,05	2,64±0,287 p<0,001	3,56±0,966 p<0,001	1,29±0,129 p<0,001

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з інтактними тваринами; I – 12.00С:12.00Т, II – 12.00С:12.00Т+ стрес.

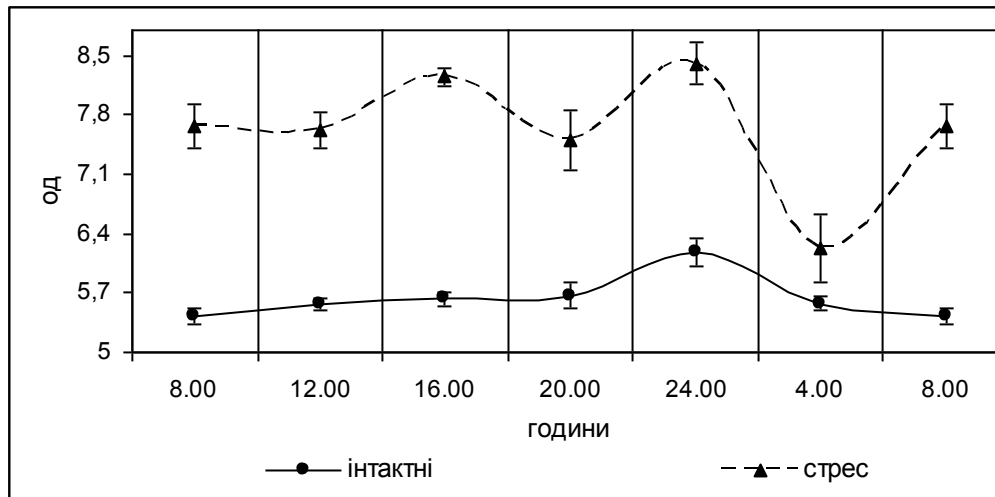


Рис. 3.2.11. Хроноритми рН сечі в щурів за умов іммобілізаційного стресу.

Таблиця 3.10

**Вплив іммобілізаційного стресу на мезор і амплітуду ритмів  
кислотовидільної функції нирок у старих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники	Інтактні (n=6)		Іммобілізаційний стрес (n=6)	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
рН сечі	5,67±0,08	4,6±1,24	7,62±0,25 p<0,001	10,1±2,72
Екскреція іонів водню, нмоль/хв/100 г	1,38±0,10	19,8±3,41	1,41±0,15	27,1±6,23
Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	2,26±0,06	6,2±2,15	2,14±0,15	15,8±5,95
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв/100 г	21,65±1,38	17,2±4,5	7,22±1,1 p<0,001	40,4±8,16 p<0,05
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	35,72±2,2	15,8±5,14	9,8±1,05 p<0,001	27,4±6,32
Екскреція аміаку, мкмоль/хв/100 г	12,63±1,25	27,0±4,34	11,88±1,72	41,5±7,09
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	22,87±1,78	19,5±4,9	16,23±2,26 p<0,05	33,5±8,24
Амонійний коефіцієнт	0,64±0,04	18,8±3,39	1,97±0,38 p<0,01	46,9±4,54 p<0,001

**Примітки:** р – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.

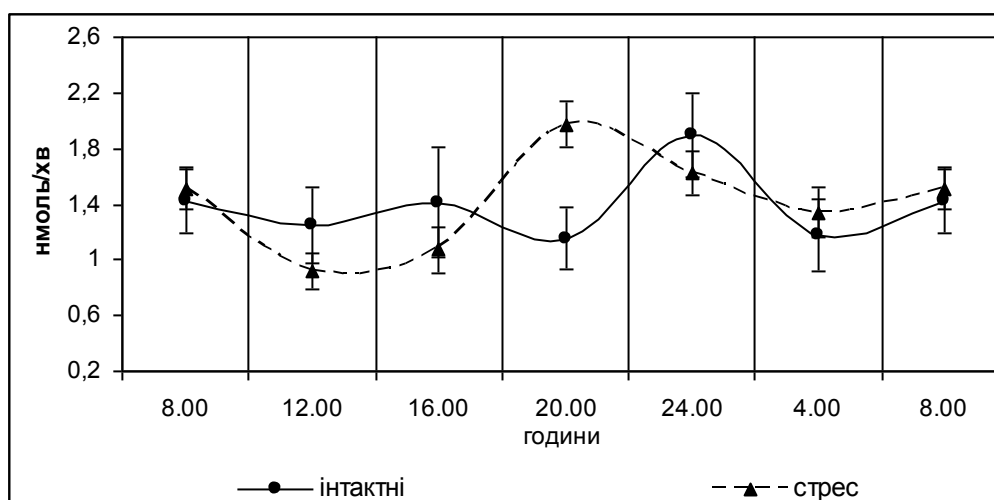


Рис. 3.22. Хроноритми екскреції кислот, що титруються, в щурів за умов іммобілізаційного стресу.

Поряд із високими значеннями кислотності сечі реєстрували зниження екскреції аміаку. Середньодобовий рівень вказаного показника зменшувався щодо такого в інтактних щурів на 30 %. При цьому амплітуда ритму зростала (табл. 3.10). Циркадіанні коливання екскреції кислот, характеризувалися порушенням фазової структури ритму щодо хронограм інтактних тварин з вірогідним зниженням мезору на тлі зростання амплітуди ритму (рис. 3.22).

Таким чином, ІС є потужним чинником дезорганізації хроноритмів екскреторної, іонорегулювальної та кислотовидільної функцій нирок. Так, 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 у досліджувані інтервали доби. Крім того, слід звернути уваги на підвищення амплітуд ритмів більшості досліджуваних показників.

Біохімічними дослідженнями встановлено, що моделювання ІС призвело до вірогідного зниження порівняно з інтактною групою щурів рівня мелатоніну майже на 17% до  $17,5 \pm 1,0$  пг/мл ( $p=0,03$ ).

Вивчення процесів вільнорадикального окиснення ліпідів біополімерів у крові за даних умов експерименту показало зростання показників МА на 45,5% ( $p<0,001$ ), а рівень ОМБ підвищився у двічі стосовно контрольних даних



( $p < 0,001$ ). Це свідчить про зростання окисних процесів в організмі щурів, яких піддали 1-годинному іммобілізаційному стресу. Щодо даних антиоксидантної системи захисту, а саме каталази та HS-груп відмічається їх зниження внаслідок стресового впливу на 51,5% та 42,6% ( $p < 0,001$ ) відповідно. Наведені результати дозволяють стверджувати, що система ВРОЛБ адекватно прореагувала на зовнішній стресовий подразник (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

**Про- та антиоксидантний стан крові старих щурів  
за умов іммобілізаційного стресу ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ ;  $n=6$ )**

Показник	Умови досліджу	
	Інтактні	Іммобілізаційний стрес
Малоновий альдегід, кмоль/мл	18,0±0,84	26,20±0,46 $p < 0,001$
ОМБ, мкмоль/г білка	0,68±0,04	1,38±0,08 $p < 0,001$
Церулоплазмін, мг/л	298,0±4,21	539±4,35 $p < 0,001$
Каталаза, мкмоль/хв·л	12,6±0,85	6,10±0,12 $p < 0,001$
HS-групи, мкмоль/мл	0,75±0,01	0,43±0,03 $p < 0,001$

**Примітки:**  $p$  – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
 $n$  – кількість тварин.

Зазначений стан крові щодо процесів ВРОЛБ супроводжувався певними змінами параметрів білків цитоплазми пінеалоцитів та епітелію проксимальних каналців нирки.

Отримані результати вказують на значне зростання рівня ОМБ при стресі на фоні семидобового освітлення у цитоплазмі світлих пінеалоцитів на 19 %, у темних – на 4 %, а в епітелії проксимальних каналців на 44 %.

Таким чином, зовнішній подразнювач у вигляді іммобілізаційного стресу, викликав значні зміни у співвідношенні світлих і темних пінеалоцитів, понизивши коефіцієнт співвідношення до  $1,12 \pm 0,024$ , що вказує на негативний ефект стресового чинника. Рівень ОМБ підвищився у всіх досліджуваних елементах, вказуючи на значний негативний ефект стресу щодо системи ВРОЛБ.

### 3.3. Корекція мелатоніном стрес-індукованих змін морфофункціонального стану нирок та епіфіза мозку старих щурів

Після внутрішньоочеревинного уведення мелатоніну у дозі 2,5 мг/кг маси тіла тварини при гістологічному дослідженні епіфіза мозку виявлено відновлення співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами порівняно з стресованими тваринами до  $1,86 \pm 0,021$  (світлих пінеалоцитів –  $65 \pm 1,3\%$ , що зросло на 12% від стресованої групи тварин, а темних –  $35 \pm 1,4\%$ , що відповідно зменшилося на 12%) з вірогідною відмінністю  $p < 0,001$  (рис. 3.23).

З'ясуванням процесів перекисного окиснення ліпідів у тканинах досліджуваних органів нами виявлено, що коефіцієнт Р, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, порівняно з стресованими тваринами становив у світлих пінеалоцитах  $0,980 \pm 0,011$ ,  $p < 0,001$ , у темних пінеалоцитах -  $1,190 \pm 0,013$ ,  $p = 0,036$ .

Вивченням епіфіза мозку на субмікроскопічному рівні після корекції постстресових змін виявлено відновлення інвагінованих ядер у більшості пінеалоцитів. У значній кількості ядер каріолема рівна і має відносно рівний перинуклеарний простір, ядерна оболонка з чіткими ядерними порами. Але однак незначна кількість мітохондрій видовженої форми з електроннощільним матриксом, внаслідок чого кристи погано контуруються. Наведені результати дозволяють стверджувати про ефективність застосування мелатоніну як антистресового агента.

На світлооптичному рівні дослідження структур нирок старих щурів характеризуються наступними змінами. У кірковій речовині відмічена зерниста дистрофія в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $74 \pm 1,9\%$ , та зменшилася після триденного уведення мелатоніну на 13 % клітин цього типу щодо стресованої групи тварин. На відміну від не корегованого стресу, не відмічалось розширення простору між зовнішнім та внутрішнім листками капсули клубочка та ішемізації кіркової речовини. Вказані зміни проілюстровані на рисунку 3.24.

Після корекції постімобілізаційних змін у мозковій речовині зберігається повнокров'я переважно в судинах мозкових променів. У сосочку нирки також залишається набухання більшості епітеліальних клітин.

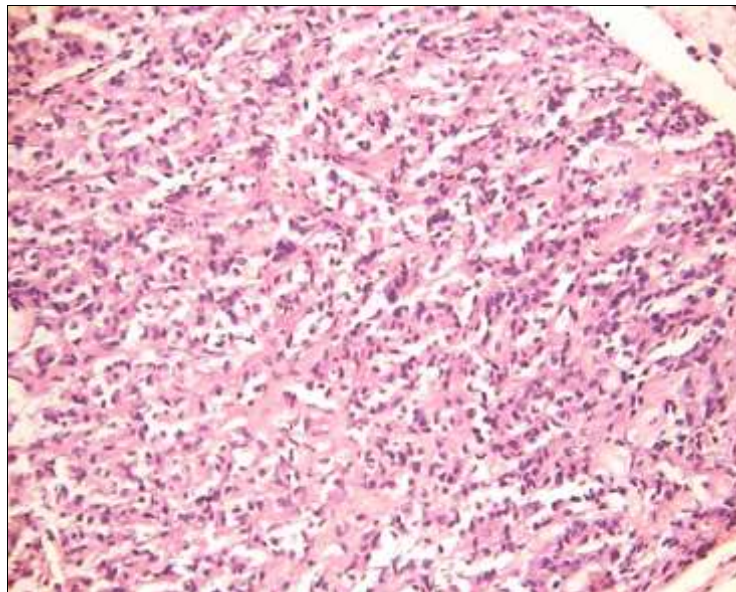


Рис. 3.23. Морфологічний стан епіфіза мозку старого щура при корекції стресу мелатоніном  
Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

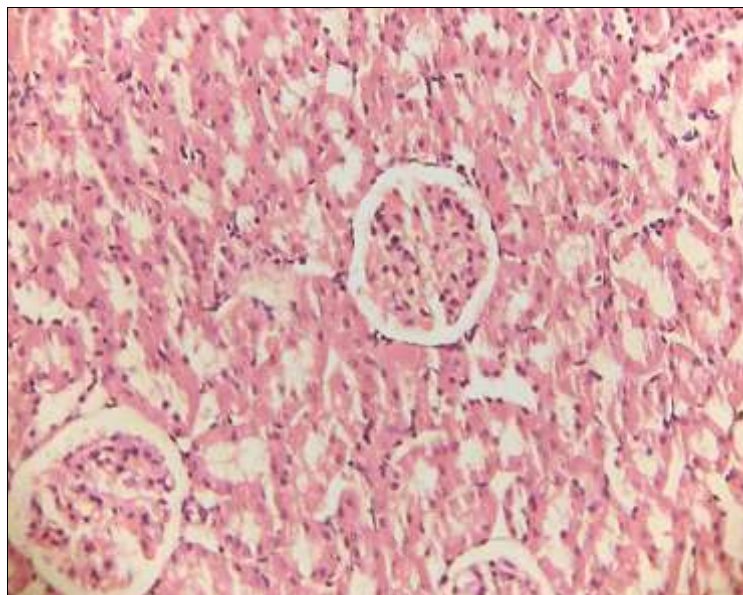


Рис. 3.24. Морфологічна структура кіркової речовини нирки старого щура при корегованому мелатоніном стресі.  
Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

Щодо вивчення процесів перекисного окиснення ліпідів у тканинах досліджуваних органів виявлені наступні характеристики. Коефіцієнт Р, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив в епітелії проксимальних каналців –  $1,066 \pm 0,02$ ,  $p < 0,001$  (рис. 3.25).

Ультраструктурні компоненти фільтраційного бар'єра в складі ниркових тілець після корекції постстресорних змін характеризуються наступними перебудовами. Цитоплазма подоцитів має дещо знижену густину, просвітлюється матрикс мітохондрій, невелика кількість ядер залишається пікнотично зміненою, цитопедикולי видовжені і потовщені. Потовщена тришарова базальна мембрана, її електроннощільний шар гомогенізований. Цитоплазма ендотеліоцитів має багато вакуолей і піноцитозних міхурців.

За умов корекції мелатоніном іммобілізаційного стресу епітеліоцити проксимального відділу нефрона також зазнають субмікроскопічних змін. Розширюються і стають коротшими, переважна площа складок базальної плазмолемати відновлює свою структуру. Канальці ендоплазматичного ретикулуму і цистерни комплексу Гольджі розширені, залишається гіпертрофія мітохондрій, їх матрикс просвітлений. Зменшуються ділянки гетерохроматину в ядрі, інвагінації каріолеми дещо помітні.

Уведення мелатоніну на фоні іммобілізаційного стресу не призводило до нормалізації добового рівня сечовиділення, який залишався подібним до такого у стресованих тварин, яким хронобіотик не застосовували (рис. 3.26).

Відмітимо, що найбільші рівні виділення сечі спостерігали у вечірній та нічний період доби з 24.00 до 04.00 год. З 12.00 до 16.00 год рівень сечовиділення істотно не відрізнявся від тварин, яких утримували за стресових умов і мелатонін не використовували (табл. 3.12), амплітуда ритму більше, ніж вдвічі перевищувала відповідний показник у вказаної групи тварин. Це дозволяє дійти висновку про модулювання епіфізарним гормоном амплітуди хроноритмів діурезу.

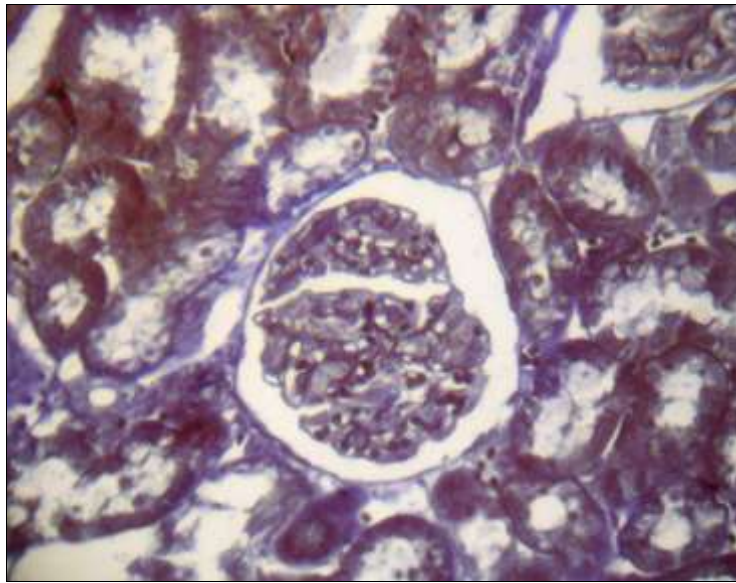


Рис. 3.25. Гістологічна будова кіркової речовини нирки старого щура при корегованому мелатоніном стресі. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

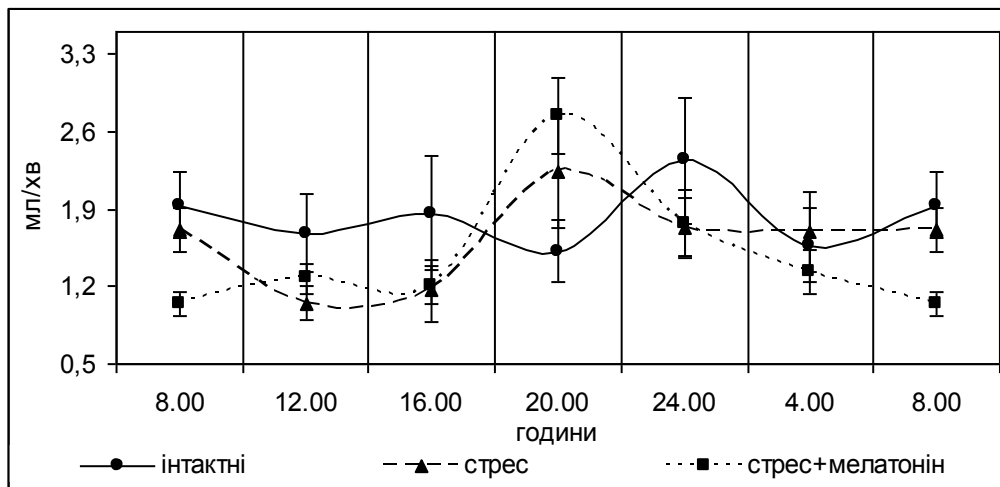


Рис. 3.26. Хроноритми діурезу в щурів, яким проводили ін'єкції мелатоніну на тлі стресу.

Таблиця 3.12

Вплив мелатоніну на стрес-індуковані зміни хроноритму екскреторної функції нирок старих тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Діурез, мкл/хв/100г	I	1,93±0,298	1,68±0,353	1,86±0,513	1,52±0,276	2,34±0,567	1,57±0,332
	II	1,71±0,201	1,05±0,151	1,16±0,287	2,24±0,512	1,73±0,278	1,69±0,367
	III	1,04±0,304	1,27±0,329	1,21±0,170	2,74±0,538	1,77±0,495	1,33±0,405
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	I	5,05±0,253	5,09±0,265	5,09±0,308	5,07±0,254	5,05±0,253	5,06±0,251
	II	4,45±0,361	4,43±0,156 p<0,05	5,37±0,333	5,37±0,187	5,12±0,250	4,91±0,375
	III	5,05±0,180	5,45±0,281 p <sub>1</sub> <0,01	5,46±0,271	5,04 0,194	5,17±0,167	5,04±0,236
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	I	146,11±14,938	158,75±21,250	153,75±46,875	247,77±40,987	247,22±43,148	253,88±44,938
	II	26,33±2,166 p<0,001	15,62±2,187 p<0,001	21,66±1,722 p<0,001	25,25±1,541 p<0,001	27,00±2,833 p<0,001	22,66±1,916 p<0,001
	III	16,01±1,112 p <sub>1</sub> =0,002	15,51±1,221	17,42±0,806 p <sub>1</sub> =0,05	32,250±0,917 p <sub>1</sub> =0,05	25,08±2,375	17,25±1,583 p <sub>1</sub> <0,05
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	I	28,42±4,567	23,98±3,516	31,62±13,007	38,73±10,133	50,83±10,830	37,23±6,109
	II	4,56±0,685 p<0,001	1,60±0,284 p<0,001	2,52±0,746 p<0,001	5,68±1,266 p<0,001	4,40±0,582 p<0,001	4,03±1,194 p<0,001
	III	1,67±0,556 p <sub>1</sub> <0,001	1,99±0,527	2,08±0,312	8,69±1,641	4,74±1,479	2,22±0,654
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	I	75,55±2,851	74,62±2,859	74,50±2,812	75,55±2,851	75,56±2,852	75,53±2,850
	II	53,83±1,416 p<0,001	56,00±2,001 p<0,001	69,50±3,166 p<0,001	62,33±2,502 p<0,001	64,83±2,611 p<0,001	61,00±2,833 p<0,001
	III	67,40±2,840	77,80±1,081	69,51±1,003	67,17±1,583 p <sub>1</sub> <0,02	73,50±2,500	78,50±1,504

Закінчення таблиці 3.12

Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	I	364,76±7,818	354,60±9,886	255,15±15,125	253,82±7,615	275,41±15,026	356,61±13,016
	II	380,00±6,351	351,84±8,553	243,60±10,987	392,09±25,731	269,40±13,086	381,51±23,747
	III	340,82±11,721 p <sub>1</sub> <0,02	343,50±11,65	245,17±5,806	299,37±14,717	257,29±13,825	345,80±15,949
Відносна реабсорбція води, %	I	98,76±0,068	98,69±0,099	98,63±0,098	98,83±0,055	98,75±0,084	98,78±0,075
	II	99,11±0,051 p<0,01	99,13±0,026 p<0,01	98,85±0,071 p<0,02	98,87±0,079	98,90±0,101	99,05±0,052 p=0,02
	III	98,97±0,037 p <sub>1</sub> =0,051	98,77±0,043 p <sub>1</sub> <0,001	98,87±0,028	98,89±0,068	98,71±0,076	98,69±0,073 p <sub>1</sub> =0,002
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну	I	0,008±0,0004	0,007±0,0006	0,007±0,0006	0,008±0,0004	0,008±0,0006	0,008±0,0005
	II	0,011±0,0006 p<0,01	0,012±0,0004 p<0,01	0,009±0,0006 p<0,05	0,009±0,0007 p<0,01	0,010±0,0009	0,011±0,0007 p<0,01
	III	0,010±0,0003	0,008±0,0002 p <sub>1</sub> <0,001	0,009±0,0002	0,009±0,0006	0,008±0,0007 p <sub>1</sub> =0,110	0,008±0,0004 p <sub>1</sub> =0,004
Концентрація білка в сечі, г/л	I	0,33±0,026	0,32±0,046	0,42±0,021	0,43±0,0246	0,43±0,031	0,40±0,030
	II	0,50±0,031 p<0,01	0,69±0,039 p<0,01	0,54±0,031 p<0,01	0,88±0,099 p<0,01	0,68±0,068 p<0,01	0,62±0,035 p<0,01
	III	0,51±0,055	0,32±0,013 p <sub>1</sub> <0,001	0,57±0,061	0,58±0,067 p <sub>1</sub> <0,05	0,45±0,033 p <sub>1</sub> <0,02	0,40±0,025 p <sub>1</sub> <0,001
Екскреція білка, мг/хв/100г	I	0,64±0,100	0,76±0,217	0,56±0,040	0,67±0,145	0,97±0,226	0,64±0,138
	II	0,88±0,149	0,75±0,137	0,65±0,188	2,00±0,545 p<0,05	1,16±0,258	1,07±0,249
	III	0,54±0,182	0,38±0,087 p <sub>1</sub> <0,05	0,68±0,107	1,64±0,348	0,82±0,263	0,56±0,181
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	I	0,99±0,101	1,00±0,140	1,37±0,112	1,20±0,085	1,27±0,097	1,18±0,130
	II	1,073±0,120	1,42±0,071 p<0,01	1,48±0,117	2,38±0,310 p<0,01	1,87±0,341	1,42±0,113
	III	1,26±0,126	0,94±0,048 p <sub>1</sub> <0,001	1,54±0,170	1,56±0,229 p <sub>1</sub> <0,05	1,42±0,153	1,25±0,080

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно із інтактною групою тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці порівняно із стресованою групою тварин. I – 12.00С:12.00Т, II – 12.00С:12.00Т+ стрес, III – 12.00С:12.00Т+ стрес+ мелатонін.

Таблиця 3.13

**Зміни середньодобових рівнів і амплітуд ритмів показників  
екскреторної функції нирок у стресованих старих щурів після уведення мелатоніну ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні тварини		Стрес		Стрес+Мелатонін	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Діурез, мкл/хв/100г	1,82±0,11	16,6±3,98	1,6±0,16	27,1±6,67	1,56±0,23	40,2±4,97
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	5,07±0,01	0,4±0,12	4,94±0,17	8,6±2,91 p<0,001	5,2±0,08	3,9±1,35 p <sub>1</sub> <0,01
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	21,25±4,19	26,4±8,33	23,09±1,55	18,2±5,61	20,59±2,69	32,5±4,31
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	3,51±0,35	26,9±0,03	3,800±0,05	19,5±6,11	3,57±1,05	76,9±9,13 p<0,001
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	75,22±0,22	0,7±0,24	61,25±2,15 p<0,001	9,4±2,93 p<0,02	72,31±2,14 p <sub>1</sub> <0,01	7,0±2,47
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	60,06±3,34	14,2±3,61	69,74±7,4	26,8±7,66	53,33±7,67	40,3±3,83
Відносна реабсорбція води, %	98,74±0,03	0,1±0,02	98,99±0,06 p<0,01	0,1±0,05	98,82±0,05 p <sub>1</sub> <0,05	0,1±0,04
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну	0,01±0,002	5,2±2,42	0,01±0,001	12,1±4,03	0,01±0,001	8,2±3,21
Концентрація білка в сечі, г/л	0,38±0,02	12,9±4,53	0,65±0,05 p<0,001	20,7±4,22	0,47±0,04 p <sub>1</sub> <0,01	21,6±6,68
Екскреція білка, мг/хв/100г	0,71±0,05	20,3±3,11	1,09±0,17 p<0,05	44,7±7,08 p<0,01	0,77±0,15	58,6±8,56
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	1,17±0,06	12,8±4,12	1,61±0,17	19,5±6,11	1,33±0,09	17,4±5,59

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 36 тварин; p – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин, n – кількість тварин.



Зазначена циркадіанна динаміка ритму діурезу викликана зниженням швидкості ультрафільтрації. Середньодобовий рівень при цьому становив  $53,33 \pm 7,67$  мкл/хв/100 г (табл. 3.13), вірогідно не відрізняючись від мезору контрольних тварин та стресованих щурів, яким гормон не вводили.

Структура ритму знаходилася у повній інверсії відносно тварин, які зізнали одноденної іммобілізації і їм мелатонін не вводили.

Таким чином, 60-хвилинне знерухомлення тварин призводить до зростання швидкості клубочкової фільтрації. Ін'єкції тваринам хронобіотика на фоні адинамії проявляли протилежну дію.

Архітектоніка хроноритму концентрації креатиніну в плазмі крові набувала двофазного характеру. Мезор ритму наближався до такого в інтактних тварин. Акрофаза ритму зміщувалася з 24.00 на 04.00 год, а батифаза – з 16.00 на 20.00 год. Характерним проявом уведення мелатоніну було підвищення (на 18%) концентрації креатиніну в плазмі крові порівняно з серією щурів, яким експериментальну терапію не проводили (табл. 3.12). Середньодобовий рівень при цьому складав  $72,31 \pm 2,14$  мкмоль/л (табл. 3.13). Тобто у даному випадку уведення мелатоніну нівелює ефекти стресу як щодо швидкості клубочкової фільтрації, так і стосовно рівня концентрації креатиніну в плазмі крові.

За умов застосування мелатоніну на фоні стресу рівень відносної реабсорбції води дещо підвищувався, однак структура хроноритму знаходилася у повній інверсії щодо хронограм у стресованих тварин, яким не вводили гормон (рис. 3.27).

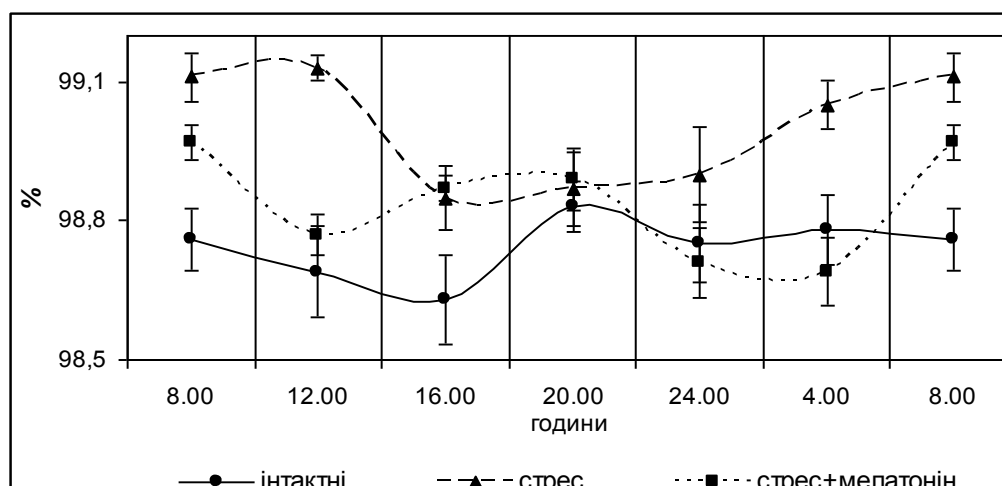


Рис. 3.27. Хроноритми відносної реабсорбції води в стресованих щурів за умов ін'єкції мелатоніну

**Примітка:** на цьому та наступних рисунках підрозділу для порівняння наведені хроноритми показників стресованих тварин без уведення індолу.

Підйоми даного показника реєстрували близько 08.00 та 16.00 год, а батифазу – о 04.00 год. Навіть ін'єкції епіфізарного гормону на фоні дії стресового чинника не призводили до такого зниження процесів відносної реабсорбції води, як в інтактних тварин. Порівняно з цією групою мезор хроноритму залишався підвищеним.

Слід зауважити, що структура хроноритмів відносної реабсорбції води за усіх умов проведених експериментів подібна до структури хроноритмів швидкості клубочкової фільтрації, що вказує на збереження клубочково-канальцевого балансу.

Ін'єкції епіфізарного індолу за стресових умов призводили до істотного зниження добових рівнів екскреції білка і концентрації його у сечі (табл. 3.12). Середньодобовий рівень екскреції білка нижчий, ніж у стресованих тварин на 29 %.

Дослідженням іонорегулювальної функції нирок показано, що застосування мелатоніну призводило до певної корекції порушень структури хроноритмів ниркового транспорту іонів натрію, викликаних іммобілізацією щурів (табл. 3.14).

Уведення мелатоніну стресованим щурам спричинило зниження натрійурезу. Мезор ритму перевищував середньодобові показники в інтактних щурів, однак

вірогідно менший щодо тварин, яким не проводили корекції постстресорних ефектів. Амплітуда ритму підвищувалася.

Максимальний рівень концентрації іонів натрію в сечі спостерігали о 12.00 год, другий підйом – близько 20.00 год. Батифаза ритму припадала на 04.00 год (рис. 3.28). Екскреція іонів натрію та їх концентрація в сечі мали симетричний характер.

Незважаючи на високий рівень натрійурезу при уведенні мелатоніну за умов стресування щурів концентрація катіона в плазмі крові вірогідно не відрізнялася від показників в інтактних тварин (табл. 3.14). Водночас дія стресового чинника викликала зниження мезору концентрації іонів натрію в плазмі крові (табл. 3.15).

Таблиця 3.14

Вплив мелатоніну на стрес-індуковані зміни хроноритму ниркового транспорту іонів натрію старих тварин ( $\bar{x} \pm S_x^-$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	I	1,83±0,185	1,87±0,140	1,75±0,125	2,33±0,222	2,77±0,265	2,27±0,154
	II	12,33±2,138 p<0,001	16,87±1,437 p<0,001	14,66±1,083 p<0,001	16,08±0,972 p<0,001	10,41±1,028 p<0,001	6,33±0,805 p<0,001
	III	6,02±0,304 p <sub>1</sub> <0,001	11,01±0,912 p <sub>1</sub> <0,001	6,92±0,542 p <sub>1</sub> <0,001	9,08±0,389 p <sub>1</sub> <0,001	7,03±1,010 p <sub>1</sub> <0,001	2,83±0,333 p <sub>1</sub> <0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	I	0,33±0,033	0,29±0,043	0,31±0,086	0,35±0,065	0,61±0,117	0,34±0,055
	II	2,07±0,360 p<0,001	1,76±0,236 p<0,001	1,64±0,409 p<0,001	3,73±0,846 p<0,001	1,72±0,196 p<0,001	1,08±0,310 p<0,001
	III	0,63±0,198 p <sub>1</sub> <0,001	1,42±0,375	0,82±0,114	2,51±0,532	1,17±0,264	0,43±0,180
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	I	0,53±0,042	0,57±0,043	0,56±0,040	0,66±0,086	0,80±0,057	0,66±0,070
	II	2,60±0,427 p<0,001	3,50±0,307 p<0,001	3,94±0,210 p<0,001	4,29±0,248 p<0,001	2,74±0,338 p<0,001	1,45±0,216 p<0,01
	III	1,48±0,092 p <sub>1</sub> <0,05	3,28±0,373	1,86±0,115 p <sub>1</sub> <0,001	2,41±0,205 p <sub>1</sub> <0,001	2,11±0,243	0,88±0,099 p <sub>1</sub> <0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	I	132,50±5,833	132,81±6,406	133,75±5,937	132,50±5,833	132,51±5,836	132,52±5,831
	II	124,58±4,791	121,25±1,562	127,91±8,125	131,66±7,083	125,83±6,667	114,16±8,194
	III	110,00±3,004 p <sub>1</sub> <0,05	143,02±12,802	131,25±3,334	128,33±6,667	124,17±4,444	131,67±5,834
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	I	0,64±0,08	0,51±0,023	0,55±0,03	0,49±0,01	0,60±0,041	0,52±0,047
	II	0,49±0,109	1,18±0,178 p<0,01	0,68±0,030 p<0,02	0,65±0,046 p<0,01	0,39±0,038 p<0,01	0,30±0,058 p<0,02
	III	0,38±0,009	0,75±0,111	0,409±0,042	0,28±0,020 p <sub>1</sub> <0,001	0,29±0,054	0,17±0,024

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з інтактною групою тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці порівняно із стресованою групою тварин. I – 12.00С:12.00Т, II – 12.00С:12.00Т+ стрес, III – 12.00С:12.00Т+ стрес+ мелатонін.

Таблиця 3.15

**Мезор і амплітуда хроноритмів показників іонорегулювальної функції нирок старих щурів  
при уведенні мелатоніну на фоні іммобілізації ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні тварини		Стрес		Стрес+Мелатонін	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	2,14±0,16	18,3±4,9	1,6±0,16	27,1±6,67	7,15±0,97 p <sub>1</sub> <0,02	38,9±6,83
Екскреція іонів натрію, кмоль/хв/100г	0,37±0,04	3,21±2,58	4,94±0,17	8,6±2,91 p<0,001	1,16±0,27	64,7±12,06
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,63±0,04	15,7±4,1	23,09±1,55	18,2±5,61	2,0±0,3 p <sub>1</sub> <0,05	41,0±8,8
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	132,77±0,17	0,4±0,11	3,800±0,05	19,5±6,11	128,07±3,66	8,5±2,38

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з інтактною групою тварин, p<sub>1</sub> - вірогідність різниці порівняно із стресованою групою тварин.

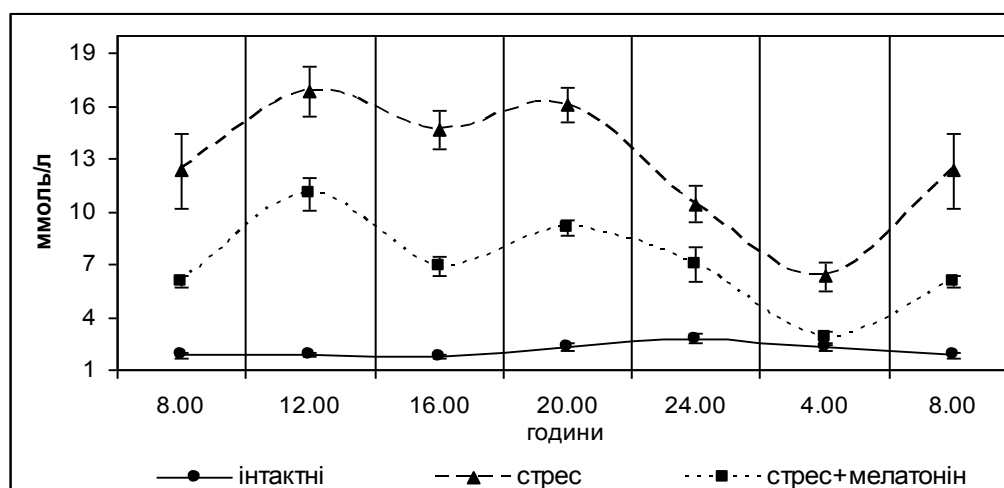


Рис. 3.28. Хроноритми концентрації іонів натрію в сечі за умов ін'єкції мелатоніну стресованим щурам.

Підвищення натрійурезу за умов стресування щурів призводило до певних порушень. Так, середньодобовий рівень натрій/калієвого коефіцієнта суттєво не змінювався порівняно з тваринами, яким не вводили мелатонін за умов звичайного світлового режиму. Максимальний рівень ритму натрій/калієвого коефіцієнта припадав на 16.00 год і знижувався у період з 20.00 до 08.00 год (табл. 3.14).

Застосування мелатоніну вносило також зміни в структуру хроноритмів кислотовидільної функції нирок. Аналізуючи циркадіанний ритм рН сечі, відмітимо його високу амплітуду, з підвищенням рівня о 16.00 год, мініфаза припадала на 08.00 год (табл. 3.16). Мезор ритму наближався до контролю і менший щодо такого в іммобілізованих тварин (табл.3.17., рис. 3.29).

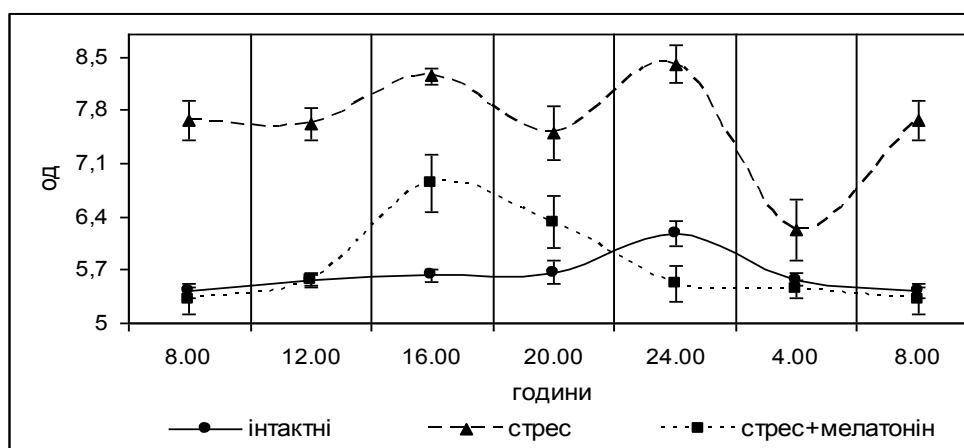


Рис. 3.29. Хроноритми рН сечі в старих стресованих щурів за умов ін'єкції мелатоніну.

Таблиця 3.16

**Динаміка коливань хроноритму кислоторегулювальної функції нирок у стресованих старих тварин  
після уведення мелатоніну ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник		Година					
		8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
рН сечі	I	5,43±0,093	5,56±0,073	5,63±0,082	5,67±0,148	6,18±0,448	5,57±0,084
	II	7,67±0,258 p<0,001	7,62±0,218 p<0,001	8,25±0,101 p<0,001	7,51±0,364 p<0,001	8,41±0,254 p<0,001	6,23±0,404 p<0,001
	III	5,30±0,182 p <sub>1</sub> <0,001	5,57±0,102 p <sub>1</sub> <0,001	6,84±0,380 p <sub>1</sub> <0,005	6,33±0,350 p <sub>1</sub> <0,042	5,52±0,239 p <sub>1</sub> <0,001	5,45±0,108
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	I	1,42±0,225	1,25±0,268	1,41±0,394	1,15±0,222	1,89±0,503	1,18±0,256
	II	1,51±0,153	0,92±0,125 p<0,001	1,07±0,265	1,97±0,464	1,62±0,261	1,34±0,315
	III	0,76±0,226 p <sub>1</sub> <0,05	0,94±0,240	0,99±0,134	2,23±0,458	1,28±0,352	0,98±0,301
Екскреція іонів водню, нмоль/ 100 мкл КФ	I	2,17±0,131	2,33±0,184	2,47±0,186	2,09±0,114	2,34±0,220	2,18±0,138
	II	1,86±0,080	1,83±0,058 p<0,028	2,52±0,160	2,37±0,177	2,43±0,215	1,80±0,125
	III	1,79±0,084	2,19±0,074 p <sub>1</sub> <0,01	2,26±0,098	2,13±0,174	2,31±0,172	2,31±0,148 p <sub>1</sub> <0,05
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	I	27,22±2,808	18,54±3,071	17,05±5,030	21,11±3,945	24,35±3,563	21,64±3,855
	II	8,37±1,839 p<0,001	3,14±0,622 p<0,001	6,30±2,294 p<0,001	8,18±2,835 p<0,001	5,62±1,685 p<0,001	11,73±4,763
	III	11,57±3,897	13,62±5,656 p <sub>1</sub> <0,02	5,89±1,	15,18±3,586	8,29±2,111	11,51±3,030
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	35,12±4,412	29,41±3,182	41,51±7,175	36,44±5,295	42,41±5,842
	II	10,34±2,198 p<0,001	6,02±0,809 p<0,001	13,42±2,231 p<0,001	7,92±1,106 p<0,001	9,19±2,577 p<0,001	11,91±2,319 p<0,001
	III	26,15±2,072 p <sub>1</sub> <0,001	24,72±6,079 p <sub>1</sub> <0,001	11,70±2,828	14,62±1,939 p <sub>1</sub> <0,02	15,77±2,451	30,41±4,217 p <sub>1</sub> <0,01

Закінчення таблиці 3.16

Екскреція аміаку, мкмоль/хв	I	18,74±1,953	10,39±1,772	10,54±2,137	9,44±1,425	13,08±1,846	13,60±2,914
	II	10,59±1,803 p<0,02	4,08±0,666 p<0,01	11,54±5,636	18,61±5,948	15,47±2,988	11,01±2,970
	III	8,93±2,869	10,63±3,177	9,42±±2,867	25,48±3,756	13,73±3,638	13,90±2,114 p <sub>1</sub> <0,02
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	20,09±1,814	22,09±2,139	17,60±1,744	21,00±4,072	27,01±4,784
	II	13,02±1,641 p<0,001	8,06±0,958 p<0,001	20,50±5,846	19,37±0,899	22,38±1,715	14,06±2,249 p<0,05
	III	22,21±1,989 p <sub>1</sub> <0,05	23,56±4,643 p <sub>1</sub> <0,001	20,65±6,356	28,04±5,009	24,75±2,610	41,09±4,182 p <sub>1</sub> <0,001
Амонійний коефіцієнт	I	0,69±0,051	0,61±0,067	0,84±0,178	0,48±0,073	0,59±0,091	0,61±0,041
	II	1,52±0,189 p<0,01	1,35±0,054 p<0,001	1,48±0,218 p<0,05	2,64±0,287 p<0,001	3,56±0,966 p<0,001	1,29±0,129 p<0,001
	III	0,90±0,157 p <sub>1</sub> <0,05	1,10±0,126	2,12±0,482	2,18±0,504	1,64±0,091	1,38±0,174

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з інтактною групою тварин, p<sub>1</sub> - вірогідність різниці порівняно із стресованою групою тварин. I – 12.00С:12.00Т, II – 12.00С:12.00Т+ стрес, III – 12.00С:12.00Т+ стрес+ мелатонін.



Таблиця 3.17

**Вплив мелатоніну (2,5 мг/кг маси тварин) на мезор і амплітуду хроноритмів показників кислотовидільної функції нирок у стресованих старих тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні тварини		Стрес		Стрес+Мелатонін	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
рН сечі	5,67±0,08	4,6±1,24	7,62±0,25 p<0,001	10,1±2,72	5,84±0,25 p <sub>1</sub> <0,001	10,4±3,57
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	1,38±0,10	19,8±3,41	1,41±0,15	27,1±6,23	1,2±0,19	44,4±5,36
Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	2,26±0,06	6,2±2,15	2,14±0,15	15,8±5,95	2,17±0,07	9,1±2,63
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	21,65±1,38	17,2±4,5	7,22±1,1 p<0,001	40,4±8,16 p<0,05	11,01±1,31 p <sub>1</sub> <0,05	31,0±7,89
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	35,72±2,2	15,8±5,14	9,8±1,05 p<0,001	27,4±6,32	20,56±3,27 p <sub>1</sub> <0,02	36,5±8,33
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	12,63±1,25	27,0±4,34	11,88±1,72	41,5±7,09	13,68±2,01	45,0±6,4
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	22,87±1,78	19,5±4,9	16,23±2,26	33,5±8,24	26,72±2,62 p <sub>1</sub> <0,02	28,0±2,8
Амонійний коефіцієнт	0,64±0,04	18,8±3,39	1,97±0,38 p<0,01	46,9±4,54 p<0,001	1,55±0,21	33,9±6,49

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 36 тварин; p – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин.

Зниження рівня рН сечі у нічні проміжки доби супроводжувалося підвищенням рівня екскреції іонів водню в цей період, а у денний проміжок досліджуваний показник вірогідно не відрізнявся від такого у стресованих тварин, яким мелатонін не вводили (табл. 3.16).

Застосування хронобіотика на фоні стресу нормалізувало структуру хроноритмів екскреції кислот, що титруються. Максимальні рівні цих показників спостерігали у нічні та ранкові проміжки доби. У період з 04.00 до 08.00 год рівень показника суттєво вищий, ніж у тварин, яким не ін'єкували мелатонін на фоні стресу (рис. 3.30). Середньодобовий рівень нижчий, а амплітуда ритму вища, відносно величин інтактних тварин (табл. 3.17).

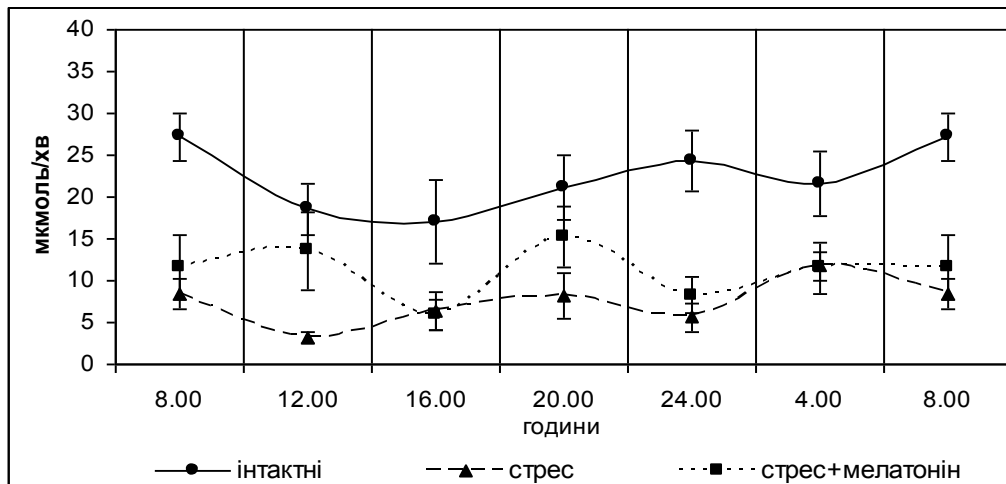


Рис. 3.30. Хроноритми екскреції кислот, що титруються, в щурів при уведенні мелатоніну на фоні стресу.

Ін'єкції індолу тваринам, які зазнали іммобілізації, істотно підвищували рівень екскреції аміаку (рис. 3.31, табл. 3.16). При цьому максимальні значення виведення аміаку припадали на 04.00 год, незначний підйом реєстрували також о 20.00 год, а батифазу – о 08.00 год. Середньодобовий рівень складав  $33,5 \pm 8,24$  мкмоль/ 100 мкл клубочкового фільтрату і перевищував показники вказаних груп порівняння (табл. 3.17).

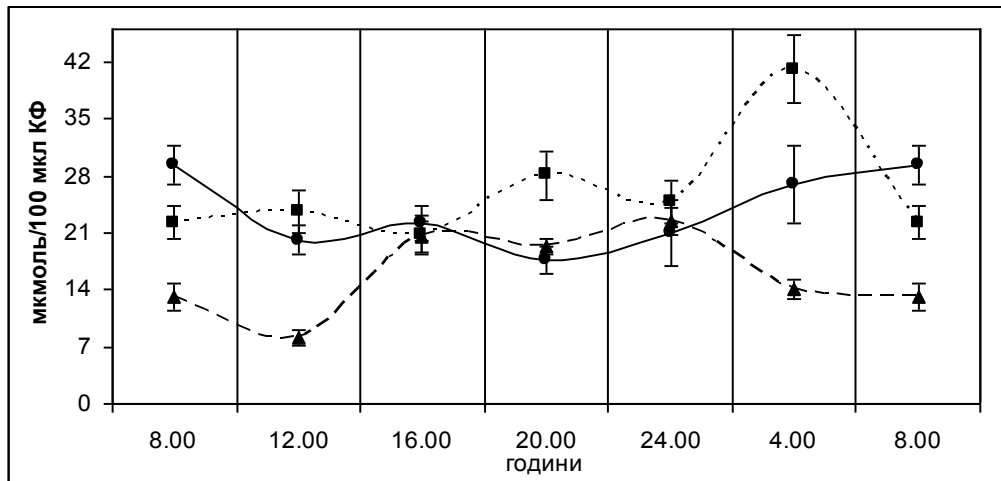


Рис. 3.31. Хроноритми виведення аміаку в щурів при уведенні тваринам мелатоніну на фоні стресу.

Таким чином, на основі отриманих результатів проведеної корекції мелатоніном змін, викликаних іммобілізаційним стресом виявлено нівелювання ефектів стресу щодо порушення швидкості клубочкової фільтрації та рівня азотемії, зниження мезора екскреції білка та концентрації його в сечі, натрійурезу, тенденцією до нормалізації структур хроноритмів рН сечі, екскреції кислот, що титруються, та аміаку.

Після внутрішньоочеревинного уведення мелатоніну в дозі 2,5 мг/кг впродовж 3-х діб з метою корекції одногодинного іммобілізаційного стресу при біохімічному дослідженні рівень мелатоніну в плазмі підвищився на 9 % щодо такого в інтактних щурів. Порівняно з стресованими тваринами, цей показник збільшився на 31 % ( $p=0,025$ ).

Результати проведених досліджень вільнорадикального окиснення ліпідів біополімерів у крові виявили зменшення показників МА 16,7 мкмоль/мл, що менше на 36% ( $p<0,001$ ) від значень у стресованих тварин, а рівень ОМБ суттєво зменшився після застосування мелатоніну як коректора стресу – на 48,5% ( $p<0,001$ ), що яскраво ілюструє позитивний ефект мелатоніну як скавенджера вільних радикалів. Щодо даних антиоксидантної системи захисту, а саме каталази, церулоплазміну та HS-груп відмічається вірогідне відновлення їх показників після триденного уведення мелатоніну як антистресового агента (табл.3.18).

Отже, корекція мелатоніном іммобілізаційного стресу вірогідно знижує окисні процеси в клітинах досліджуваних органів, а саме у цитоплазмі світлих пінеалоцитів показник ОМБ знизився у середньому на 12%, темних – на 5%, а в епітелії проксимальних каналців – на 16%.

Таблиця 3.18

**Корекція мелатоніном про- та антиоксидантного стану крові старих щурів за умов іммобілізаційного стресу за звичайних умов освітлення**  
( $\bar{x} \pm S_x$ ; n=6)

Показник	Умови досліджу	
	12.00С:12.00Т+ІС	12.00С:12.00Т+ІС +мелатонін
Малоновий альдегід, мкмоль/мл	26,20±0,46	16,7±0,32 p<0,001
ОМБ, мкмоль/г білка	1,38±0,08	0,71±0,02 p<0,001
Церулоплазмін, мг/л	539±4,35	327±6,89 p<0,001
Каталаза, мкмоль/хв·л	6,10±0,12	12,2±0,20 p<0,001
НС-групи, мкмоль/мл	0,43±0,03	0,65±0,02 p<0,001

**Примітка:** p – вірогідність різниць між показниками дослідних та стресованих тварин; n – кількість тварин.

Таким чином, для відновлення постстресорних змін у різних системах та органах доцільно використовувати мелатонін, оскільки його уведення відновлює морфологічні перебудови в епіфізі мозку та нирках. Застосування мелатоніну вирівнювало показники МА, ОМБ, каталази до рівня контролю, а показники вмісту церулоплазміну та НС-груп проявляли лише тенденцію до нормалізації, що вказує на потужний відновлювальний ефект мелатоніну.

#### 3.4. Вплив епіталону на морфофункціональний стан нирок на фоні одногодинного іммобілізаційного стресу

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку виявлені зміни у співвідношенні між світлими та темними пінеалоцитами порівняно з групою

тварин після іммобілізаційного стресу до  $1,50 \pm 0,019$  (світлих пінеалоцитів –  $60 \pm 1,9\%$ , що збільшилося на 7 % щодо стресованої групи тварин за цих самих умов освітлення, темних –  $35 \pm 1,4\%$ , відповідно зменшившись на 7 %) (рис. 3.32). Розбіжність із інтактними тваринами становить  $p < 0,001$ .

Вивчено певні параметри білків цитоплазми пінеалоцитів. Встановлено, що коефіцієнт Р, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив  $1,50 \pm 0,019$  з вірогідною різницею щодо стресованих тварин. Відповідно значень у старих щурів, що зазнали впливу іммобілізаційного стресу, у світлих пінеалоцитах коефіцієнт ОМБ становив  $1,002 \pm 0,010$  ( $p < 0,001$ ), у темних пінеалоцитах -  $1,205 \pm 0,009$ ,  $p = 0,102$ .

Ультрамікроскопічні дослідження епіфіза мозку на фоні уведення епіталону ( $0,5$  мкг/кг) як антистресового агента виявили відновлення інвагінованих ядер у більшості пінеалоцитах. Каріолема ядер рівна і має відносно рівний перинуклеарний простір, ядерна оболонка з чіткими ядерними порами. Мітохондрії видовженої форми з електроннощільним матриксом, внаслідок чого кристи погано контуруються. Наведені результати дозволяють стверджувати про ефективність застосування епіталону як антистресового агента.

При гістологічному дослідженні нирок у кірковій речовині відмічена зерниста дистрофія в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $61 \pm 1,8\%$  клітин, що відновилися на 28 % щодо групи тварин, яким моделювали іммобілізаційний стрес. На відміну від некорегованого стресу не відмічали розширення простору між зовнішнім та внутрішнім листками капсули клубочка та ішемізації кіркової речовини. Вказані зміни проілюстровані на рис. 3.33. У сосочку нирки також залишається набухання більшості епітеліальних клітин.

У мозковій речовині повнокров'я у судинах мозкових променів відсутнє, на відміну від експериментальної групи тварин, яким вводили мелатонін як антистресовий чинник.

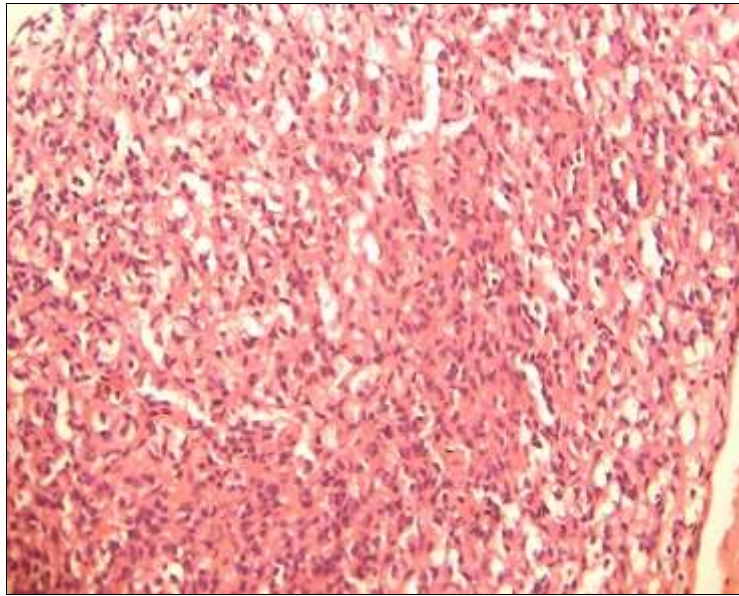


Рис. 3.32. Морфологічний стан епіфіза мозку старого щура при корекції стресу епіталоном. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

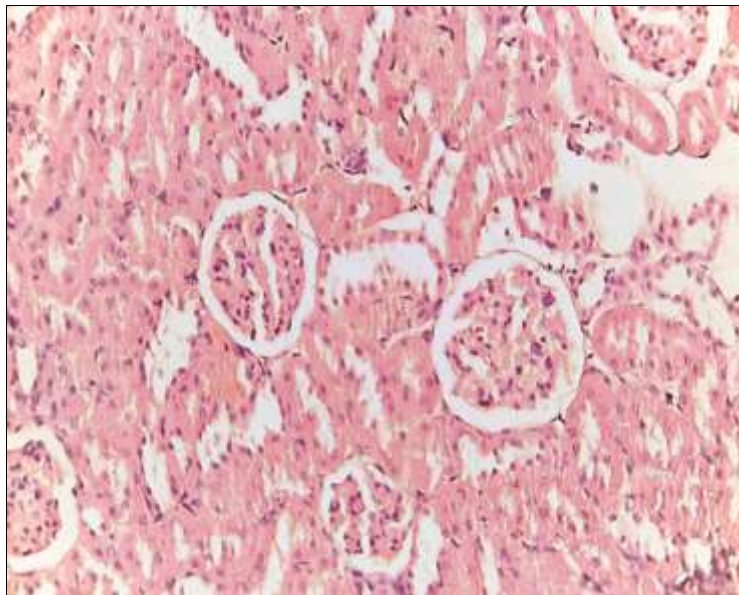


Рис. 3.33. Морфологічний стан кіркової речовини нирки старого щура при корегованому епіталоном стресі . Гематоксилін і еозин. Об.20х, ок.10х.

Для дослідження процесів перекисного окиснення ліпідів у тканинах досліджуваних органів нами обрані наступні характеристики. Коефіцієнт Р, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив в епітелії проксимальних каналців нирок –  $1,070 \pm 0,09$ ,  $p < 0,001$  (рис.3.34) щодо коефіцієнта ОМБ у щурів, що зазнали стресу.

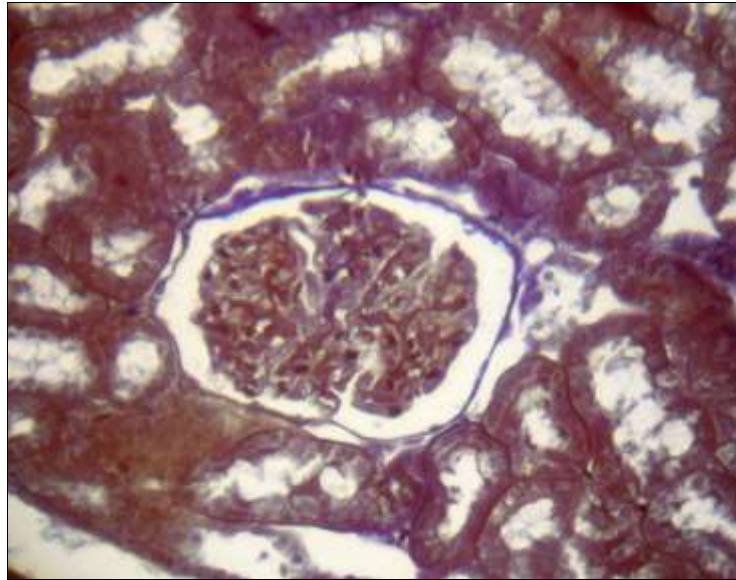


Рис.3.34. Морфологічний стан кіркової речовини нирки старого щура при корегованому епіталоні стресі. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

Циркадіанний ритм діурезу в стресованих тварин, яким проводили ін'єкції синтетичного тетрапептиду епіталону зазнавав суттєвих змін (табл. 3.19). Архітектоніка ритму сечовиділення носила інверсний характер щодо контрольних хронограм та синфазна порівняно з стресованими тваринами, яким вводили мелатонін. Мінімальні величини виявляли о 08.00 та 16.00 год, акрофаза ритму зміщувалася з 24.00 на 20.00 год щодо показника контрольної групи тварин і співпадала з такою у стресованих щурів, яким вводили мелатонін (рис. 3.35).

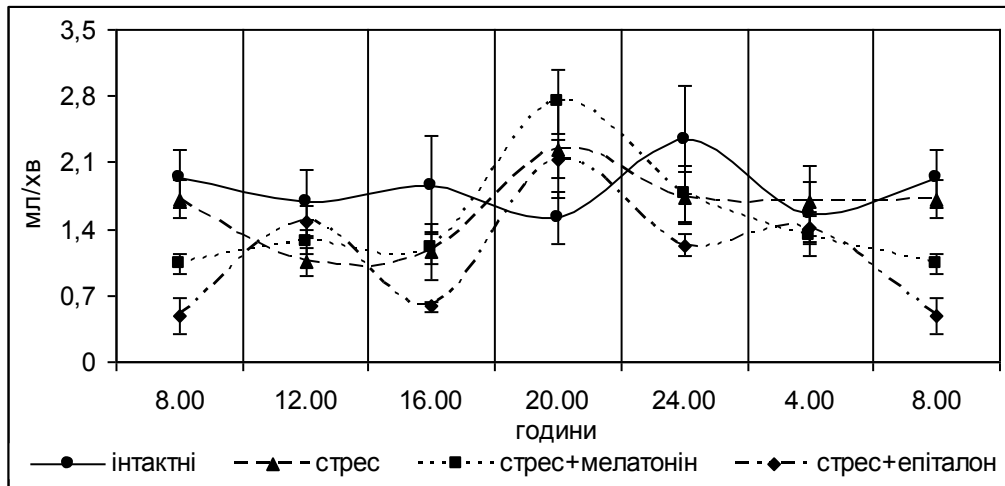


Рис. 3.35. Хроноритми діурезу за умов уведення епіталону старим стресованим щурам.

**Примітка:** на цьому та наступних рисунках підрозділу для порівняння наведені хроноритми показників ренальних функцій стресованих тварин, яким ін'єкували мелатонін.

Подібність хронограм у стресованих тварин, яким застосовували сполуки епіфіза мозку дозволяє припустити, що вказані речовини змінюють фазову структуру ритму. Ін'єкції на фоні стресу тетрапептиду викликали зниження середньодобового рівня діурезу щодо групи щурів, яких піддали іммобілізації (табл. 3.20). Зауважимо, що рівень екскреції сечі найнижчий щодо інших досліджуваних груп (табл. 3.19). Поєднання стресу та ефектів епіталону проявило аддитивну дію.

Причиною змін хроноритмів діурезу стало порушення процесів ультрафільтрації. Хроноритм швидкості клубочкової фільтрації набував синусоїдального характеру з акрофазою о 20.00 год і батифазою о 8.00 год. Привертало увагу різке зниження рівня показника в досліджувані проміжки доби. Так, о 8.00 год він нижчий у 3,5 раза відносно контрольних величин (табл. 3.19). Мезор ритму становив  $48,55 \pm 9,45$  і є нижчим, ніж в інтактних тварин та інших груп спостереження, що свідчить про сумарний ефект епіталону та іммобілізаційного стресу (рис. 3.36).



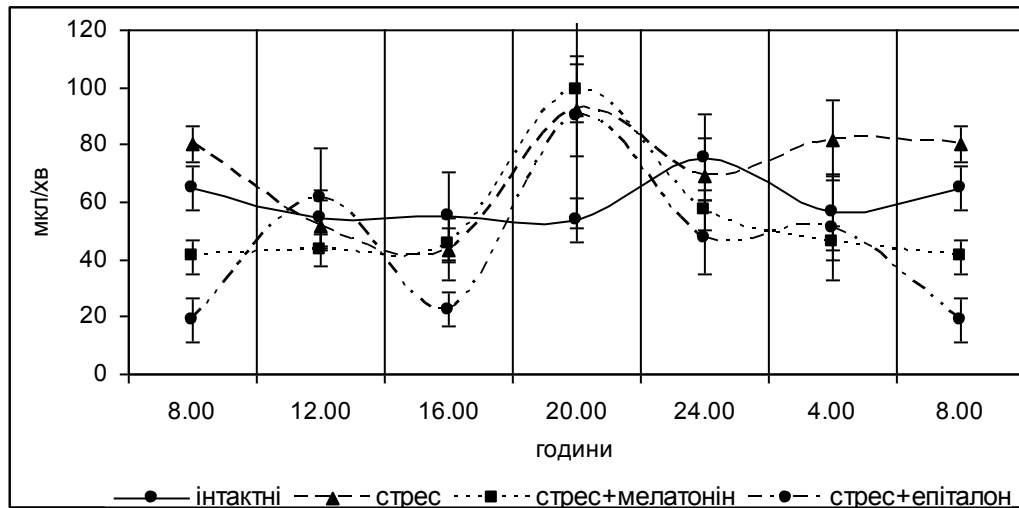


Рис. 3.36. Ефекти епіталону на стрес-індуковані зміни швидкості клубочкової фільтрації щурів.

Порушення швидкості клубочкової фільтрації поєднувалися зі змінами рівня відносної реабсорбції води, що врівноважувало гломеруло-тубулярні процеси. Архітектоніки ритмів вказаних параметрів подібні, максимальні величини реєстрували в однаковий проміжок доби (табл. 3.19). Структура ритму відносної реабсорбції води мала інверсний характер щодо контролю, так і тварин, яким моделювали одногодинний іммобілізаційний стрес. Мезоритму становив  $98,80 \pm 0,02\%$  і нижчий, ніж у стресованих тварин. Амплітуда ритму подібна до такої в інших серіях експерименту (табл. 3.20).

Зниження швидкості ультрафільтрації призвело до підвищення рівня концентрації креатиніну в плазмі крові. Ритм набував монотонного характеру. Середньодобовий рівень ритму перевищував показники стресованих щурів без уведення тетрапептиду на 12,2 % і наближався до такого у тварин, яким моделювали стрес і застосовували мелатонін, проте знижений відносно контрольних величин (табл. 3.20). Амплітуда ритму майже у 6 разів вища, ніж в інтактної групи тварин. Отже, у даному випадку епіталон дещо нормалізує ефекти, спричинені знерухомленням.

Таблиця 3.19

Вплив епіталону на стрес-індуковані зміни хроноритму екскреторної функції нирок тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Діурез, мкл/хв/100г	I	1,93±0,298	1,68±0,353	1,86±0,513	1,52±0,276	2,34±0,567	1,57±0,332
	II	1,71±0,201	1,05±0,151	1,16±0,287	2,24±0,512	1,73±0,278	1,69±0,367
	III	1,04±0,304	1,27±0,329	1,21±0,170	2,74±0,538	1,77±0,495	1,33±0,405
	IV	0,49±0,189 p<0,001	1,48±0,371	0,58±0,159	2,14±0,892	1,23±0,321	1,42±0,451
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	I	5,05±0,253	5,09±0,265	5,09±0,308	5,07±0,254	5,05±0,253	5,06±0,251
	II	4,45±0,361	4,43±0,156	5,37±0,333	5,37±0,187	5,12±0,250	4,91±0,375
	III	5,05±0,180	5,45±0,281 p=0,01	5,46±0,271	5,04 0,194	5,17±0,167	5,04±0,236
	IV	4,95±0,130	4,75±0,187	4,80±0,181	5,08±0,208	5,25±0,187	4,45±0,180
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	I	146,11±14,938	158,75±21,250	153,75±46,875	247,77±40,987	247,22±43,148	253,88±44,938
	II	26,33±2,166 p<0,001	15,62±2,187 p<0,001	21,66±1,722 p<0,001	25,25±1,541 p<0,001	27,00±2,833 p<0,001	22,66±1,916 p<0,001
	III	16,01±1,112 p=0,002	15,51±1,221	17,42±0,806 p=0,05	32,250±0,917 p=0,003	25,08±2,375	17,25±1,583
	IV	17,30±1,323 p<0,02	10,75±0,504 p<0,05	15,30±0,520 p<0,001	25,83±1,252	23,12±1,062	23,70±1,124
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	I	28,42±4,567	23,98±3,516	31,62±13,007	38,73±10,133	50,83±10,830	37,23±6,109
	II	4,56±0,685 p<0,001	1,60±0,284 p<0,001	2,52±0,746 p<0,001	5,68±1,266 p<0,001	4,40±0,582 p<0,001	4,03±1,194 p<0,001
	III	1,67±0,556 p<0,001	1,99±0,527	2,08±0,312	8,69±1,641	4,74±1,479	2,22±0,654
	IV	0,85±0,325 p<0,001	1,68±0,505	0,91±0,254 p<0,001	5,81±2,507	2,82±0,695	3,46±1,187

Продовження таблиці 3.19

Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	I	75,55±2,851	74,62±2,859	74,50±2,812	75,55±2,851	75,56±2,852	75,53±2,850
	II	53,83±1,416 p<0,001	56,00±2,001 p<0,001	69,50±3,166 p<0,001	62,33±2,502 p<0,001	64,83±2,611 p<0,001	61,00±2,833 p<0,001
	III	67,40±2,840	77,80±1,081	69,51±1,003	67,17±1,583 p<0,02	73,50±2,500	78,50±1,504
	IV	71,6±1,840 p<0,05	65,5±3,25 p<0,05	66,8±2,12	69,5±3,416	66,75±3,125	7,24±1,840 p<0,01
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	I	64,76±7,818	54,60±9,886	55,15±15,125	53,82±7,615	75,41±15,026	56,61±13,016
	II	80,00±6,351	51,84±8,553	43,60±10,987	92,09±25,731	69,40±13,086	81,51±23,747
	III	40,82±11,721 p<0,02	43,50±11,65	45,17±5,806	99,37±14,717	57,29±13,825	45,80±15,949
	IV	18,74±7,552 p<0,001	61,55±17,265	22,66±6,046	90,13±39,506	47,54±12,844	50,67±18,169
Відносна реабсорбція води, %	I	98,76±0,068	98,69±0,099	98,63±0,098	98,83±0,055	98,75±0,084	98,78±0,075
	II	99,11±0,051 p<0,002	99,13±0,026 p<0,002	98,85±0,071 p<0,01	98,87±0,079	98,90±0,101	99,05±0,052 p<0,02
	III	98,97±0,037 p<0,05	98,77±0,043 p<0,001	98,87±0,028	98,89±0,068	98,71±0,076	98,69±0,073 p<0,01
	IV	98,84±0,034 p<0,001	98,91±0,073 p<0,02	98,91±0,031	98,92±0,056	98,88±0,089	98,79±0,066 p<0,02
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну	I	0,008±0,0004	0,007±0,0006	0,007±0,0006	0,008±0,0004	0,008±0,0006	0,008±0,0005
	II	0,011±0,0006 p<0,002	0,012±0,0004 p<0,001	0,009±0,0006 p<0,05	0,009±0,0007 p<0,001	0,010±0,0009	0,011±0,0007 p<0,01
	III	0,010±0,0003	0,008±0,0002 p<0,001	0,009±0,0002	0,009±0,0006	0,008±0,0007	0,008±0,0004 p<0,01
	IV	0,008±0,0002 p<0,001	0,009±0,0006 p<0,001	0,009±0,0002	0,009±0,0005	0,009±0,0006	0,008±0,0004 p<0,01
Концентрація білка в сечі, г/л	I	0,33±0,026	0,32±0,046	0,42±0,021	0,43±0,0246	0,43±0,031	0,40±0,030
	II	0,50±0,031 p<0,01	0,69±0,039 p<0,001	0,54±0,031 p<0,01	0,88±0,099 p<0,001	0,68±0,068 p<0,01	0,62±0,035 p<0,01
	III	0,51±0,055	0,32±0,013 p<0,001	0,57±0,061	0,58±0,067 p<0,05	0,45±0,033 p<0,02	0,40±0,025 p<0,001
	IV	0,48±0,036	0,59±0,034	0,47±0,043	0,46±0,036 p<0,01	0,35±0,013 p<0,001	0,55±0,026

Закінчення таблиці 3.19

Екскреція білка, мг/хв/100г	I	0,64±0,100	0,76±0,217	0,56±0,040	0,67±0,145	0,97±0,226	0,64±0,138
	II	0,88±0,149	0,75±0,137	0,65±0,188	2,00±0,545 p<0,05	1,16±0,258	1,07±0,249
	III	0,54±0,182	0,38±0,087 p<0,046	0,68±0,107	1,64±0,348	0,82±0,263	0,56±0,181
	IV	0,21±0,080 p<0,01	0,93±0,273	0,25±0,067	1,02±0,426	0,43±0,112 p<0,05	0,75±0,223
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	I	0,99±0,101	1,00±0,140	1,37±0,112	1,20±0,085	1,27±0,097	1,18±0,130
	II	1,073±0,120	1,42±0,071 p<0,001	1,48±0,117	2,38±0,310 p<0,01	1,87±0,341	1,42±0,113
	III	1,26±0,126	0,94±0,048 p<0,001	1,54±0,170	1,56±0,229 p<0,05	1,42±0,153	1,25±0,080
	IV	1,34±0,127	1,51±0,033	1,22±0,123	1,19±0,101 p<0,01	0,94±0,087 p<0,05	1,60±0,101

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 36 тварин; p – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин, n – кількість тварин. I – 12.00С:12.00Т, II – 12.00С:12.00Т+ стрес, III – 12.00С:12.00Т+ стрес+ мелатонін, IV – 12.00С:12.00Т+ стрес+ епіталон.

Таблиця 3.20

**Зміни середньодобових рівнів і амплітуд ритмів  
екскреторної функції нирок у стресованих щурів після уведення епіталону ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні тварини		Стресовані		Стрес+Епіталон	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Діурез, мкл/хв/100г	1,82±0,11	16,6±3,98	1,6±0,16	27,1±6,67	1,22±0,23 p <sub>1</sub> <0,05	50,1±12,72 p <sub>1</sub> <0,05
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	5,07±0,01	0,4±0,12	4,94±0,17	8,6±2,91 p<0,001	4,88±0,11	5,7±1,82 p <sub>1</sub> <0,02
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	21,25±4,19	26,4±8,33	23,09±1,55	18,2±5,61	19,33±2,44	30,1±8,28
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	3,51±0,35	26,9±4,03	3,800±0,05	19,5±6,11	2,59±0,72	73,0±13,66 p <sub>1</sub> <0,01
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	75,22±0,22	0,7±0,24	61,25±2,15 p<0,001	9,4±2,93 p<0,02	68,76±1,2 p <sub>1</sub> <0,001	4,1±1,46 p <sub>1</sub> <0,05

Закінчення таблиці 3.20

Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	60,06±3,34	14,2±/3,61	69,74±7,4	26,8±7,66	48,55±9,45	54,2±1,21 p <sub>1</sub> <0,02
Відносна реабсорбція води, %	98,74±0,03	0,1±0,02	98,99±0,06 p<0,02	0,1±0,05	98,88±0,02	0,1±0,02
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну	0,01±0,002	5,2±2,42	0,01±0,001	12,1±4,03	0,01±0,001	5,2±1,4
Концентрація білка в сечі, г/л	0,38±0,02	12,9±4,53	0,65±0,05 p<0,001	20,7±4,22	0,48±0,03 p <sub>1</sub> <0,02	17,3±4,6
Екскреція білка, мг/хв/100г	0,71±0,05	20,3±3,11	1,09±0,17 p<0,05	44,7±7,08 p<0,01	0,6±0,15	58,3±8,66 p <sub>1</sub> <0,01
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	1,17±0,06	12,8±4,12	1,61±0,17	19,5±6,11	1,3±0,09	18,3±5,45

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 36 тварин; p – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин, n – кількість тварин.

Таблиця 3.21

**Вплив епіталону (0,5 мкг/кг маси тіла) на стрес-індуковані зміни хроноритму ниркового транспорту іонів натрію тварин ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )**

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	I	1,83±0,185	1,87±0,140	1,75±0,125	2,33±0,222	2,77±0,265	2,27±0,154
	II	12,33±2,138 p<0,001	16,87±1,437 p<0,001	14,66±1,083 p<0,001	16,08±0,972 p<0,001	10,41±1,028 p<0,001	6,33±0,805 p<0,001
	III	6,02±0,304 p<0,001	11,01±0,912 p<0,001	6,92±0,542 p<0,001	9,08±0,389 p<0,001	7,03±1,010 p<0,001	2,83±0,333 p<0,001
	IV	8,50±1,212	4,5±1,125 p<0,001	8,20±0,580 p<0,001	10,83±1,333 p<0,01	7,63±0,688 p<0,05	4,00±0,511 p<0,05

Закінчення таблиці 3.21

Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	I	0,33±0,033	0,29±0,043	0,31±0,086	0,35±0,065	0,61±0,117	0,34±0,055
	II	2,07±0,360 p<0,001	1,76±0,236 p<0,001	1,64±0,409 p<0,001	3,73±0,846 p<0,001	1,72±0,196 p<0,001	1,08±0,310 p<0,001
	III	0,63±0,198 p<0,001	1,42±0,375	0,82±0,114	2,51±0,532	1,17±0,264	0,43±0,180
	IV	0,399±0,155 p<0,01	0,822±0,352 p<0,05	0,46±0,126 p<0,05	2,49±1,160	1,01±0,312	0,52±0,161
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	I	0,53±0,042	0,57±0,043	0,56±0,040	0,66±0,086	0,80±0,057	0,66±0,070
	II	2,60±0,427 p<0,001	3,50±0,307 p<0,001	3,94±0,210 p<0,001	4,29±0,248 p<0,001	2,74±0,338 p<0,001	1,45±0,216 p<0,01
	III	1,48±0,092 p<0,05	3,28±0,373	1,86±0,115 p<0,001	2,41±0,205 p<0,001	2,11±0,243	0,88±0,099 p<0,05
	IV	2,38±0,385 p<0,01	1,10±0,211 p<0,001	2,15±0,192 p<0,001	2,81±0,418 p<0,02	2,03±0,216	1,17±0,182
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	I	132,50±5,833	132,81±6,406	133,75±5,937	132,50±5,833	132,51±5,836	132,52±5,831
	II	124,58±4,791	121,25±1,562	127,91±8,125	131,66±7,083	125,83±6,667	114,16±8,194
	III	110,00±3,004 p<0,05	143,02±12,802	131,25±3,334	128,33±6,667	124,17±4,444	131,67±5,834
	IV	71,60±1,840	128,13±2,813	135,01±5,041	133,75±6,46	136,25±5,002	119,50±2,803
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	I	0,64±0,08	0,51±0,023	0,55±0,03	0,49±0,01	0,60±0,041	0,52±0,047
	II	0,49±0,109	1,18±0,178 p<0,01	0,68±0,030 p<0,02	0,65±0,046 p<0,01	0,39±0,038 p<0,01	0,30±0,058 p<0,02
	III	0,38±0,009	0,75±0,111	0,409±0,042	0,28±0,020 p<0,001	0,29±0,054	0,17±0,024
	IV	0,49±0,058	0,40±0,085 p<0,01	0,54±0,037 p<0,02	0,43±0,066 p<0,02	0,34±0,036	0,17±0,018

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно із стресованою групою тварин. I – 12.00С:12.00Т, II – 12.00С:12.00Т+ стрес, III – 12.00С:12.00Т+ стрес+ мелатонін, IV – 12.00С:12.00Т+ стрес+ епіталон.

Таблиця 3.22

Вплив введення епіталону на стрес-індуковані зміни мезора і амплітуди ритмів ниркового транспорту іонів натрію у білих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник	Інтактні тварини		Стресовані		Стрес+Епіталон	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,82±0,11	16,6±3,98	1,6±0,16	27,1±6,67	7,28±1,01 $p_1 < 0,001$	35,6±8,88
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	5,07±0,01	0,4±0,12	4,94±0,17	8,6±2,91 $p < 0,001$	0,95±0,27 $p_1 < 0,001$	83,2±12,44 $p_1 < 0,001$
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	21,25±4,19	26,4±8,33	23,09±1,55	18,2±5,61	1,94±0,27 $p_1 < 0,001$	35,0±8,98 $p_1 < 0,001$
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	132,77±0,17	0,4±0,011	124,23±2,18	4,9±1,46	129,61±2,7	5,1±1,73 $p_1 < 0,05$

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно із стресованою групою тварин.

У межах періоду спостереження відзначали перебудову ритму концентраційного індексу ендogenous креатиніну з порушенням його фазової структури (табл. 3.20). Мезор ритму знаходився на рівні  $0,01 \pm 0,001$  од.

Уведення епіталону стресованим щурам викликало зниження рівня концентрації іонів калію в сечі та їх екскреції порівняно як з інтактними тваринами, так і щурами, яких стресували, а також на цьому фоні вводили мелатонін. Зокрема о 12.00, 24.00 та 04.00 год цей показник істотно перевищував дані інтактної групи тварин. Оскільки середньодобові рівні ритмів екскреції іонів калію і концентрації його в сечі наближалися до таких у тварин, яким вводили епіталон і перебували за стресової ситуації, можна припустити, що саме порушення синтезу мелатоніну є однією з причин, що зумовлює десинхроноз механізмів калієвого гомеостазу.

Хроноритмічні перебудови екскреторної функції нирок супроводжувалися, як і при застосуванні мелатоніну на фоні стресу, зниженням екскреції білка впродовж доби. Мезор ритму становив  $1,30 \pm 0,09$  мг/100 мкл клубочкового фільтрату і зменшувався на 20%, амплітуда на 35 % стосовно величин у стресованих щурів без корекції. Подібно змінювалися хроноритми концентрації білка в сечі (рис. 3.37).

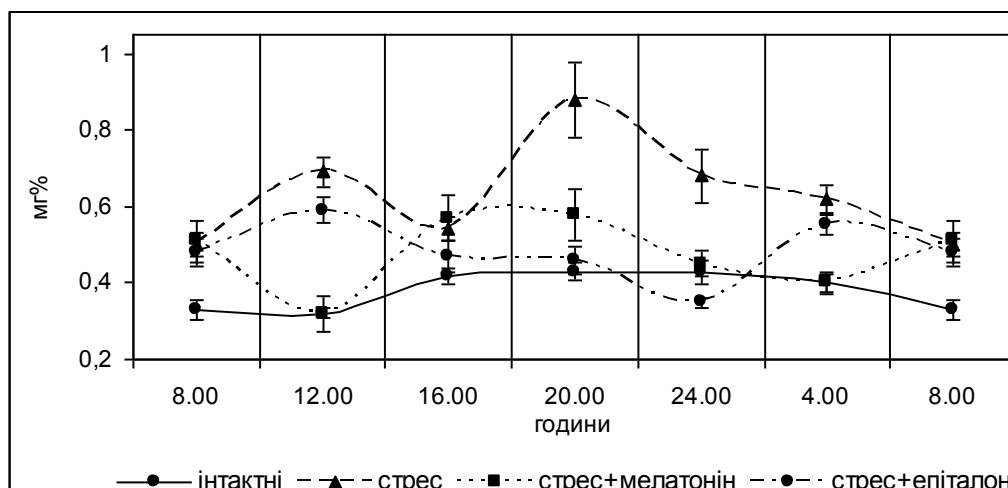


Рис. 3.37. Ефекти епіталону на стрес-індуковані зміни концентрації білка у старих щурів.

Уведення епіталону стресованим щурам віддзеркалилось і на параметрах іонорегулювальної функції нирок. Порушення механізмів ниркового



транспорту іонів натрію спричинене утримуванням щурів у стані знерухомлення, піддавалося корекції епіталоном. Виявлено зниження екскреції даного катіона з тенденцією до нормалізації впродовж періоду спостережень. Хроноритм набував інверсного характеру відносно контрольних хронограм з акрофазою о 20.00 год і батифазою о 16.00 год. Середньодобовий рівень ритму істотно перевищував показники інтактних тварин, а амплітуда ритму подвоювалася (табл. 3.22). Незважаючи на таке порівняння стосовно інтактних тварин, в інших досліджуваних групах – отримані дані найнижчі. Подібних змін набувала структура ритму концентрації іонів натрію в сечі. При цьому спостерігали зміщення акрофази з 24.00 на 20.00 год порівняно з інтактними тваринами. Ураховуючи підвищений рівень катіона в плазмі крові у проміжку від 12.00 до 20.00 мезор ритму вірогідно відрізнявся, амплітуда вдвічі більша щодо контрольних показників (табл. 3.22).

Упродовж усього періоду спостережень архітектоніка ритму натрій/калієвого коефіцієнта двофазна. Мезор ритму становив  $0,39 \pm 0,04$  од, а його амплітуда не зазнавала вірогідних змін щодо контролю (табл. 3.21). Середньодобовий рівень ритму коефіцієнта вищий, ніж у контролі та тварин, які знаходилися за умов стресу та уведення мелатоніну. Це дає можливість стверджувати, що ефекти мелатоніну стимулюють підвищення натрій/калієвого коефіцієнта.

Хроноритмічні перебудови кислотовидільної функції проявлялися незначним зниженням середньодобового рівня рН сечі порівняно з щурами, яким корекцію не проводили (табл. 3.23, табл. 3.24). Однак він залишався підвищеним відносно такого в контролі та тварин, яким вводили мелатонін на фоні стресу. Акрофаза ритму співпадала з контролем і припадала на 24.00 год, батифаза – на 04.00 год (рис. 3.38).

Як і корекція мелатоніном, застосування епіталону на фоні стресу проявляли односпрямованість стосовно екскреції кислот, що титруються. За таких умов у період з 24.00 до 04.00 год реєстрували зростання виведення вказаних сполук, а ін'єкції епіталону нівелювали цей ефект (рис. 3.39, табл. 3.23).

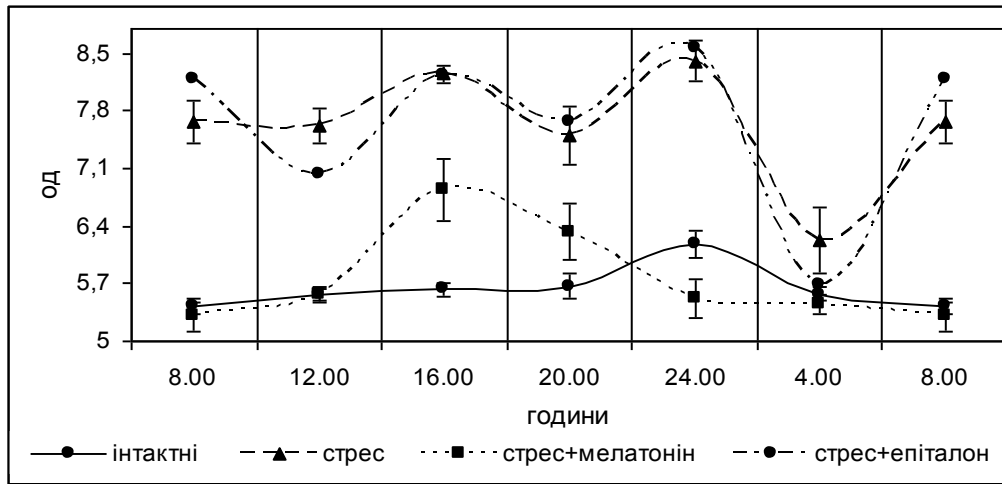


Рис. 3.38. Динаміка стрес-зумовлених змін рН сечі в щурів, яких піддали стресору.

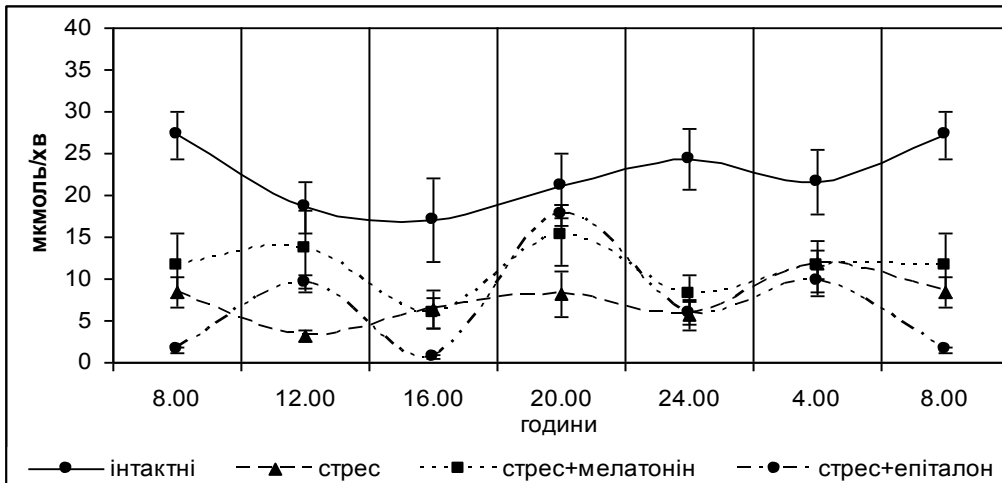


Рис. 3.39. Хроноритми екскреції кислот, що титруються, в стресованих щурів за умов уведення епіталону.

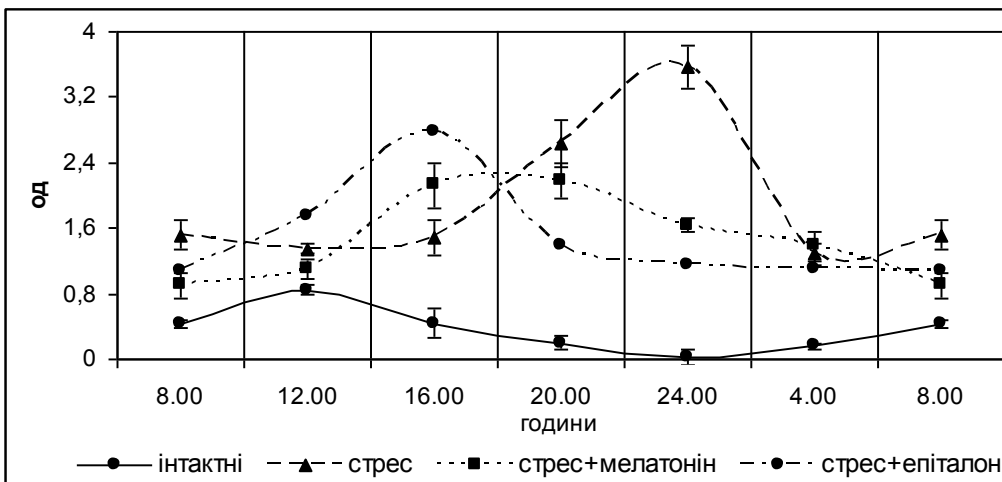


Рис. 3.40. Хроноритми екскреції аміаку за умов уведення епіталону стресованим щурам.

Таблиця 3.23

Вплив епіталону (0,5 мкг/кг маси тіла) на хроноритми кислоторегулювальної функції нирок у стресованих тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
рН сечі	I	5,43±0,093	5,56±0,073	5,63±0,082	5,67±0,148	6,18±0,448	5,57±0,084
	II	7,67±0,258 p<0,001	7,62±0,218 p<0,001	8,25±0,101 p<0,001	7,51±0,364 p<0,001	8,41±0,254 p<0,001	6,23±0,404 p<0,001
	III	5,30±0,182 p<0,001	5,57±0,102 p<0,001	6,84±0,380 p<0,005	6,33±0,350 p<0,05	5,52±0,239 p<0,001	5,45±0,108
	IV	8,18±0,102	7,02±0,087 p<0,05	8,24±0,076	7,67±0,445	8,56±0,206	5,68±0,162
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	I	1,42±0,225	1,25±0,268	1,41±0,394	1,15±0,222	1,89±0,503	1,18±0,256
	II	1,51±0,153	0,92±0,125 p<0,001	1,07±0,265	1,97±0,464	1,62±0,261	1,34±0,315
	III	0,76±0,226 p<0,05	0,94±0,240	0,99±0,134	2,23±0,458	1,28±0,352	0,98±0,301
	IV	0,44±0,168 p<0,001	1,26±0,324	0,54±0,147	1,83±0,740	1,14±0,304	1,05±0,317
Екскреція іонів водню, нмоль/ 100 мкл КФ	I	2,17±0,131	2,33±0,184	2,47±0,186	2,09±0,114	2,34±0,220	2,18±0,138
	II	1,86±0,080	1,83±0,058 p<0,05	2,52±0,160	2,37±0,177	2,43±0,215	1,80±0,125
	III	1,79±0,084	2,19±0,074 p<0,01	2,26±0,098	2,13±0,174	2,31±0,172	2,31±0,148 p<0,05
	IV	2,53±0,089 p<0,001	2,20±0,147 p<0,05	2,38±0,073	2,27±0,138	2,49±0,225	2,18±0,118 p<0,05
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	I	27,22±2,808	18,54±3,071	17,05±5,030	21,11±3,945	24,35±3,563	21,64±3,855
	II	8,37±1,839 p<0,001	3,14±0,622 p<0,001	6,30±2,294 p<0,001	8,18±2,835 p<0,001	5,62±1,685 p<0,001	11,73±4,763
	III	11,57±3,897	13,62±5,656 p<0,013	5,89±1,756	15,18±3,586	8,29±2,111	11,51±3,030
	IV	1,50±0,428 p<0,01	9,47±1,057 p<0,001	0,61±0,187 p<0,05	17,71±1,256 p<0,02	6,00±1,435	9,82±1,847

Закінчення таблиці 3.23

Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	35,12±4,412	29,41±3,182	41,51±7,175	36,44±5,295	42,41±5,842
	II	10,34±2,198 p<0,001	6,02±0,809 p<0,001	13,42±2,231 p<0,001	7,92±1,106 p<0,001	9,19±2,577 p<0,001	11,91±2,319 p<0,001
	III	26,15±2,072 p<0,001	24,72±6,079 p<0,001	11,70±2,828	14,62±1,939 p<0,02	15,77±2,451	30,41±4,217 p<0,01
	IV	13,70±2,960	10,03±2,337 p<0,01	2,65±0,443 p<0,001	10,83±1,974	9,95±1,527	12,30±2,522
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	I	18,74±1,953	10,39±1,772	10,54±2,137	9,44±1,425	13,08±1,846	13,60±2,914
	II	10,59±1,803 p<0,02	4,08±0,666 p<0,01	11,54±5,636	18,61±5,948	15,47±2,988	11,01±2,970
	III	8,93±2,869	10,63±3,177	9,42±±2,867	25,48±3,756	13,73±3,638	13,90±2,114 p<0,02
	IV	1,29±0,333 p<0,001	15,64±3,595 p<0,001	1,79±0,438 p<0,001	13,81±3,932	6,68±1,716 p<0,05	7,45±1,593
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	20,09±1,814	22,09±2,139	17,60±1,744	21,00±4,072	27,01±4,784
	II	13,02±1,641 p<0,001	8,06±0,958 p<0,001	20,50±5,846	19,37±0,899	22,38±1,715	14,06±2,249 p<0,05
	III	22,21±1,989 p<0,05	23,56±4,643 p<0,001	20,65±6,356	28,04±5,009	24,75±2,610	41,09±4,182 p<0,001
	IV	6,99±0,575 p<0,01	26,40±4,756 p<0,01	6,14±1,224 p<0,05	11,73±1,632 p<0,01	11,13±2,656 p<0,01	11,55±2,835
<i>Амонійний коефіцієнт</i>	I	0,69±0,051	0,61±0,067	0,84±0,178	0,48±0,073	0,59±0,091	0,61±0,041
	II	1,52±0,189 p<0,01	1,35±0,054 p<0,001	1,48±0,218 p<0,05	2,64±0,287 p<0,001	3,56±0,966 p<0,001	1,29±0,129 p<0,001
	III	0,90±0,157 p<0,05	1,10±0,126	2,12±0,482	2,18±0,504	1,64±0,091	1,38±0,174
	IV	1,08±0,433	17,60±2,848 p<0,001	2,78±0,435 p<0,05	1,39±0,203 p<0,01	1,14±0,026 p<0,05	1,09±0,158

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно із стресованою групою тварин. I – 12.00С:12.00Т, II – 12.00С:12.00Т+ стрес, III – 12.00С:12.00Т+ стрес+ мелатонін, IV – 12.00С:12.00Т+ стрес+ епіталон.

Таблиця 3.24

**Вплив введення епіталону на стрес-індуковані зміни мезора і амплітуди ритмів показників кислотовидільної функції нирок у білих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні тварини		Стресовані		Стрес+Епіталон	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
рН сечі	5,67±0,08	4,6±1,24	7,62±0,25 p<0,001	10,1±2,72	75,6±0,4 p <sub>1</sub> <0,001	14,1±4,44
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	1,38±0,10	19,8±3,41	1,41±0,15	27,1±6,23	1,04±0,18	48,90±11,85
Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	2,26±0,06	6,2±2,15	2,14±0,15	15,8±5,95	2,34±0,06	6,3±2,22
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	21,65±1,38	17,2±4,5	7,22±1,1 p<0,001	40,4±8,16 p<0,05	7,52±2,41	83,9±18,8
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл КФ	35,72±2,2	15,8±5,14	9,8±1,05 p<0,001	27,4±6,32	9,91±1,21	38,7±9,14
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	12,63±1,25	27,0±4,34	11,88±1,72	41,5±7,09	7,78±2,32	76,6±11,5 p <sub>1</sub> <0,05
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	22,87±1,78	19,5±4,9	16,23±2,26p<0,044	33,5±8,24	12,32±2,35	59,3±10,2
Амонійний коефіцієнт	0,64±0,04	18,8±3,39	1,97±0,38 p<0,01	46,9±4,54 p<0,001	4,18±2,24	78,7±20,1

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 36 тварин; p – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин.

Характерно, що мезор ритму показника нижчий, а амплітуда – вища відносно величин інтактних тварин та щурів, яким препарати не ін'єкували (табл. 3.24).

Подібну динаміку реєстрували й для екскреції аміаку. На відміну від уведення хронобіотика, застосування тетрапептиду на фоні іммобілізаційного стресу спричинило суттєве зниження екскреції вказаної сполуки впродовж періоду спостережень, крім 12.00 год (табл. 3.23, рис. 3.40). Циркадіанний ритм проявляв однофазний характер з акрофазою о 12.00 год, батифазу відзначали о 16.00 год.

Таким чином, за умов уведення епіталону стресованим щурам спостерігали хроноритмічні перебудови архітектоніки та фазової структури ритмів більшості показників основних ниркових функцій. Виявлено підвищення амплітуд хроноритмів, що, як ми вважаємо, є важливою діагностичною ознакою напруження адаптивних можливостей на межі переходу адаптації в дезадаптацію.

На підставі отриманих даних проведеної серії досліджень встановлено, що застосуванням епіталону не завжди вдається домогтися нормалізації інтегральних показників хроноритмічної організації екскреторної, іонорегулювальної та кислотовидільної функцій нирок, як це краще прослідковується у випадку ін'єкцій стресованим щурам природного хронобіотика – епіфізарного мелатоніну.

Наведені результати свідчать про виражену дезорганізацію регуляції водно-сольової та кислотно-лужної рівноваги у щурів під дією іммобілізаційного стресу і переконують у визначній інтегрувальній ролі епіфізарного мелатоніну, а також не менш важливій ролі синтетичного тетрапептиду – епіталону, як коректорів вказаних стрес-індукованих змін хроноритмів ренальних функцій.

Триденне уведення епіталону в дозі 0,5 мкг/кг як антистресового чинника підвищило плазмовий рівень мелатоніну на 17,1% (до  $20,5 \pm 2,08$  пг/мл, з вірогідністю  $p < 0,159$ ) щодо середнього рівня мелатоніну у плазмі крові щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес.

Результати досліджень анти- прооксидантної системи старих щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес та проводили корекцію тетрапептидом викликаних постіммобілізаційних змін дозволили встановити позитивний ефект епіталону. За даних умов експерименту рівень малонового альдегіду знизився з 26,2 до 21,6 мкмоль/мл, що на 17,5% вище за рівень МА при стресуванні тварин ( $p < 0,01$ ), а рівень ОМБ знизився на 35%, що на 13,5% менше, ніж при застосуванні мелатоніну ( $p < 0,077$ ). Це характеризує епіталон як препарат, що має позитивний ефект для корекції постстресових змін.

Антиоксидантна система захисту яскраво прореагувала на уведення епіталону як коректора негативних вільнорадикальних процесів. Найактивніше прореагував фермент каталаза, активність якого зросла більше ніж у двічі ( $p < 0,001$ ), показник HS-груп зріс на 30% відповідно до даних у щурів, яким моделювали стрес. Рівень церулоплазміну проявляв тенденцію щодо відновлення у бік контрольних величин (зниження на 34,5% до результатів у стресованої групи щурів -  $p < 0,001$  (табл. 3.25). Наведені результати дозволяють стверджувати, що система ВРОЛБ позитивно реагує на уведений препарат щодо корекції зовнішнього стресового подразника.

Таблиця 3.25

**Показники про- та антиоксидантного стану крові старих щурів за умов іммобілізаційного стресу за звичайних умов освітлення ( $\bar{x} \pm S_x$ ;  $n < 6$ )**

Показник	Умови досліджу	
	12.00С:12.00Т+ІС	12.00С:12.00Т+ІС +епіталон
Малоновий альдегід, мкмоль/мл	26,2±0,46	21,6±1,39 $p_1 < 0,01$
ОМБ, мкмоль/г білка	1,38±0,08	0,90±0,23
Церулоплазмін, мг/л	539±4,35	353±4,57 $p_1 < 0,001$
Каталаза, мкмоль/хв·л	6,10±0,12	13,2±0,12 $p_1 < 0,001$
HS-групи, мкмоль/мл	0,43±0,03	0,56±0,02 $p_1 < 0,01$

**Примітки:**  $p$  – вірогідність різниць між показниками дослідних та стресованих тварин;  $n$  – кількість тварин.

Таким чином, уведення епіталону як коректора стресу вказує на його позитивний антистресорний ефект. Відмічається відновлення морфофункціональних змін як у нирках, так і в епіфізі мозку. Гістохімічні дослідження вказують на відновлення шляхом триденного уведення епіталону рівня ОМБ при стресі у цитоплазмі світлих пінеалоцитів у середньому на 11%, а у темних – приблизно на 3%, а в епітелії проксимальних каналців цей показник знизився на 15%, що вказує на ефективну антиоксидантну дію епіталону, але дещо менш ефективну, ніж природного пептиду мелатоніну.

Узагальнюючи результати, дійшли висновків:

- функції нирок у контрольної групи тварин підпорядковані чіткій хроноритмічній організації, зокрема, це торкається хроноритмів показників екскреторної, іонорегулювальної та кислоторегулювальної функцій нирок;
- під час перебування тварин за фізіологічних умов хроноритми досліджуваних функцій нирок характеризувалися відносно стабільною амплітудою, яка не перевищувала 15% від величин мезора;
- 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 у досліджувані інтервали доби. Крім того, слід звернути уваги на підвищення амплітуд ритмів більшості досліджуваних показників;
- харктерним при стресі було зниження рівня мелатоніну майже на 17%;
- система ВРОЛБ адекватно прореагувала на зовнішній стресовий подразник, із зростанням окисних процесів в організмі щурів, яких піддали 1-годинному іммобілізаційному стресу;
- корекція мелатоніном іммобілізаційного стресу вірогідно знижує окисні процеси в клітинах досліджуваних органів, а саме у цитоплазмі світлих пінеалоцитів показник ОМБ знизився у середньому на 12%, темних – на 5%, а в епітелії проксимальних каналців – на 16%;



-уведення епіталону як коректора стресу вказує на його позитивний антистресорний ефект на всіх досліджуваних етапах експерименту.

*Матеріали цього розділу дисертаційної роботи опубліковані у працях:*

1. Ломакіна Ю. В. Гістологічні та ультраструктурні критерії ефективності корекції мелатоніном та епіталоном пінеалоцитів старих щурів після іммобілізаційного стресу / В. П. Пішак, І. С. Давиденко // Проблемы старения и долголетия. — 2008— Т. XVII, № 1.— С. 3—8.
2. Ломакіна Ю. В., Пішак В. П. Спосіб корекції епіталоном показників про— та антиоксидантного стану крові при експериментальному моделюванні іммобілізаційного стресу у старих щурів на фоні зміненого фотоперіоду // Деклараційний патент на корисну модель UA (України) №35208, А61К31/00. Заявка №u200813568 від 21.03.2008 р. Видано — Бюл. №6 від 10.09.2008 р.
3. Ломакіна Ю.В., Пішак В.П., Висоцька В.Г., Булик Р.Є. Застосування епіталону як препарату для корекції змін про- та антиоксидантного захисту при стресі в експерименті // Деклараційний патент на корисну модель UA (України) №34455, А61К31/00. Заявка №u2008 03519 від 19.03.2008 р. Видано — Бюл. №6 від 11.08.2008 р.
4. 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.
5. Ломакіна Ю. В. Окиснювальна модифікація білків у світлих та темних пінеало-цитах щурів (за гістохімічними даними) / у співавторстві В. П. Пішак, І. С. Давиденко // Патологоанатомічна діагностика хвороб людини: здобутки, проблеми, перспективи : Всеукр. наук.-практ. конф., присв. 100-річчю з дня нар-ня Н. М. Шінкермана 21—22 трав. 2007 р. : тези доп. — Чернівці : Бук. держ. мед. ун-т, 2007. — С. 143—145.
6. Ломакина Ю. В. Структурная организация и окислительная модификация белков пинеалоцитов старых крыс в зависимости от длительности фотопериода

- / в соавторстве В. П. Пишак, М. И. Грицюк // Адаптационная физиология и качество жизни: проблемы традиционной и инновационной медицины: междунар. симпоз., посвящ. 80-летию акад. РАМН Н. А. Агаджаняна 14—16 мая 2008 г. : тезисы докл. — М. : Рос. ун-т дружбы народов, 2008. — С. 1—3.
7. Ломакіна Ю. В. Вплив іммобілізаційного стресу на функціональний стан нирок за умов нормального функціонування шишкоподібної залози / Ю. В. Ломакіна, М. І. Грицюк // Молодь та поступ біології : III Міжнар. конф. студ. та аспір. 23-27 квітня 2007 р. : тези доп. — Львів, 2005. — С. 462-463.
8. 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.
9. Ломакіна Ю. В. Стрес-індуковані зміни про- та антиоксидантного стану крові старих щурів за умов уведення синтетичного біорегулятора за різних режимів освітлення /у співавторстві В. П. Пішак // Вісник наукових досліджень. — 2008. — Т. 51, № 2. — С. 49—50.
10. 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.
11. Lomakina J. V. Comparison of kidney functions indexes at the condition of introduction of exogenous melatonin before 1 hour to the action of the immobilization stress / Pishak V. P., Grytsyuk M. I. // Annales Universitatis Mariae Curie-Sclodowska. — 2008. — Vol. XXI, № 2, 33. — P. 187-189.

## РОЗДІЛ 4

**ЗМІНИ СТРУКТУРИ НИРОК ТА ШИШКОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ  
У СТАРИХ ЩУРІВ НА ФОНІ СВІТЛОВОЇ СТИМУЛЯЦІЇ**

У цьому розділі розкривається вплив іммобілізаційного стресу на морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку за умов світлової депривації. Аналізується ефективність застосування природного та синтетичного хронобіотиків – мелатоніну і епіталону для відновлення хроноритмічних та постстресорних перебудов у досліджуваних органах. У підрозділі 4.1 описано морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку старих щурів за умов гіпофункції шишкоподібної залози, враховуючи концентрацію мелатоніну та основні параметри процесів перекисного окиснення ліпідів та білків у плазмі крові з паралельним вивченням імуногістохімічної характеристики окиснювальної модифікації білків (ОМБ) тканини нирок та пінеальної залози. Основним напрямком підрозділу 4.2 обрано вивчення вищезазначених параметрів на фоні одногодинного іммобілізаційного стресу. Підрозділи 4.3 та 4.4 присвячені проведенню фармакотерапевтичної корекції змін, викликаних іммобілізаційним стресом.

**4.1. Морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку за умов тривалої світлової експозиції**

Гістологічними дослідженнями епіфіза мозку старих щурів встановлено, що співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами складало  $0,51 \pm 0,018$  (світлих пінеалоцитів  $34,0 \pm 1,5\%$ , темних  $66,0 \pm 1,6\%$ ), що вказує на збільшення темних клітин майже удвічі порівняно з контрольною групою тварин (рис. 4.1).

Коефіцієнт  $P$ , який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив у світлих пінеалоцитах  $1,118 \pm 0,013$ , у темних пінеалоцитах -  $1,430 \pm 0,010$  (рис. 4.2).

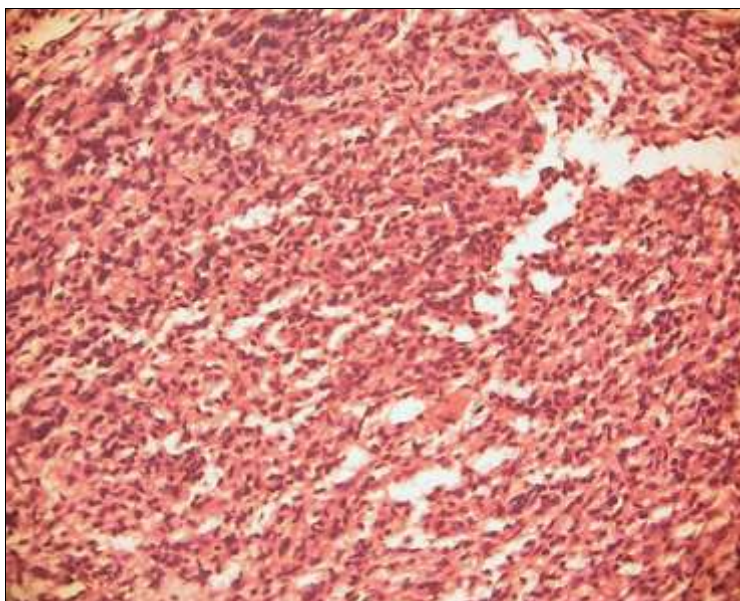


Рис.4.1. Морфологічний стан епіфіза мозку старого щура при утриманні його за умов гіпофункції шишкоподібної залози. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

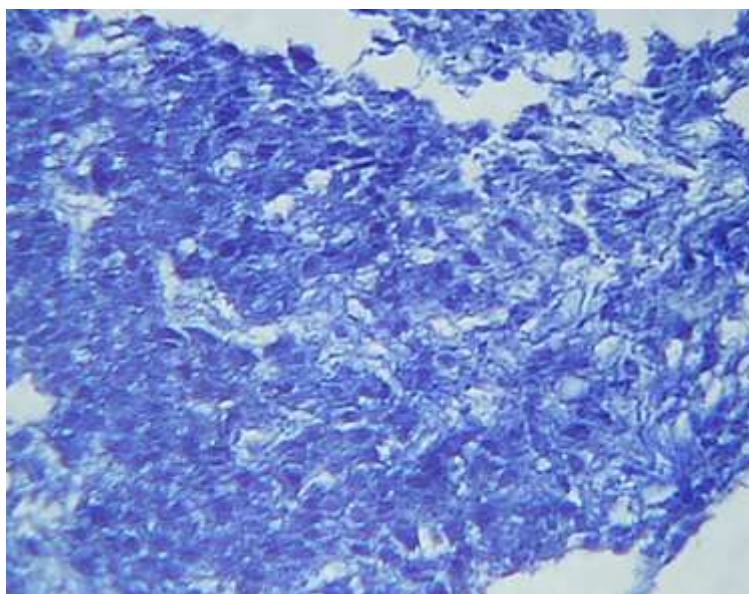


Рис.4.2. Світлова мікроскопія епіфіза старого щура при утриманні його за умов гіпофункції ШЗ. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

Дослідження субмікроскопічної організації епіфіза мозку в умовах цілодобового семиденного освітлення показали, що більшість клітин мають округло-овальні, частково інвагіновані ядра. У світлій каріоплазмі виявлено невелике компактне ядро, окремі грудочки гетерохроматину. Чітка каріолема має невеликий перинуклеарний простір. У цитоплазмі наявні окремі осміюфільні гранули серотоніну. Канальці ендоплазматичного ретикулуму та цистерни комплексу Гольджі мають вузькі просвіти. Мітохондрій небагато, вони невеликі, з помірно оксифільним матриксом і нечисельними кристами (рис. 4.3). Описані вище зміни свідчать про пригнічення функціональної активності пінеалоцитів.

Під час вивчення будови паренхіми і стромы кіркової, мозкової речовини або сосочка нирок старих щурів за умов постійного семиденного освітлення нами виявлені незначні ознаки альтерації (дистрофія, некроз, апоптоз). Відсоток патологічних клітин становив  $7,0 \pm 0,02\%$ , що вказує на негативний вплив тривалої світлової експозиції на морфологічну характеристику ниркової тканини (рис. 4.4).

Вивчаючи вплив тривалого освітлення на стан ОМБ у нирках за допомогою комп'ютерної мікроспектрометрії при використанні гістохімічної методики з бромфеноловим синім за Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки доведено, що коефіцієнт Р в епітелії проксимальних канальців нирок зріс на 3%, досягнувши значення  $0,901 \pm 0,011$  (рис.4.5).

При експериментальних умовах цілодобового освітлення субмікроскопічними дослідженнями встановлено помірні зміни компонентів фільтраційного бар'єру нирок щурів. Розширені кровоносні капіляри наповнені форменими елементами крові (рис. 4.6). Потовщений ендотелій утворений клітинами з темною цитоплазмою. Не зазнала змін тришарова базальна мембрана з чіткими фенестрами. набряк подоцитів проявляється просвітленням і вакуолізацією цитоплазми. Пікнотично змінене ядро оточене хвилястою каріолемою, місцями розширені діафрагми між цитопедиклами. Також спостерігається набряк міжклітинної речовини сполучної тканини.

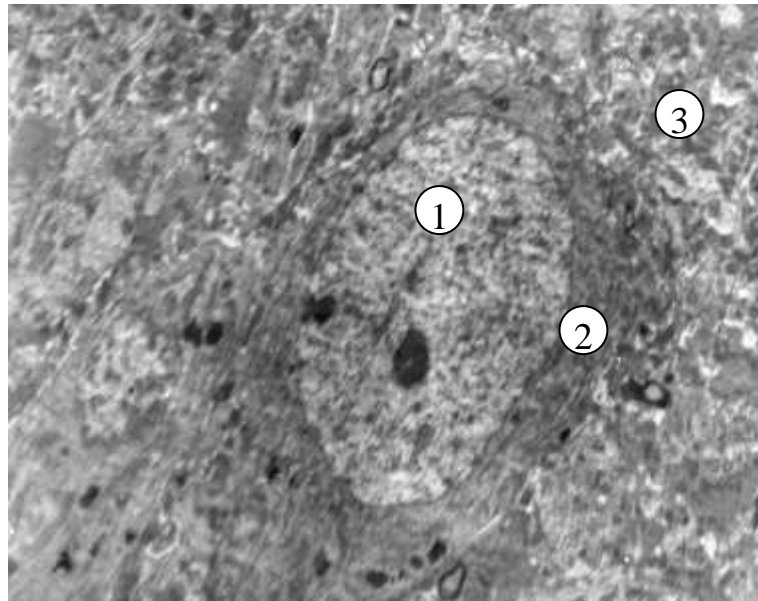


Рис. 4.3. Субмікроскопічний стан пінеалоцита при 24-годинному освітленні впродовж 7 діб. Овальне ядро (1), гранулярний ендоплазматичний ретикулум (2), секреторні гранули (3). x 9 000

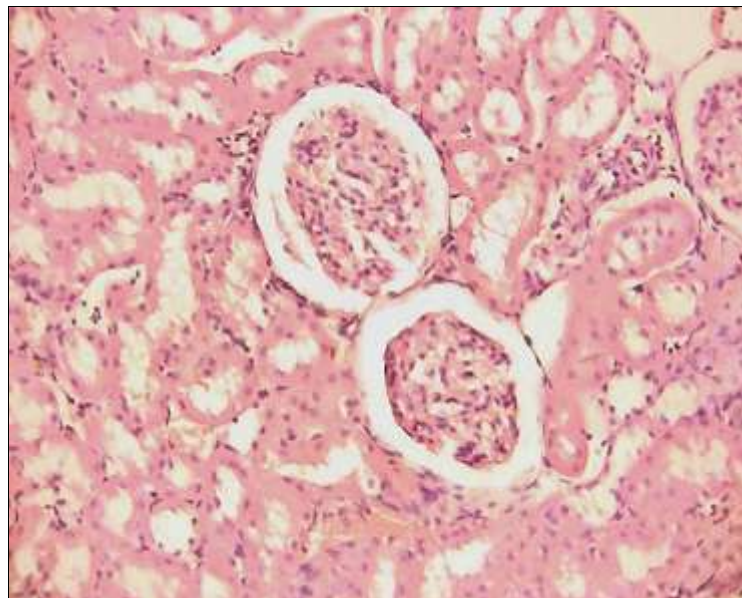


Рис.4.4.Гістологічна структура кіркової речовини нирки старого щура при утриманні його за умов семиденної світлової експозиції. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.



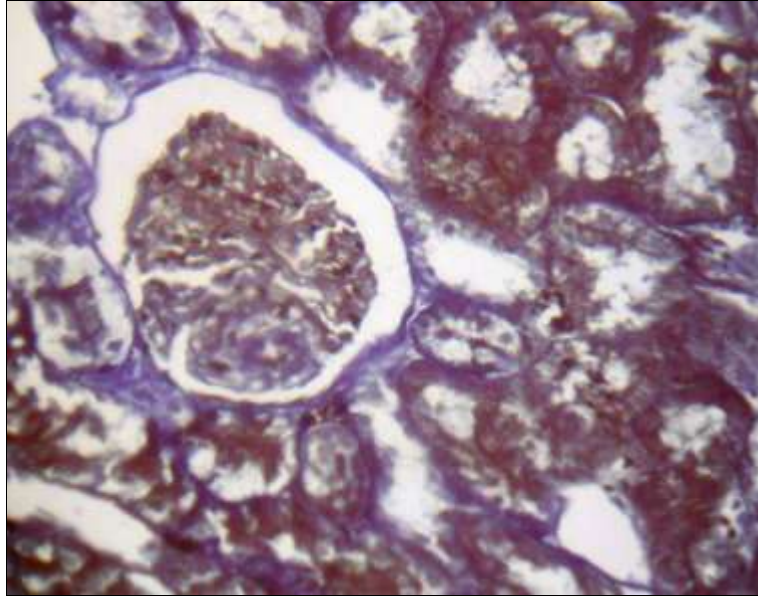


Рис. 4.5. Кіркова речовина нирки старого щура при утриманні його за умов гіпофункції шишкоподібної залози. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.



Рис. 4.6. Ультраструктура фільтраційного бар'єру нирки щура при цілодобовому освітленні. Помірне потовщення ендотелію (1), набряк подоцита (2) з пошкодженням органел. x 15 000

Цілодобове освітлення активує процеси реабсорції, який проявляється окремими реактивними змінами епітеліоцитів проксимального відділу нефронів, а саме: витонченням, а місцями злуцненням мікрворсинок, просвітленням цитоплазми, базальна посмугованість набуває неправильної форми (рис. 4.7). Спостерігається гіперплазія і зміна форми мітохондрій, які заповнені густою сіткою крист.

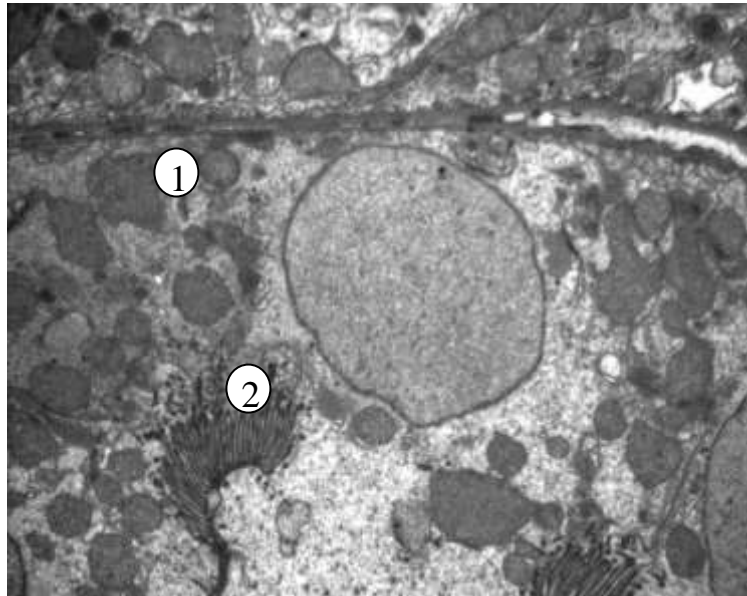


Рис. 4.7. Субмікроскопічна будова епітеліоцита проксимального відділу каналця нефрона щура при семидобовому 24-годинному освітленні . Гіпертрофія мітохондрій (1), короткі складки базальної плазмолеми (2). х 20 000

Моделювання тваринам гіпофункції шишкоподібної залози (семидобове утримування щурів за умов постійного освітлення) віддзеркалилося порушенням хроноритмічної впорядкованості екскреторної, іонорегулювальної та кислоторе-гулювальної функцій нирок.

Зокрема, хроноритм діурезу втрачав синусоїдальний характер і набував дво-фазної структури. Акрофаза ритму зміщувалася з 24.00 на 08.00 год (рис. 4.8). При цьому спостерігали зниження як мезору ритму сечовиділення на 23%, який склав  $1,4 \pm 0,13$  мкл/хв/100г, так і його амплітуди щодо показників інтактних тварин (табл. 4.1).



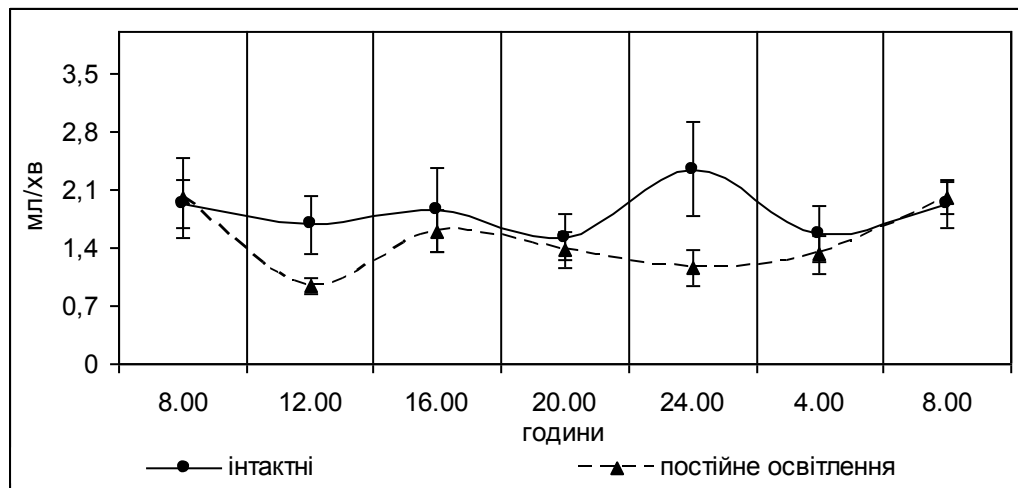


Рис. 4.8. Хроноритми діурезу в старих щурів, яких утримували за умов світлового стресу, мкл/хв/100г

Таблиця 4.1

**Вплив гіпофункції ШЗ на мезор і амплітуду ритмів екскреторної функції нирок у білих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники	Інтактні (n<6)		Гіпофункція ШЗ (n<6)	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Діурез, мкл/хв/100г	1,82±0,11	16,6±3,98	1,4±0,13 p<0,01	26,13±4,79
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	5,07±0,01	0,4±0,12	5,14±0,03 p<0,05	1,7±0,54 p<0,05
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	14,41±0,94	19,6±5,62	22,92±4,8	15,7±9,93
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	35,1±0,35	26,9±0,3	47,35±8,79	46,3±6,26 p<0,02
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	75,22±0,22	0,7±0,24	74,89±0,56	2,1±0,63
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	310,06±24,3	14,2±3,61	533,98±44,66 p<0,001	24,2±4,8
Відносна реабсорбція води, %	98,74±0,03	0,1±0,02	99,89±0,05 p<0,001	0,1±0,001
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну	0,01±0,002	5,2±2,42	0,09±0,01 p<0,001	3,7±1,11
Концентрація білка в сечі, г/л	0,38±0,02	12,9±4,53	0,57±0,04 p<0,02	15,8±4,41
Екскреція білка, мг/хв/100г	0,71±0,05	0,71±0,05	0,79±0,08	22,7±6,43 p<0,01
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	1,17±0,06	12,8±4,12	0,15±0,01 p<0,001	16,2±5,75

**Примітка:** p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.

На фоні світлового стресу дезорганізація фільтраційної спроможності нирок спричинила зростання ШКФ у всі періоди доби щодо величин інтактних щурів (табл. 4.2). Хроноритм швидкості клубочкової фільтрації відрізнявся антифазним характером щодо хронограм інтактної групи (рис. 4.9) з акрофазою о 16.00 год, а батифазою о 24.00 год. За таких умов експерименту середньодобовий рівень і амплітуда ритму вірогідно вищі, ніж в інтактних тварин (табл. 4.2).

Зазначений дисонанс зумовлений підвищенням відносної реабсорбції води впродовж періоду спостережень (табл. 4.2). У тварин з гіпофункцією епіфіза мозку базисний рівень хроноритму відносної реабсорбції води вірогідно зростає порівняно з контролем (рис. 4.10).

Такий рівень ультрафільтрації істотно не змінював концентрації креатиніну в плазмі крові впродовж доби, яка залишалася подібною до такої в інтактних щурів (табл. 4.2). Однак виявлено зміщення акрофази ритму з 20.00 год на 16.00 год, а батифази, навпаки, – з 16.00 на 20.00 год.

Такі циркадіанні зміни характеризували нестабільність і напруженість роботи гломерулярного апарату нирок.

Гіпофункція ШЗ викликала значне збільшення концентрації іонів калію в сечі порівняно з інтактними тваринами. Амплітуда ритму зросла майже втричі, порушувалася його архітектоніка. Мезор вірогідно відрізнявся від такого у тварин, що знаходились за умов стандартного фотоперіоду (табл. 4.1).

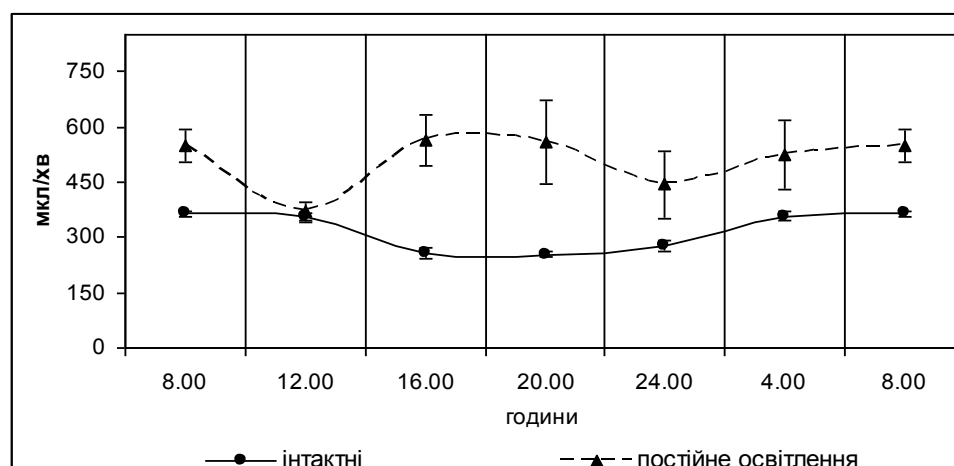


Рис. 4.9. Вплив гіпофункції епіфіза мозку на хроноритми швидкості клубочкової фільтрації в щурів, які перебували за умов семидобового освітлення.

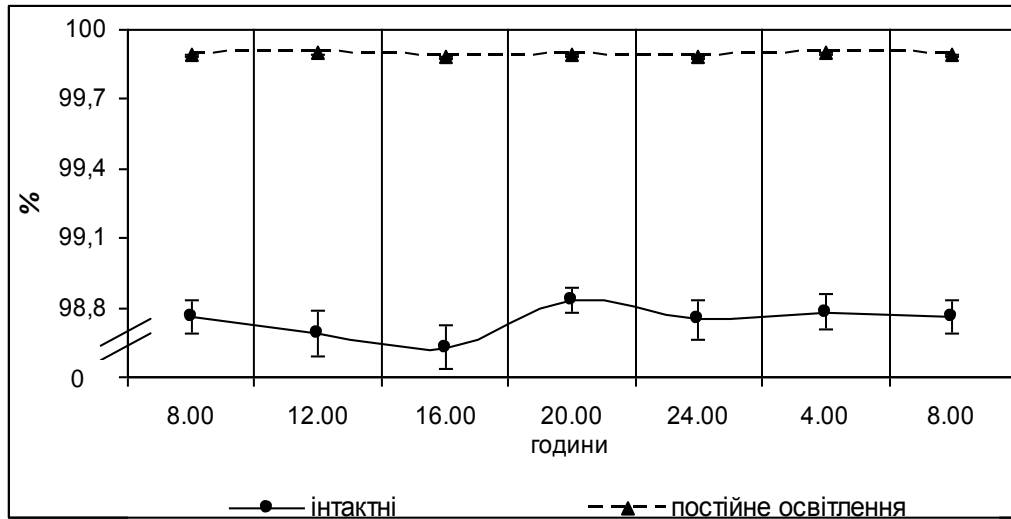


Рис. 4.10. Хроноритми відносної реабсорбції води в старих щурів, які перебували за умов світлового стресу.

Протягом досліджуваних інтервалів динаміка виділення іонів калію набувала однофазної структури. Мезор і амплітуда ритму вірогідно відрізнялися від контролю, а також спостерігали зміщення акрофази з 24.00 на 20.00 год (рис. 4.11).

Перебування тварин в гіперілюмінізованих умовах призвело до порушення архітекtonіки ритму екскреції білка, яка набувала інверсного характеру щодо контрольних хронограм. Підвищений рівень екскреції білка виявляли о 08.00 та 16.00 год, батифаза ритму припадала на 04.00 год (табл. 4.2).

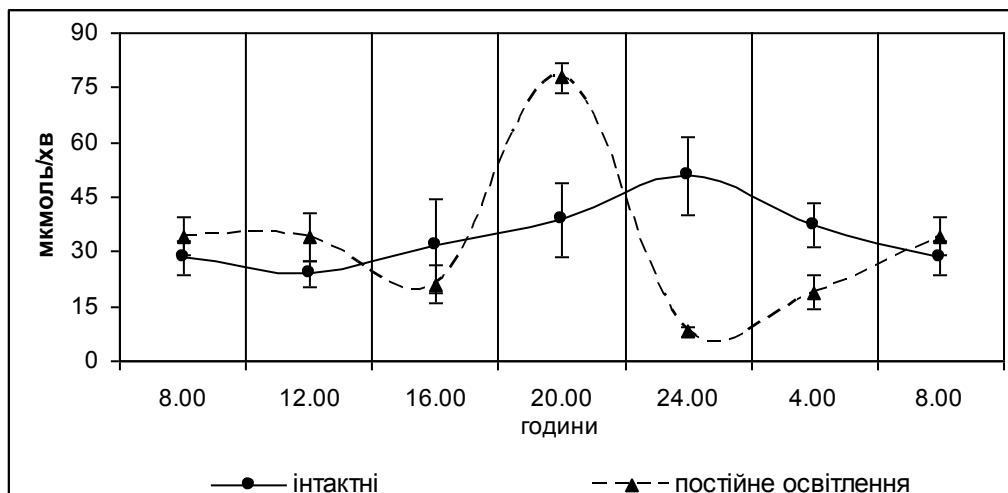


Рис. 4.11. Хроноритми екскреції іонів калію у щурів, які перебували за умов гіпофункції епіфіза мозку.

Десинхронизація механізмів ниркового транспорту іонів натрію у тварин з гіпофункцією ШЗ віддзеркалювався підвищеною екскрецією даного катіона у всі досліджувані проміжки доби (табл. 4.3).

Стандартизація екскреції іонів натрію за ШКФ дозволила встановити за умов гіпофункції ШЗ істотні зміни положення акрофази відносно контролю, яка зміщалася з 24.00 на 12.00 год. Незважаючи на підвищену екскрецію іонів натрію концентрація даного катіону в плазмі крові залишалася без вірогідних змін стосовно величин інтактних тварин (рис. 4.12).

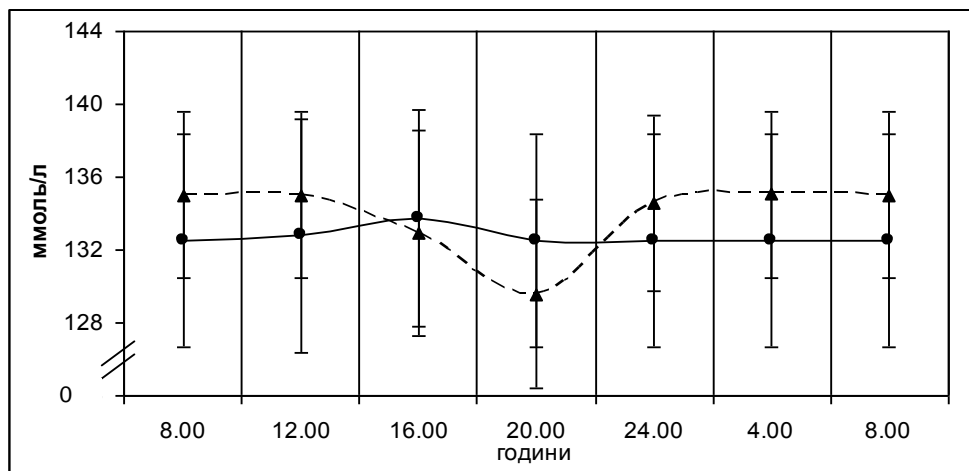


Рис. 4.12. Хроноритми концентрації іонів натрію в плазмі щурів, які перебували за умов гіпофункції епіфіза.

Високі показники екскреції іонів натрію в плазмі крові при гіпофункції ШЗ спричинили вірогідне підвищення натрій/калієвого коефіцієнту в досліджувані часові періоди. Максимальний показник зміщувався з 24.00 на 08.00 год, а мінімальний – з 8.00 на 16.00 год. (табл. 4.3). Архітектоніка ритму вказаного параметру набували інверсного характеру щодо хронограм інтактних щурів.

Порушення кислоторегулювальної функції нирок проявлялися зниженням екскреції активних іонів водню впродовж періоду спостережень за винятком 08.00 год (табл. 4.5, рис. 4.13). У той же час мезоритму рН сечі вірогідно нижчий від контрольних показників (табл. 4.6), а його архітектоніка характеризувалась антифазною структурою щодо хронограм інтактних щурів (рис. 4.14).

Таблиця 4.2

Хроноритми екскреторної функції нирок при гіпофункції шишкоподібної залози ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)
Діурез, мкл/хв/100г	I	1,93±0,298	1,68±0,353	1,86±0,513	1,52±0,276	2,34±0,567	1,57±0,332
	II	2,00±0,474	0,94±0,093	1,60±0,248	1,37±0,210	1,16±0,218 p<0,001	1,32±0,224
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	I	5,05±0,253	5,09±0,265	5,09±0,308	5,07±0,254	5,05±0,253	5,06±0,251
	II	5,16±0,208	5,17±0,207	5,25±0,250	5,08±0,306	5,00±0,250	5,18±0,209
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	I	9,11±2,93	15,75±2,25	15,75±4,87	14,77±4,98	17,22±4,14	13,88±4,93
	II	11,14±1,03	16,67±3,15	19,50±2,16	15,00±1,01	27,33±4,67	18,33±2,94
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	I	28,42±4,567	23,98±3,516	21,62±13,007	38,73±10,133	50,83±10,830	37,23±6,109
	II	34,15±5,09	34,28±6,59	29,90±7,22	77,85±15,12 p<0,05	67,98±1,30	48,92±11,53
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	I	75,55±2,851	74,62±2,859	74,50±2,812	75,55±2,851	75,56±2,852	75,53±2,850
	II	74,50±3,750	74,50±3,750	77,67±2,333	74,00±3,343	73,17±3,083	74,51±3,750
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	I	364,76±7,818	354,60±9,886	255,15±15,125	253,82±7,615	275,41±15,026	356,61±13,016
	II	548,88±45,022 p<0,01	368,78±27,097	562,81±70,386 p<0,01	558,20±82,601 p<0,01	442,56±90,194	522,62±92,923
Відносна реабсорбція води, %	I	98,76±0,068	98,69±0,099	98,63±0,098	98,83±0,055	98,75±0,084	98,78±0,075
	II	99,89±0,005 p<0,001	99,90±0,006 p<0,001	99,88±0,004 p<0,001	99,89±0,006 p<0,001	99,88±0,007 p<0,001	99,90±0,004 p<0,001
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну	I	0,008±0,0004	0,007±0,0006	0,007±0,0006	0,008±0,0004	0,008±0,0006	0,008±0,0005
	II	0,094±0,0057 p<0,001	0,095±0,0056 p<0,001	0,086±0,0032 p<0,001	0,093±0,0056 p<0,001	0,091±0,0063 p<0,001	0,094±0,0042 p<0,001
Концентрація білка в сечі, г/л	I	0,33±0,026	0,32±0,046	0,42±0,021	0,43±0,0246	0,43±0,031	0,40±0,030
	II	0,49±0,028 p<0,01	0,65±0,065 p<0,01	0,62±0,095	0,59±0,037 p<0,01	0,62±0,034 p<0,01	0,42±0,042

Продовження таблиці 4.2

Екскреція білка, мг/хв/100г	I	0,64±0,100	0,76±0,217	0,56±0,040	0,67±0,145	0,97±0,226	0,64±0,138
	II	1,01±0,289	0,61±0,090	0,97±0,199	0,84±0,157	0,72±0,136	0,59±0,160
Екскреція білка, мг/ 100 мкл клубочкового фільтрату	I	0,99±0,101	1,00±0,140	1,37±0,112	1,20±0,085	1,27±0,097	1,18±0,130
	II	0,12±0,010 p<0,001	0,16±0,013 p<0,001	0,17±0,021 p<0,001	0,15±0,007 p<0,001	0,16±0,007 p<0,001	0,11±0,0147 p<0,001

**Примітка:** p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин; n – кількість тварин, I – 12.00С:12.00Т; II – 24.00С:00Т.

Таблиця 4.3

### Вплив гіпофункції шишкоподібної залози на хроноритми іонорегулювальної функції нирок тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	I	1,83±0,185	1,87±0,140	1,75±0,125	2,33±0,222	2,77±0,265	2,27±0,154
	II	5,9±0,150 p<0,001	6,23±1,01 p<0,001	5,34±0,820 p<0,001	7,21±0,950 p<0,001	7,18±1,2 p<0,01	7,6±1,15 p<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	I	0,33±0,033	0,29±0,043	0,31±0,086	0,35±0,065	0,61±0,117	0,34±0,055
	II	4,34±0,072 p<0,001	10,20±5,196 p<0,001	5,44±1,204 p<0,001	5,95±2,003 p<0,001	2,29±0,326 p<0,001	6,60±1,628 p<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	I	0,53±0,042	0,57±0,043	0,56±0,040	0,66±0,086	0,80±0,057	0,66±0,070
	II	1,25±0,315 p<0,05	2,85±1,441	1,04±0,221 p<0,05	1,51±0,696	0,67±0,168	1,49±0,454
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	I	132,50±5,833	132,81±6,406	133,75±5,937	132,50±5,833	132,51±5,836	132,52±5,831
	II	135,01±4,583x	135,02±4,584	132,91±5,625	129,58±5,208x	134,58±4,791	135,04±4,584
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	I	0,64±0,08	0,51±0,023	0,55±0,03	0,49±0,01	0,60±0,041	0,52±0,047
	II	0,19±0,001 p<0,001	0,32±0,132	0,42±0,152c	0,10±0,051 p<0,001	0,33±0,066 p<0,01	1,11±0,421

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з інтактною групою тварин I – 12.00С:12.00Т; II – 24.00С:00Т

Таблиця 4.4

**Вплив гіпофункції ШЗ на мезор і амплітуду ритмів ниркового транспорту іонів натрію у білих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники	Інтактні (n<6)		Гіпофункція ШЗ (n<6)	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	2,14±0,16	18,3±4,9	6,58±0,38 p<0,001	13,5±4,77
Екскреція іонів натрію, мкмоль/2 год	0,37±0,04	32,1±2,58	5,8±0,89 p<0,001	45,4±9,13
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	0,63±0,04	15,7±4,1	1,47±0,24 p<0,01	50,7±8,83 p<0,001
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	132,77±0,17	0,4±0,11	133,69±0,82	1,6±0,51 p<0,05
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	0,54±0,08	43,91±0,25	0,41±0,11	87,9±15,22 p<0,02

Примітка: p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.

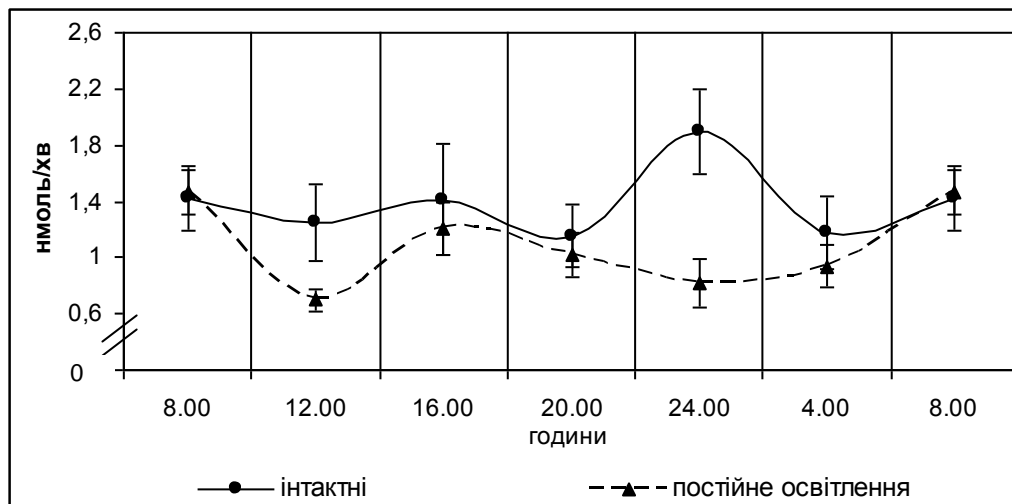


Рис. 4.13. Хроноритми екскреції іонів водню у щурів, які перебували за умов світлової експозиції.

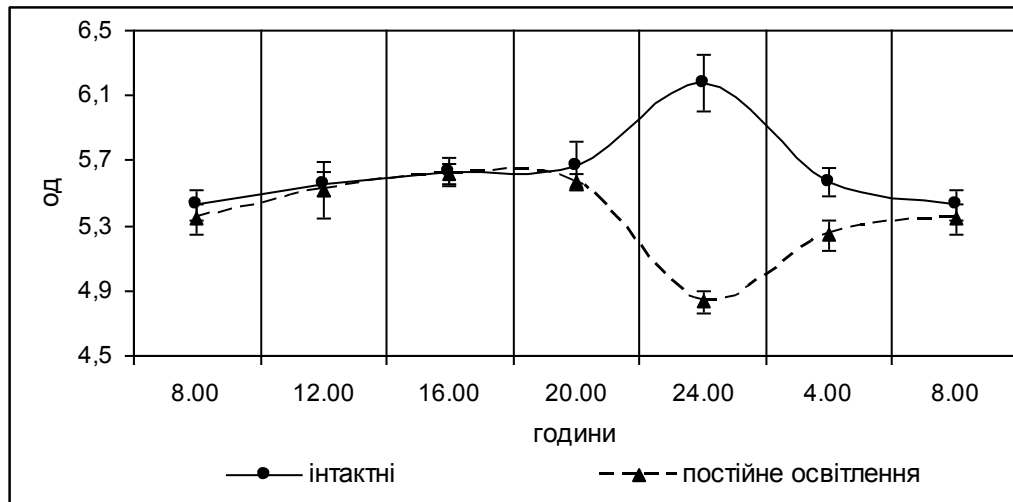


Рис. 4.14. Хроноритми рН сечі у щурів, які перебували за умов гіпофункції шишкоподібної залози.

Таблиця 4.5

**Вплив гіпофункції ШЗ на мезор і амплітуду ритмів кислотовидільної функції нирок у білих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники	Інтактні (n<6)		Гіпофункція ШЗ (n<6)	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
рН сечі	5,67±0,08	4,6±1,24	5,35±0,11 p<0,05	5,5±1,69
Екскреція іонів водню, нмоль/2 год	1,38±0,10	19,8±3,41	1,02±0,1 p<0,05	26,8±5,13
Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	2,26±0,06	6,2±2,15	0,19±0,04 p<0,001	4,3±1,49
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/2 год	21,65±1,38	17,2±4,5	23,31±2,76	29,4±4,12
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	35,72±2,2	15,8±5,14	14,51±0,31 p<0,001	5,6±1,79 p<0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/2 год	12,63±1,25	27,0±4,34	13,74±1,41	28,9±4,35
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	22,87±1,78	19,5±4,9	2,64±0,21 p<0,001	18,8±5,76
Амонійний коефіцієнт	0,64±0,04	18,8±3,39	0,59±0,02	10,0±3,21 p<0,001

**Примітки:** p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.



Таблиця 4.6

Вплив гіпофункції шишкоподібної залози на хроноритми кислоторегулювальної функції нирок тварин ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)
рН сечі	I	5,43±0,093	5,56±0,073	5,63±0,082	5,67±0,148	6,18±0,448	5,57±0,084
	II	5,34±0,089	5,52±0,170	5,62±0,062	5,57±0,048	4,83±0,463 p<0,02	5,24±0,095 p<0,05
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	I	1,42±0,225	1,25±0,268	1,41±0,394	1,15±0,222	1,89±0,503	1,18±0,256
	II	1,46±0,357	0,70±0,079	1,20±0,188	1,02±0,152	0,82±0,174	0,94±0,152
Екскреція іонів водню, нмоль/ 100 мкл КФ	I	2,17±0,131	2,33±0,184	2,47±0,186	2,09±0,114	2,34±0,220	2,18±0,138
	II	0,18±0,011 p<0,001	0,19±0,012 p<0,001	0,20±0,008 p<0,001	0,19±0,011 p<0,001	0,18±0,023 p<0,001	0,18±0,007 p<0,001
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	I	27,22±2,808	18,54±3,071	17,05±5,030	21,11±3,945	24,35±3,563	21,64±3,855
	II	34,88±6,929	17,18±1,813	18,43±2,425	20,40±3,584	20,69±3,805	28,29±4,938
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	35,12±4,412	29,41±3,182	41,51±7,175	36,44±5,295	42,41±5,842
	II	4,82±0,460 p<0,001	4,66±0,374 p<0,001	3,35±0,275 p<0,001	3,79±0,152 p<0,001	4,82±0,187 p<0,001	5,60±0,366 p<0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	I	18,74±1,953	10,39±1,772	10,54±2,137	9,44±1,425	13,08±1,846	13,60±2,914
	II	20,64±4,470	8,98±1,171	11,64±1,740	12,17±2,890 p<0,001	14,11±2,528	14,92±2,302
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	20,09±1,814	22,09±2,139	17,60±1,744	21,00±4,072	27,01±4,784
	II	2,75±0,257 p<0,001	2,43±0,223 p<0,001	2,12±0,218 p<0,001	2,14±0,175 p<0,001	3,31±0,262 p<0,001	3,10±0,319 p<0,001
Амонійний коефіцієнт	I	0,69±0,051	0,61±0,067	0,84±0,178	0,48±0,073	0,59±0,091	0,61±0,041
	II	0,59±0,072	0,52±0,032	0,64±0,082	0,57±0,061	0,68±0,042	0,55±0,047

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з інтактною групою тварин. I – 12.00С:12.00Т; II – 24.00С:00Т

За моделювання гіпофункції ШЗ середньодобовий рівень і амплітуда ритму екскреції титрованих кислот дещо вищі від показників інтактних тварин на фоні зміненої фазової структури ритму. Батифаза ритму зміщувалася з 12.00 на 16.00 год (табл. 4.6).

Середньодобовий рівень екскреції аміаку зростав порівняно з контролем вдвічі, амплітуда вірогідно не змінювалася (табл. 4.6). Структури ритмів подібні до хронограм інтактних тварин.

Нами встановлено вірогідне зниження базисного рівня ритму амонійного коефіцієнту та зниження його амплітуди (табл. 4.6), зміщення фазової структури ритму відносно показників інтактних особин.

Отже, гіпофункція ШЗ дезорганізує циркадіанну впорядкованість ренальних функцій. Характерними проявами цих змін є порушення синусоїдального характеру ритму діурезу, істотне зниження середньодобового рівня на фоні зростання амплітуди коливань ритму сечовиділення порівняно з контрольними величинами; дисбаланс механізмів гомеостазу іонів калію з високою концентрацією вказаних катіонів у сечі щодо інтактних тварин; інверсія ритму концентрації креатиніну в плазмі крові відносно контролю; порушення обміну іонів натрію з вираженим натрійурезом; вірогідне зниження середньодобового рівня, а також антифазна структура ритму рН сечі щодо контрольних хронограм; виражене зменшення екскреції активних іонів водню з максимумом у денний період доби та інвертованою структурою ритму; порушення архітектоніки ритму екскреції титрованих кислот без вірогідних змін мезору та амплітуди ритму порівняно з контролем; істотне зростання амплітуди ритму амонійного коефіцієнту на тлі знижених мезору показника.

Вивчення рівня мелатоніну у плазмі крові за допомогою імуноферментного аналізу продемонструвало цікаві зміни його концентрації. Так, за умов семидобового освітлення цей рівень знизився на 33%, склавши 14,1 пг/мл ( $p < 0,6$ ), що вказує на пригнічення функціональної активності шишкоподібної залози при тривалій експозиції світлом.

Зазначений стан крові щодо процесів ВРОЛБ супроводжувався певними змінами параметрів білків цитоплазми пінеалоцитів та епітелію проксимальних каналців нирки (рис. 3.4).

Семидобове освітлення посилило у 2,5 раза ОМБ плазми крові ( $p < 0,001$ ) та активацію каталази на 24,6%. Відносно інших показників, вони вірогідно не відрізнялися від тварин інтактною групи (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

**Про- та антиоксидантний стан крові старих щурів  
за умов гіпофункції епіфіза мозку ( $\bar{x} \pm S_x$ ;  $n < 6$ )**

Показник	Умови досліджу	
	Інтактні	Гіпофункція ШЗ
Малоновий альдегід, мкмоль/мл	18,0±0,84	17,9±0,48
ОМБ, мкмоль/г білка	0,68±0,04	1,74±0,03 $p < 0,001$
Церулоплазмін, мг/л	298,0±4,21	311,0±5,05
Каталаза, мкмоль/хв·л	12,6±0,85	15,7±0,26 $p < 0,01$
HS-групи, мкмоль/мл	0,75±0,01	0,72±0,02 $p < 0,001$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
 $n$  – кількість тварин.

Наведені результати дозволяють стверджувати, що система ВРОЛБ адекватно прореагувала на зовнішній стресовий світловий подразник.

Таким чином, зовнішній подразнювач у вигляді світлової експозиції, викликав значні зміни у співвідношенні світлих і темних пінеалоцитів, знизивши у 3,5 раза коефіцієнт співвідношення до  $0,38 \pm 0,015$ , що вказує на негативний ефект світлового чинника. Рівень ОМБ підвищився у всіх досліджуваних елементах, вказуючи на значний негативний ефект гіперліюмінізації щодо системи ВРОЛБ.

#### 4.2. Вплив одногодинного іммобілізаційного стресу на морфофункціональний стан нирок та епіфіза мозку за умов гіпофункції шишкоподібної залози

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку стресованих тварин виявлені зміни у співвідношенні між світлими та темними пінеалоцитами порівняно з контролем, яке становило  $0,38 \pm 0,015$  (світлих пінеалоцитів –  $28,0 \pm 1,3\%$ , темних –  $72,0 \pm 1,1\%$ ), що вірогідно відрізнялося від показників інтактної групи тварин ( $p < 0,001$ ) (рис 4.15).

Коефіцієнт Р, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, порівняно із значеннями інтактних щурів становив у світлих пінеалоцитах  $1,340 \pm 0,018$ ,  $p < 0,051$ , у темних пінеалоцитах -  $1,625 \pm 0,023$  ( $p < 0,001$ ).

При цілодобовому освітленні та в умовах іммобілізаційного стресу зміни ультраструктурної організації подібні як і в попередніх умовах експерименту, проте більш виражені. Спостерігаються значні, глибокі інвагінації каріолеми, завдяки яким ядра набувають посіченого вигляду. Цитоплазма щільна, в ній наявні тонкі каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму і цистерни комплексу Гольджі. Мітохондрії невеликі, в них мало крист. У таких пінеалоцитах поодинокі і дрібні гранули серотоніну. Описаний стан відображає низьку функціональну активність пінеалоцитів.

Пінеалоцити в умовах даного дослідження мають невеликі неправильної форми ядра, у каріолемі яких є багато осміофільних гранул гетерохроматину. Перинуклеарні простори невеликі, ядерних пор мало. У цитоплазмі наявні нерівномірно потовщені, фрагментовані каналці гранулярного ЕПР та цистерни комплексу Гольджі. Видовженої або округло-овальної форми мітохондрії мають небагато крист у помірно електроннощільному матриксі. Спостерігаються лише поодинокі сератонінвмісні структури у вигляді пластівців (рис. 4.16). Низька функціональна активність пінеалоцитів підтверджена описаними змінами субмікроскопічної будови.

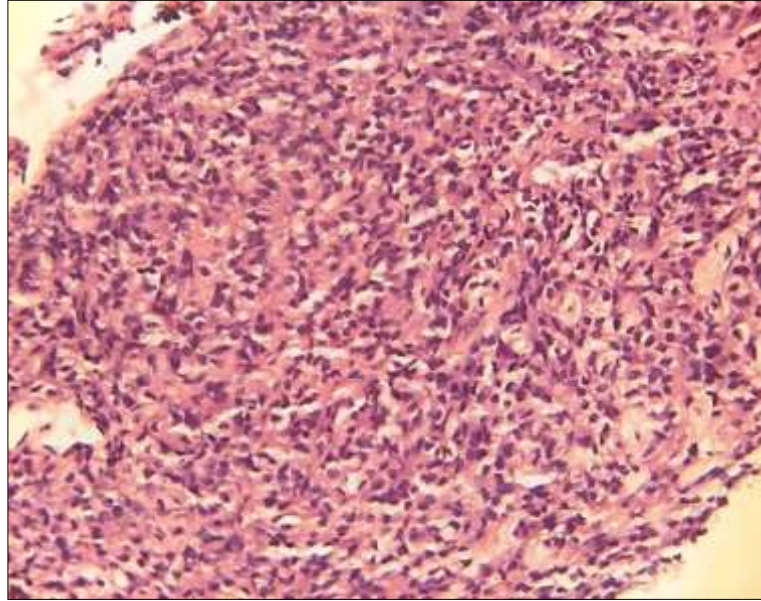


Рис. 4.15. Епіфіз мозку старого щура при стресі за умов гіпофункції шишкоподібної залози. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

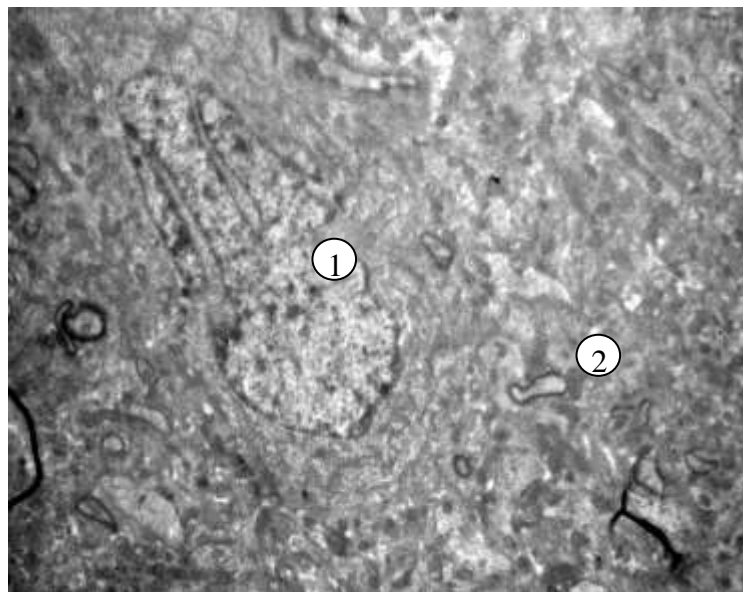


Рис. 4.16. Субмікроскопічний стан пінеалоцитів при іммобілізаційному стресі та семидобовому освітленні. Інвагіноване ядро (1), поодинокі серотонінові гранули (2). x 8 000

При гістологічному дослідженні нирок у кірковій речовині відмічена зерниста дистрофія в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $90,0 \pm 1,4\%$  клітин, перевищуючи показник на 85% щодо такого в інтактних щурів, що вказує на негативну аддитивну дію іммобілізаційного та світлового стресорів. Виявлено розширення простору між зовнішнім та внутрішнім листками капсули клубочка. Мозкова речовина характеризувалася мінімальним повнокрів'ям мозкових променів, у сосочку нирки виражені прояви набухання епітеліальних клітин. Вказані зміни проілюстровані на рисунку 4.17.

Встановлено, що коефіцієнт  $P$  в епітелії проксимальних каналців складав  $1,324 \pm 0,021$ , що майже удвічі перевищує цей коефіцієнт в інтактної групи тварин ( $p < 0,001$ ) (рис. 4.18).

Електронномікроскопічні дослідження компонентів нирки щурів при цілодобовому освітленні в умовах іммобілізаційного стресу встановили ультраструктурні зміни фільтраційного бар'єра і каналців нефрона. Спостерігали розширення просвіту гемокапілярів, витончення і, місцями, вакуолізація цитоплазми ендотеліоцитів. Тришарова базальна мембрана відносно збережена (рис. 4.18). Помірно збільшилися цитопедикули подоцитів, поряд із розширенням діафрагм між ними. Структура ядер подоцитів мало змінена, каріолема має неглибокі інвагінації. Встановлені ультраструктурні зміни свідчать про посилений процес фільтрації.

Іммобілізація при цілодобовому освітленні як стресовий чинник також впливає і на будову проксимального й дистального відділу каналця нефрона. Цитоплазма дистального епітеліоцита просвітлена, включає різної величини вакуолі. Канальці ендоплазматичного ретикулуму і цистерни комплексу Гольджі розширені, складки базальної плазмолемі коротші, між ними розміщені мітохондрії з помірно просвітленим матриксом (рис. 4.19). Проте, залишаються, в основному збереженими і, місцями, злущеними мікворсинки на апікальній поверхні епітеліоцитів проксимального відділу нефрона.

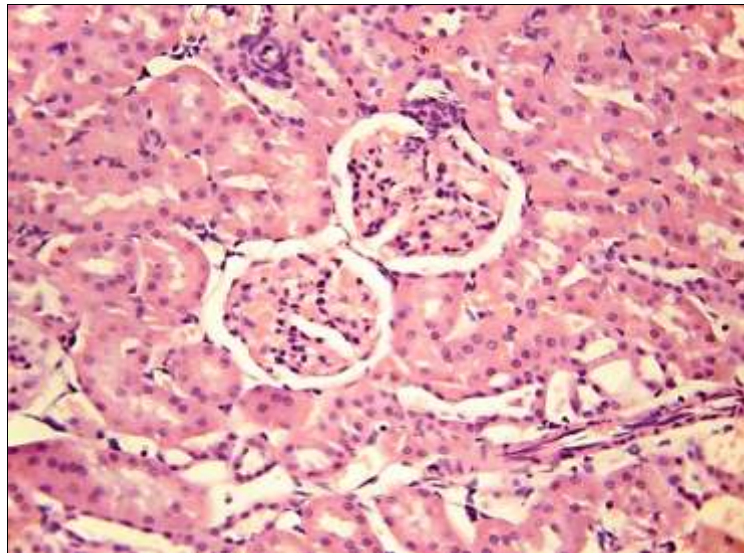


Рис. 4.17. Морфологічні особливості кіркової речовини нирки старого щура при стресі за умов гіпофункції шишкоподібної залози. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

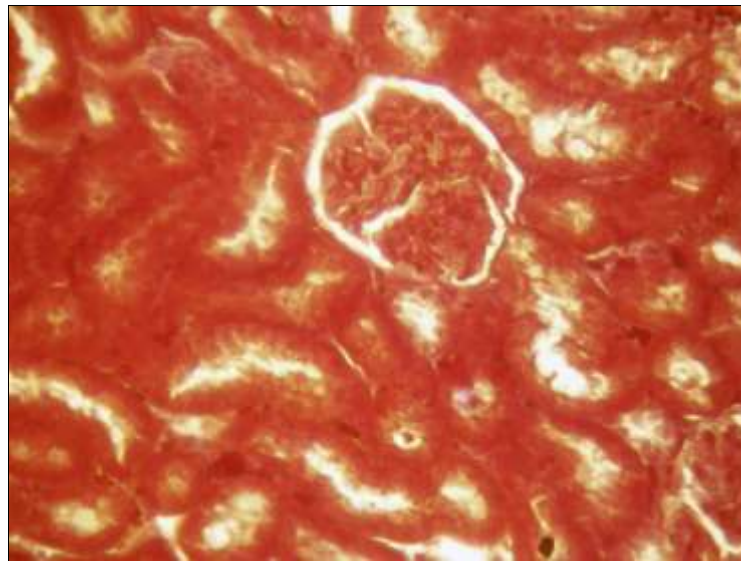


Рис.4.18.Гістологічна картина кіркової речовини нирки старого щура при стресі і утриманні його за умов гіпофункції шишкоподібної залози. Зabarвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

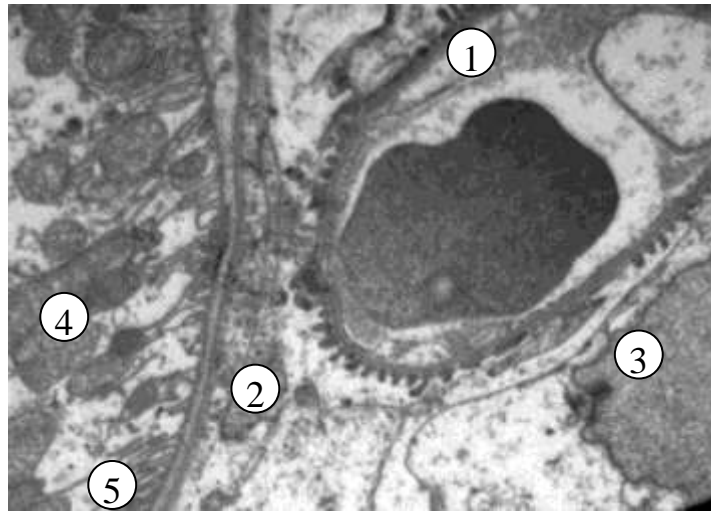


Рис. 4.19. Субмікроскопічний стан фільтраційного бар'єру і дистального канальця нефрона нирки при цілодобовому освітленні в умовах іммобілізаційного стресу.

Фрагментована цитоплазма ендотеліоцита (1), збережена тришарова базальна мембрана (2), збільшення цитопедикул (2), просвітлена цитоплазма подоцита (3). Розширені цистерни комплексу Гольджі (4), короткі складки базальної плазмолеми (5). x 15 000

Добовий ритм діурезу в тварин, яким створювали іммобілізаційний стрес на тлі гіпофункції ШЗ істотно змінювався (табл. 4.8). Архітектоніка ритму сечовиділення мала інверсний характер щодо хронограм тварин, яких утримували за умов стандартного фотоперіоду та постійного освітлення. Батифазу ритму виявляли у період з 24.00 до 8.00 год, максимальні величини зміщувалися з 08.00 на 24.00 год щодо показника щурів, які перебували в гіперліюмінізованих умовах, і співпадала з такою в інтактної групи тварин (рис. 4.20).

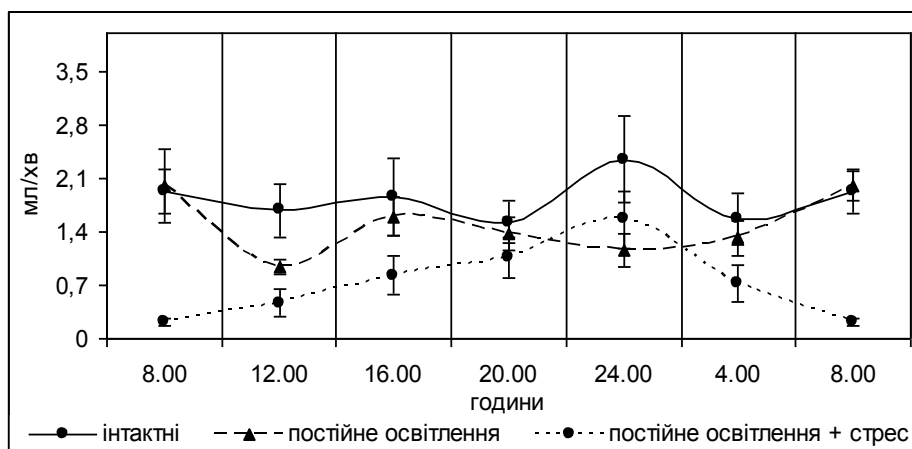


Рис. 4.20. Хроноритми діурезу в щурів за умов іммобілізаційного стресу при гіпопінеалізмі.



Таблиця 4.8

**Вплив іммобілізаційного стресу на хроноритми екскреторної функції нирок тварин, що перебували за умов постійного освітлення ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)
Діурез, мкл/хв/100г	I	1,93±0,298	1,68±0,353	1,86±0,513	1,52±0,276	2,34±0,567	1,57±0,332
	II	2,00±0,474	0,94±0,093	1,60±0,248	1,37±0,210	1,16±0,218	1,32±0,224
	III	0,22±0,051 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	0,46±0,179 p<0,05	0,83±0,246 p<0,05	1,06±0,262	1,56±0,377	0,72±0,238
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	I	5,05±0,253	5,09±0,265	5,09±0,308	5,07±0,254	5,05±0,253	5,06±0,251
	II	5,16±0,208	5,17±0,207	5,25±0,250	5,08±0,306	5,00±0,250	5,18±0,209
	III	6,20±0,280 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,05	5,68±0,343	5,65±0,660	4,75±0,083	4,79±0,145	4,95±0,395
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	I	9,11±2,93	15,75±2,25	15,75±4,87	14,77±4,98	17,22±4,14	13,88±4,93
	II	11,14±1,03	16,67±3,15	19,50±2,16	15,00±1,01	27,33±4,67	18,33±2,94
	III	28,30±4,620 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	31,37±3,687 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,01	26,70±3,660	37,50±2,333 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	34,17±1,001 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,01	32,50±1,002 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	I	28,42±4,567	23,98±3,516	31,62±13,007	38,73±10,133	50,83±10,830	37,23±6,109
	II	34,15±5,09	34,28±6,594	20,90±7,226	77,85±15,124	67,98±1,305	48,92±11,539
	III	40,65±6,189	41,43±4,583 p <sub>1</sub> <0,02	32,03±6,551	74,04±6,020 p <sub>1</sub> <0,02	75,23±7,199 p<0,01	52,33±5,757
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	I	75,55±2,851	74,62±2,859	74,50±2,812	75,55±2,851	75,56±2,852	75,53±2,850
	II	74,50±3,750	74,50±3,750	77,67±2,333	74,00±3,343	73,17±3,083	74,51±3,750
	III	80,60±6,040	73,25±4,937	72,20±2,280	66,50±1,583 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	60,00±2,333 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	62,67±3,001 p <sub>1</sub> <0,02
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	I	364,76±7,818	354,60±9,886	255,15±15,125	253,82±7,615	275,41±15,026	356,61±13,016

Продовження таблиці 4.8

	II	748,88±45,022	368,78±27,097	562,81±70,386	558,20±112,601	442,56±90,194	522,62±92,923
	III	757,13±2,246 p <sub>1</sub> <0,001	416,41±6,233 p <sub>1</sub> <0,001	629,22±8,523 p <sub>1</sub> <0,001	642,53±10,099 p <sub>1</sub> <0,001	574,00±19,370 p <sub>1</sub> <0,001	528,74±8,869 p <sub>1</sub> <0,001
Відносна реабсорбція води, %	I	98,76±0,068	98,69±0,099	98,63±0,098	98,83±0,055	98,75±0,084	98,78±0,075
	II	99,89±0,005	99,90±0,006	99,88±0,004	99,89±0,006	99,88±0,007	99,90±0,004
	III	98,52±0,122 p<0,001	98,87±0,085 p<0,001	98,80±0,099 p<0,001	98,97±0,013 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	99,08±0,049 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	98,99±0,056 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну	I	0,008±0,0004	0,007±0,0006	0,007±0,0006	0,008±0,0004	0,008±0,0006	0,008±0,0005
	II	0,094±0,0057	0,095±0,0056	0,086±0,0032	0,093±0,0056	0,091±0,0063	0,094±0,0042
	III	0,007±0,0005 p<0,001	0,009±0,0007 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	0,008±0,0006 p<0,001	0,009±0,0001 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	0,011±0,0005 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	0,010±0,0005 p<0,001
Концентрація білка в сечі, г/л	I	0,33±0,026	0,32±0,046	0,42±0,021	0,43±0,0246	0,43±0,031	0,40±0,030
	II	0,49±0,028	0,65±0,065	0,62±0,095	0,59±0,037	0,62±0,034	0,42±0,042
	III	1,08±0,080 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	0,73±0,113 p <sub>1</sub> <0,01	0,57±0,090	0,81±0,036 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	0,80±0,039 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	0,85±0,031 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Екскреція білка, мг/хв/100г	I	0,64±0,100	0,76±0,217	0,56±0,040	0,67±0,145	0,97±0,226	0,64±0,138
	II	1,01±0,289	0,61±0,090	0,97±0,199	0,84±0,157	0,72±0,136	0,59±0,160
	III	0,23±0,042 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,01	0,38±0,198	0,45±0,136	0,90±0,261 p <sub>1</sub> <0,05	1,30±0,365	0,60±0,193
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	I	0,99±0,101	1,00±0,140	1,37±0,112	1,20±0,085	1,27±0,097	1,18±0,130
	II	0,12±0,010	0,16±0,013	0,17±0,021	0,15±0,007	0,16±0,007	0,11±0,0147
	III	3,97±0,617 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	2,07±0,394 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	1,58±0,249 p<0,001	2,00±0,111 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	1,77±0,138 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02	2,02±0,054 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з тваринами що перебували за умов гіпопінелізму, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці порівняно з інтактними тваринами; I – 12.00С:12.00Т; II – 24.00С:00Т; III – 24.00С:00Т + стрес.

Отже, іммобілізаційний стрес на фоні тривалого світлового режиму суттєво змінює фазову структуру ритму. Стресування 1-годинним знерухомленням на тлі постійного освітлення викликало зниження середньодобового рівня ритму діурезу порівняно з тваринами, що перебували на тлі постійного освітлення більше як удвічі, так і стосовно інтактних тварин – на 42 % (табл. 4.9, рис. 4.2.7).

Таблиця 4.9

**Вплив стресу та світлової стимуляції на мезор і амплітуду ритмів екскреторної функції нирок у старих щурів ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники	Інтактні (n<6)		Гіпофункція ШЗ (n<6)		Гіпофункція ШЗ+ІС (n<6)	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Діурез, мкл/хв/100г	1,82±0,11	16,6±3,98	1,4±0,13 p<0,05	26,13±4,79	0,81±0,17 p<0,001	58,0±11,77 p<0,001
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	5,07±0,01	0,4±0,12	5,14±0,04	1,7±0,54 p<0,05	5,34±0,25	11,1±3,96 p<0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	14,41±0,91	19,6±5,62	22,92±4,8	15,7±9,93	31,76±1,48 p<0,001	12,4±3,89 p<0,001
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	35,14±3,56	26,9±5,03	47,35±8,79 p<0,001	46,3±6,26 p<0,02	47,62±3,12 p<0,05	14,5±3,47 p<0,05
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	75,22±0,22	0,7±0,24	74,89±0,56	2,1±0,63	69,2±3,07	11,0±3,7 p<0,001
Швидкість клуб. фільтрації, мкл/хв/100г	310,06±24,3	14,2±3,61	533,98±44,66 p<0,001	24,2±4,8	591,3±42,8 p<0,001	19,5±4,87
Відносна реабс. води, %	98,74±0,03	0,1±0,02	99,89±0,05 p<0,001	0,1±0,001	98,87±0,07	0,2±0,05
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну	0,01±0,002	5,2±2,42	0,09±0,01 p<0,001	3,7±1,11	0,01±0,001	14,1±4,42 p<0,001
Концентрація білка в сечі, г/л	0,38±0,02	12,9±4,53	0,57±0,04 p<0,02	15,8±4,41	0,81±0,05 p<0,001	20,5±3,11
Екскреція білка, мг/хв/100г	0,71±0,05	20,3±3,11	0,79±0,08	22,7±6,43	0,64±0,15	61,6±9,07 p<0,001
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	1,17±0,06	12,8±4,12	0,15±0,01 p<0,001	16,2±5,75	2,07±0,15 p<0,001	23,1±3,1

Примітка: p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.

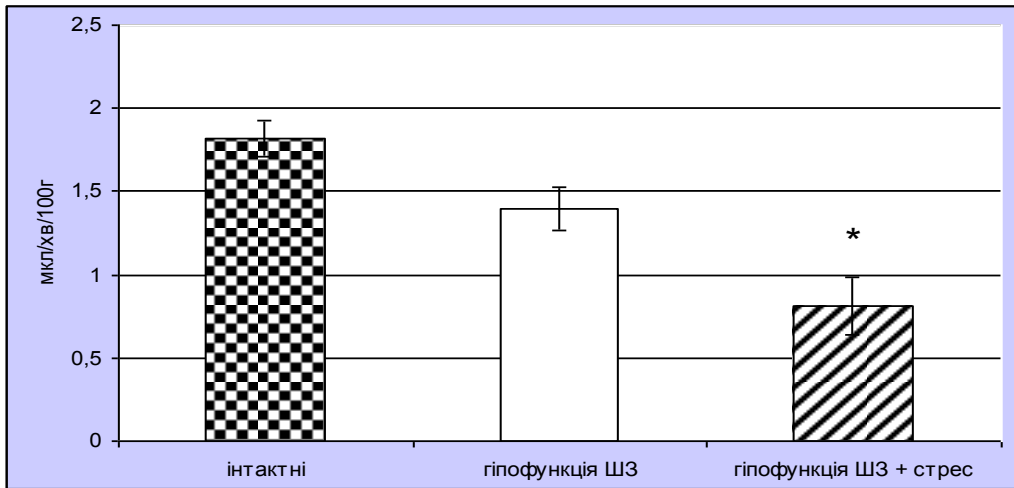


Рис. 4.21. Середньодобові ритми діурезу у старих щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес на фоні гіпофункції ШЗ.

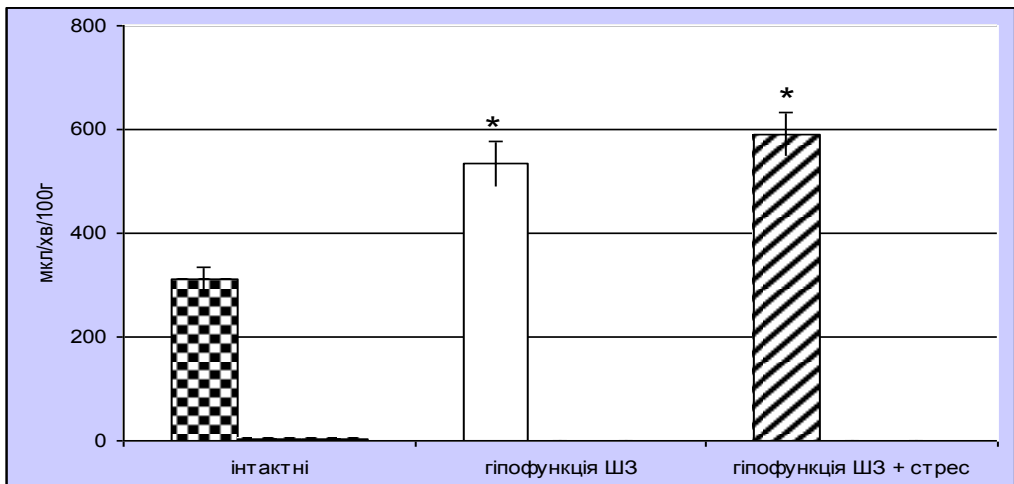


Рис. 4.22. Середньодобові ритми швидкості клубочкової фільтрації у старих щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес на фоні гіпофункції ШЗ.

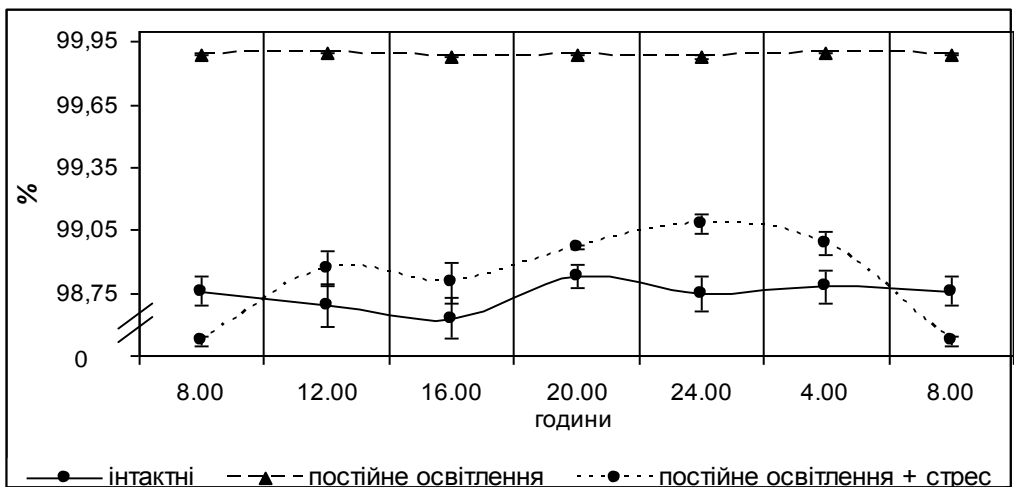


Рис. 4.23. Хроноритми відносної реабсорбції води у старих щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес за умов світлової експозиції.

Основою виявлених змін хроноритмів діурезу було порушення процесів ультрафільтрації. Хроноритм швидкості клубочкової фільтрації на-бував монотонного характеру з акрофазою о 08.00 год і батифазою о 12.00 год. Привертало увагу різке підвищення рівня показника в усі дос-ліджувані про-міжки доби щодо інтактної групи тварин (табл. 4.8). Мезор ритму нижчий, ніж у інших груп порівняння, що свідчить про сумарний ефект іммобілізаційного стресу та епіфізарної гіпофункції (рис. 4.22).

Підвищення швидкості клубочкової фільтрації спричинило вірогідне збільшення рівня відносної реабсорбції води щодо інтактної групи тварин, що врівноважувало гломеруло-тубулярні процеси. Архітектоніка ритму вказаного параметра інверсна щодо контрольної хронограми (рис. 4.23). Максимальні величини реєстрували о 24.00 год (табл. 4.8). Мезор ритму становив  $98,8 \pm 0,07\%$  і нижчий, ніж у тварин, яких утримували за світлової стимуляції. Амплітуда ритму підвищена (табл. 4.9). Це вказувало на потенціювальну дію гіпофункції ШЗ.

Середньодобовий рівень концентрації креатиніну в плазмі крові вірогідно не змінювався стосовно такого у тварин з фізіологічною функцією ШЗ (табл. 4.8). Проте, амплітуда ритму вища, ніж у контрольної групи тварин. Отже, у даному випадку повне освітлення не потенціювало ефекти іммобілізаційного стресу.

Впродовж спостереження реєстрували перебудову ритму концентраційного індексу ендogenous креатиніну з порушенням його фазової структури (табл. 4.8). Мезор ритму знаходився на рівні  $0,01 \pm 0,001$  од і нижчий, ніж у контролі, тварин з гіпофункцією епіфіза. Поєднана дія ІС і гіпофункції пінеальної залози призвела до більш вираженого зниження рівня концентраційного індексу ендogenous креатиніну.

Після 1-годинного знерухомлення щурів на тлі гіпофункції ШЗ реєстрували підвищення рівня концентрації іонів калію в сечі та їх екскреції порівняно як з інтактними тваринами, так і тваринами, яких стресували на тлі фізіологічної функції ШЗ (рис. 4.24).

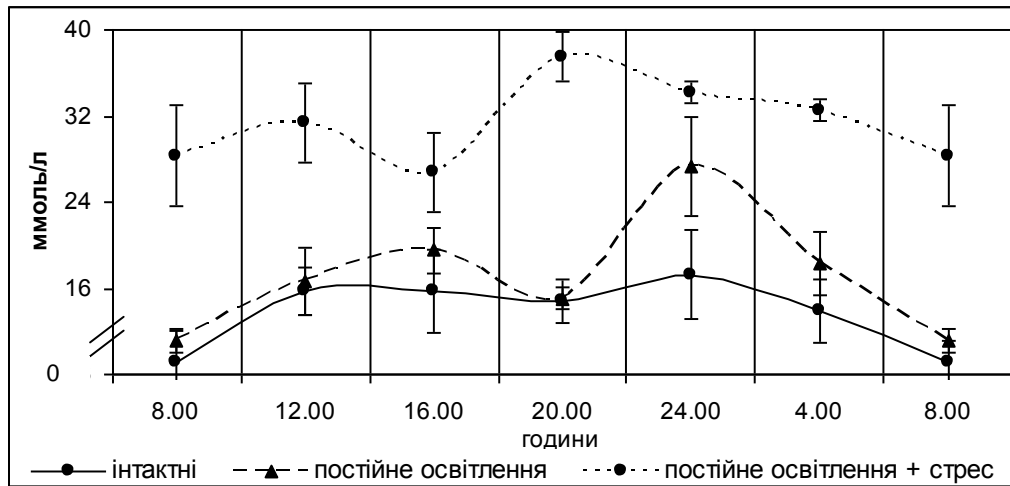


Рис. 4.24. Хроноритми концентрації іонів калію у щурів, які перебували за умов гіпофункції епіфіза мозку.

Зокрема, у досліджувані проміжки цей показник майже вдвічі перевищував дані інтактних тварин (табл. 4.8). Оскільки середньодобовий рівень ритмів екскреції іонів калію і концентрації його в сечі наближався до такого у тварин, які перебували за умов постійного освітлення, можна припустити, що саме пригнічення синтезу мелатоніну є однією з причин, що зумовлює порушення механізмів калієвого гомеостазу.

Перебудови хроноритмів екскреторної функції нирок супроводжувалися і підвищенням концентрації білка в сечі протягом доби. Мезор ритму становив  $0,83 \pm 0,042$  мг% і перевищував на 20%, а амплітуда майже втричі контрольні величини. Порівняно з іншими групами дослідних тварин рівень показника також залишався високим (табл. 4.9). Подібно змінювались хроноритми екскреції білка (рис. 4.25).

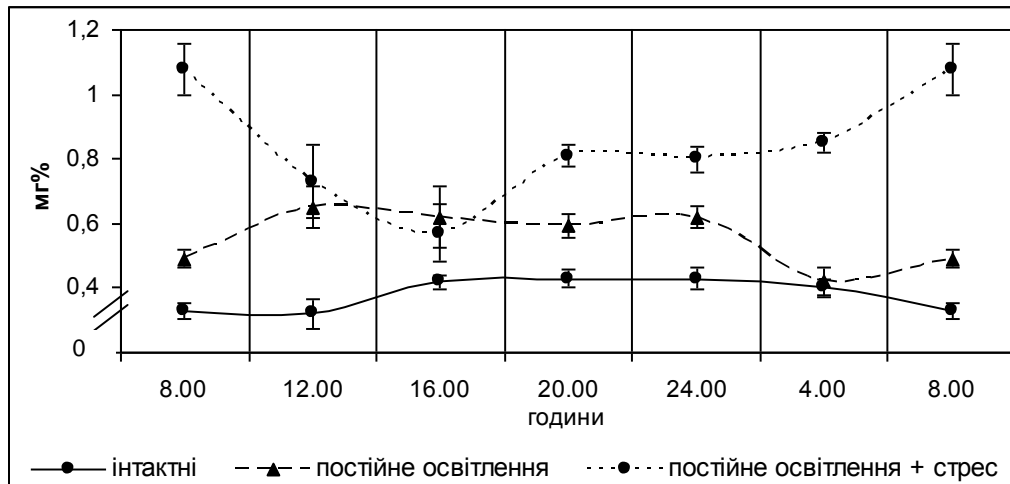


Рис. 4.25. Хроноритми екскреції білка у старих щурів, які перебували за умов гіпофункції епіфіза мозку.

ІС на фоні епіфізарної гіпофункції віддзеркалився і на параметрах іоно-регулювальної функції нирок (табл. 4.10). Порушення механізмів ниркового транспорту іонів натрію призвело до підвищення екскреції даного катіона впродовж періоду спостережень. Хроноритм набував однофазного характеру відносно контрольних хронограм з акрофазою о 24.00 год і батифазою о 08.00 год (табл. 4.10). Мезор істотно перевищував показники інтактних тварин (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

**Вплив іммобілізаційного стресу на мезор і амплітуду ритмів ниркового транспорту іонів натрію у білих щурів за умов гіпофункції ШЗ ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні		Гіпофункція ШЗ		Стрес+Гіпофункція ШЗ	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	2,14±0,16	18,3±4,9	6,58±0,38 p<0,001	13,5±4,77	5,07±0,46 p<0,001	39,0±5,95 p<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	0,37±0,04	32,1±2,58	5,8±0,89 p<0,001	45,4±9,13	7,51±1,38 p<0,001	45,6±11,28
Екскреція іонів натрію, кмоль/100 мкл КФ	0,63±0,04	15,7±4,1	1,47±0,24 p<0,006	50,7±8,83 p<0,001	7,67±0,62 p<0,001	22,6±4,16
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	132,77±0,17	0,4±0,11	133,69±0,82	1,6±0,51 p<0,05	135,11±2,16	4,3±1,33 p<0,02
Натрій/калієвий коефіцієнт	0,54±0,08	43,91±0,25	0,41±0,11	87,9±15,22 p<0,02	1,16±0,12 p<0,01	30,0±2,92 p<0,001

**Примітка:** p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин; n – кількість тварин.

Подібних змін набувала структура ритму концентрації іонів натрію в сечі. При цьому виявлено зміщення акрофази з 24.00 на 20.00 год порівняно з величинами інтактних особин. Зважаючи на підвищений рівень катіону в плазмі крові в окремих інтервалах, середньодобовий рівень і амплітуда ритму вірогідно відрізнялися щодо показників інтактної групи тварин (табл. 4.11).

Протягом усього періоду спостережень архітектоніка ритму натрій/калієвого коефіцієнту інверсна стосовно такої у щурів, яких піддали дії постійного освітлення (рис. 4.26). Мезор становив  $1,16 \pm 0,12$  од ( $p < 0,002$ ), а його амплітуда на 30,0% менша щодо контролю ( $p < 0,001$ ). Крім того, середньодобовий рівень коефіцієнта майже у два рази більше, ніж у інтактних, але на 5% менше порівняно з тваринами, які знаходилися за умов гіпофункції шишкоподібної залози. На основі цього можна припустити, що ефекти іммобілізаційного стресу модулюють натрій/калієвий коефіцієнт порівняно з інтактною групою тварин.

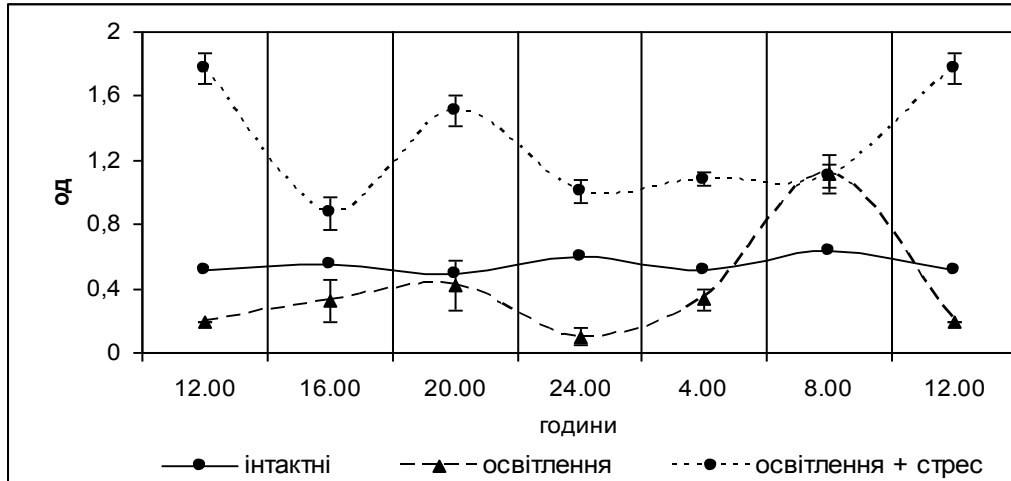


Рис. 4.26. Хроноритми натрій/калієвого коефіцієнта у старих щурів, які перебували за умов світлової експозиції під дією ІС.



Таблиця 4.12

Вплив ІС на хроноритми іонорегулювальної функції нирок тварин, що перебували за умов постійного освітлення ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Концентрація іонів натрію в сечі, _оль/л	I	1,83±0,185	1,87±0,140	1,75±0,125	2,33±0,222	2,77±0,265	2,27±0,154
	II	5,9±0,150	6,23±1,01	5,34±0,820	7,21±0,950	7,18±1,2	7,6±1,15
	III	9,30±1,520 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,001	8,00±2,502 p <sub>1</sub> <0,05	7,50±,101 p <sub>1</sub> <0,001	9,17±1,778 p <sub>1</sub> <0,01	10,08±1,375 p <sub>1</sub> <0,001	9,58±1,305 p <sub>1</sub> <0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	I	0,33±0,033	0,29±0,043	0,31±0,086	0,35±0,065	0,61±0,117	0,34±0,055
	II	4,34±0,072	10,20±5,196	5,44±1,204	5,95±2,003	2,29±0,326	6,60±1,628
	III	6,92±0,303 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	11,49±0,655 p <sub>1</sub> <0,001	8,37±1,247 p <sub>1</sub> <0,001	8,79±0,811 p <sub>1</sub> <0,001	5,81±1,347 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,001	2,64±0,902 p <sub>1</sub> <0,05
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	I	0,53±0,042	0,57±0,043	0,56±0,040	0,66±0,086	0,80±0,057	0,66±0,070
	II	1,25±0,315	2,85±1,441	1,04±0,221	1,51±0,696	0,67±0,168	1,49±0,454
	III	13,23±0,959 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	7,7±1,108 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	10,21±2,214 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	9,09±0,411 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	8,15±0,503 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	8,54±0,509 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	I	132,50±5,833	132,81±6,406	133,75±5,937	132,50±5,833	132,51±5,836	132,52±5,831
	II	135,01±4,583	135,02±4,584	132,91±5,625	129,58±5,208	134,58±4,791	135,04±4,584
	III	140,50±7,800	140,62±2,187	138,50±3,900	130,42±3,611	135,83±3,889	143,33±4,028
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	I	0,64±0,08	0,51±0,023	0,55±0,03	0,49±0,01	0,60±0,041	0,52±0,047
	II	0,19±0,001	0,32±0,132	0,42±0,152	0,10±0,051	0,33±0,066	1,11±0,421
	III	1,77±0,499 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,05	0,87±0,099 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	1,51±0,392 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05	1,01±0,070 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	1,08±0,043 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	1,10±0,070 p <sub>1</sub> <0,001

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці із тваринами у гіперліпомінізованих умовах, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці порівняно з інтактною групою тварин; I – 12.00С:12.00Т; II – 24.00С:00Т; III – 24.00С:00Т + стрес.

Хроноритмічні перебудови кислоторегулювальної функції проявлялися вірогідним підвищенням середньодобового рівня рН сечі порівняно з контролем. Також досліджуваний показник вищий відносно такого у тварин, яким моделювали гіпофункцію епіфіза (табл. 4.12, рис. 4.27). Акрофаза ритму співпадала з контролем і припадала на 24.00 год, батифаза – на 08.00 год (рис. 4.27).

Зростання рівня рН сечі супроводжувалося підвищенням екскреції активних іонів водню о 24.00 год (табл. 4.13, рис. 4.28). Мінімальне виведення катіона спостерігали з 08.00 до 12.00 год.

1-годинне стресування щурів знерухомленням на фоні пригнічення епіфізарної функції порушувало структуру хроноритмів екскреції кислот, що титруються. За умов гіпофункції епіфіза мозку у період з 24.00 до 08.00 год реєстрували зростання виведення вказаних сполук, а іммобілізаційний стрес нівелював цей ефект (рис. 4.29, табл. 4.13). Відмітимо, що як мезор, так і амплітуда ритму показника нижчі відносно зазначених груп порівняння (табл. 4.12).

Подібні зміни торкнулися й екскреції аміаку. На відміну від знерухомлення на тлі фізіологічної функції ШЗ, на фоні гіпофункції цієї залози спостерігали вірогідне зниження екскреції вказаної сполуки протягом періоду спостережень (табл. 4.13, рис. 4.30). Ритм набував монотонного характеру з акрофазою о 24.00 год, батифаза припадала на 16.00 год.

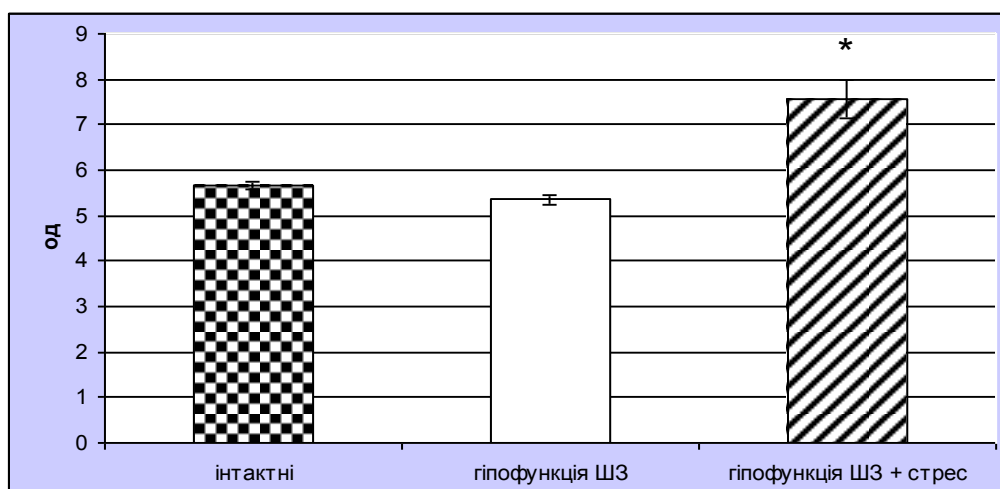


Рис. 4.26. Середньодобові ритми рН сечі у старих щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес на фоні гіпофункції ШЗ.

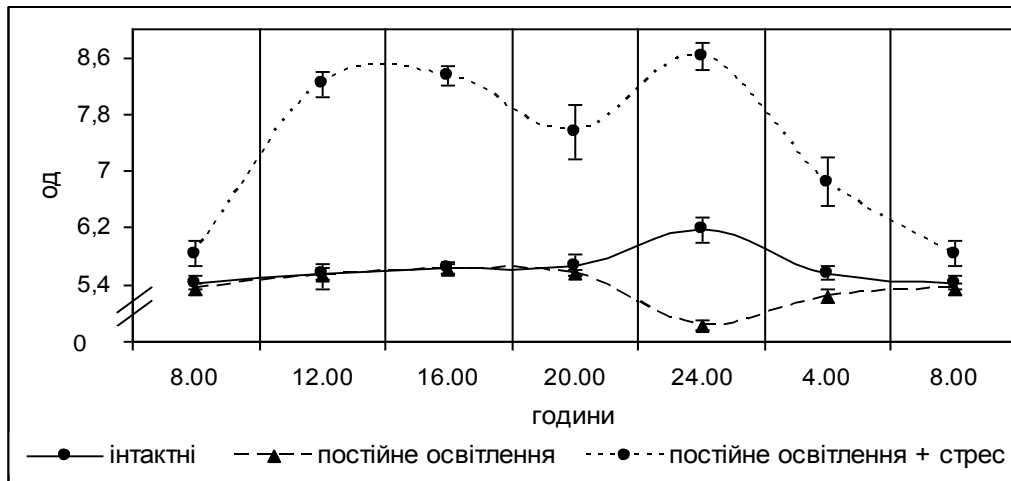


Рис. 4.27. Хроноритми рН сечі у стресованих щурів, які перебували за умов гіпофункції шишкоподібної залози.

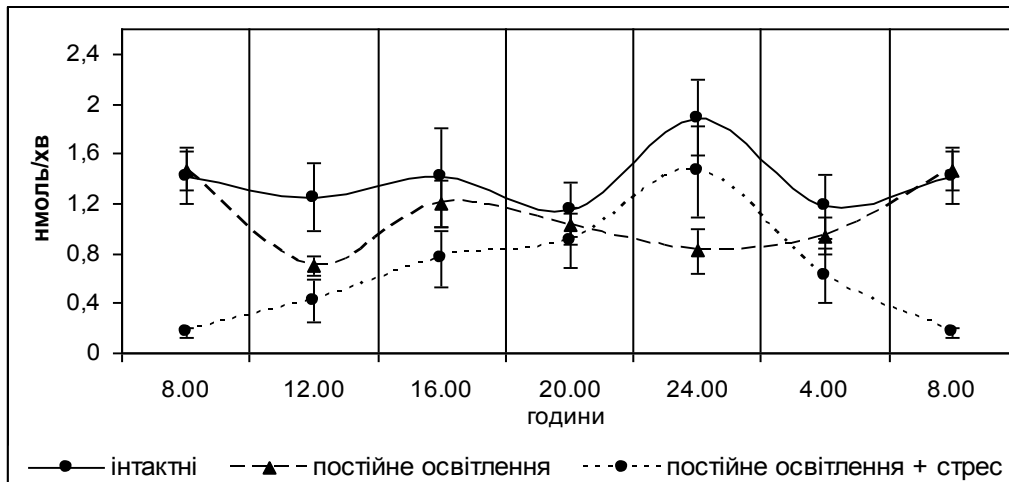


Рис. 4.28. Вплив іммобілізаційного стресу на хроноритми екскреції іонів водню у щурів, які перебували за умов світлової експозиції.

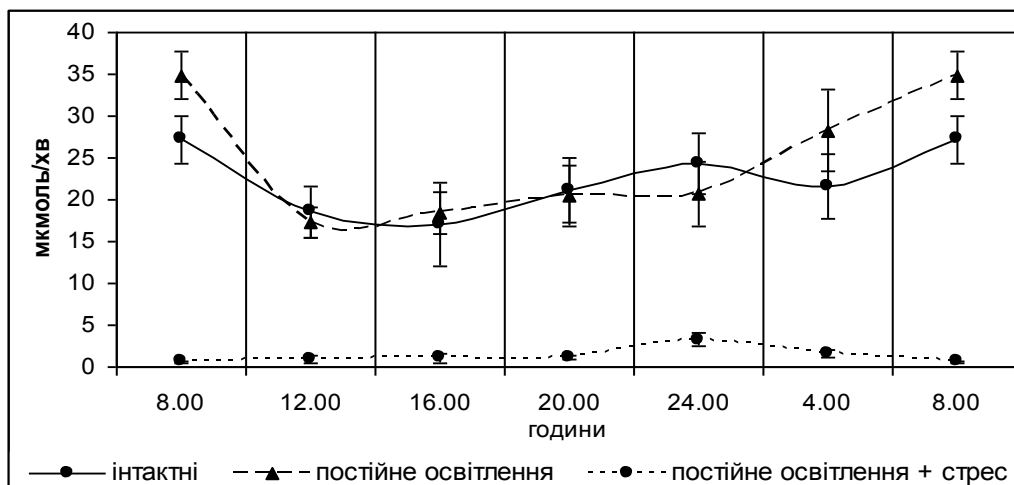


Рис. 4.29. Хроноритми екскреції кислот, що титруються у старих щурів, які перебували за умов світлової експозиції під дією іммобілізаційного стресу.

Таблиця 4.13

**Вплив гіпофункції ШЗ та іммобілізаційного стресу на мезор і амплітуду ритмів кислотовидільної функції нирок у білих щурів**

$(\bar{x} \pm S_x)$

Показник	Інтактні (n<6)		Тварини за умов гіпофункції ШЗ		Стресовані на фоні гіпофункції ШЗ	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
рН сечі	5,67±0,08	4,6±1,24	5,35±0,11	5,5±1,69	7,57±0,41 p<0,001	14,0±4,54 p<0,01
Екскреція іонів водню, нмоль/2 год	1,38±0,10	19,8±3,41	1,02±0,1 p<0,05	26,8±5,13	0,72±0,16 p<0,01	61,6±12,99 p<0,001
Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	2,26±0,06	6,2±2,15	0,19±0,04 p<0,001	4,3±1,49	2,33±0,13	13,1±4,76
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	21,65±1,38	17,2±4,5	23,31±2,76	29,4±4,12	5,01±1,08 p<0,001	62,1±10,14
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	35,72±2,2	15,8±5,14	14,51±0,31 p<0,001	5,6±1,79	20,35±3,1 p<0,01	36,9±10,23
Екскреція аміаку, мкмоль/2 год	12,63±1,25	27,0±4,34	13,74±1,41	28,9±4,35	4,5±0,62 p<0,001	34,1±6,64
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	22,87±1,78	19,5±4,9	2,64±0,21 p<0,001	18,8±5,76	5,68±1,63 p<0,001	72,1±9,11 p<0,001
Амонійний коефіцієнт	0,64±0,04	18,8±3,39	0,59±0,02	10,0±3,21	1,27±0,15 p<0,01	31,8±5,7

Примітка: p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.

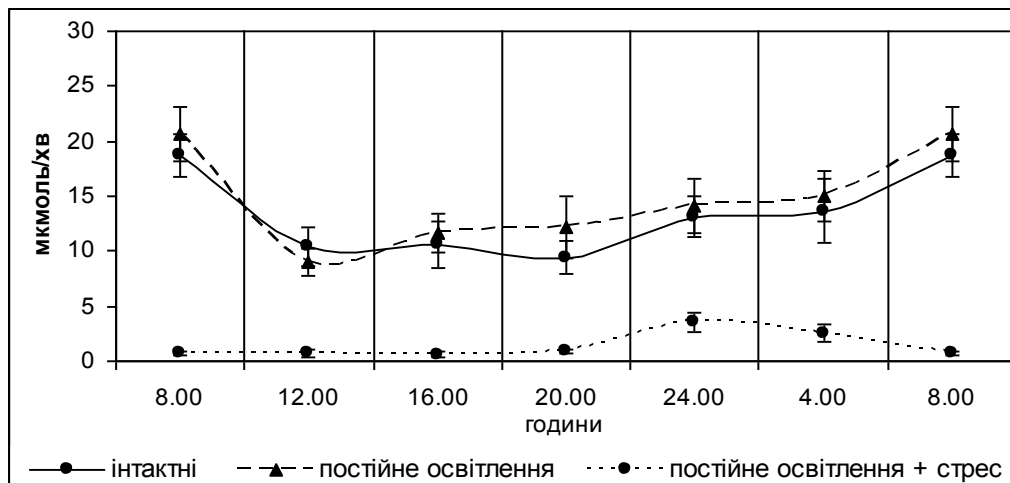


Рис. 4.29. Хроноритми екскреції аміаку старих щурів, які перебували за умов світлової експозиції під дією ІС.

Отже, при стресуванні тварин шляхом іммобілізації на тлі гіпофункції ШЗ відзначали циркадіанні перебудови архітекtonіки та фазової структури ритмів більшості показників досліджуваних ренальних функцій. Відмічено різке підвищення амплітуд хроноритмів, що, як ми вважаємо, є важливою діагностичною ознакою напруження адаптивних можливостей на межі переходу адаптації в дезадаптацію, що характеризується зниженням мезору співвідношення з дезорганізацією архітекtonіки 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 анти фазною його структурою щодо контрольних хронограм; підвищенням мезору екскреції іонів натрію, концентрації катіона в сечі впродовж всього періоду спостережень; інверсним характером ритму натрій/калієвого коефіцієнту щодо такого в інтактних особин; вірогідним збільшенням рН сечі на фоні зростання екскреції іонів водню та зниженням виведення титрованих кислот протягом досліджуваних часових інтервалів.

Застосовуючи імуноферментний аналіз для вивчення рівня мелатоніну у плазмі крові старих щурів при гіпокінезії прослідкували наступні зміни концентрації гормону щодо інтактної групи тварин. Так, за умов семидобового освітлення під дією іммобілізаційного стресу цей рівень

знизився майже у два рази, склавши 13,5 пг/мл ( $p < 0,011$ ), що вказує на пригнічення функціональної активності шишкоподібної залози за умов аддитивної дії стресу та семидобової гіперліюмінізації.

Імобілізаційний стрес на фоні тижневого освітлення призводив до різкого підвищення в крові вмісту МА (на 55,6%) та ОМБ (майже втричі порівняно з інтактною групою тварин) і зростання рівня церулоплазміну на 30% від рівня в інтактних тварин, а відмінність від групи тварин з гіпофункцією ШЗ без впливу стресу складала 24% у бік підвищення показника при стресі, що вказує на значну потенціювальну дію стресу на фоні гіпопінеалізму. Активність каталази та рівень HS-груп знижувалися на 38,4 і 32,7% відповідно (табл. 4.14).

Таблиця 4.13

**Динаміка коливань хроноритму кислоторегулювальної функції нирок у стресованих тварин, що перебували за умов світлової стимуляції ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник		Година					
		8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
рН сечі	I	5,43±0,093	5,56±0,073	5,63±0,082	5,67±0,148	6,18±0,448	5,57±0,084
	II	5,34±0,089	5,52±0,170	5,62±0,062	5,57±0,048	4,83±0,463	5,24±0,095
	III	5,84±0,174 p<0,02	8,23±0,181 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	8,34±0,046 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	7,55±0,387 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	8,62±0,192 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	6,85±0,333 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	I	1,42±0,225	1,25±0,268	1,41±0,394	1,15±0,222	1,89±0,503	1,18±0,256
	II	1,46±0,357	0,70±0,079	1,20±0,188	1,02±0,152	0,82±0,174	0,94±0,152
	III	0,17±0,039 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	0,42±0,168 p <sub>1</sub> <0,05	0,76±0,226	0,90±0,219	1,46±0,364	0,62±0,213
Екскреція іонів водню, нмоль/ 100 мкл КФ	I	2,17±0,131	2,33±0,184	2,47±0,186	2,09±0,114	2,34±0,220	2,18±0,138
	II	0,18±0,011	0,19±0,012	0,20±0,008	0,19±0,011	0,18±0,023	0,18±0,007
	III	2,70±0,222 p<0,001	2,47±0,198 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	2,63±0,213 p<0,001	2,14±0,055 p<0,001	2,05±0,104 p<0,001	2,01±0,152 p<0,001
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	I	27,22±2,808	18,54±3,071	17,05±5,030	21,11±3,945	24,35±3,563	21,64±3,855
	II	34,88±6,929	17,18±1,813	18,43±2,425	20,40±3,584	20,69±3,805	28,29±4,938
	III	36,66±0,120 p <sub>1</sub> <0,01	20,90±0,412	21,05±0,535	21,11±0,227	23,23±0,830	31,62±0,537 p <sub>1</sub> <0,05
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	35,12±4,412	29,41±3,182	41,51±7,175	36,44±5,295	42,41±5,842
	II	4,82±0,460	4,66±0,374	3,35±0,275	3,79±0,152	4,82±0,187	5,60±0,366
	III	10,98±1,757 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	4,00±0,860 p <sub>1</sub> <0,001	2,49±0,849 p <sub>1</sub> <0,001	2,87±0,356 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,001	4,22±0,358 p<0,032 p <sub>1</sub> <0,001	5,49±0,409 p <sub>1</sub> <0,001

Продовження таблиці 4.13

Екскреція аміаку, мкмоль/хв	I	18,74±1,953	10,39±1,772	10,54±2,137	9,44±1,425	13,08±1,846	13,60±2,914
	II	20,64±4,470	8,98±1,171	11,64±1,740	12,17±2,890	14,11±2,528	14,92±2,302
	III	6,74±0,145 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001	3,72±2,341 p <sub>1</sub> <0,05	5,61±1,207 p<0,017	4,85±1,132 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05	3,54±1,952 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	2,53±0,833 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	20,09±1,814	22,09±2,139	17,60±1,744	21,00±4,072	27,01±4,784
	II	2,75±0,257	2,43±0,223	2,12±0,218	2,14±0,175	3,31±0,262	3,10±0,319
	III	3,65±1,640 p <sub>1</sub> <0,001	3,32±0,692 p <sub>1</sub> <0,001	2,53±0,790 p <sub>1</sub> <0,001	2,32±0,591 p <sub>1</sub> <0,001	4,80±0,166 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	8,47±0,829 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01
Амонійний коефіцієнт	I	0,69±0,051	0,61±0,067	0,84±0,178	0,48±0,073	0,59±0,091	0,61±0,041
	II	0,59±0,072	0,52±0,032	0,64±0,082	0,57±0,061	0,68±0,042	0,55±0,047
	III	1,21±0,123 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	0,85±0,098 p<0,01	1,92±0,629	0,90±0,257	1,19±0,100 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	1,53±0,078 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці із тваринами у гіперілномінізованих умовах, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці порівняно з інтактною групою тварин. I – 12.00С:12.00Т; II – 24.00С:00Т; III – 24.00С:00Т + стрес.



Вищенаведені результати вказують на виражене негативне реагування системи ВРОЛБ на вплив зовнішніх чинників, таких як тривале освітлення та ІС.

Таблиця 4.14

**Про- та антиоксидантний стан крові стресованих старих щурів за умов гіпофункції епіфіза мозку ( $\bar{x} \pm S_x$ ; n=6)**

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

Примітки: p – вірогідність різниць між показниками дослідних та інтактних тварин;  
n – кількість тварин.

Зазначений стан крові щодо процесів ВРОЛБ супроводжувався певними змінами параметрів білків цитоплазми пінеалоцитів та епітелію проксимальних каналців нирки. Зовнішній подразнювач у вигляді світлової експозиції та ІС, викликав значні зміни у співвідношенні “основних” та “кислих” білків, підвищивши коефіцієнт ОМБ у світлих пінеалоцитах майже у 1,5 раза до 1,340±0,056, у темних – цей показник збільшився у 1,4 раза (1,625±0,034), що вказує на негативний ефект світлового чинника та стресу. В епітелії проксимальних каналців цей показник зріс у 1,5 раза, досягнувши (1,324±0,024). Рівень ОМБ підвищився у всіх досліджуваних елементах, вказуючи на значний негативний ефект стресу щодо системи ВРОЛБ.

Зміщення співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами у бік останніх, визначення співвідношення між “кислими” та “основними” білками в пінеалоцитах, значне зниження концентрації мелатоніну в плазмі крові, зростання вмісту МА, ОМБ, ЦП із паралельним зменшенням “кислих” та “основних” груп в крові також підтверджують виражену патогенну дію іммобілізаційного стресу на фоні постійного освітлення.

#### 4.3. Корекція мелатоніном стрес-індукованих змін морфофункціонального стану нирок та епіфіза мозку старих щурів за умов гіпофункції шишкоподібної залози

Після внутрішньоочеревинного уведення мелатоніну в дозі 2,5 мг/кг маси тіла тварини при гістологічному дослідженні епіфіза мозку виявлено підвищення співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами майже удвічі порівняно із 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. Водночас, застосування мелатоніну за даних умов експерименту відновило вищенаведений показник, але це співвідношення у два рази менше відповідно до інтактної групи тварин (рис. 4.30).

Коефіцієнт R, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив у світлих пінеалоцитах  $1,200 \pm 0,041$ , що вказує на наближення до показника контрольної групи ( $p < 0,001$ ). Порівняно із величиною у тварин, що зазнали стресу при семидобовій світловій експозиції відмінність склала  $p = 0,071$ . У темних пінеалоцитах коефіцієнт перебував на рівні  $1,490 \pm 0,026$ , при цьому зменшився майже на 10% від рівня коефіцієнту інтактної групи тварин ( $p < 0,001$ ). Наведені результати вказують на стрес-протективну дію мелатоніну щодо змін окисно-відновлювальних процесів у пінеалоцитах, викликаних сумарним впливом тривалого освітлення та іммобілізаційного стресу (рис. 4.31).

Електронномікроскопічними дослідженнями епіфіза в умовах тижневого цілодобового освітлення, іммобілізаційного стресу та уведення мелатоніну встановлено, що для частини пінеалоцитів характерним є активація ядрця. Це проявляється переважанням у каріоплазмі еухроматину, наявністю великих ядерець, рибосомальних гранул, нечисельними, але глибокими інвагінаціями каріолеми, в яких багато ядерних пор.

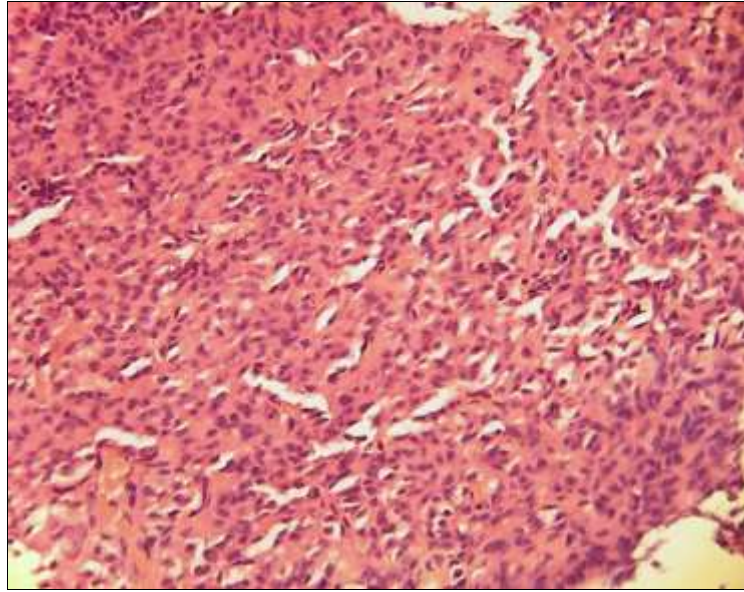


Рис.4.30. Морфологічна картина епіфіза мозку старого щура при уведенні мелатоніну тваринам, що зазнали стресу за умов гіпофункції ШЗ. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

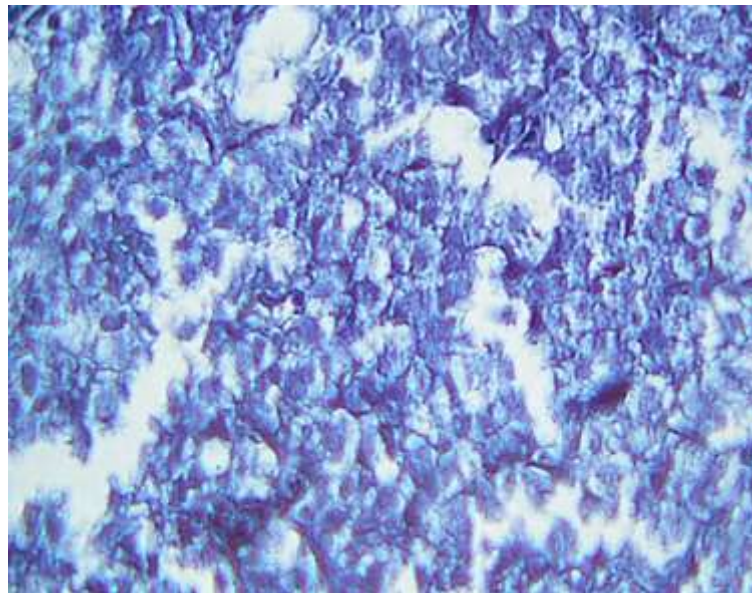


Рис.4.31. Світлова мікроскопія епіфіза мозку старого щура при утриманні його за умов гіпофункції ШЗ. Корекція мелатоніном постімобілізаційних змін. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40x, ок.10x.

У цитоплазмі добре розвинені органели: гранулярний ендоплазматичний ретикулум, комплекс Гольджі, наявні гіпертрофовані мітохондрії. Виявляються електроннощільні різної величини гранули серотоніну, частина з них великі. Такий стан мелатоніну запобігає пошкодженню і активує секреторну діяльність пінеалоцитів (рис. 4.32).

На світлооптичному рівні дослідженням структур нирок старих щурів встановлені наступні зміни. У кірковій речовині відмічено зернисту дистрофію в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $54 \pm 1,9\%$ , та зменшилася після триденного уведення мелатоніну майже удвічі клітин цього типу щодо стресованої групи тварин. На відміну від некорегованого стресу, простори між зовнішнім та внутрішнім листками капсули клубочка не змінені, ішемізації кіркової речовини не виявлено. Вказані зміни проілюстровані на рисунку 4.33.

Після корекції постімобілізаційних змін у мозковій речовині не виявлено повнокров'я в судинах мозкових променів. У сосочку нирки зберігається набряк більшості епітеліальних клітин.

Щодо вивчення процесів перекисного окиснення ліпідів у тканинах досліджуваних органів нами виявлені наступні зміни. Коефіцієнт P, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив в епітелії проксимальних каналців –  $1,078 \pm 0,0011$ ,  $p < 0,001$  (рис. 4.34).

Застосування мелатоніну послаблює стресову дію іммобілізації при цілодобовому освітленні. Порівняння результатів субмікроскопічних досліджень фільтраційного бар'єра нирки з використанням мелатоніну та без його застосування встановило, що поряд із незначними змінами компонентів нефрона наявні окремі морфофункціональні зміни. Частина цитопедикул має видовжений і потовщений вигляд, а діафрагми залишаються добре збереженими, що свідчить про активну фільтрацію (рис. 4.35). Поряд із незміненими органелами (мітохондрії, рибосоми, ендоплазматичний ретикулум, комплекс Гольджі) трапляються пошкоджені структури та окремі світлі вакуолі в цитоплазмі подоцитів. Добре виражена базальна мембрана утворена трьома шарами, середній електроннощільний з яких має фенестри. Цитоплазма ендотеліоцитів частково набрякла, містить просвітлені ділянки, проте видно функціонально активні мітохондрії та піноцитозні пухирці.

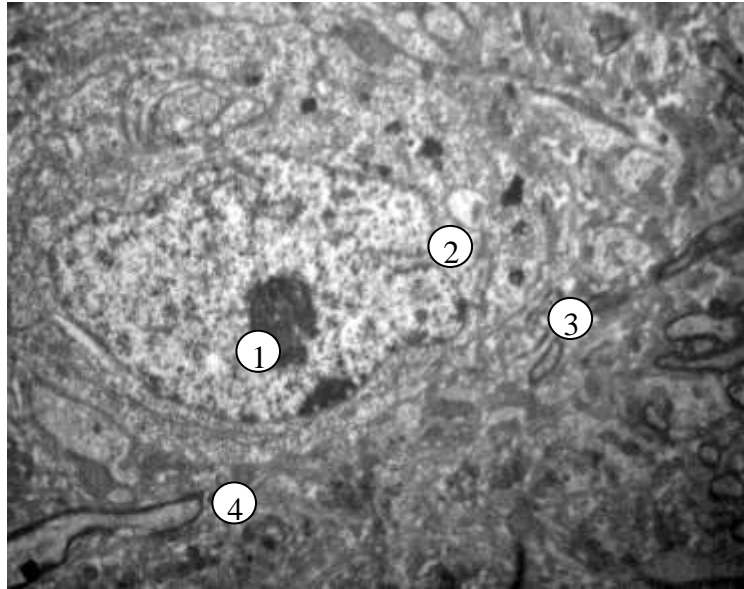


Рис. 4.32. Субмікроскопічна організація пінеалоцита епіфіза мозку тварин в умовах 24-годинного освітлення та уведення мелатоніну при іммобілізаційному стресі.

Ядерце (1), інвагінації каріолеми (2), каналці гранулярної ендоплазматичного ретикулуму (3), гранули серотоніну (4). x 9 000

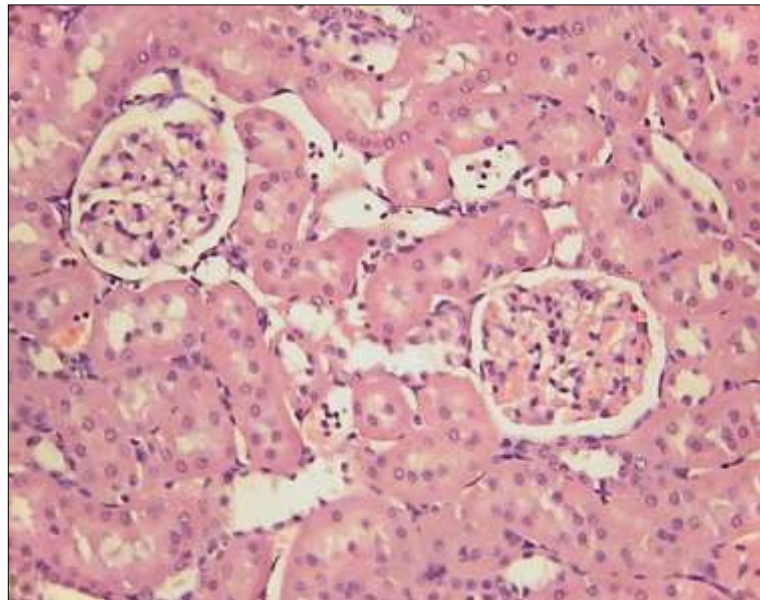


Рис. 4.33. Мікроскопія кіркової речовини нирки старого щура при корегуванні стресу мелатоніном за умов світлової експозиції.

Гематоксилін і еозин. Об.20х, ок.10х.



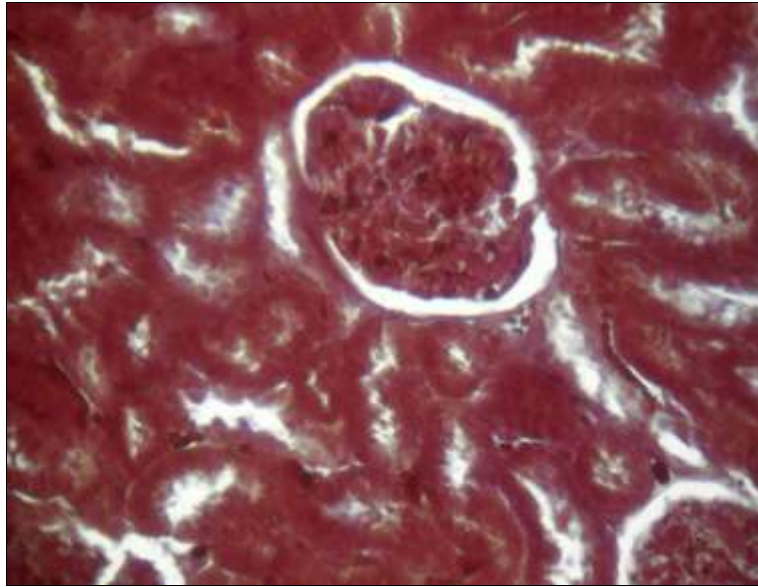


Рис. 4.34. Гістологічна будова кіркової речовини нирки старого щура при корегованому мелатоніном стресі за умов гіпофункції ШЗ. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

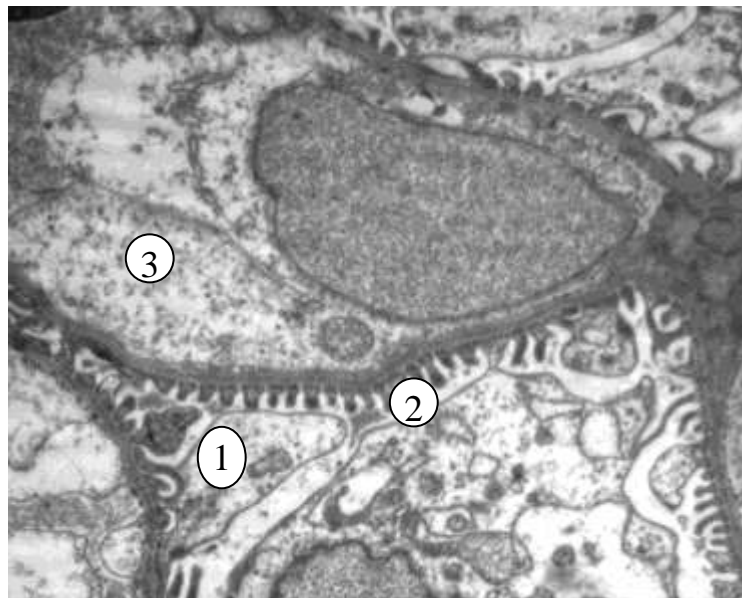


Рис. 4.35. Електронна мікрофотографія фільтраційного бар'єру нирки щура при цілодобовому освітленні, іммобілізаційному стресі та уведенні мелатоніну.

Нормальна структура цитопедикул (1), чітка тришарова базальна мембрана (2), помірний набряк цитоплазми ендотеліоцита (3). x 15 000

Окремі реактивні зміни ультраструктури помітні в епітеліоциті проксимального відділу канальців нефрона нирки щурів за умов іммобілізаційного стресу та при застосуванні мелатоніну. Зменшується базальна посмугованість, просвітлюється цитоплазма, розширюються канальці ендоплазматичного ретикулуму та комплексу Гольджі, руйнуються окремі мікроворсинки на апікальній поверхні епітеліоцитів (рис. 4.36). У мітохондріях багато крист, що свідчить про їх функціонально активний стан. Еухроматинове ядро з неглибокими інвагінаціями каріолеми і чіткими ядерними порами відображає також підвищену функціональну активність.

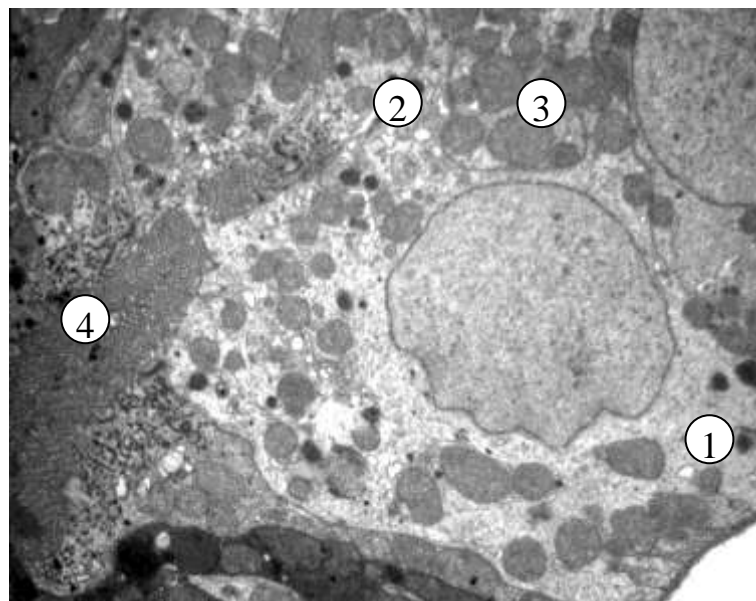


Рис. 4.36. Ультраструктура проксимального канальця нефрону при цілодобовому освітленні в умовах іммобілізаційного стресу та при застосуванні мелатоніну. Короткі складки базальної плазмолемі (1), розширені цистерни комплексу Гольджі (2), мітохондрії (3), багато мікроворсинок (4). x 15 000

Добовий ритм діурезу в тварин, яким вводили мелатонін в якості коректора постстресорних змін на тлі гіпофункції ШЗ істотно змінювався (табл. 4.15). Архітектоніка ритму сечовиділення мала інверсний характер щодо хронограм тварин, яких утримували за умов стандартного фотоперіоду та постійного освітлення на фоні ІС. Батифазу ритму виявляли о 12.00 год, максимальні величини зміщувалися з 24.00 на 16.00 год щодо показника стресованих щурів, які перебували в гіперліюмінізованих умовах, а в інтактної групи тварин акрофаза припадала на 24.00 год (рис. 4.37).

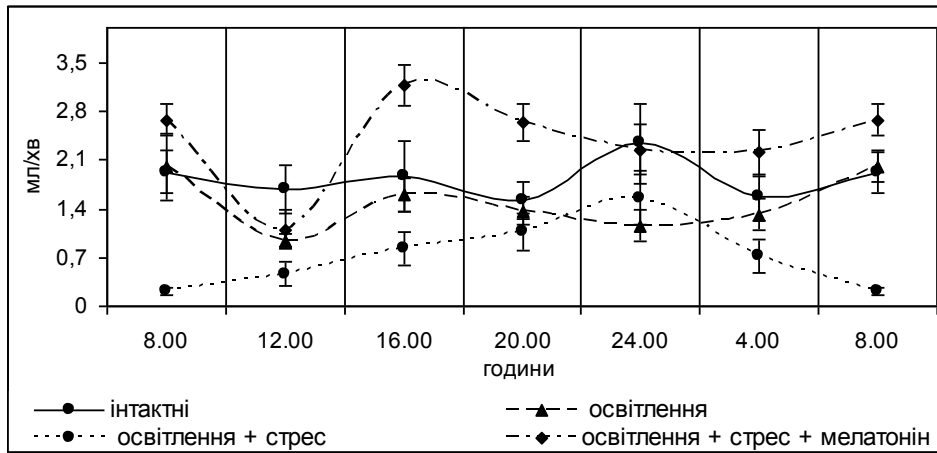


Рис. 4.37. Хроноритми діурезу в щурів, яким проводили ін'єкції мелатоніну на тлі стресу при гіпофункції шишкоподібної залози.

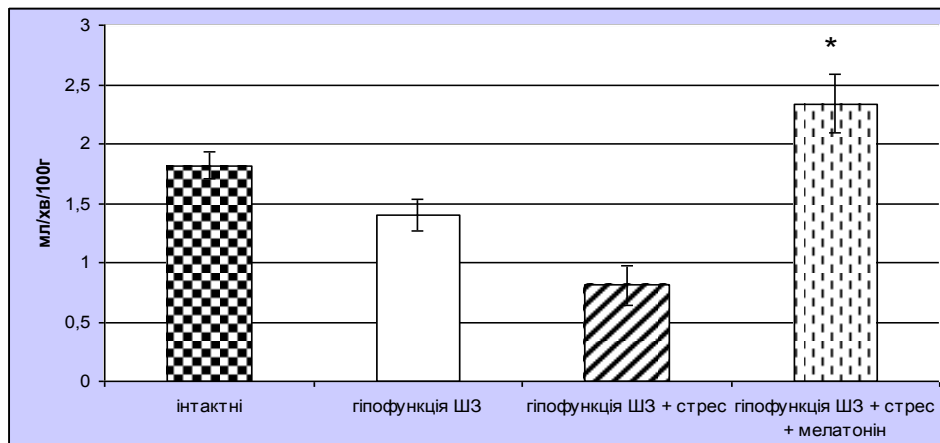


Рис. 4.38. Корекція мелатоніном середньодобових ритмів діурезу у старих щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес на фоні гіпофункції шишкоподібної залози.

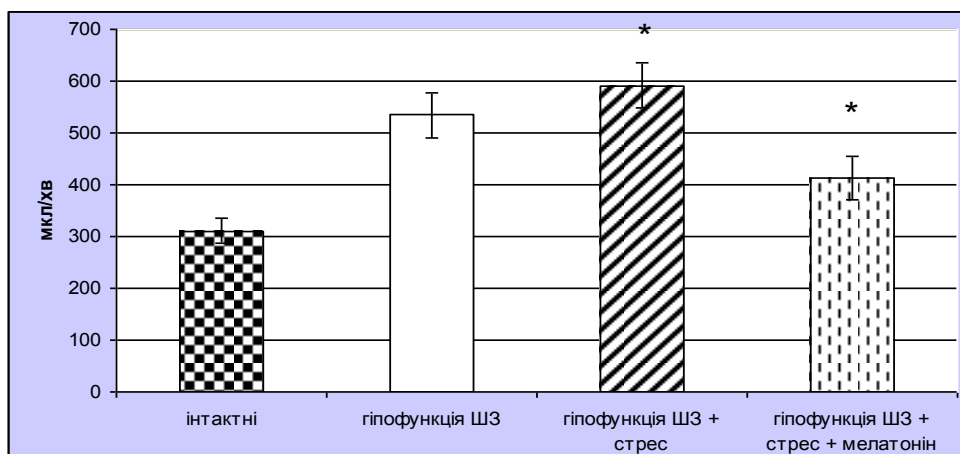


Рис. 4.39. Корекція мелатоніном середньодобових ритмів швидкості клубочкової фільтрації у старих щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес на фоні гіпофункції шишкоподібної залози.



Таблиця 4.15

**Вплив мелатоніну та епіталону на стрес-індуковані зміни хроноритмів екскреторної функції нирок тварин,  
які перебували за умов постійного освітлення ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Діурез, мкл/хв/100г	I	1,93±0,298	1,68±0,353	1,86±0,513	1,52±0,276	2,34±0,567	1,57±0,332
	II	2,00±0,474	0,94±0,093	1,60±0,248	1,37±0,210	1,16±0,218	1,32±0,224
	III	0,22±0,051	0,46±0,179	0,83±0,246	1,06±0,262	1,56±0,377	0,72±0,238
	IV	2,68±0,526 p<0,001	1,10±0,278 p<0,01	3,18±0,787 p<0,001	2,64±0,758	2,25±0,360	2,21±0,336 p<0,01
	V	1,21±0,231 p<0,01	0,58±0,093 p<0,02	1,05±0,060	1,14±0,138	1,28±0,385	0,86±0,122
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	I	5,05±0,253	5,09±0,265	5,09±0,308	5,07±0,254	5,05±0,253	5,06±0,251
	II	5,16±0,208	5,17±0,207	5,25±0,250	5,08±0,306	5,00±0,250	5,18±0,209
	III	6,20±0,280	5,68±0,343	5,65±0,660	4,75±0,083	4,79±0,145	4,95±0,395
	IV	6,00±0,250 p<0,05	5,25±0,375	5,60±0,410	4,85±0,210	4,63±0,271	5,25±0,291
	V	5,04±0,152 p<0,01	4,87±0,187	4,91±0,333	4,95±0,229	4,70±0,145	4,83±0,180
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	I	9,11±2,93	15,75±2,25	15,75±4,87	14,77±4,98	17,22±4,14	13,88±4,93
	II	11,14±1,03	16,67±3,15	19,50±2,16	15,00±1,01	27,33±4,67	18,33±2,94
	III	28,30±4,620	31,37±3,687	26,70±3,660	37,50±2,333	34,17±1,001	32,50±1,002
	IV	34,37±0,562 p<0,001	25,62±1,562 p<0,001	39,80±2,520 p<0,02 p<0,001	34,40±1,760 p<0,001	33,25±1,042 p<0,001	14,33±3,389 p<0,001 p<0,001
	V	17,41±1,208 p<0,05 p<0,001	30,58±2,791 p<0,001	8,58±1,722 p<0,001 p<0,01	20,00±2,001 p<0,001	15,17±1,611 p<0,001	13,91±2,556 p<0,001

Продовження таблиці 4.15

Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	I	28,42±4,567	23,98±3,516	31,62±9,007	38,73±10,133	50,83±10,830	37,23±6,109
	II	34,15±5,09	34,28±6,594	20,90±7,226	77,85±15,124	67,98±1,305	48,92±11,539
	III	40,65±6,189	41,43±4,583	32,03±6,551	74,04±6,020	75,23±7,199	52,33±5,757
	IV	39,19±3,842	32,81±4,597 p<0,001	43,08±3,452	48,88±2,596	47,47±4,186 p<0,001	33,64±2,354 p<0,001
	V	32,19±5,520 p<0,001	31,79±0,334 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	30,91±0,192 p<0,001	42,21±0,384 p<0,001	51,81±5,542 p<0,05	41,27±3,237 p<0,001
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	I	75,55±2,851	74,62±2,859	74,50±2,812	75,55±2,851	75,56±2,852	75,53±2,850
	II	74,50±3,750	74,50±3,750	77,67±2,333	74,00±3,343	73,17±3,083	74,51±3,750
	III	80,60±6,040	73,25±4,937	72,20±2,280	66,50±1,583	60,00±2,333	62,67±3,001
	IV	66,50±2,502 p <sub>1</sub> <0,05	70,50±2,504	58,20±3,524 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	69,60±0,840	56,67±1,389 p <sub>1</sub> <0,001	66,33±2,003 p <sub>1</sub> <0,05
	V	74,50±1,916	82,17±1,583 p <sub>1</sub> <0,043	74,17±2,583	71,17±1,583	71,00±1,833 p<0,004	75,02±1,667 p<0,005
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	I	364,76±7,818	354,60±9,886	255,15±15,125	253,82±7,615	275,41±15,026	356,61±13,016
	II	748,88±45,022	368,78±27,097	562,81±70,386	558,20±112,601	442,56±90,194	522,62±92,923
	III	757,13±2,246	416,41±6,233	629,22±8,523	642,53±10,099	574,00±19,370	528,74±8,869
	IV	303,04±15,690 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	341,94±11,586 p<0,001	344,08±28,433 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02	599,31±29,574 p <sub>1</sub> <0,001	409,99±20,559 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	482,27±13,541 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001
	V	440,25±6,954 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	319,86±3,258 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	436,88±3,965 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	546,08±5,755 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	450,95±16,654 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	432,06±4,521 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Відносна реабсорбція води, %	I	98,76±0,068	98,69±0,099	98,63±0,098	98,83±0,055	98,75±0,084	98,78±0,075
	II	99,89±0,005	99,90±0,006	99,88±0,004	99,89±0,006	99,88±0,007	99,90±0,004
	III	98,52±0,122	98,87±0,085	98,80±0,099	98,97±0,013	99,08±0,049	98,99±0,056
	IV	98,95±0,054 p<0,01	98,89±0,046 p <sub>1</sub> <0,05	99,11±0,047 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001	98,88±0,013 p<0,001	99,12±0,030 p <sub>1</sub> <0,001	98,84±0,064

Продовження таблиці 4.15

	V	98,74±0,054	98,74±0,021	98,76±0,089	98,95±0,013 p <sub>1</sub> <0,016	98,92±0,039 p<0,029	98,86±0,017 p<0,051
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну	I	0,008±0,0004	0,007±0,0006	0,007±0,0006	0,008±0,0004	0,008±0,0006	0,008±0,0005
	II	0,094±0,0057	0,095±0,0056	0,086±0,0032	0,093±0,0056	0,091±0,0063	0,094±0,0042
	III	0,007±0,0005	0,009±0,0007	0,008±0,0006	0,009±0,0001	0,011±0,0005	0,010±0,0005
	IV	0,009±0,0004 p<0,02	0,009±0,0003 p <sub>1</sub> <0,02	0,011±0,0005 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	0,008±0,0001 p<0,001	0,011±0,0004 p <sub>1</sub> <0,002	0,008±0,0004 p<0,011
	V	0,0081±0,0003	0,0080±0,0001	0,0082±0,0005	0,0095±0,0001 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	0,0093±0,0003 p<0,015	0,0088±0,0001 p<0,05
Концентрація білка в сечі, г/л	I	0,33±0,026	0,32±0,046	0,42±0,021	0,43±0,0246	0,43±0,031	0,40±0,030
	II	0,49±0,028	0,65±0,065	0,62±0,095	0,59±0,037	0,62±0,034	0,42±0,042
	III	1,08±0,080	0,73±0,113	0,57±0,090	0,81±0,036	0,80±0,039	0,85±0,031
	IV	0,73±0,017 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	0,83±0,047 p <sub>1</sub> <0,001	0,77±0,038 p <sub>1</sub> <0,001	0,81±0,027 p <sub>1</sub> <0,001	0,77±0,044 p <sub>1</sub> <0,001	0,73±0,042 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,001
	V	0,55±0,023 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	0,81±0,039 p <sub>1</sub> <0,001	0,66±0,052 p <sub>1</sub> <0,002	0,65±0,031 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	0,67±0,024 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	0,52±0,022 p<0,001
Екскреція білка, мг/хв/100г	I	0,64±0,100	0,76±0,217	0,56±0,040	0,67±0,145	0,97±0,226	0,64±0,138
	II	1,01±0,289	0,61±0,090	0,97±0,199	0,84±0,157	0,72±0,136	0,59±0,160
	III	0,23±0,042	0,38±0,198	0,45±0,136	0,90±0,261	1,30±0,365	0,60±0,193
	IV	2,01±0,397 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	0,86±0,173	2,60±0,765 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001	2,22±0,676 p <sub>1</sub> <0,05	1,69±0,263	1,53±0,195 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01
	V	0,69±0,143	0,47±0,089	0,71±0,076	0,78±0,116	0,87±0,273	0,45±0,063

Закінчення таблиці 4.15

Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	I	0,99±0,101	1,00±0,140	1,37±0,112	1,20±0,085	1,27±0,097	1,18±0,130
	II	0,12±0,010	0,16±0,013	0,17±0,021	0,15±0,007	0,16±0,007	0,11±0,0147
	III	3,97±0,617	2,07±0,394	1,58±0,249	2,00±0,111	1,77±0,138	2,02±0,054
	IV	1,85±0,109 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	2,22±0,179 p <sub>1</sub> <0,001	1,67±0,172	2,19±0,095 p <sub>1</sub> <0,001	1,63±0,142	2,06±0,235 p <sub>1</sub> <0,01
	V	1,68±0,101 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	2,42±0,146 p <sub>1</sub> <0,001	1,97±0,201	1,65±0,067 p<0,022 p <sub>1</sub> <0,002	1,73±0,105 p <sub>1</sub> <0,01	1,42±0,082 p<0,001

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно із групою тварин, які знаходилися за умов гіпофункції ШЗ та під впливом іммобілізаційного стресу, вірогідність різниці порівняно із стресованою групою тварин. p<sub>1</sub> – вірогідність різниці порівняно з інтактною групою тварин. I – 12.00С:12.00Т, II – 24.00С:00Т, III – 24.00С:00Т + стрес, IV – 24.00С:00Т + стрес + мелатонін, V – 24.00С:00Т + стрес + епіталон

Таблиця 4.16

**Зміни середньодобових рівнів і амплітуд ритмів показників екскреторної функції нирок у стресованих старих щурів після уведення мелатоніну та епіталону на тлі гіпофункції ШЗ ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні		Гіпофункція		Гіпофункція+Стрес		Стрес+Мелатонін		Стрес+Епіталон	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Діурез, мкл/хв/100г	1,82±0,11	16,6±3,98	1,4±0,13 p<0,05	26,13±4,79	0,81±0,17 p <sub>1</sub> <0,02	58,0±11,77 p <sub>1</sub> <0,05	2,34±0,25 p <sub>2</sub> <0,001	30,1±6,71	1,02±0,1 p <sub>3</sub> <0,001	25,5±7,66 p <sub>2</sub> <0,05
Концентрація іонів калію в плазмі крові, мкмоль/л	5,07±0,01	0,4±0,12	5,14±0,03 p<0,05	1,7±0,54 p<0,041	5,34±0,25	11,1±3,96 p <sub>1</sub> <0,05	5,26±0,18 p <sub>2</sub> <0,001	9,4±2,83 p <sub>3</sub> <0,01	4,88±0,04 p <sub>3</sub> <0,001	2,4±0,71 p <sub>3</sub> <0,02
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	14,41±0,94	19,6±5,62	22,92±4,8	15,7±9,93	31,76±1,48	12,4±3,89 p <sub>1</sub> <0,001	30,30±3,44 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001	2,99±0,41 p <sub>3</sub> <0,02	17,6±2,56 p <sub>2</sub> <0,001	42,1±7,26 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,05
Екскреція іонів калію, мкмоль/хв/100г	3,51±0,35	26,9±,03	47,35±8,79 p<0,001	46,3±6,26 p<0,02	47,62±3,12	14,5±3,47 p <sub>1</sub> <0,01	40,85±2,82 p <sub>3</sub> <0,001	16,7±4,47 p <sub>3</sub> <0,05	38,7±3,37 p <sub>3</sub> <0,001	21,5±5,22

Закінчення таблиці 4.16

Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	75,22±0,22	0,7±0,24	74,89±0,56	2,1±0,63	69,2±3,07	11,0±3,7 p <sub>1</sub> <0,039	64,63±2,4 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001	9,0±3,09 p <sub>3</sub> <0,05	74,6±1,3	5,4±1,46 p <sub>3</sub> <0,01
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100г	310,06±24,3	17,4±6,53	533,98±44,6 p<0,001	24,2±4,8	591,3±42,8	19,5±4,87	413,4±42,5 p <sub>2</sub> <0,001	26,8±4,97	437,8±20,7 p <sub>2</sub> <0,02 p <sub>3</sub> <0,01	16,4±3,52
Відносна реабсорбція води, %	98,74±0,03	0,1±0,02	99,89±0,05 p<0,001	0,1±0,001	98,87±0,07 p <sub>1</sub> <0,001	0,2±0,05	98,97±0,05 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,05	0,1±0,04	98,83±0,04	0,1±0,03
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну	0,01±0,002	5,2±2,42	0,09±0,01 p<0,001	3,7±1,11	0,01±0,001 p <sub>1</sub> <0,001	14,1±4,42 p <sub>1</sub> <0,05	0,01±0,001 p <sub>2</sub> <0,001	13,7±4,96	0,01±0,001	6,5±2,1
Концентрація білка в сечі, г/л	0,38±0,02	12,9±4,53	0,57±0,04 p<0,02	15,8±4,41	0,81±0,05 p<0,01	20,5±3,11	0,77±0,02 p <sub>3</sub> <0,001	5,3±1,68 p <sub>2</sub> <0,01	0,64±0,04 p <sub>3</sub> <0,001	16,5±4,1
Екскреція білка, мг/хв/100г	0,71±0,05	20,3±3,11	0,79±0,08	22,7±6,43	0,64±0,15	61,6±9,07 p <sub>1</sub> <0,01	0,79±0,08 p <sub>2</sub> <0,001	22,7±6,43 p <sub>2</sub> <0,01	0,64±0,15	61,6±9,07 p <sub>3</sub> <0,002
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочково-го фільтрату	1,17±0,06	12,8±4,12	0,15±0,01 p<0,001	16,2±5,75	2,07±0,15 p <sub>1</sub> <0,001	23,1±3,1	1,94±0,11 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001	13,3±4,73	1,81±0,13 p <sub>3</sub> <0,001	19,1±3,37

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 6 тварин; p – вірогідність різниці між показниками тварин за умов гіпофункції ШЗ та інтактних тварині, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками стресованих тварин та тварин яких утримували за гіпопінеалізму без стресування, p<sub>2</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин, p<sub>3</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин, n – кількість тварин.

Отже, введення мелатоніну як коректора стрес-індукованих змін на фоні тривалого світлового режиму суттєво змінює фазову структуру ритму. Застосування мелатоніну на тлі постійного освітлення викликало підвищення середньодобового рівня діурезу майже втричі порівняно із стресованими тваринами, які перебували на тлі постійного освітлення, що вказує на діуретичний та позитивний стреспротекторний ефекти мелатоніну (табл. 4.16, рис. 4.38). Реєстрували зниження амплітуди ритму відносно показників стресованих тварин удвічі (табл. 4.16). Виявлені зміни хроноритмів діурезу були наслідком порушення процесів ультрафільтрації. Хроноритм швидкості клубочкової фільтрації набував монотонного характеру з акрофазою о 20.00 год і батифазою о 08.00 год. Привертало увагу підвищення рівня показника в усі досліджувані проміжки доби (табл. 4.15). Мезор ритму менший, ніж у інших груп порівняння, що свідчить про позитивний ефект мелатоніну на фоні іммобілізаційного стресу та епіфізарної гіпофункції (табл. 4.16, рис. 4.39).

Збільшення швидкості клубочкової фільтрації суттєво не віддзеркалилося на рівні відносної реабсорбції води. Мезор ритму становив  $98,83 \pm 0,04\%$  і нижчий, ніж в іммобілізованих тварин, яких утримували за світлової стимуляції, але більший, ніж в інтактних тварин. Максимальні величини реєстрували о 24.00 год (табл. 4.15, рис. 4.40).

Середньодобовий рівень концентрації креатиніну в плазмі крові вірогідно не змінювався стосовно такого у тварин, яких утримували в іммобілізаційних клітках на фоні гіпофункції ШЗ. Проте, амплітуда ритму вища, ніж в інтактних особин. Отже, у даному випадку введення мелатоніну не призвело до вираженої корекції білкового обміну у старих щурів. Впродовж спостереження реєстрували перебудову ритму концентраційного індексу ендogenous креатиніну з порушенням його фазової структури (табл. 4.15).

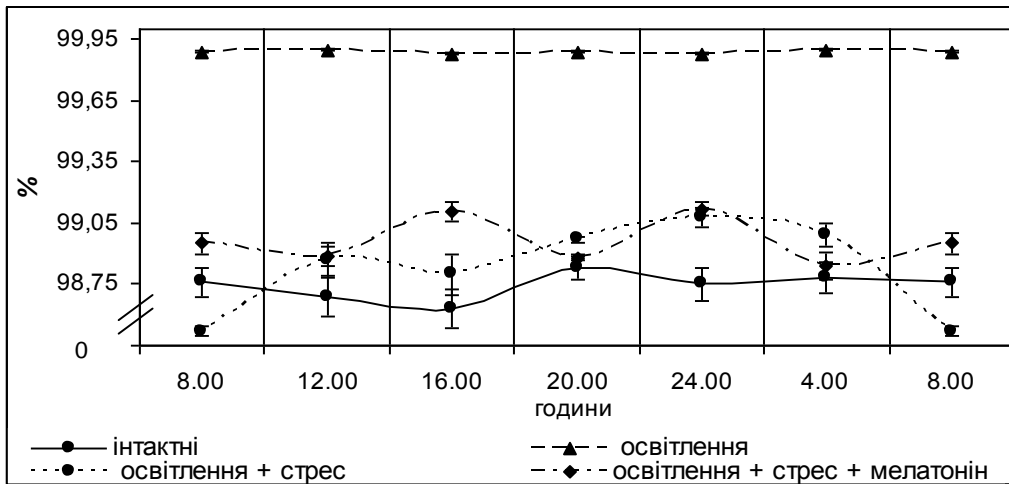


Рис. 4.40. Хроноритми відносної реабсорбції води в стресованих шурів за умов ін'єкції мелатоніну на фоні гіпофункції шишкоподібної залози.

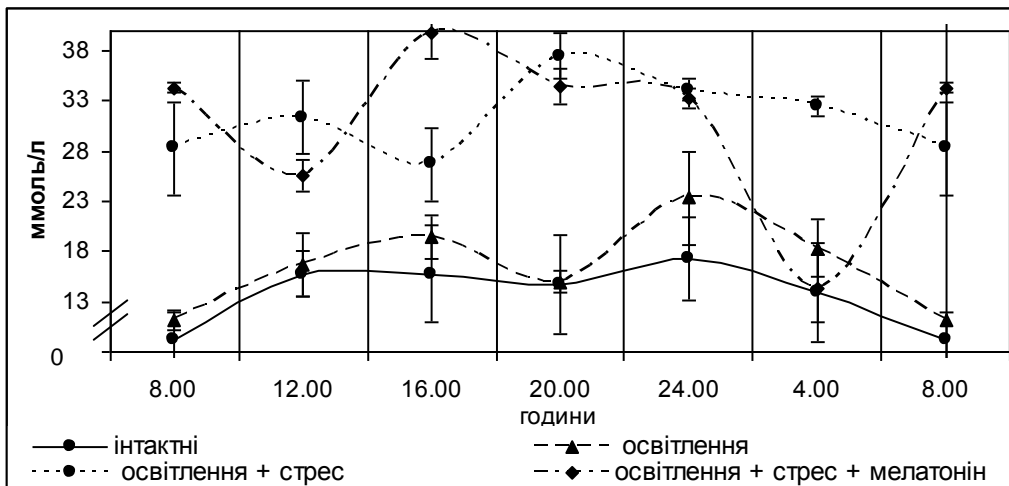


Рис. 4.41. Хроноритми концентрації іонів калію в сечі в стресованих шурів за умов ін'єкції мелатоніну на фоні гіпофункції шишкоподібної залози.

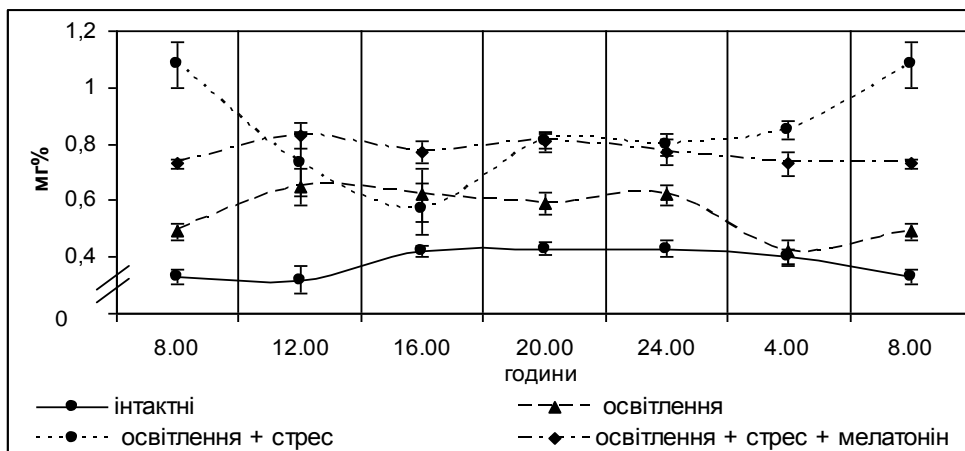


Рис. 4.42. Хроноритми концентрації білка в сечі стресованих шурів за умов ін'єкції мелатоніну на фоні гіпофункції шишкоподібної залози.

Після уведення мелатоніну при ІС щурів на тлі гіпофункції ШЗ реєстрували підвищення рівня концентрації іонів калію в сечі та їх екскреції порівняно як з інтактними тваринами, так і тваринами, яких стресували на тлі фізіологічної функції ШЗ (рис. 4.41). Зокрема, у досліджувані проміжки цей показник майже вдвічі перевищував контрольні дані (табл. 4.15). Оскільки середньодобовий рівень ритмів екскреції іонів калію і концентрації його в сечі наближався до такого у тварин, які перебували за умов фізіологічного освітлення, можна припустити, що саме позитивний вплив мелатоніну зумовлює відновлення порушених механізмів калієвого гомеостазу. Також було виявлено і пониженням концентрації білка в сечі протягом доби. Мезоритму становив  $0,77 \pm 0,02$  %, що вдвічі більше показників інтактної групи тварин, але менше на 5% від показників стресованої групи тварин за умов світлової експозиції. Амплітуда ритму найменша серед усіх інших умов експерименту (табл. 4.16). Хроноритм показників екскреції білка за умов застосування МТ навпаки мав тенденцію до збільшення у всі досліджувані періоди доби (рис. 4.42, табл. 4.15).

Корекція ІС природнім хронобіотиком на фоні епіфізарної гіпофункції віддзеркалилася і на параметрах іонорегулювальної функції нирок (табл. 4.17). Порушення механізмів ниркового транспорту іонів натрію на фоні світлової експозиції та одногодинного знерухомлення нівелювалося, що проявилось зниженням концентрації іонів натрію в сечі у всі досліджувані проміжки доби. Хроноритм набував однофазного характеру відносно хронограм інтактних тварин з акрофазою о 20.00 год і батифазою о 04.00 год (табл. 4.17). Мезор перевищував показники інтактних тварин удвічі, але знизився на 43% від мезору концентрації іонів натрію в сечі знерухомлених тварин, яких утримували за умов постійного освітлення (рис. 4.43, табл. 4.18). Подібних змін набувала структура ритму екскреції іонів натрію в сечі. Незважаючи на підвищений рівень катіона в плазмі крові в окремих інтервалах, середньодобовий рівень і амплітуда ритму вірогідно не відрізнялися щодо показників у щурів інтактної групи (табл. 4.18).



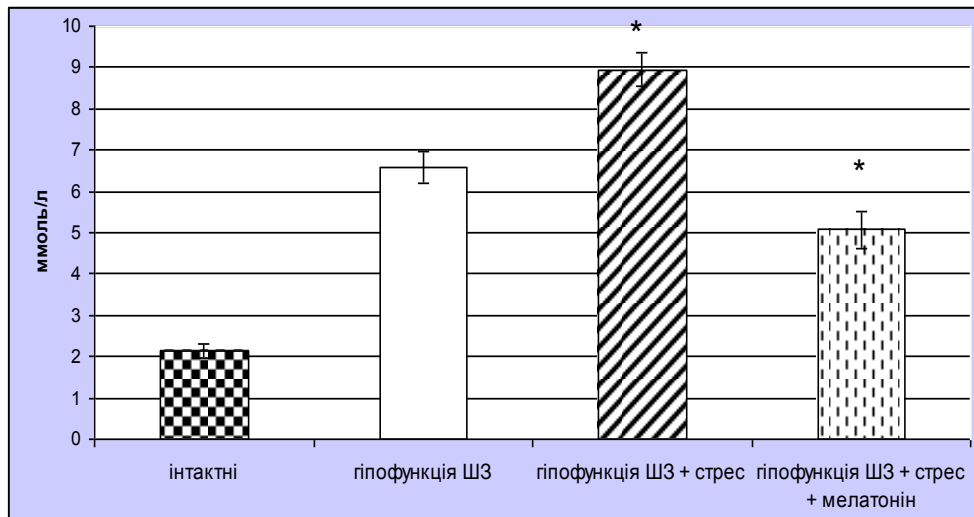


Рис. 4.43. Середньодобові ритми концентрації натрію в сечі у старих щурів, яким моделювали іммобілізаційний стрес на фоні гіпофункції шишкоподібної залози. Корекція мелатоніном.

Архітектоніка ритму натрій/калієвого коефіцієнту інверсна стосовно такої у щурів, яких піддали дії стресу на тлі постійного освітлення протягом усього періоду спостережень, окрім двох годинних інтервалів (о 8.00 та 16.00 год) (рис. 4.44). Мезор ритму становив  $1,16 \pm 0,12$  од, а його амплітуда  $30,0 \pm 2,92\%$  (табл. 4.3.4). Середньодобовий рівень ритму коефіцієнту на 5% менше ніж у стресованих тварин, але втричі більше ніж у тварин, які знаходилися за умов гіпофункції ШЗ. На основі цього можна припустити, що ефекти МТ нормалізують показники натрій/калієвого коефіцієнту.

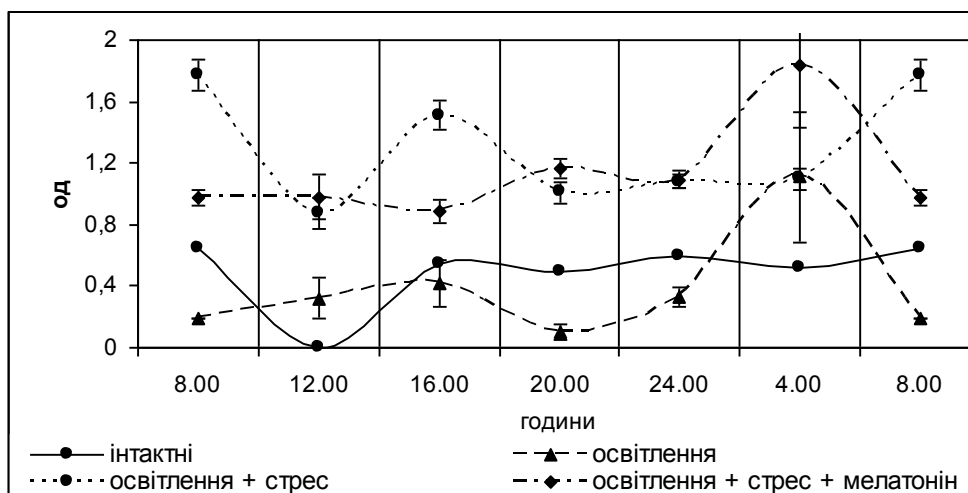


Рис. 4.44. Хроноритми натрій/калієвого коефіцієнту стресованих щурів за умов ін'єкції мелатоніну на фоні гіпофункції ШЗ.

Таблиця 4.17

**Вплив мелатоніну та епіталону на стрес-індуковані зміни хроноритмів ниркового транспорту іонів натрію тварин, які перебували за умов постійного освітлення ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник		Година					
		08.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)	(n<6)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	I	1,83±0,185	1,87±0,140	1,75±0,125	2,33±0,222	2,77±0,265	2,27±0,154
	II	5,9±0,150	6,23±1,01	5,34±0,820	7,21±0,950	7,18±1,2	7,6±1,15
	III	9,30±1,520	8,00±2,502	7,50±1,101	9,17±1,778	10,08±1,375	9,58±1,305
	IV	3,62±0,312 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	4,37±0,218 p <sub>1</sub> <0,001	4,40±1,060 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,05	8,60±1,540 p <sub>1</sub> <0,01	6,08±0,806 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,01	3,33±0,805 p<0,01
	V	2,33±0,917 p<0,01	3,50±0,167 p <sub>1</sub> <0,001	3,83±0,944 p<0,01	5,33±1,123 p <sub>1</sub> <0,05	5,50±1,004 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05	2,75±0,001 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	I	0,33±0,033	0,29±0,043	0,31±0,086	0,35±0,065	0,61±0,117	0,34±0,055
	II	4,34±0,072	10,20±5,196	5,44±1,204	5,95±2,003	2,29±0,326	6,60±1,628
	III	6,92±0,303	11,49±0,655	8,37±1,247	8,79±0,811	5,81±1,347	2,64±0,902
	IV	5,85±1,405 p <sub>1</sub> <0,001	2,37±0,477 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	5,00±2,851 p <sub>1</sub> <0,001	8,31±2,853 p <sub>1</sub> <0,001	3,16±0,279 p <sub>1</sub> <0,001	4,35±0,639 p <sub>1</sub> <0,001
	V	3,83±0,731 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	1,12±0,162 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	3,10±0,418 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	2,96±0,501 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	2,81±0,686 p <sub>1</sub> <0,001	1,91±0,306 p <sub>1</sub> <0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	I	0,53±0,042	0,57±0,043	0,56±0,040	0,66±0,086	0,80±0,057	0,66±0,070
	II	1,25±0,315	2,85±1,441	1,04±0,221	1,51±0,696	0,67±0,168	1,49±0,454
	III	13,23±0,959	7,7±1,108	10,21±2,214	9,09±0,411	8,15±0,503	8,54±0,509
	IV	8,40±0,469 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	6,41±0,619 p <sub>1</sub> <0,001	7,31±0,453 p <sub>1</sub> <0,001	10,63±0,255 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	7,59±0,287 p <sub>1</sub> <0,001	5,68±0,503 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001
	V	9,37±0,190 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	5,86±0,377 p <sub>1</sub> <0,001	8,60±1,280 p <sub>1</sub> <0,001	6,34±0,591 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	6,05±0,359 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	5,87±0,471 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001

Закінчення таблиці 4.17

Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	I	132,50±5,833	132,81±6,406	133,75±5,937	132,50±5,833	132,51±5,836	132,52±5,831
	II	135,01±4,583	135,02±4,584	132,91±5,625	129,58±5,208	134,58±4,791	135,04±4,584
	III	140,50±7,800	140,62±2,187	138,50±3,900	130,42±3,611	135,83±3,889	143,33±4,028
	IV	126,25±5,002	136,25±3,750	143,00±3,304	131,01±2,403	138,75±4,375	135,42±4,375
	V	141,67±3,889	137,50±4,167	144,17±2,503	126,25±3,542	135,00±4,167	137,08±3,958
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	I	0,64±0,08	0,51±0,023	0,55±0,03	0,49±0,01	0,60±0,041	0,52±0,047
	II	0,19±0,001	0,32±0,132	0,42±0,152	0,10±0,051	0,33±0,066	1,11±0,421
	III	1,77±0,099	0,87±0,099	1,51±0,092	1,01±0,070	1,08±0,043	1,10±0,070
	IV	0,98±0,051 $p_1 < 0,05$	0,98±0,147 $p_1 < 0,01$	0,89±0,076 $p_1 < 0,01$	1,168±0,063	1,093±0,058 $p_1 < 0,001$	1,84±0,411 $p_1 < 0,001$
	V	1,85±0,166 $p_1 < 0,001$	0,64±0,036 $p < 0,05$ $p_1 < 0,02$	3,79±0,652 $p < 0,02$ $p_1 < 0,001$	1,44±0,285	1,65±0,165 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$	2,31±0,792 $p_1 < 0,001$

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно із стресованими тваринами за даних умов експерименту,  $p_1$  – вірогідність різниці порівняно із інтактною групою тварин4 I – 12.00С:12.00Т; II – 24.00С:00Т; III – 24.00С:00Т + стрес; IV – 24.00С:00Т + стрес + мелатонін; V – 24.00С:00Т + стрес + епіталон

Таблиця 4.18

**Вплив мелатоніну та епіталону на стрес-індуковані зміни мезора та амплітуди ритмів ниркового транспорту іонів натрію у білих щурів, які перебували за умов постійного освітлення ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні (n<6)		Тварини за умов гіпофункції ШЗ		Стресовані		Стрес+Мелатонін		Стрес+Епіталон	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	2,14±0,16	18,3±4,9	6,58±0,38	13,5±3,77	8,94±0,4 p<0,002	11,0±3,69	5,07±0,46 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	39,0±5,95 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	3,87±0,51 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01	33,8±5,9 p <sub>1</sub> <0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/хв/100г	0,37±0,04	32,1±2,58	5,8±0,89	45,4±9,13	3,0±0,66	58,5±12,99	7,51±1,38 p <sub>1</sub> <0,02 p <sub>2</sub> <0,001	45,6±11,28	2,62±0,37 p <sub>2</sub> <0,001	36,6±9,31
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,63±0,04	15,7±4,1	1,47±0,24	50,7±8,83	9,43±0,76 p<0,001	22,2±3,42 p<0,02	7,67±0,62 p <sub>2</sub> <0,001	22,6±4,16	7,02±0,66 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,001	22,2±4,81
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	132,77±0,17	0,4±0,11	133,69±0,82	1,6±0,51	138,2±1,69 p<0,05	3,3±1,02	135,11±2,16	4,3±1,33 p <sub>2</sub> <0,001	136,95±2,11	4,5±1,28 p <sub>2</sub> <0,001
Натрій/калієвий коефіцієнт	0,54±0,08	43,91±0,25	0,41±0,11	87,9±15,22	1,22±0,14 p<0,001	28,1±4,25 p<0,001	1,16±0,12 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,01	30,0±2,92 p <sub>2</sub> <0,001	1,95±0,37 p <sub>2</sub> <0,01	54,2±10,16 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,001

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно із групою тварин за гіпофункції ШЗ, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці порівняно із стресованими тваринами за даних умов експерименту, p<sub>2</sub> – вірогідність різниці порівняно із інтактною групою тварин.

Хроноритмічні перебудови кислоторегулювальної функції проявлялися наступними змінами: досліджуваний показник рН сечі вищий відносно такого у нестресованих тварин, яким моделювали гіпофункцію епіфіза та інтактних тварин. Акрофазу ритму спостерігали о 24.00 год, як в інтактних тварин, так й у дослідних тварин, яким проводили корекцію мелатоніном викликаних змін внаслідок стресування на фоні гіпофункції ШЗ. Батифаза припадала на 08.00 год (табл. 4.19, рис. 4.45). Наведені результати характеризувалися зниженням середньодобового рівня рН сечі порівняно із знерухомленими тваринами за умов світлової експозиції (табл. 4.20).

Зростання рівня рН сечі супроводжувалося вірогідним підвищенням екскреції активних іонів водню впродовж періоду спостережень (табл. 4.19, рис. 4.46). Максимальне виведення катіона спостерігали близько 16.00 год, мінімальні показники припадали на період 12.00 год.

Після застосування мелатоніну на фоні стресу виявлено вірогідне підвищення екскреції кислот, що титруються, наближаючи наведені показники до таких в інтактній групі тварин. За умов уведення мелатоніну в період 8.00 та 20.00 год реєстрували найбільші рівні досліджуваного показника, з акрофазою о 8.00 год, а батифазою о 24.00 год. (рис. 4.47, табл. 4.19).

Характерно, що мезор ритму показника нижчий, а амплітуда – вища відносно величин інтактних тварин та щурів, яким препарати не ін'єкували (табл. 4.20).

Корекція 1-годинного стресування щурів знерухомленням на фоні пригнічення епіфізарної функції вірогідно відновлювала показник екскреції кислот, що титруються у всі часові проміжки і наближало до величин інтактної групи тварин, що вказує на позитивний ефект мелатоніну щодо корекції кислоторегулювальної функції нирок. Відмітимо, що як мезор, так і амплітуда ритму показника в чотири рази нижчі стосовно рівня у стресованих тварин при ідентичному фотоперіоді (табл. 4.20).

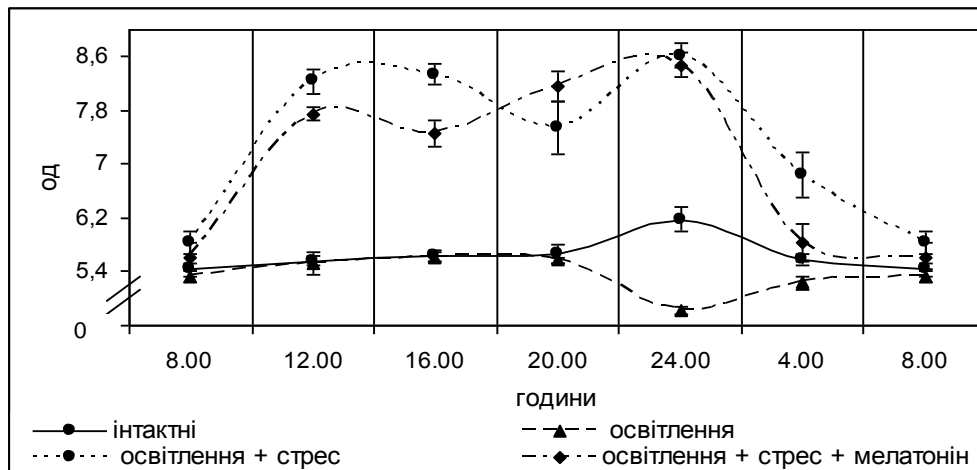


Рис. 4.45. Корекція мелатоніном хроноритмів рН сечі у стресованих щурів, які перебували за умов гіпофункції шишкоподібної залози.

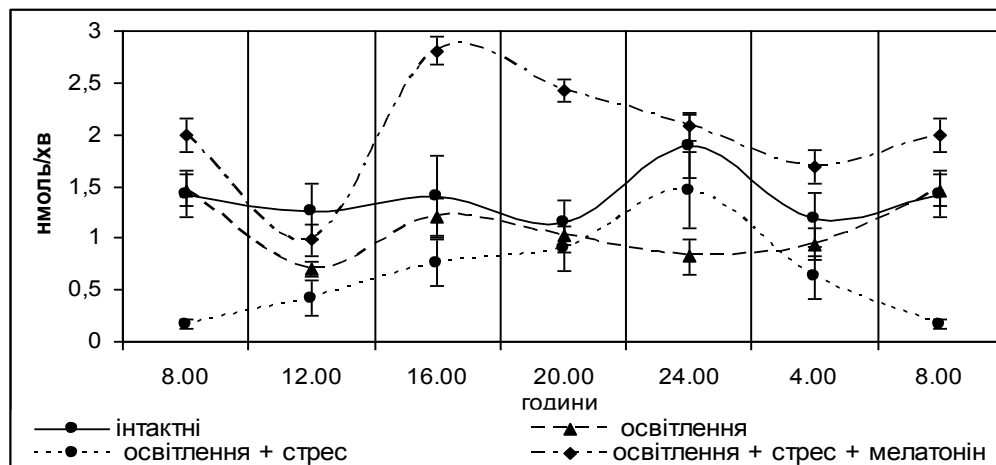


Рис. 4.46. Корекція хроноритмів екскреції активних іонів водню у стресованих щурів, які перебували за умов гіпофункції шишкоподібної залози.

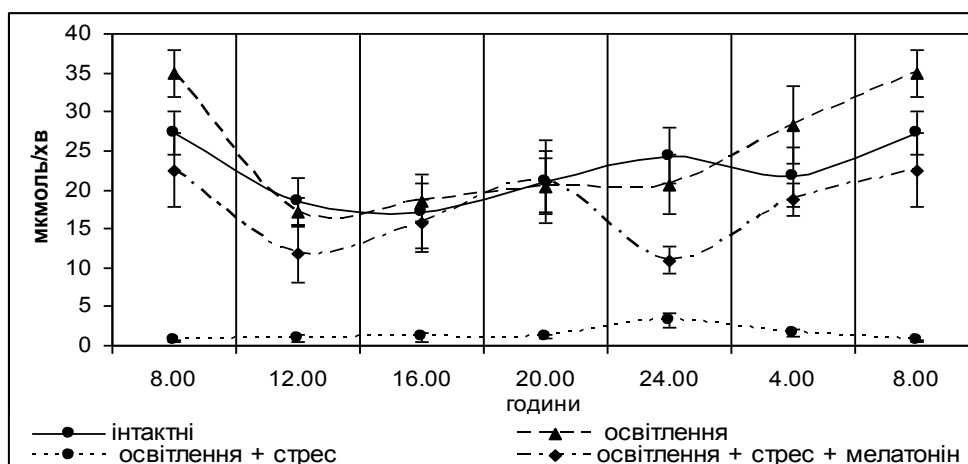


Рис. 4.47. Корекція хроноритмів екскреції кислот, що титруються у стресованих щурів, які перебували за умов гіпофункції шишкоподібної залози.

Подібні зміни торкнулися й екскреції аміаку. На відміну від знерухомлення на тлі гіпофункції ШЗ, спостерігали вірогідне підвищення екскреції вказаної сполуки впродовж періоду спостережень (табл. 4.19, рис. 4.3.19). Ритм набував монотонного характеру з акрофазою о 04.00 год, батифаза припадала на 12.00 год.

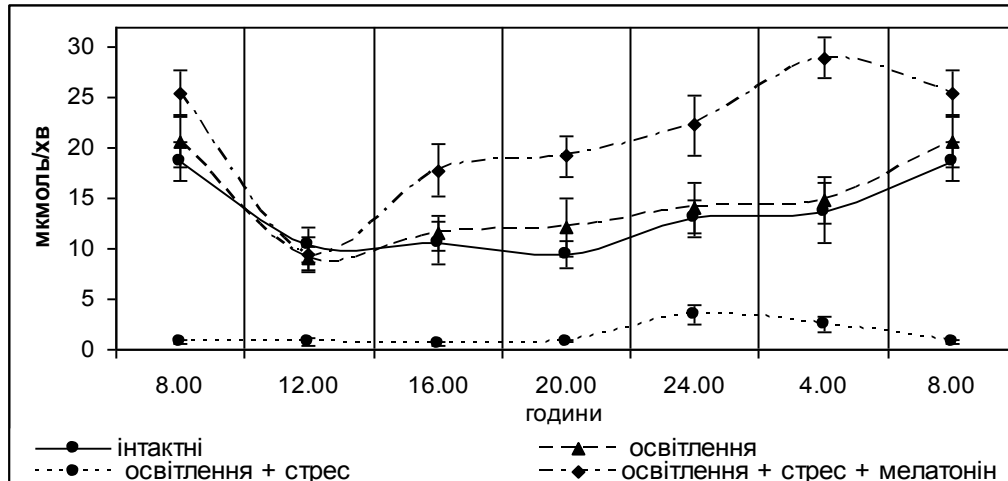


Рис. 4.48. Корекція хроноритмів екскреції аміаку у стресованих щурів, які перебували за умов гіпофункції шишкоподібної залози.

Таким чином, за умов уведення мелатоніну стресованим щурам спостерігали хроноритмічні перебудови архітектоніки та фазової структури ритмів більшості показників основних ниркових функцій. Виявлено підвищення амплітуд хроноритмів, що, як ми вважаємо, є важливою діагностичною ознакою напруження адаптивних можливостей на межі переходу адаптації в дезадаптацію.

Таблиця 4.19

**Вплив мелатоніну та епіталону на стрес-індуковані зміни хроноритмів кислоторегулювальної функції нирок тварин, які перебували за умов постійного освітлення ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )**

Показник		Година					
		8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	04.00
		(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
рН сечі	I	5,43±0,093	5,56±0,073	5,63±0,082	5,67±0,148	6,18±0,448	5,57±0,084
	II	5,34±0,089	5,52±0,170	5,62±0,062	5,57±0,048	4,83±0,463	5,24±0,095
	III	5,84±0,174	8,23±0,181	8,34±0,046	7,55±0,387	8,62±0,192	6,85±0,333
	IV	5,62±0,212	7,75±0,100 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,001	7,46±0,196 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	8,16±0,224 p <sub>1</sub> <0,001	8,47±0,183 p <sub>1</sub> <0,001	5,83±0,271 p<0,05
	V	5,62±0,125	6,34±0,504 p<0,005	6,84±0,379 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,02	6,33±0,350 p<0,05	7,00±0,313 p<0,001	6,57±0,179 p <sub>1</sub> <0,005
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	I	1,42±0,225	1,25±0,268	1,41±0,394	1,15±0,222	1,89±0,503	1,18±0,256
	II	1,46±0,357	0,70±0,079	1,20±0,188	1,02±0,152	0,82±0,174	0,94±0,152
	III	0,17±0,039	0,42±0,168	0,76±0,226	0,90±0,219	1,46±0,364	0,62±0,213
	IV	1,99±0,366 p<0,001	0,98±0,253	2,81±0,728 p<0,05	2,43±0,709	2,08±0,332	1,69±0,262 p<0,01
	V	0,91±0,168 p<0,01	0,46±0,074 p <sub>1</sub> <0,02	0,88±0,075	0,92±0,122	1,07±0,316	0,71±0,107
Екскреція іонів водню, нмоль/ 100 мкл КФ	I	2,17±0,131	2,33±0,184	2,47±0,186	2,09±0,114	2,34±0,220	2,18±0,138
	II	0,18±0,011	0,19±0,012	0,20±0,008	0,19±0,011	0,18±0,023	0,18±0,007
	III	2,70±0,222	2,47±0,198	2,63±0,213	2,14±0,055	2,05±0,104	2,01±0,152
	IV	1,87±0,076 p<0,01	2,35±0,095	1,86±0,124 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,05	2,44±0,048 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,02	1,95±0,074	2,12±0,118



Продовження таблиці 4.19

	V	2,25±0,107	2,39±0,111	2,45±0,149	2,00±0,050	2,17±0,065	2,21±0,052
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	I	27,22±2,808	18,54±3,071	17,05±5,030	21,11±3,945	24,35±3,563	21,64±3,855
	II	34,88±6,929	17,18±1,813	18,43±2,425	20,40±3,584	20,69±3,805	28,29±4,938
	III	0,66±0,120	0,90±0,412	1,05±0,535	1,11±0,227	3,23±0,830	1,62±0,537
	IV	22,49±4,691	11,79±3,615	15,68±3,098 p <sub>1</sub> <0,821	21,01±5,265	10,98±1,681 p<0,015 p <sub>1</sub> <0,007	18,62±2,082 p<0,026
	V	10,61±5,157 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,02	1,53±0,265 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	2,16±0,047 p <sub>1</sub> <0,02	1,19±0,181 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	2,30±0,85 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,001	1,84±0,303 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	35,12±4,412	29,41±3,182	41,51±7,175	36,44±5,295	42,41±5,842
	II	4,82±0,460	4,66±0,374	3,35±0,275	3,79±0,152	4,82±0,187	5,60±0,366
	III	10,98±1,757	4,00±0,860	2,49±0,849	2,87±0,356	4,22±0,358	5,49±0,409
	IV	21,34±1,203 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02	27,59±2,186 p<0,001	11,68±2,221 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	26,40±4,056 p<0,001	10,45±0,807 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	24,65±2,438 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02
	V	19,87±5,571	8,30±1,117 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	6,23±0,667 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	2,67±0,175 p <sub>1</sub> <0,001	7,19±2,551 p <sub>1</sub> <0,001	5,67±0,234 p <sub>1</sub> <0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	I	18,74±1,953	10,39±1,772	10,54±2,137	9,44±1,425	13,08±1,846	13,60±2,914
	II	20,64±4,470	8,98±1,171	11,64±1,740	12,17±2,890	14,11±2,528	14,92±2,302
	III	6,74±0,145	3,72±0,341	5,61±0,207	4,85±0,132	3,54±0,952	2,53±0,833
	IV	25,53±3,235	9,45±1,787 p<0,01	17,82±2,620 p<0,002	19,24±3,057 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02	22,29±5,940	28,99±7,989

Закінчення таблиці 4.19

	V	7,81±4,187	1,83±0,348 p<0,046 p <sub>1</sub> <0,001	2,53±0,194 p <sub>1</sub> <0,001	2,00±0,268 p <sub>1</sub> <0,001	4,51±1,408 p <sub>1</sub> <0,004	2,20±0,418 p <sub>1</sub> <0,003
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	I	29,40±2,365	20,09±1,814	22,09±2,139	17,60±1,744	21,00±4,072	27,01±4,784
	II	2,75±0,257	2,43±0,223	2,12±0,218	2,14±0,175	3,31±0,262	3,10±0,319
	III	12,65±1,640	3,32±0,692	2,53±0,790	2,32±0,591	4,80±0,166	8,47±0,829
	IV	26,49±3,477 p<0,01	26,55±3,156 p<0,001	13,31±1,761 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01	24,48±3,671 p<0,001	18,77±3,199 p<0,001	35,45±5,114 p<0,001
	V	14,05±4,698 p <sub>1</sub> <0,02	9,94±1,324 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	7,12±0,716 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	4,44±0,260 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001	9,07±0,479 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02	6,78±0,483 p <sub>1</sub> <0,01
Амонійний коефіцієнт	I	0,69±0,051	0,61±0,067	0,84±0,178	0,48±0,073	0,59±0,091	0,61±0,041
	II	0,59±0,072	0,52±0,032	0,64±0,082	0,57±0,061	0,68±0,042	0,55±0,047
	III	1,21±0,123	0,85±0,098	1,92±0,629	0,90±0,257	1,19±0,100	1,53±0,078
	IV	1,25±0,119 p <sub>1</sub> <0,002	0,98±0,149 p <sub>1</sub> <0,05	1,20±0,081	1,025±0,114 p <sub>1</sub> <0,01	1,99±0,508 p <sub>1</sub> <0,05	1,57±0,306 p <sub>1</sub> <0,02
	V	0,76±0,164	1,21±0,101 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001	1,16±0,073	1,70±0,116 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001	5,43±2,938	1,19±0,060 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001

**Примітка:** n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно із стресованими тваринами за даних умов експерименту, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці порівняно із інтактною групою щурів; I – 12.00С:12.00Т; II – 24.00С:00Т; III – 24.00С:00Т + стрес; IV – 24.00С:00Т + стрес + мелатонін; V – 24.00С:00Т + стрес + епіталон.

Таблиця 4.20

**Вплив уведення мелатоніну та епіталону на стрес-індуковані зміни мезора і амплітуди ритмів показників  
кислотовидільної функції нирок у білих щурів за умов гіпофункції ШЗ ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показник	Інтактні		Гіпофункція ШЗ		Стресовані		Стрес+Мелатонін		Стрес+Епіталон	
	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)	Мезор	Амплітуда (%)
рН сечі	5,67±0,08	4,6±1,24	5,35±0,11	5,5±1,69	7,57±0,41 p<0,001	14,0±4,54 p<0,001	7,22±0,5 p <sub>2</sub> <0,02	16,7±5,74	6,45±0,18 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,01	7,51±2,28
Екскреція іонів водню, нмоль/хв	1,38±0,10	19,8±3,41	1,02±0,1	26,8±5,13	0,72±0,16	61,6±12,99 p<0,05	2,0±0,22 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	31,5±6,13	0,83±0,08 p <sub>2</sub> <0,002	25,6±7,18 p <sub>1</sub> <0,05
Екскреція іонів водню, нмоль/100 мкл КФ	2,26±0,06	6,2±2,15	0,19±0,04	4,3±1,49	2,33±0,13 p<0,001	13,1±4,76	2,1±0,1	11,9±4,07	2,25±0,06	7,2±2,2
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/хв	21,65±1,38	17,2±4,5	23,31±2,76	29,4±4,12	25,8±2,79	26,2±4,4	16,7±1,97 p <sub>1</sub> <0,001	28,4±7,1	3,27±1,0 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	31,6±10,14 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	35,72±2,2	15,8±5,14	14,51±0,31	5,6±1,79	5,01±1,08 p<0,001	62,1±10,14 p<0,001	20,35±3,1 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	36,9±10,23	8,32±1,92 p <sub>2</sub> <0,001	71,7±12,15 p <sub>2</sub> <0,01
Екскреція аміаку, мкмоль/хв	12,63±1,25	27,0±4,34	13,74±1,41	28,9±4,35	4,5±0,62 p<0,001	34,1±6,64	20,55±2,53 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,02	33,1±7,01	3,48±0,89 p <sub>2</sub> <0,001	67,1±8,38 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,01
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	22,87±1,78	19,5±4,9	2,64±0,21	18,8±5,76	5,68±1,63	72,1±9,11 p<0,001	24,18±2,71 p <sub>1</sub> <0,001	31,2±6,88 p <sub>1</sub> <0,01	8,37±1,23 p <sub>2</sub> <0,001	38,5±7,12 p <sub>1</sub> <0,02
Амонійний коефіцієнт	0,64±0,04	18,8±3,39	0,59±0,02	10,0±3,21	1,27±0,15 p<0,001	31,8±5,7 p<0,01	1,34±0,15 p <sub>2</sub> <0,001	28,6±4,32	1,91±0,59	91,7±13,2 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 6 тварин; p – вірогідність різниці між показниками дослідних та нестресованих щурів, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин, p<sub>2</sub> – вірогідність різниці між дослідною та інтактною групами тварин.

На підставі отриманих даних проведеної серії досліджень встановлено, що застосуванням мелатоніну вдалося досягнути нормалізації більшості інтегральних показників хроноритмічної організації екскреторної, іоно-регулювальної та кислотовидільної функцій нирок, що прослідковується у випадку ін'єкцій стресованим щурам природного хронобіотика – епіфізарного мелатоніну.

Застосування стреспротектора мелатоніну на тлі постійного освітлення викликало підвищення середньодобового рівня ритму діурезу майже втричі порівняно із стресованими тваринами, які перебували на тлі постійного освітлення, що вказує на яскравий діуретичний та позитивний стреспротекторний ефекти мелатоніну.

Рівень ендогенного креатиніну вірогідно підвищувався порівняно із показниками стресованих тварин на фоні гіпофункції ШЗ. Мезор ритму не відрізнявся з рівнем у інтактних та стресованих тварин з гіпофункцією пінеальної залози.

Середньодобовий рівень ритмів екскреції іонів калію і концентрації його в сечі наближався до такого у тварин, які перебували за умов фізіологічного освітлення, можна припустити, що саме пригнічення вплив мелатоніну зумовлює відновлення порушених механізмів калієвого гомеостазу.

Інверсний ритм натрій/ калієвого коефіцієнту стосовно такого у щурів, яких піддали дії стресу на тлі постійного освітлення протягом усього періоду спостережень позитивно охарактеризував ефективність застосування мелатоніну як природнього антистрес-хронобіотика.

Вищенаведені результати свідчать про значну дезорганізацію регуляції водно-сольової та кислотно-лужної рівноваги у щурів під дією одногодинного іммобілізаційного стресу і переконують у визначній інтегративній ролі епіфізарного мелатоніну, як коректора вказаних стрес-індукованих змін хроноритмів ренальних функцій.

Імуноферментний аналіз дозволив встановити рівень мелатоніну у плазмі крові старих щурів, яким вводили мелатонін як антистресовий коректор на фоні гіпофункції ШЗ. При цьому вдалося прослідкувати наступні зміни концентрації гормону щодо інтактною групи тварин. Так, за умов семидобового освітлення та

імобілізаційного стресу, уведення природного хронобіотика спричинило підвищення рівня в інтактних тварин, склавши 23,0 пг/мл ( $p < 0,486$ ), що вказує на позитивну стреспротекторну дію мелатоніну та стимуляцію вироблення ендогенного мелатоніну. Щодо показників рівня мелатоніну у плазмі крові щурів, яким моделювали імобілізаційний стрес, у даному випадку реєстрували підвищення майже у два рази ( $p < 0,001$ ).

Уведення мелатоніну (2,5 мг/кг) на фоні семидобового освітлення та імобілізаційного стресу призвело до нормалізації досліджуваних показників. Так, рівень МА в еритроцитах вірогідно не відрізнявся від інтактної групи тварин. При цьому рівень ОМБ зменшився на 57% після уведення мелатоніну, чим вірогідно відрізнявся від показників стресованих щурів за даних умов експерименту ( $p < 0,001$ ) і незначно відрізнявся від інтактної групи тварин – лише на 9%. Церулоплазмін, після антрестрес-терапії зменшився на 30% щодо тварин, яким моделювали стрес, в той же час мелатонін майже повністю нівелював ефекти стресу відповідно до інтактної групи тварин ( $p < 0,011$ ). Вміст ката-лази та HS-груп проявляв чітку тенденцію до підвищення вказаних показників щодо стресованої групи тварин, що наближало його до значень інтактної групи тварин, відрізняючись лише на 31% та 10% відповідно. Вказані позитивні ефекти доводять його активну дію як антистресора та потужного антиоксиданта (табл. 4.21).

Зазначений стан крові щодо процесів ВРОЛБ супроводжувався певними змінами параметрів білків цитоплазми пінеалоцитів та епітелію проксимальних каналців нирки. Стреспротектор та природній хронобіотик мелатонін значно нівелював такі зовнішні подразники, як світлова експозиція та одногодинний імобілізаційний стрес, викликавши при цьому наступні зміни у співвідношенні “основних” та “кислих” білків: зменшив коефіцієнт ОМБ у світлих пінеалоцитах майже у 1,2 раза до  $1,200 \pm 0,041$  ( $p < 0,071$ ), у темних – цей показник понизився майже на 10% ( $1,490 \pm 0,034$ ), тим самим наблизившись до показників інтактної групи тварин, що вказує на позитивний корегувальний вплив мелатоніну. В епітелії проксимальних каналців цей показник знизився у 1,2 раза, досягнувши

(1,078±0,011). Рівень ОМБ зменшився у всіх досліджуваних елементах, вказуючи на значний позитивний ефект мелатоніну як антиоксиданта.

Резюмуючи отримані результати даного розділу вкажемо, що МТ (2,5 мг/кг) корегує стрес-індуковані гістологічні та ультрамікроскопічні зміни досліджуваних структур, що викликані знерухомленням на фоні тривалого освітлення.

Порівняно з тваринами, яким не проводили корекцію постстресорних порушень, застосування мелатоніну віддзеркалилося тенденцією до нормалізації інтегральних показників хроноритмів екскреторної, іонорегулювальної та кислоторегулювальної функції нирок.

Таблиця 4.21

**Про- та антиоксидантний стан крові старих щурів  
за умов гіпофункції епіфіза мозку ( $\bar{x} \pm S_x$ ;  $n < 6$ )**

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
ОМБ, 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<0,011 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

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 6 тварин; p – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин, p<sub>1</sub> – вірогідність різниці між показниками дослідних та стресованих тварин без уведення мелатоніну.

Крім того, нами встановлено, що ін'єкції мелатоніну особинам, які зазнали стресу за умов постійного освітлення наближають до норми рівень малонового альдегіду, знижують показники ОМБ та ЦП в крові старих щурів. На основі імуноферментного визначення доведено стимуляцію ін'єктованим мелатоніном вироблення ендogenous аналога, концентрація якого в крові за таких умов експерименту становила 23,0 пг/мл.

#### 4.4. Вплив епіталону на морфофункціональний стан шишкоподібної залози та нирок на фоні одногодинного іммобілізаційного стресу за умов постійного освітлення

Корекцію постресорних змін за умов гіпопінеалізму проводили синтетичним тетрапептидом епіталоном у дозі 0,17 мкг/100г щура. Після триденного внутрішньом'язевого уведення препарату нами встановлені наступні перебудови у досліджуваних органах та біологічних рідинах організму старого щура.

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку виявлені зміни у співвідношенні між світлими та темними пінеалоцитами порівняно з групою тварин після іммобілізаційного стресу до  $0,54 \pm 0,017$  (світлих пінеалоцитів –  $35 \pm 1,9\%$ , темних –  $57 \pm 1,4\%$ ). Цей показник підвищився на 42% після уведення епіталону на фоні повного освітлення та іммобілізаційного стресу, що вказує на позитивну антистресорну дію препарату (рис. 4.49).

Коефіцієнт Р, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив у світлих пінеалоцитах  $1,310 \pm 0,041$  із незначною різницею щодо стресованих тварин при цьому ж світловому проміжку ( $p=0,652$ ). У темних пінеалоцитах коефіцієнт ОМБ становив  $1,580 \pm 0,037$ , і зменшився лише на 3% від наведеного показника у стресованих тварин (рис. 4.50). Досліджуваний показник ОМБ як у світлих, так і темних пінеалоцитах мав тенденцію до наближення до такого в інтактних тварин, але з вірогідною відмінністю ( $p < 0,001$ ). Порівняння результатів дослідження дозволяють стверджувати, що епіталон як коректор ОМБ у пінеалоцитах старих щурів менш ефективний, на відміну від природного хронобіотика мелатоніну (див. розділ 4.3).

Субмікроскопічні дослідження епіфіза в умовах цілодобового освітлення, іммобілізаційного стресу та уведення епіталону показали, що в пінеалоцитах наявні ядра з переважанням еухроматину, інвагінаціями каріолеми. Частина ядер має великі ядерця та рибосомальні гранули.

Ядерні мембрани в складі каріолеми чітко контуровані, а ядерна оболонка має багато ядерних пор. У цитоплазмі добре збережені органели, каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму мають помірні простори і обмежені мембранами, на поверхні яких багато рибосом.

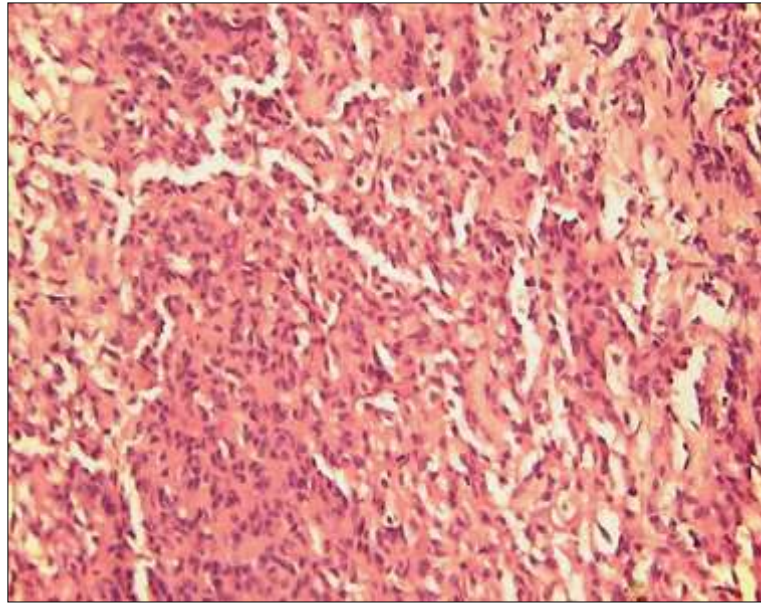


Рис.4.49. Світлова мікроскопія епіфіза мозку старого щура при корекції стресу епіталомом за умов гіпопінеалізму. Гематоксилін і еозин. Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

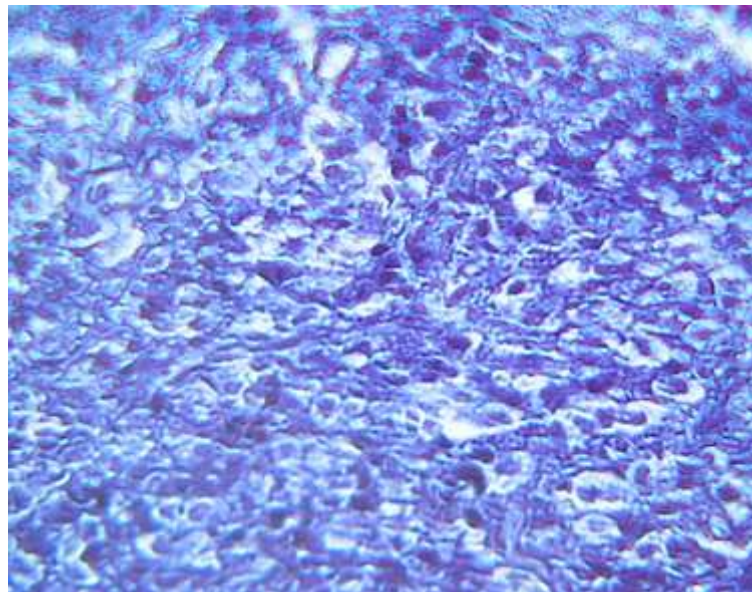


Рис.4.50. Світлова мікроскопія епіфіза мозку старого щура при застосуванні епіталону на фоні гіпопінеалізму та іммобілізаційного стресу. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.



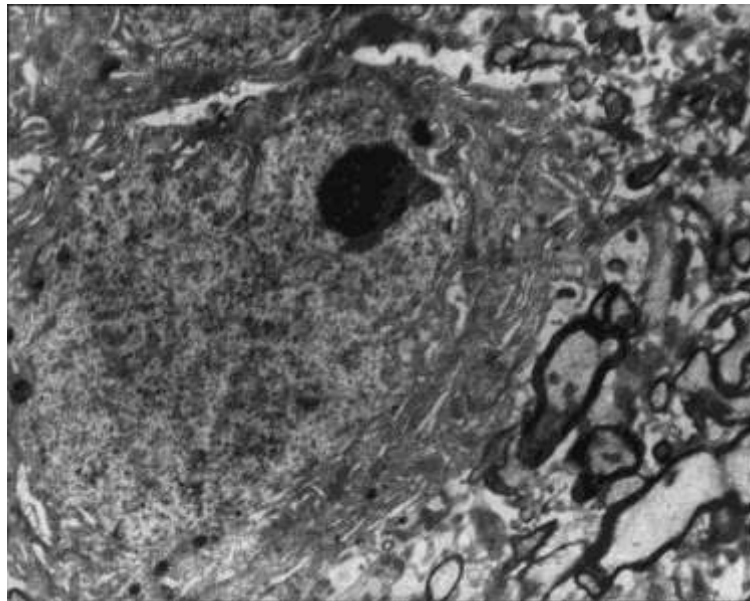


Рис. 4.51. Ультраструктура пінеалоцита епіфіза мозку старих тварин при уведенні епіталону в умовах 24 год освітлення та іммобілізаційного стресу.

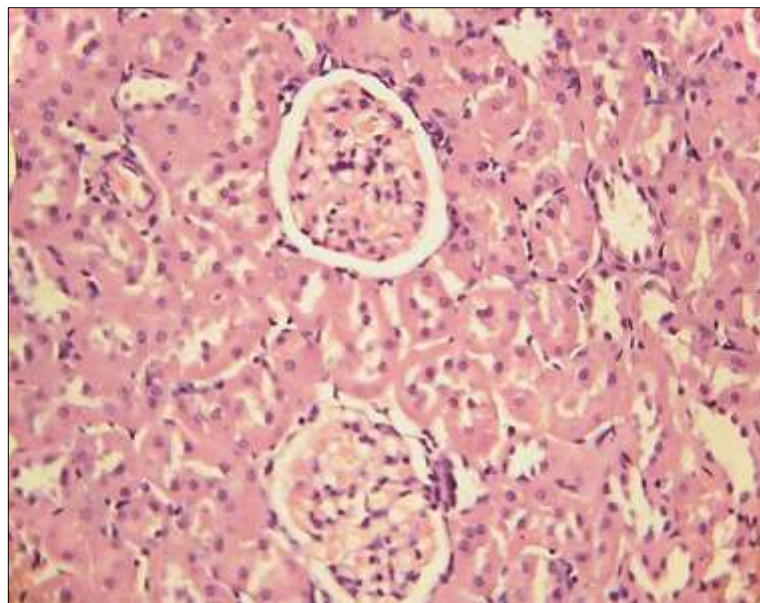


Рис. 4.52. Мікроскопія кіркової речовини нирки старого щура при корекції стресу епіталоном за умов гіпофункції ШЗ. Гематоксилін і еозин.  
Об.20<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

Мітохондрії мають помірний електроннощільний матрикс та чіткі кристи. Проте, гранул серотоніну не багато, вони різні за розмірами (рис. 4.51).

При гістологічному дослідженні нирок у кірковій речовині відмічена зерниста дистрофія в епітелії звивистих канальців, яка охоплювала  $79 \pm 1,3\%$  клітин, що відновилися на 11% щодо групи тварин, яким моделювали іммобілізаційний стрес за умов ідентичного світлового режиму. Розширення простору між зовнішнім та внутрішнім листками капсули клубочка не виявлено, що вказує на репаративну дію епіталону щодо наведених показників. Наповненість кров'ю кіркової речовини в межах норми. У мозковій речовині патологічних проявів не виявлено, але у сосочку спостерігали незначне набухання більшості епітеліальних клітин. Наведені зміни проілюстровані на рисунку 4.52.

Для дослідження процесів перекисного окиснення ліпідів у тканинах досліджуваних органів були обрані наступні характеристики. Коефіцієнт Р, який кількісно характеризує співвідношення між «кислими» та «основними» білками, становив в епітелії проксимальних канальців нирок –  $1,079 \pm 0,007$  ( $p < 0,001$ ), (рис.4.53) щодо коефіцієнту ОМБ у щурів, які зазнали стресу при постійному семидобовому освітленні, наближуючись до показника в інтактних тварин.

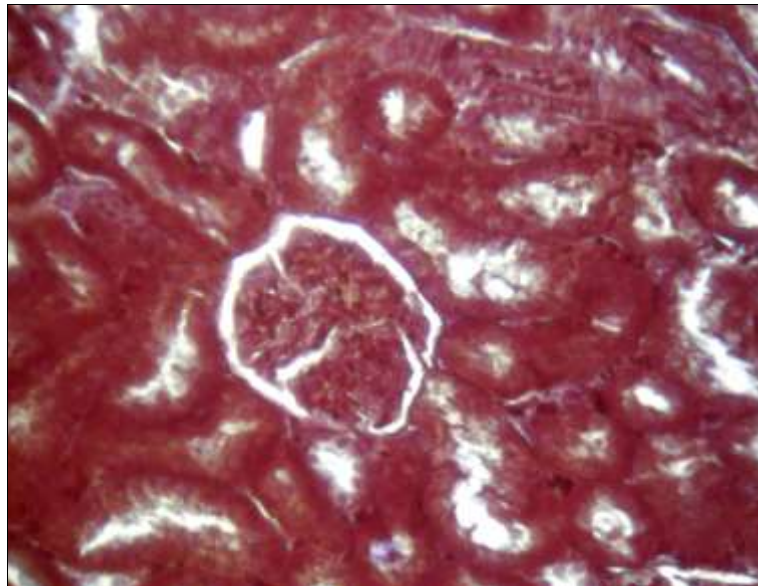


Рис.4.53. Світлова мікроскопія кіркової речовини нирки старого щура при корекції стресу епіталоном за умов гіпофункції ШЗ. Забарвлення бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво на «кислі» та «основні» білки. Об.40<sup>x</sup>, ок.10<sup>x</sup>.

Вивчення циркадіанного ритму діурезу в стресованих тварин, яким проводили корекцію синтетичним тетрапептидом епіталоном виявило суттєві зміни (табл. 4.15). Архітектоніка ритму сечовиділення носила інверсний характер щодо хронограм у стресованих тварин та синфазна порівняно з інтактними тваринами. Вірогідне підвищення діурезу спостерігали о 8.00 год. Мінімальні величини виявляли о 16.00 та 04.00 год, акрофази ритму як у стресованих так й у тварин, яким вводили епіталон співпадали, припадаючи на 24.00 год (табл. 4.15, рис. 4.54). Подібність хронограм у стресованих тварин, яким застосовували сполуки епіфіза мозку дозволяє припустити, що вказані речовини змінюють фазову структуру ритму. Ін'єкції на фоні стресу тетрапептиду викликали підвищення середньодобового рівня діурезу на 26% щодо групи щурів, яких піддали іммобілізації (табл. 4.16).

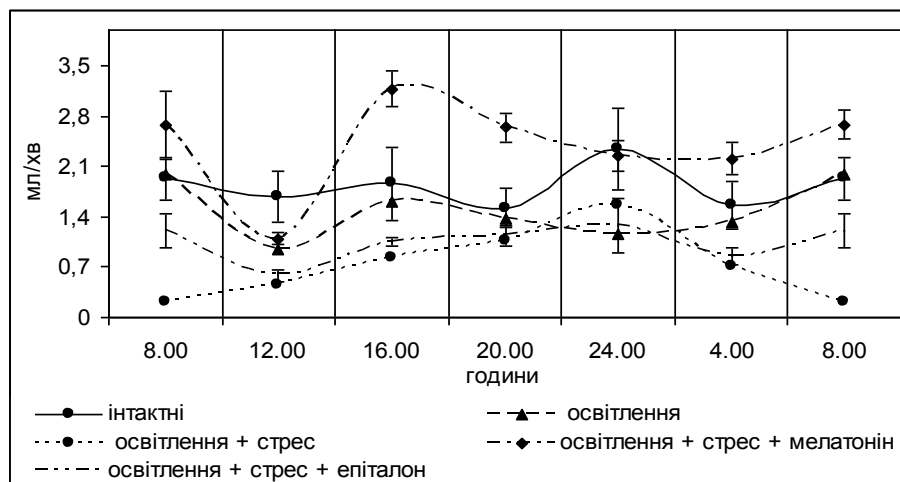


Рис. 4.54. Хроноритми діурезу в щурів за умов уведення епіталону стресованим щурам при гіпофункції шишкоподібної залози.

Встановлені зміни хроноритмів діурезу відбувалися поряд із відновленням порушених процесів ультрафільтрації, викликаних аддитивною дією світлового та іммобілізаційного стресів. Хроноритм швидкості клубочкової фільтрації набував синусоїдального характеру з акрофазою о 20.00 год і батифазою о 12.00 год. Привертало увагу підвищення рівня показника вдвічі о 20.00 год порівняно із стресованою групою тварин (табл. 4.15). Мезор ритму перебував у межах  $437,8 \pm 20,7$  мкл/хв/100г і більший, ніж в інтактних тварин ( $p=0,061$ ), але менший на 26% ( $p<0,001$ ) від середнього

показника стресованих щурів, що свідчить про позитивну антистресорну дію епіталону (табл. 4.16).

Порушення швидкості клубочкової фільтрації поєднувалися зі змінами рівня відносної реабсорбції води, що врівноважувало гломеруло-тубулярні процеси. Архітекtonіки ритмів вказаних параметрів подібні, максимальні вірогідні відмінності від величин стресованих щурів реєстрували о 24.00 та 04.00 год (табл. 4.15). Структура ритму відносної реабсорбції води мала інверсний характер як відносно інтактної групи тварин, так і щодо тварин, яким моделювали одногодинний іммобілізаційний стрес на фоні пригніченої функції ШЗ. Мезор ритму становив  $98,83 \pm 0,04\%$  і нижчий, ніж у стресованих тварин (рис. 4.55). Амплітуда ритму подібна до такої в інших серіях експерименту (табл. 4.16).

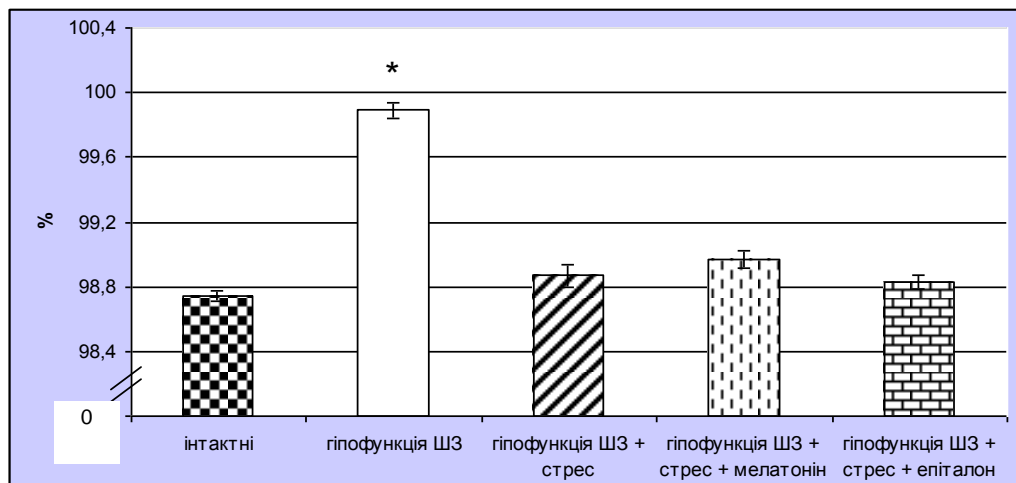


Рис. 4.55. Середньодобові рівні ритмів відносної реабсорбції води в щурів, яким проводили корекцію епіталоном змін, спричинених стресом та світлової експозиції

**Примітка:** на цьому та наступних рисунках підрозділу для порівняння наведені середньодобові рівні показників ренальних функцій стресованих тварин, яким ін'єкували мелатонін.

Підвищення швидкості ультрафільтрації відбувалося паралельно із зростанням рівня концентрації креатиніну в плазмі крові (рис. 4.56).

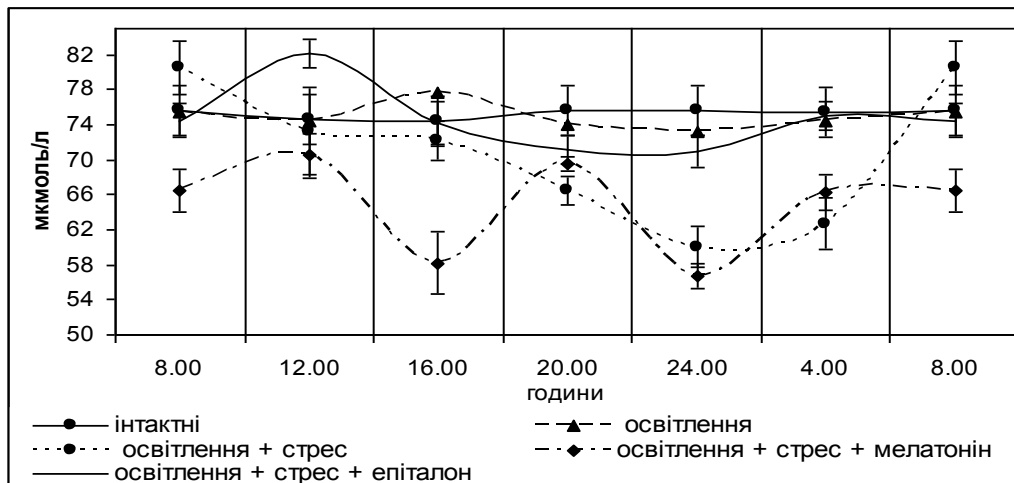


Рис. 4.56. Хроноритми концентрації креатиніну в плазмі крові за умов уведення епіталону стресованим щурам при гіпофункції ШЗ.

Середньодобовий рівень ритму перевищував показники стресованих щурів без уведення тетрапептиду на 8 % і наближався до такого в інтактних тварин (табл. 4.163). Амплітуда ритму значно вища, ніж у інтактної групи тварин. Отже, у даному випадку епіталон нормалізує зміни, спричинені знерухомленням на фоні цілодобового освітлення.

У межах періоду спостереження відзначали перебудову ритму концентраційного індексу ендogenous креатиніну з порушенням його фазової структури (табл. 4.22). Мезор ритму знаходився на рівні  $0,01 \pm 0,001$  од., а амплітуда –  $6,5 \pm 2,1$  (табл. 4.16).

Уведення епіталону стресованим щурам викликало вірогідне зниження рівня концентрації іонів калію в сечі та їх екскреції порівняно з тваринами, яких стресували (рис. 4.57).

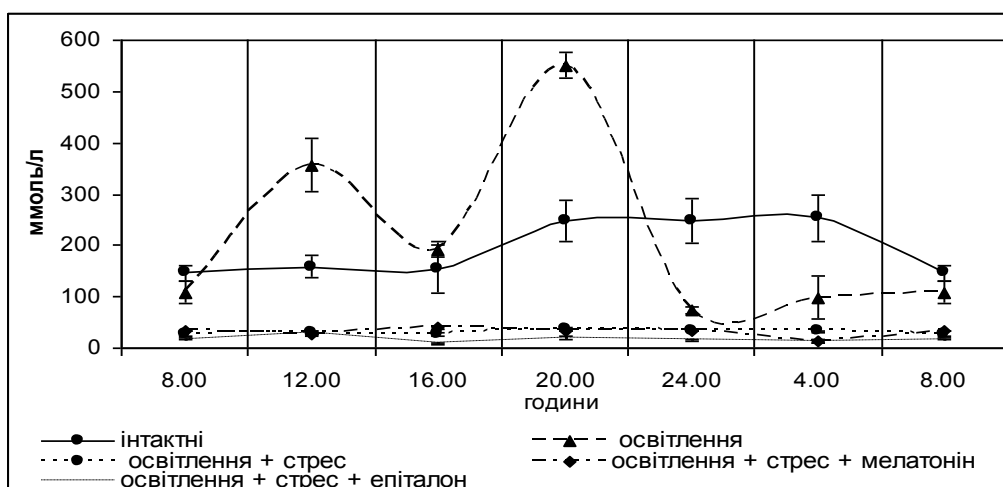


Рис. 4.57. Хроноритми концентрації іонів калію в сечі за умов уведення епіталону стресованим щурам при гіпофункції ШЗ.

Зокрема, вірогідні відмінності концентрації іонів калію в сечі від стресованої групи тварин на фоні світлової експозиції спостерігали о 16.00, 20.00, 24.00, та о 04.00 год. (табл. 4.15). Оскільки середньодобові рівні ритмів екскреції іонів калію і концентрації його в сечі наближалися до такого у стресованих тварин, яким вводили, можна припустити, що саме порушення синтезу мелатоніну є однією з причин, яка зумовлює десинхроноз механізмів калієвого гомеостазу.

Хроноритмічні перебудови екскреторної функції нирок при застосуванні епіталону на фоні стресу як і мелатоніну, супроводжувалися зниженням екскреції білка впродовж доби. Лише о 12.00 та о 16.00 год спостерігали незначне підвищення. Мезор ритму становив  $1,81 \pm 0,13$  мг/100 мкл клубочкового фільтрату і зменшувався на 12,6% стосовно величин у стресованих щурів без проведення корекції (табл. 4.23, рис. 4.58). Подібно змінювалися хроноритми концентрації білка в сечі (табл. 4.15).

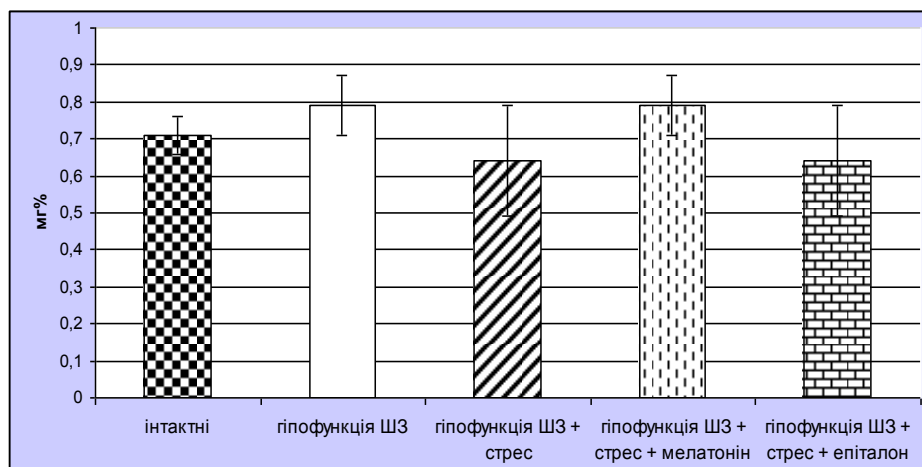


Рис. 4.58. Середньодобові рівні ритмів концентрації білка в сечі стресованих щурів, яким проводили ін'єкції епіталону

Після уведення епіталону стресованим щурам, параметри іонорегулювальної функції нирок зазнали значних позитивних змін із тенденцією до наближення до показників інтактної групи тварин (табл.4.17, табл. 4.18). Виявлені порушення механізмів ниркового транспорту іонів натрію спричинені утримуванням щурів у стані іммобілізації, ефективно піддавалися корекції епіталоном. Хроноритм екскреції іонів натрію набував

інверсного характеру відносно хронограм у стресованих тварин з акрофазою о 8.00 год і батифазою о 12.00 год (табл. 4.17, рис. 4.57).

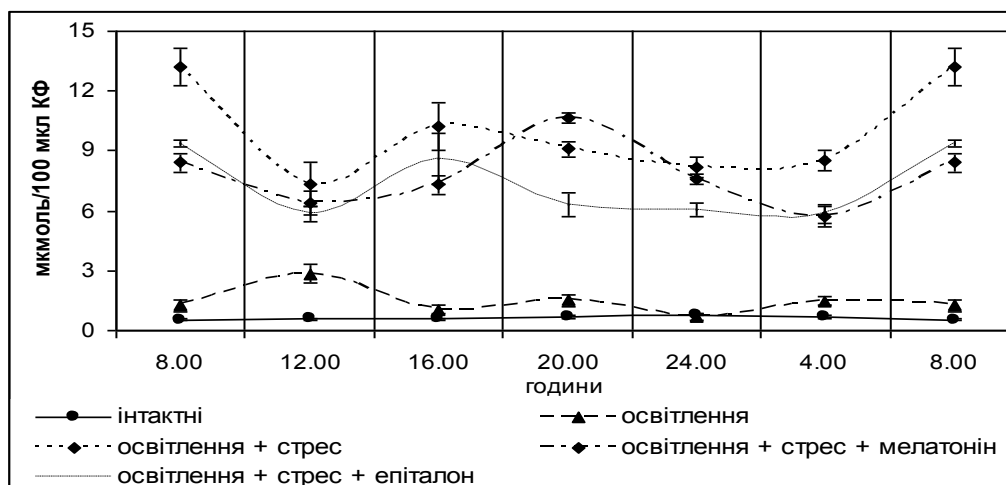


Рис. 4.57. Хроноритми екскреції іонів натрію в сечі за умов уведення епіталону стресованим щурам при гіпофункції ШЗ.

Середньодобовий рівень ритму істотно перевищував показники інтактних тварин (табл.4.18). Подібних змін набувала структура ритму концентрації іонів натрію в сечі. При цьому спостерігали ідентичні результати акрофазу о 24.00 год в інтактних та стресованих тварин за умов світлової експозиції. Враховуючи підвищений рівень катіона в плазмі крові у проміжку від 20.00 до 24.00 год мезор ритму вірогідно відрізнявся, а амплітуда більша щодо показників інтактної групи (табл. 4.18).

Упродовж усього періоду спостережень архітектоніка ритму натрій/калієвого коефіцієнту двофазна (рис. 4.58). Мезор ритму становив  $1,95 \pm 0,37$  од, а його амплітуда зменшилася на 38% щодо інтактної групи тварин. Середньодобовий рівень коефіцієнту вищий, ніж в інтактних щурів та тварин, яким за умов стресу вводили мелатонін. Це дає можливість стверджувати, що ефекти епіталону стимулюють підвищення натрій/калієвого коефіцієнту.

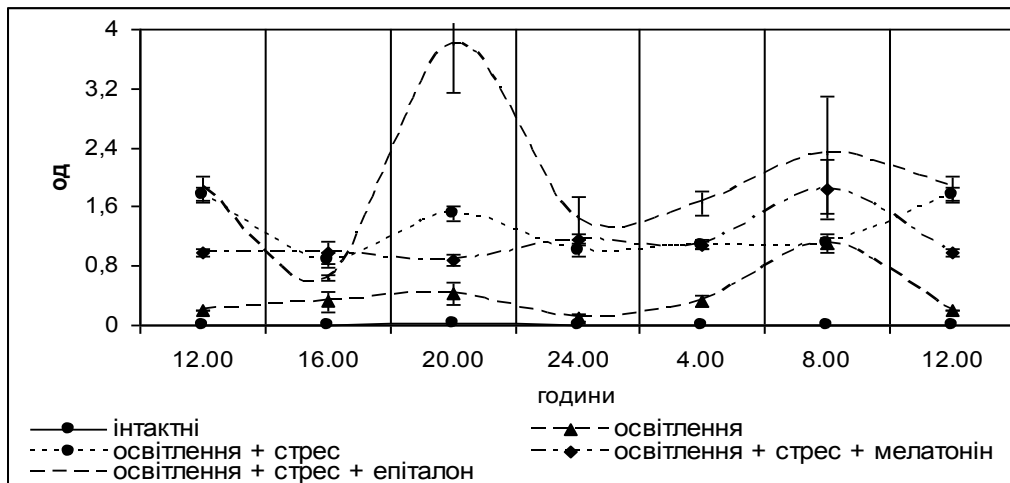


Рис. 4.58 Хроноритми натрій/калієвого коефіцієнту в щурів за умов уведення епіталону стресованим щурам.

Хроноритмічні перебудови кислоторегулювальної функції проявлялися суттєвим зниженням середньодобового рівня рН сечі порівняно з щурами, яким корекцію не проводили (табл. 4.20). Однак він залишався підвищений відносно такого в інтактних тварин, а щодо тварин, яким вводили мелатонін на фоні стресу цей показник нижчий у всі досліджувані періоди доби (рис. 4.59). Мезор ритму становив  $6,45 \pm 0,18$  од, з акрофазою  $7,51 \pm 2,28\%$ , але співпадала з контролем і припадала на 24.00 год, батифаза – на 08.00 год (рис. 4.59).

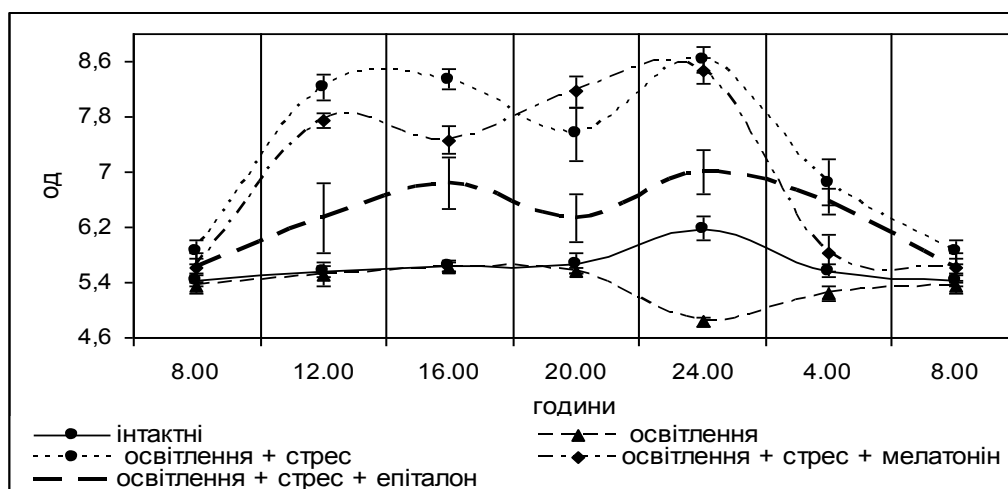


Рис. 4.59. Добова динаміка стрес-зумовлених змін рН сечі в щурів, яких піддали стресу за умов світлової експозиції.



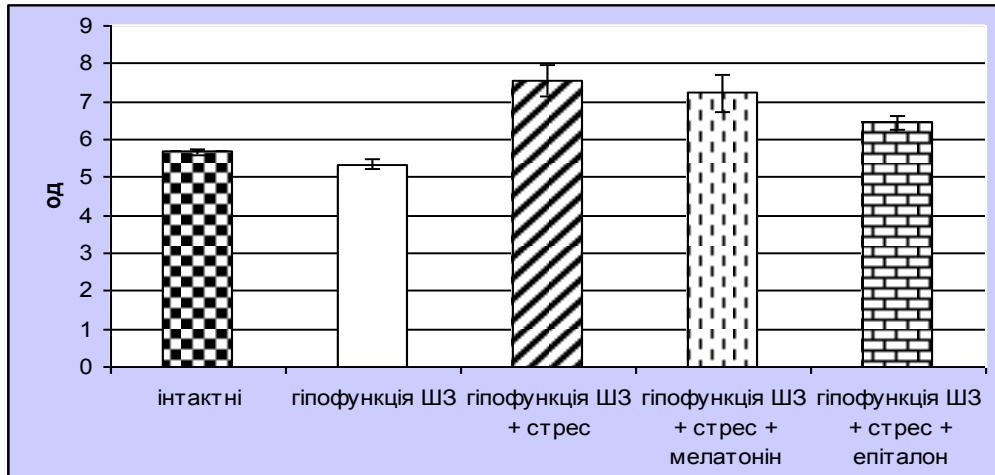


Рис. 4.60. Вплив епіталону на середньодобові рівні рН сечі стресованих щурів на фоні тривалого освітлення.

Як і при корекції мелатоніном, застосування епіталону на фоні стресу проявляло односпрямованість стосовно екскреції кислот, що титруються. Однак, застосування епіталону не викликало суттєвих відмінностей від показників інтактної групи тварин, на відміну від мелатоніну. За стресових умов о 08.00 год реєстрували акрофазу наведеного показника, а батифаза припадала на 20.00 год (табл. 4.19, рис. 4.61). Характерно, що мезор ритму показника нижчий, а амплітуда – вища відносно величин інтактних тварин та щурів, яким препарати не ін'єкували (табл. 4.20).

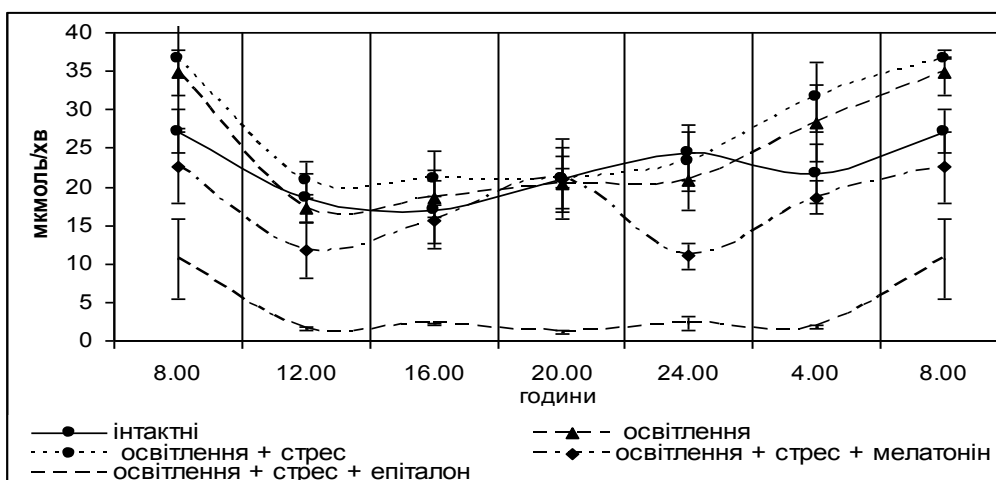


Рис. 4.61. Хроноритми екскреції кислот, що титруються, в щурів за умов гіпофункції ШЗ та уведення епіталону стресованим щурам.

Подібну динаміку реєстрували й для екскреції аміаку. На відміну від уведення хронобіотика, застосування тетрапептиду на фоні гіпофункції ШЗ спричинило суттєве зниження екскреції вказаної сполуки впродовж періоду спостережень, крім 08.00 год (табл. 4.19, рис. 4.62). Циркадіанний ритм проявляв однофазний характер з акрофазою о 08.00 год, батифазу відзначали о 12.00 год.

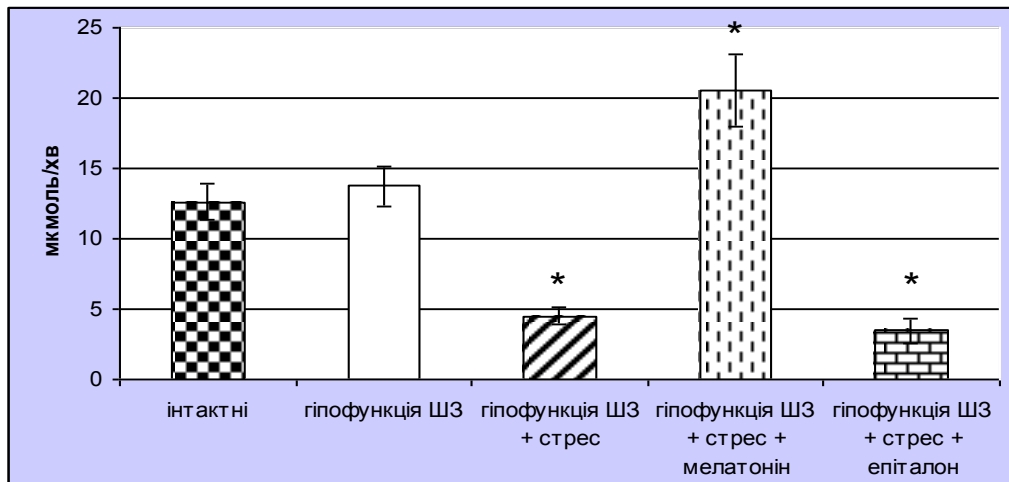


Рис. 4.62. Середньодобові рівні ритмів екскреції аміаку в стресованих щурів за умов ін'єкцій епіталону при гіпофункції шишкоподібної залози.

Таким чином, за умов уведення епіталону стресованим щурам спостерігали хроноритмічні перебудови архітекτονіки та фазової структури ритмів більшості показників основних ниркових функцій. Виявлено підвищення амплітуд хроноритмів, що, як ми вважаємо, є важливою діагностичною ознакою напруження адаптивних можливостей на межі переходу адаптації в дезадаптацію.

Триденне уведення епіталону як антистресового чинника підвищило плазмовий рівень мелатоніну на 34% (до  $16,8 \pm 1,7$  пг/мл, з вірогідністю  $p=0,054$ ) щодо середнього рівня МТ у плазмі крові щурів, яким моделювали ІС. Але відновлення рівня плазмового мелатоніну щодо інтактної групи тварин досягти не вдалося, так як при застосуванні екзогенного МТ. Рівень МТ в плазмі старих щурів після триденного уведення епіталону менший на 20% від рівня досліджуваного гормону в інтактних щурів ( $p=0,121$ ).

Результати досліджень анти-прооксидантної системи старих щурів, яким моделювали ІС та проводили корекцію тетрапептидом змін, викликаних іммобілізацією, дозволили встановити позитивний ефект епіталону. За даних

умов експерименту рівень МА з 28,8 мкмоль/мл знизився до 26,7 мкмоль/мл, що на 7,3% нижче за рівень МА при стресуванні тварин ( $p=0,019$ ). Рівень ОМБ із тенденцією наближення до показників інтактної групи тварин знизився на 47% від показників стресованих щурів, що характеризує епіталон як препарат, що має позитивний ефект щодо корекції постстресорних змін.

АОС захисту також прореагувала на уведення епіталону як коректора негативних вільнорадикальних процесів. Найактивніше прореагував фермент каталаза, рівень якого збільшився понад два рази ( $p<0,001$ ), показник HS-груп підвищився на 42% відповідно до даних у щурів, яким моделювали стрес. Рівень ЦП проявляв тенденцію щодо відновлення у бік величин інтактної групи (зниження на 25% відносно результатів у стресованої групи щурів –  $p=0,061$  (табл. 4.22). Наведені дані дозволяють стверджувати, що система ВРОЛБ позитивно прореагувала на уведений препарат щодо корекції змін, спричинених зовнішніми стресовими подразниками.

Таблиця 4.22

**Про- та антиоксидантний стан крові старих щурів  
за умов гіпофункції епіфіза мозку ( $\bar{x} \pm S_x$ ;  $n=6$ )**

Показник	Умови досліджу			
	Інтактні	Гіпофункція ШЗ	Гіпофункція ШЗ + стрес	Гіпофункція ШЗ + стрес+епіталон
Малоновий альдегід, мкмоль/мл	18,0±0,84	17,9±0,48	28,8±0,52 $p<0,001$	26,7±0,54 $p<0,001$ $p_1<0,02$
ОМБ, мкмоль/г білка	0,68±0,04	1,74±0,03 $p<0,001$	1,99±0,03 $p<0,001$	1,05±0,18 $p_1<0,001$
Церулоплазмін, мг/л	298,0±4,21	311,0±5,05	388,0±4,41 $p<0,001$	292±7,44 $p_1<0,05$
Каталаза, мкмоль/хв·л	12,6±0,85	15,7±0,26 $p<0,01$	7,68±0,14 $p<0,001$	14,9±0,88 $p_1<0,001$
HS-групи, мкмоль/мл	0,75±0,01	0,72±0,02 $p<0,001$	0,43±0,02 $p<0,001$	0,67±0,02 $p<0,01$ $p_1<0,001$

**Примітка:** у кожній досліджуваній групі по 6 тварин;  $p$  – вірогідність різниці між показниками дослідних та інтактних тварин,  $p_1$  – вірогідність різниці між показниками таврин, яким вводили епіталон та стресованих тварин без корекції.

Одногодинний іммобілізаційний стрес за умов зміненого фотоперіоду викликав різку активацію пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків на фоні зниження антиоксидантного захисту (зменшення активності каталази та вмісту HS-груп). Уведення старим щурам епіталону впродовж 3-х днів на фоні іммобілізаційного стресу та зміненого фотоперіоду (гіпофункція ШЗ) спричинило нормалізацію показників про- та антиоксидантного захисту крові.

На підставі отриманих даних проведеної серії досліджень встановлено: -застосуванням епіталону не завжди вдається досягти нормалізації інтегральних показників хроноритмічної організації екскреторної, іонорегулювальної та кислотовидільної функцій нирок, як це краще прослідковується у випадку ін'єкцій стресованим щурам природного хронобіотика – епіфізарного мелатоніну; -наведені результати свідчать про виражену дезорганізацію регуляції водно-сольової та кислотно-лужної рівноваги у щурів під дією ІС і переконують у визначній інтегративній ролі епіфізарного мелатоніну щодо відновлення функціональних показників нирок та посилення антиоксидантного захисту, а також не менш важливій ролі синтетичного тетрапептиду – епіталону, як коректора морфологічного стану нирок та шишкоподібної залози.

*Матеріали цього розділу наукової праці опубліковано в наступних виданнях:*

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 // Акт. пробл. сучасної медицини. — 2007. — Т. 7, № 20. — С. 263—266.
2. Ломакіна Ю. В., Пішак В. П. Гістологічні та ультраструктурні критерії ефективності корекції мелатоніном та епіталоном пінеалоцитів старих щурів після іммобілізаційного стресу / співавтори В. П. Пішак, І. С. Давиденко // Проблемы старения и долголетия. — 2008— Т. XVII, № 1.— С. 3—8.

3. Ломакіна Ю.В., Пішак В.П., Висоцька В.Г., Булик Р.Є. Застосування епіталону як препарату для корекції змін про- та антиоксидантного захисту при стресі в експерименті // Деклараційний патент на корисну модель UA (України) №34455, А61К31/00. Заявка №u2008 03519 від 19.03.2008 р. Видано — Бюл. №6 від 11.08.2008 р.
4. Ломакіна Ю. В., Пішак В. П., Спосіб корекції епіталоном показників про— та антиоксидантного стану крові при експериментальному моделюванні іммобілізаційного стресу у старих щурів на фоні зміненого фотоперіоду // Деклараційний патент на корисну модель UA (України) №35208, А61К31/00. Заявка №u200813568 від 21.03.2008 р. Видано — Бюл. №6 від 10.09.2008 р.
5. Ломакіна Ю. В. Особливості хроноритмічних змін функцій нирок за умов гіперфункції шишкоподібної залози / співавтори Н. В. Черновська, Н. М. Шумко, Ю. М. Вепрюк, // Бук. мед. вісник. — 2006. — Т. 10, № 4. — С. 196—200.
6. 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 : матер. наук.-практ. конф. 2—3 листопада 2007 р. : тези доп. — Рівне, 2007. — С. 95—96.
7. 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.
8. Ломакіна Ю.В. Ультрамикроскопічні 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 ім. І. Я. Горбачевського, 2008. — С. 77—79.
9. Ломакіна Ю. В. Стрес-індуковані зміни екскреторної функції нирок у старих щурів за умов гіпофункції епіфіза мозку / Ю. В. Ломакіна, В. П. Пішак, В. Г. Висоцька, Н. М. Шумко // Розвиток наукової думки – 2008

: матер. Всеукр. наук.-практ. конф. 10 жовт. 2008 р. : тези доп. — Миколаїв, 2008. — С. 61-63.

10. 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 : матер. наук.-практ. конф. 6—7 листопада 2008 р. : тези доп. — Тернопіль : Терноп. держ. мед. ун-т ім. І. Я. Горбачевського, 2008. — С. 133.

11. Ломакіна Ю. В. Вплив мелатоніну на показники про- та антиоксидантного стану крові старих щурів за зміненого фотоперіоду та іммобілізаційного стресу / Ю. В. Ломакіна // Бук. мед. вісник. — 2007. — Т. 11, № 4. — С. 108—110.

## РОЗДІЛ 5

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Не дивлячись на значну кількість наукових робіт, присвячених вивченню молекулярно-біохімічних процесів, які забезпечують участь нирки в компенсації відхилень кислотно-лужної рівноваги, практично не досліджена динаміка функцій нирок паралельно зі змінами морфофункціональних процесів в нефроні під кутом зору хронобіологічних проблем.

Нирки займають вагоме місце у забезпеченні динамічної рівноваги внутрішнього середовища організму. Вони, як і будь-яка інша біологічна система, характеризуються чіткою часовою організацією функцій [86, 287].

Проведеними хроноритмічними експериментами встановлено, що екскреторна, іонорегулювальна та кислоторегулювальна функції нирок характеризуються вираженою циркадіанною організацією. Про узгоджену впорядкованість ренальних функцій вказував аналіз механізмів клубочково-каналцевого балансу і тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку.

Зміни функціональної активності шишкоподібної залози спричинили десинхроноз циркадіанної організації функцій нирок. Насамперед відзначалися порушенням синусоїдального характеру ритму діурезу, вірогідне зниження мезору і амплітуди коливань ритму сечовиділення.

Моделювання тваринам гіпофункції шишкоподібної залози (семидобове утримування щурів за умов постійного освітлення) віддзеркалилося порушенням хроноритмічної впорядкованості екскреторної, іонорегулювальної та кислоторегулювальної функцій нирок.

Зокрема, хроноритм діурезу втрачав синусоїдальний характер і набував двофазної структури. Акрофаза ритму зміщувалася з 24.00 на 08.00 год. При цьому спостерігали зниження як мезору ритму сечовиділення на 23 %, який склав  $1,4 \pm 0,13$  мкл/хв/100г, так і його амплітуди щодо показників інтактних тварин. Отримані нами результати за умов гіпофункції епіфіза узгоджуються з літературними даними, згідно яких видалення залози призводить до зниження діурезу [82, 116, 117].

На фоні світлового стресу дезорганізація фільтраційної спроможності нирок спричинила зростання швидкості клубочкової фільтрації у всі періоди доби щодо величин інтактних щурів. Хроноритм ШКФ відрізнявся

антифазним характером щодо контрольних хронограм з акрофазаю о 16.00 год, а батифазаю – о 24.00 год. За таких умов експерименту середньодобовий рівень й амплітуда ритму вірогідно вищі, ніж у тварин, які перебували за стандартного світлового режиму.

Провідний регулятор водної рівноваги АДГ діє на  $V_2$ -рецептори клітин збірних трубок внаслідок підсилення синтезу  $AQ_2$  [184]. Симпатичні ефекти регуляції на дистальний сегмент нефрона проявляються активацією реабсорбції води через систему переносників (аденілатциклаза – цАМФ); на гладеньком'язові клітини судин – через зміни функціонування поворотно-протитечійної системи в режимах концентрування та розведення сечі [276, 191].

У тварин з гіпофункцією епіфіза мозку базисний рівень хроноритму відносної реабсорбції води вірогідно зростає порівняно з контролем.

Такий рівень ультрафільтрації істотно не змінював концентрацію креатиніну в плазмі крові впродовж доби, яка залишалася подібною до такої в інтактних щурів. Однак виявлено зміщення акрофази ритму з 20.00 на 16.00 год, а батифази, навпаки, – з 16.00 на 20.00 год.

Взагалі циркадіанні зміни характеризували нестабільність і напруженість роботи гломерулярного апарату нирок.

В основі десинхронозу функцій нирок лежать зміни обміну іонів калію. Рівновага цього катіона забезпечується точною регуляцією позаклітинного розподілу й виділення іонів нирками [19, 112], ритм якої особливо стійкий ([4, 59].

Серією досліджень показано, що епіфіз містить речовину білкової природи, яка викликає затримку іонів калію в організмі. Ця речовина була названа гіперкаліємічним чинником [3]. Зміни калійуретичного ефекту в щурів, які перебували як за умов гіпофункції ШЗ підтверджують участь цього органа в регуляції фотоперіодичної залежності гомеостазу вказаного катіона. Гіпофункція ШЗ викликала значне збільшення концентрації іонів калію в сечі порівняно з інтактними тваринами. Амплітуда ритму зросла майже втричі, порушувалась його архітектоніка. Середньодобовий рівень вірогідно відрізнявся від такого у тварин, що знаходилися за умов стандартного фотоперіоду.

Упродовж досліджуваних інтервалів динаміка виділення іонів калію набувала однофазної структури. Мезор і амплітуда ритму вірогідно відрізнялися від контролю. Підвищену екскрецію іонів калію після екстирпації епіфіза спостерігали інші дослідники [79, 87].



Беручи до уваги, що іони калію, вільно профільтровані в клубочках майже повністю реабсорбуються в проксимальному каналці (сегментах S1, S2, S3), а виділення із сечею залежить від його секреції клітинами дистального звивистого каналця та збірних трубок [19], можна припустити, що вірогідне підвищення концентрації іонів калію в сечі та його екскреції за умов постійного освітлення відбуваються через порушення центральної регуляції функцій нирок, ефекторні механізми якої знаходяться на рівні каналцевого відділу нефрона.

До важливих прогностичних ознак порушення функції ниркових клубочків та проксимальних каналців належать зміни концентрації в сечі перерахованих іонів та величини протеїнурії [184].

Перебування тварин у гіперліюмінованих умовах призвело до порушення архітекtonіки ритму екскреції білка, яка набувала інверсного характеру щодо контрольних хронограм. Підвищений рівень екскреції білка виявляли о 08.00 та 16.00 год, батифаза ритму припадала на 04.00 год.

Десинхроноз механізмів ниркового транспорту іонів натрію у тварин з гіпофункцією ШЗ віддзеркалювався підвищеною екскрецією даного катіона у всі досліджувані проміжки доби.

Стандартизація екскреції іонів натрію за швидкістю клубочкової фільтрації дозволила встановити за умов гіпофункції епіфіза мозку істотні зміни положення акрофази відносно контролю, яка зміщалася з 24.00 на 12.00 год. Незважаючи на підвищену екскрецію іонів натрію, концентрація даного катіона в плазмі крові залишалася без вірогідних змін стосовно контролю.

Високі показники екскреції іонів натрію в плазмі крові при гіпофункції шишкоподібної залози спричинили вірогідне підвищення натрій/калієвого коефіцієнту в досліджувані часові періоди. Максимальний показник зміщувався з 24.00 на 08.00 год, а мінімальний – з 8.00 на 16.00 год. Архітекtonіка ритму вказаного параметру набували інверсного характеру щодо хронограм інтактних щурів. Подібні результати отримали інші дослідники, встановивши, що епіфізектомія призводить до підсилення втрати іонів натрію, у тому числі й при проведенні щурам різноманітних навантажень [79]. Однак за результатами інших спостережень виявлено натрій-затримувальний ефект пінеалектомії [116, 117], що вказує на суперечливість думок щодо участі пінеальної залози в регуляції обміну натрію.

Вважаємо, що в основі порушень інтегральних характеристик ритмів показників ниркового транспорту іонів натрію у тварин з пригніченою функцією ШЗ лежать зміни загального обміну іонів натрію в організмі, що підтверджувалося високим середньодобовим рівнем концентрації цього катіона в крові. Високі амплітуди ритмів екскреції, відносної реабсорбції, проксимального та дистального транспорту іонів натрію вказують на мобілізацію функціональних резервів, спрямованих на підтримку основних параметрів електролітного балансу. У дослідженнях С.И.Рябова та Ю.В.Наточина (1997) зареєстровані подібні варіації амплітуд ритмів при розвитку нефрологічної патології різного генезу.

Відомо, що нирки підтримують кислотно-лужну рівновагу організму секретуючи іони водню і аміак, вибірково реабсорбуючи бікарбонат в обмін на протони [19]. Відхилення показників секреції іонів водню в проксимальних каналцях, виділення кислот, аміаку свідчать про порушення кислотовидільної функції нирок [4].

Порушення кислоторегулювальної функції нирок проявлялися зниженням екскреції активних іонів водню впродовж періоду спостережень за винятком 08.00 год. У той же час мезор ритму рН сечі вірогідно нижчий від контрольних показників, а його архітектоніка характеризувалась антифазною структурою щодо хронограм інтактних щурів.

За моделювання гіпофункції ШЗ середньодобовий рівень і амплітуда ритму екскреції титрованих кислот дещо вищі від показників інтактних тварин на фоні зміненої фазової структури ритму. Батифаза ритму зміщувалася з 12.00 на 16.00 год.

Середньодобовий рівень екскреції аміаку зростав порівняно з контролем вдвічі, амплітуда вірогідно не змінювалася. Структури ритмів подібні до хронограм інтактних тварин.

Нами встановлено вірогідне зниження базисного рівня ритму амонійного коефіцієнту та зниження його амплітуди, зміщення фазової структури ритму відносно показників інтактних особин.

Пригнічення функції пінеальної залози призводить до більш виражених хроноритмічних перебудов основних ниркових функцій. Ймовірно, що саме знижена продукція основного індолу ШЗ – мелатоніну лежить в основі

зазначених вище добових варіацій показників. Отже, гіпофункція ШЗ дезорганізує циркадіанну впорядкованість ренальних функцій.

Широко вивчається участь шишкоподібної залози в процесах адаптації тварин до стресу [110, 133].

У наших дослідах, за умов фізіологічного функціонування ШЗ та іммобілізаційного стресу виявлено зниження екскреції іонів калію. Зокрема, о 04.00 год цей показник знижувався у 4 рази, о 20.00 год – втричі. Подібно змінювалася концентрація іонів калію в сечі, мезор якої підвищувався на 8 %. Амплітуди ритмів, подібно до попередніх випадків, також зростали. Мезор діурезу нижчий від контролю на 12,1 %. Мінімальні показники сечовиділення реєстрували у проміжку з 16.00 до 20.00 год, коли рівень показника знижувався приблизно на 38 % від контрольних величин. Характерно, що стресування щурів підвищувало амплітуду ритму із зміщенням акрофази на 20.00 год. Такі зміни середньодобового рівня діурезу спричинені порушенням швидкості гломерулярної фільтрації. За дії стресового чинника швидкість ультрафільтрації знижувалася о 12.00, 16.00 та 24.00 год, при цьому амплітуда перевищувала в інтактних щурів майже вдвічі. За такої характеристики клубочкової фільтрації гіперазотемії не спостерігали. Низькі показники концентрації креатиніну в плазмі крові реєстрували впродовж досліджуваних часових інтервалів.

Поряд із зростанням швидкості клубочкової фільтрації збільшувався рівень відносної реабсорбції води, що свідчить про збереження механізмів клубочково-канальцевого балансу.

Іммобілізаційний стрес на фоні тривалого світлового режиму суттєво змінює фазову структуру ритму. Стресування 1-годинним знерухомленням на тлі постійного освітлення викликало зниження середньодобового рівня діурезу порівняно з тваринами, що перебували на тлі постійного освітлення більше як удвічі, так і стосовно інтактних тварин – на 42 %.

Основою виявлених змін хроноритмів діурезу було порушення процесів ультрафільтрації. Хроноритм швидкості клубочкової фільтрації набував монотонного характеру з акрофазою о 08.00 год і батифазою о 12.00 год. Привертало увагу різке підвищення рівня показника в усі досліджувані проміжки доби щодо інтактної групи тварин. Мезор нижчий, ніж в інших груп порівняння, що свідчить про сумарний ефект іммобілізаційного стресу та епіфізарної гіпофункції.

Підвищення швидкості клубочкової фільтрації спричинило вірогідне збільшення рівня відносної реабсорбції води щодо інтактної групи тварин, що врівноважувало гломеруло-тубулярні процеси. Архітектоніка ритму вказаного параметра інверсна відносно контрольної хронограми. Максимальні величини реєстрували о 24.00 год. Мезор становив  $98,8 \pm 0,07$  % і нижчий, ніж у тварин, яких утримували за світлової стимуляції. Амплітуда ритму підвищена. Це вказувало на потенціувальну дію гіпофункції ШЗ.

Середньодобовий рівень концентрації креатиніну в плазмі крові вірогідно не змінювався стосовно такого у тварин з фізіологічною функцією ШЗ. Проте, амплітуда ритму вища, ніж у контрольної групи тварин. Отже, у даному випадку повне освітлення не потенціувало ефекти іммобілізаційного стресу.

Впродовж спостереження реєстрували перебудову ритму концентраційного індексу ендogenous креатиніну з порушенням його фазової структури. Мезор знаходився на рівні  $0,01 \pm 0,001$  од. і нижчий, ніж у конт-ролі, тварин з гіпофункцією епіфіза мозку. Поєднана дія іммобілізаційного стресу і гіпофункції пінеальної залози призвела до вираженого зниження рівня концентраційного індексу ендogenous креатиніну.

Встановлено окремі загальні закономірності формування патологічного процесу в нирках, відповідно яким, незалежно від рівня пошкодження нефрону, основним провідним патогенетичним механізмом порушення водно-сольового гомеостазу є гальмування швидкості клубочкової фільтрації, що зумовлено спазмом ниркових судин при активації механізмів авторегуляції ниркового кровотоку з перевагою активності ренін-ангіотензинової системи над депресорними системами нирок [70, 191].

Численні дослідження вказують про вплив рухового режиму на екскрецію електролітів. За даними [252], ритм кальційурезу й магнійурезу пов'язаний з руховим режимом, що в 2 рази збільшує «піки» екскреції іонів кальцію. Інші дослідники не виявляли зв'язку добових коливань кальційурезу, креатинінурії з руховою активністю й характером харчування [279].

Динаміка часових змін ниркового транспорту іонів натрію віддзеркалилася істотним зростанням натрійурезу. Циркадіанний ритм екскреції іонів натрію мав інверсний характер щодо контрольних хронограм, а його мезор у п'ять разів перевищував контрольні величини. Акрофазу ритму відмічали о 20.00 год.

Це призвело до високих значень концентрації досліджуваного катіона у сечі. Середньодобовий рівень цього показника значно вищий порівняно з контрольним. Батифаза ритму зміщувалася з 16.00 на 04.00 год, максимальні показники реєстрували о 12.00 та 20.00 год.

Після 1-годинного знерухомлення щурів на тлі гіпофункції ШЗ реєстрували підвищення рівня концентрації іонів калію в сечі та їх екскреції порівняно як з інтактними тваринами, так і тваринами, яких стресували на тлі фізіологічної функції ШЗ. Зокрема, у досліджувані проміжки цей показник майже вдвічі перевищував дані інтактних тварин. Оскільки середньодобовий рівень екскреції іонів калію і концентрації його в сечі наближався до такого у тварин, які перебували за умов постійного освітлення, можна припустити, що саме пригнічення синтезу мелатоніну є однією з причин, що зумовлює порушення механізмів калієвого гомеостазу.

Перебудови хроноритмів екскреторної функції нирок супроводжувалися і підвищенням концентрації білка в сечі протягом доби. Мезор ритму становив  $0,83 \pm 0,042$  мг % і перевищував на 20 %, а амплітуда майже втричі контрольні величини. Порівняно з іншими групами дослідних тварин рівень показника також залишався високим. Подібно змінювалися хроноритми екскреції білка.

Стресування на фоні фізіологічного функціонування ШЗ характеризувалося гальмуванням натрій-водневого антипорту, що спричинило зростання рН сечі у досліджувані інтервали доби. Поряд із високими значеннями кислотності сечі реєстрували зниження екскреції аміаку. Середньодобовий рівень вказаного показника зменшувався щодо такого в інтактних щурів на 30 %. При цьому амплітуда ритму зростала. Циркадіанні коливання екскреції кислот, що титруються, характеризувалися порушенням фазової структури ритму щодо хронограм інтактних тварин з вірогідним зниженням мезору на тлі зростання амплітуди ритму (рис. 3.2.12).

Гіперілюмінізовані умови поряд із іммобілізаційним стресом викликали вірогідне збільшення рН сечі на фоні зростання екскреції іонів водню та зниження виведення титрованих кислот протягом досліджуваних часових інтервалів.

Наведений характер змін у щурів з фізіологічною та гіпофункцією епіфіза мозку підтверджує вагому роль ШЗ у механізмах функціонування нирок.

Багатогранна діяльність нирки забезпечується на рівні її структурно-функціональної одиниці – нефрона, де тісно взаємопов'язані структурні компоненти ниркового тільця, перитубулярна кровоносна сітка та каналці нефрона. У відповідності з результатами наших досліджень та даними літератури встановлено, що клітини всіх складових частин нефрона мають як загальну, так і органоспецифічну будову. Дослідження нирки в умовах норми підтверджують загальні закономірності структурної організації її компонентів, які висвітлені в серії праць [35, 47, 276].

Проте недостатньо досліджені морфометричні показники структурних компонентів нефрона за зміненого фотоперіоду та змодельованого іммобілізаційного стресу. Тому в роботі встановлені дані, які є контролем для подальших досліджень. Аналіз отриманих мікроскопічних результатів проводився в діапазоні статистично значимих даних.

При гістологічному дослідженні нирок під час одногодинного стресування іммобілізацією у кірковій речовині відмічена зерниста дистрофія в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $85,0 \pm 1,4$  % клітин, перевищуючи показник на 80% щодо такого в інтактних щурів. Спостерігали розширення простору між зовнішнім та внутрішнім листками капсули клубочка. Мала місце загальна ішемізація кіркової речовини, особливо - капілярних петель клубочків.

У мозковій речовині відмічено повнокрів'я переважно в судинах мозкових променів. У сосочку нирки виявлено набухання більшості епітеліальних клітин.

За умов гіперліюмінізації та впливу іммобілізаційного стресу у кірковій речовині відмічена зерниста дистрофія в епітелії звивистих каналців, яка охоплювала  $90,0 \pm 1,4$  % клітин, перевищуючи показник на 85 % щодо такого в інтактних щурів, що вказує на негативну аддитивну дію іммобілізаційного та світлового стресорів. Виявлено розширення простору між зовнішнім та внутрішнім листками капсули клубочка. Мозкова речовина характеризувалася мінімальним повнокрів'ям мозкових променів, у сосочку нирки виражені прояви набухання епітеліальних клітин.

Циркуляція мелатоніну в організмі відіграє ключову роль в якості паракринної сигнальної молекули для локальної координації клітинних функцій і міжклітинних зв'язків. Він може діяти як типовий гормон, досягаючи далеко розташованих клітин-мішеней за допомогою кровотоку [44, 67, 168]. Доведена наявність рецепторів до мелатоніну в багатьох клітинах [208, 226], а гормон

ідентифіковано в сечі лабораторних тварин і нирках [39]. Разом з тим вважають [44], що зміни рівнів мелатоніну в крові контролюють центральні відділи цих клітин, які розсіяні в різних органах.

Необхідно відмітити, що на відміну від фізіологічного функціонування ШЗ, пригнічення функції пінеальної залози призводить до більш виражених хроно-ритмічних перебудов основних ниркових функцій. Ймовірно, що саме відсутність основного індолу ШЗ – мелатоніну лежить в основі зазначених вище добових варіацій показників.

Широке коло властивостей мелатоніну дозволяє широко застосовувати його у клінічній та геріатричній практиці. Він впливає на обмінні процеси, насамперед, на пігментний обмін, регулює добові і сезонні ритми, спричиняє антигонадотропну дію, можливо – седативну і галюциногенну, володіє антипроліферативними, протективними протипухлинними властивостями. Мелатонін може виявитися корисним терапевтичним агентом при лікуванні гормонально-активних пухлин, деяких дерматологічних захворювань і афективних розладів [2, 61, 62].

Секреція мелатонну характеризується різноманітними ритмами: циркадіанними, сезонними, віковими [156, 163]. Встановлено, що концентрація цього індолу шишкоподібної залози в плазмі крові зменшується в осіб з вираженою патологією [249], спадає вона й з віком [267], але у довгожителів його рівень є достатньо високим. Зниження секреції МТ в людей старечого віку тісно пов'язане з процесами старіння мозку [153]. Виявлено, що в щурів при старінні в супра-хіазматичних ядрах гіпоталамуса знижується чутливість рецепторів до дано-го гормону [226]. Хоча є й дані, що рівень продукції епіфізарного мелатоніну не корелює з віком [181, 205]. Максимальна концентрація цього гормону в плазмі крові спостерігається біля третьої години ранку. Утворення мелатоніну чітко підпорядковане також і сезонній періодичності: восени синтез гормону зростає, а навесні – зменшується [153].

Біохімічними дослідженнями встановлено, що моделювання іммобілізаційного стресу на фоні фізіологічного стану ШЗ призвело до вірогідного зниження порівняно з інтактною групою щурів рівня мелатоніну майже на 17 % до  $17,5 \pm 1,0$  пг/мл ( $p=0,03$ ). А за умов семидобового освітлення під дією іммобілізаційного стресу цей рівень знизився майже у два рази, склавши 14,1 пг/мл ( $p=0,011$ ), що вказує на пригнічення функціональної активності

шишкоподібної залози за умов аддитивної дії стресу та семидооової гіперліюмінізації. Наведені дані свідчать про сумарний негативний вплив обох стресорів на рівень мелатоніну в плазмі, що вказує на пряму залежність концентрації мелатоніну від світлового чинника.

Відповідно до результатів останніх спостережень, мелатонін виявився досить сильним і ефективним інгібітором вільних радикалів. Він реагує з високотоксичними гідроксильними радикалами, захищаючи клітини від окисного ушкодження. Завдяки унікальним фізико-хімічним властивостям, дія мелатоніну та його метаболітів відрізняється від ефекту інших відомих антиоксидантів і має досить високу стабільність [157, 196]. Гормональному гальмуванню пероксидного окиснювання ліпідів сприяє, крім того, активувальний вплив мелатоніну на ферментні системи, що беруть участь в утворенні іншого природного антиоксиданта – глутатіону [217].

Вивчення процесів вільнорадикального окиснення ліпідів біополімерів в крові за умов впливу ІС показало зростання показників МА на 45,5 % ( $p < 0,001$ ), а рівень ОМБ підвищився у двічі стосовно контрольних даних ( $p < 0,001$ ). Це свідчить про підвищення окисних процесів в організмі щурів, яких піддали 1-годинному іммобілізаційному стресу. Щодо даних антиоксидантної системи захисту, а саме каталази та HS-груп відмічається їх зниження внаслідок стресового впливу на 51,58 % та 42,67 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. Наведені результати дозволяють стверджувати, що система ВРОЛБ адекватно прореагувала на зовнішній стресовий подразник. Іммобілізаційний стрес на фоні тижневого освітлення призводив до різкого підвищення в крові вмісту МА (на 55,6 %) та ОМБ (майже втричі порівняно з інтактною групою тварин) і зростання рівня церулоплазміну на 30 % від рівня в інтактних тварин, а відмінність від групи тварин з гіпофункцією ШЗ без впливу стресу складала 24 % у бік підвищення показника при стресі. Активність каталази та рівень HS-груп знижувалися на 38,4 і 32,7 % відповідно. Це вказує на значну потенціювальну дію стресу на фоні гіпопінеалізму.

Вивченням хронобіологічних аспектів антиоксидантної дії мелатоніну у старих щурів, підтверджено, що уведення мелатоніну старим щурам навіть у низьких концентраціях (0,05 та 0,5 мг/кг) викликає сповільнення процесів вільнорадикального окиснення, а антиоксидантний ефект гормону посилюється із збільшенням дози. В зимовий період спостерігаються більш значні зміни



досліджуваних показників, хоча напрямок зареєстрованих зсувів не залежить від тривалості світлового дня [4, 118].

Перцов С.С. і Пірогова Г.В. (2004) вивчали вплив гострого стресорного навантаження та екзогенного МТ в різних дозах на інтенсивність ПОЛ. Відмічено, що стресорне навантаження не призводить до змін рівня МА в гіпоталамусі, сенсомоторній корі та печінці активних і пасивних щурів, які отримували фізіологічний розчин. Вплив мелатоніну на вміст МА залежав від дози речовини. МТ у дозах 0,5 і 2,0 мг/кг підвищував, а в дозі 1,0 мг/кг знижував вміст МА в печінці. Такі дані вказують на механізм дії мелатоніну, що зводиться до змін інтенсивності ПОЛ в центральних та периферичних тканинах організму. Також дослідники вивчали вплив гострого стресорного навантаження та екзогенного мелатоніну на органи-мішені стресу в щурів. Уведення мелатоніну у дозах 0,5, 1,0 та 2,0 мг/кг за звичайних умов викликало збільшення відносної ваги тимуса в активних щурів та підвищення відносної ваги надниркових залоз у активних і пасивних щурів. При ін'єкції мелатоніну виявлено тенденцію до збільшення відносної маси селезінки. Стресорне навантаження призвело до інволюції тимуса та гіпертрофії наднирників в активних і особливо в пасивних тварин, що отримували фізіологічний розчин. Мелатонін знижував вираженість або попереджував інволюцію тимуса в умовах стресу. Стрес не змінював відносної ваги надниркових залоз у щурів, які отримували мелатонін. Відносна вага селезінки в активних щурів, які отримували мелатонін у дозах 0,5 та 1,0 мг/кг, знижувалася після стресорного навантаження. Наведені результати дозволяють констатувати, що мелатонін впливає на гемодинаміку та функціональний стан органів-маркерів стресу [75, 76].

Поєднання в мелатоніну імуностимулювальної та антиоксидантної активності є вдалим доповненням до його антистресорних можливостей. У цілому ж вони дуже репрезентативні, що дозволяє ставити питання про можливість їхнього залучення до специфічної дії тих лікарських засобів, що так чи інакше сприяють дестресуванню. Це стосується, у першу чергу, транквілізаторів і антидепресантів.

Для кращого розуміння біохімічних та фізіологічних процесів, що відбуваються під впливом нейроендокринного трансдуктора – шишкоподібної залози, необхідно дослідити орган за допомогою мікро- та ультрамікроскопічних методів для розуміння морфофункціональних перебудов та патогенетичного впливу на інші органи.

Пінеалоцити характеризуються наявністю гранулярних везикул. Інколи виявляють астроцити, інтерстиціальні і пігментні клітини. У людей уже у відносно ранні періоди життя виявляється кальцифікація шишкоподібної залози. Доведено, що вона не має вирішального значення для продукції мелатоніну. У людини шишкоподібна залоза маленька (її маса складає від 40 до 800 мг), але кровопостачання його дуже інтенсивне (за швидкістю крово-постачання займає друге місце після нирок), що свідчить про важливість його ролі в організмі [85, 86].

При гістологічному дослідженні епіфіза мозку стресованих тварин за умов гіпофункції ШЗ виявлені більші зміни у співвідношенні між світлими та темними пінеалоцитами, ніж за умов фізіологічного стану ШЗ при моделюванні іммобілізаційного стресу. Так, співвідношення між світлими та темними пінеалоцитами порівняно з контролем становило  $0,38 \pm 0,015$  (світлих пінеалоцитів –  $28,0 \pm 1,3$  %, темних –  $72,0 \pm 1,1$  %), що вірогідно відрізнялося від показників інтактної групи тварин. А у знерухомлених тварин за фізіологічного стану ШЗ цей показник сягав  $1,12 \pm 0,024$  (світлих пінеалоцитів –  $53 \pm 1,6$  %, темних –  $47 \pm 1,5$  %).

Дослідженням ультрамікроскопічних особливостей пінеалоцитів за умов  $\gamma$ -опромінення та модифікації структурних пошкоджень займалися вчені різних країн. Найбільш виражені зміни спостерігали у судинному руслі у вигляді набряку ендотелію, його вакуолізації, зникнення цитоплазматичних органел та піноцитозних везикул, розширення та розрихлення периваскулярних просторів. У деяких пінеалоцитах відбувалося відшарування зовнішнього листка каріолеми. Отримані результати вказують, що загальне  $\gamma$ -опромінення малими дозами призводить до ультраструктурних пошкоджень шишкоподібної залози, які можуть супроводжуватися функціональними порушеннями органа, що сприяє посиленню дисгормональних станів характерних для післяпроменевого періоду [102, 211].

Ультрамікроскопічну перебудову пінеалоцитів епіфіза мозку за умов впливу радіації та гіперліюмінації досліджував Логвінов С. В. У ранні терміни після гіперліюмінації в пінеалоцитах відбувається редукція ЕПР та комплексу Гольджі, а через 1-6 міс відбувається нормалізація їхньої ультраструктурної організації. Після рентгенівського опромінення на 10-й день розвиваються дегенеративні зміни з розширенням, фрагментацією та вакуолізацією цистерн ГЕР, набряк мітохондрій, появою великих вакуолей та осміофільних включень, наростанням кількості лізосом. За умов комбінованого впливу гіперліюмінації та

рентгенівського опромінення зміни ультраструктурної організації пінеалоцитів у всі терміни спостереження набагато сильніше виражені, ніж при впливі окремих чинників. Ці дані свідчать про те, що яскраве світло не тільки пригнічує секреторну активність залози, але є й стресором, що активізує розвиток компенсаторно-приспосувальних перетворень [50].

Серед суттєвих проявів структурно-функціональних порушень шишкоподібної залози: при гіпопінеалізмі відмічено різке збільшення темних пінеалоцитів, вузькі просвіти каналців ЕПР, мала кількість мітохондрій з оксифільним матриксом і нечисельними кристами. При знерухомленні спостерігали подібну картину, однак кількість світлих пінеалоцитів більша відносно щурів, яких піддали тривалій світловій експозиції. Знерухомлення за постійного освітлення обтяжувало морфофункціональний стан пінеалоцитів старих тварин порівняно з ізольованою дією стресорів.

Гістохімічними дослідженнями співвідношення між “кислими” та “основними” білками, 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 гіперілюмінізованих умов, сягаючи у світлих пінеалоцитах значення  $1,340 \pm 0,018$ , а в темних  $1,625 \pm 0,023$ .

У механізмах стресу велику роль відіграють зміни інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) й антиоксидантного захисту [12, 256]. Вважають, що продукти ПОЛ можуть бути первинними ме-діаторами стресу [196]. Активація ПОЛ не тільки спричинює аварійний викид антиоксидантів, а й ініціює реакцію інших стрес-реалізувальних систем, їхні гуморальні продукти (катехоламіни й, особливо, глюкокортикоїди) мають антиоксидантну активність. Викид цих речовин у циркуляцію розвивається за принципом зворотного зв'язку у відповідь на зрушення окисного балансу в організмі. Наголошується, що при психоемоційному стресі активація стрес-реалізувальних систем можлива без первинної активації ПОЛ. У цьому випадку зростання пероксидації є наслідком значної гіперкатехолемії і пов'язане з особливостями метаболізму катехоламінів [256, 261].

Для корекції постстресорних змін як за умов фізіологічного стану ШЗ, так і за гіпофункції застосовували мелатонін (2,5 мг/кг маси тіла старим щурам) та епіталон (0,5 мкг/кг маси тіла). З'ясовано, що застосування мелатоніну на відміну

від епіталону старим щурам, сприяє більш вираженому наближенню до норми показників структурно-функціональної, гістохімічної організації шишкоподібної залози та нирок, а також процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та біополімерів крові після впливу іммобілізаційного та світлового стресових чинників. Отже, уведення мелатоніну та епіталону, як демонструють результати, окрім прямої дії, як скавенджера радикалів, є ефективним для up-регулювання антиоксидантних та down-регулювання прооксидантних систем.

Виноградова И.А проводила аналіз змін ферментної (супероксиддисмутаза - СОД, каталаза) і неферментної (вітамінів А і Е) ланок АОС в органах і тканинах щурів при різних світлових проміжках і уведенні мелатоніну та епіталону. В органах 6-місячних щурів виявляється відносно висока стійкість АОС до змін світлового проміжку, а також до уведення МТ та епіталону. Неферментна ланка АОС - вітаміни А і Е - більш чутливі як до світлового проміжку, так і до ін'єкційних препаратів. Максимальну кількість змін активності антиоксидантних ферментів і жиророзчинних вітамінів під впливом препаратів відмічено в групі тварин, яких утримували при постійному освітленні, мінімальна - в умовах природної зміни дня та ночі. Дані зміни можна охарактеризувати як компенсаторні у відповідь на поступлення в організм МТ - потенційного антиоксиданту - або епіталону (речовини, що підвищує його секрецію). Очевидно, що вітамін Е в цьому випадку проявляв "конкурентну" з МТ функцію – функцію пастки для вільних радикалів. Найбільш чутливим до експериментальних змін під впливом МТ і постійної темряви в більшості випадків односпрямовані, однак під впливом МТ й епіталону відрізнялися [22].

Таким чином, узагальнюючи результати наукових досліджень можна чітко стверджувати, що іммобілізаційний стрес на фоні гіпофункції ШЗ має більш пошкоджуючий вплив на досліджувані показники, ніж за умов фізіологічного функціонування епіфіза мозку.

Проведення корекції викликаних змін обома стресорами більш ефективно проводити мелатоніном. Уведення епіталону також демонструє позитивну динаміку із наближенням до показників інтактної групи тварин, хоча не настільки ефективно, як природний пептид.

Отже, актуальність подальших досліджень стосовно з'ясування особливостей добових морфофункціональних перебудов нирок та шишкоподібної залози за умов дії стресових чинників різної етіології не викликає

сумнівів. Не до кінця з'ясованими залишаються взаємини шишкоподібної залози з різними біологічними системами, в тому числі нирками.

Потрібне подальше ретельне дослідження екзогенного мелатоніну і для з'ясування перспективності його використання з метою прискорення адаптації до часових умов у людей, які працюють позмінно, при тривалих перельотах на захід і схід - у льотчиків, вахтовиків, артистів, спортсменів і ін., що може мати важливе соціально-економічне значення. Особливо цікавим і перспективним є дослідження корегувальної дії різних стресорів мелатоніну та епіталону у віковому аспекті. Необхідно проводити подальші ґрунтовні дослідження впливу екзогенного мелатоніну та епіталону для з'ясування перспективності його використання у терапевтичній практиці.

## 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Алчинбаев М. К. Функциональный почечный резерв у больных с хроническим пиелонефритом / М. К. Алчинбаев, Б. Г. Султанова, А. Ж. Карабаева // Нефрология. — 2001. — Т. 5, №2. — С. 71—75.
2. Анисимов В. Н. Влияние пептида эпифиза на показатели биологического возраста и продолжительность жизни мишей / В. Н. Анисимов, В. Х. Хавинсон, Н. Ю. Загорзина // Рос. физиол. ж. — 2001. — Т. 87, № 1. — С. 125—136.
3. Анохин П. К. Узловые вопросы теории функциональной системы / П. К. Анохин. — М. : Наука, 1980. — 197 с.
4. Анохіна С. І. Вплив мелатоніну на кислотовидільну функцію нирок / С. І. Анохіна, Ю. І. Бондаренко, В. П. Пішак // Бук. мед. вісник. — 2002. — Т. 6, № 1. — С. 141—142.
5. Арушанян Э. Б. Гиппокампадно-эпифизарный функциональный блок в организации ответа на стресс / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Новое в изучении пластичности мозга : Матер. конф. — М., 2000. — С. 5.
6. Арушанян Э. Б. Гистохимические и морфометрические доказательства участия нейронов дорсального гиппокампа в антистрессорном действии мелатонина / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер, Н. А. Локтев // Эксперим. и клин. фармакол. — 2001. — 64, № 6. — С. 10—12.
7. Арушанян Э. Б. Иммунотропные свойства эпифизарного мелатонина / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Эксперим. и клин. фармакология. — 2002. — Т. 65, № 5. — С. 73—80.
8. Арушанян Э. Б. Место гиппокампа в биоритмологической организации поведения / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Успехи физиол. наук. — 2001. — № 1. — С. 79—95.
9. Арушанян Э. Б. Супрахиазматические ядра гипоталамуса и организация суточного периодизма / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Хронобиология и



- хрономедицина : под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта. — М. : Триада-Х, 2000. — С. 50—64.
10. Арушанян Э. Б. Эпифизарный гормон мелатонин и неврологическая патология / Э. Б. Арушанян // Русс. мед. журнал. — 2006. — Т. 14, № 22. — С. 1—8.
  11. Ашофф Ю. Обзор биологических ритмов / Ю. Ашофф // Биологические ритмы : [пер. с англ.] : под ред. Ю. Ашоффа. — М. : Мир, 1984. — Т. 1. — С. 12—21.
  12. Барабой В. А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина / В. А. Барабой // Укр. біохім. журн. — 2000. — Т. 72, № 3. — С. 5—11.
  13. Бейер Э. В. Сдвиги в содержании мелатонина плазмы и изменения циркадианной локомоции при разрушении дорзального гиппокампа у интактных и стрессированных крыс / Э. В. Бейер, К. С. Эльбекьян, Э. Б. Арушанян // Журн. высшей нервной деят-ти. — 2001. — Т. 51., № 5. — С. 631—635.
  14. Богданов А. И. Анальгетический эффект кортикотропин-рилизинг-гормона: вклад гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы в его реализацию / А. И. Богданов, Н. И. Ярушкина // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2006. — Т. 141, № 2. — С. 144—146.
  15. Бойчук Т. М. Фізіологічні аспекти впливу йодиду цезію на організм залежно від функціонального стану шишкоподібного тіла : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / Т. М. Бойчук. — Львів, 1994. — 23 с.
  16. Бойчук Т. М. Хроноритмологічні аспекти патогенної дії на організм малих доз важких металів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук / Т. М. Бойчук. — К., 1999. — 32 с.
  17. Бондаренко Л. О. Значення взаємодії факторів внутрішнього і зовнішнього середовища в регуляції функціональної активності пінеальної залози :

- автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук / Л. О. Бондаренко. — К., 2003. — 34 с.
18. Бродський В. Я. Околочасовые биологические ритмы / В. Я. Бродський // Хронобиология и хрономедицина : под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Раппорта. — М. : Триада — X, 2000. — С. 91—101.
19. Вандер А. Физиология почек / А. Вандер : [пер. с англ.]. — СПб. : Питер, 2000. — 256 с.
20. Ведяев Ф. П. Стресс и организм / Ф. П. Ведяев // Вестн. РАМН. — 1992. — N 5. — С. 17—20.
21. Влияние избегаемого и неизбежного стресса на уровни катехоламинов в надпочечниках и кортикостерона в плазме крови у молодых и старых крыс / Е. Бажанова, Д. Жуков, С. Порта [и др.] // Эволюция, биохимия и физиология. — 2002. — Т. 38, № 2. — С. 181—184.
22. Влияние мелатонина и эпیتالона на антиоксидантну систему крыс зависит от светового режима / И. А. Виноградова, В. А. Илюха, Т. Н. Ильина [и др.]. // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2006. — № 3. С. 22—26.
23. Влияние пептидных биорегуляторов и мелатонина на показатели биологического возраста и продолжительность жизни у мышей / В. Н. Анисимов, В. Х. Хавинсон, Н. Ю. Заварзина [и др.] // Успехи геронтол. — 2000. — №4. — С. 88—96.
24. Влияние пептидов пинеальной железы на нейроэндокринные взаимосвязи после пинеалэктомии // Архив патол. — 2001. — Т. 63, №3. — С. 18—21.
25. Водно-солевой обмен и функция почек в космических полетах и наземных модельных экспериментах / Б. В. Моруков, В. Б. Носков, И. М. Ларина [и др.] // Рос. физиол. ж. — 2003. — Т. 89, № 2. — С. 146—153.
26. Вплив L-аргініну і блокатора синтази оксиду азоту N<sup>w</sup>-нітро-<sup>b</sup>-аргініну на вміст катехоламінів у крові щурів за умов стресу / Н. Кургалюк, Т. Ми-

- шуніна, Т. Серебровська [та ін.] // *Ендокринологія*. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 73—76.
27. Гавришева Н. А. Экспериментальная модель хронической почечной недостаточности / Н. А. Гавришева, О. Д. Ягмуров, А. В. Ботина, В. Л. Эммануэль // *Нефрология*. — 2001. — Т. 5, № 2. — С. 75—79.
28. Грицюк М. І. Вплив мелатоніну на функціональний стан нирок за умов дії іммобілізаційного стресу на тлі інтоксикації солями алюмінію та свинцю / М. І. Грицюк // *Бук. мед. вісн.* — 2006. — Т. 10, № 4. — С. 32—35.
29. Гуралюк В. М. Вплив фотоперіоду на циркадіанні ритми секреції кортикостерону в стресованих щурів / В. М. Гуралюк // *Бук. мед. вісник*. — 2006. — Т. 10, № 4. — С. 38—41.
30. Гуревич К. Г. Индивидуальные особенности реакции катехоламинергической системы на стресс / К. Г. Гуревич // *Нейрохимия*. — 2002. — Т. 19, № 2. — С. 93—97.
31. Гуцаленко О. А. Особенности суточного ритма электролитуреза при сахарном диабете / О. А. Гуцаленко, П. П. Бачинский // *Матер. VII Всесоюз. конф. по физиологии почек и водно-солевого обмена*. — Чернигов, 1987. — С. 67.
32. Денисова М. Ф., Мягка Н. М. Сучасні уявлення про систему захисту слизової оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки та її роль у патогенезі хронічних гастродуоденальних хвороб у дітей / М. Ф. Денисова, Н. М. Мягка // *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. — 2000. — № 1. — С. 54—58.
33. Жилина О. А. Секреторная реакция желудка на эмоциональный стресс у лиц с различными психологическими характеристиками личности : автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. биол. наук / О. А. Жилина Тюмен. гос. ун-т. — Тюмень, 2002. — 24 с.

- 34.Заморский И. И. Функциональная организация фотопериодической системы головного мозга / И. И. Заморский, В. П. Пишак // Успехи физиологических наук. — 2003. — Т. 34, № 4. — С. 37—53.
- 35.Замощина Т. А. Влияние мелатонина на особенности ритмической организации суточной динамики содержания катионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  в крови, мозге и моче крыс в период летнего солнцестояния / Т. А. Замощина, Х. Шрейм, Е. В. Иванова // Микроэлементы в медицине. — 2004. — Т. 5, № 4. — С. 57—61.
- 36.Захарчук О. І. Геронтологічні аспекти впливу шишкоподібного тіла на хроноритми імуноструктурного гомеостазу / О. І. Захарчук // Бук. мед. вісник. — 2002. — Т. 6, № 3—4. — С. 158—163.
- 37.Зезюлин П. Н. Геропротекторное действие эпиталона на эндокринную и иммунную системы крыс : автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. мед. наук / Ин-т бирегуляції и геронтології СЗО РАМН / П. Н. Зезюлин. — СПб, 2003. — 19 с.
- 38.Изменение нейроэндокринной регуляции приспособительного поведения крыс после стресса в позднем пренатальном онтогенезе / В. Г. Шаляпина, И. Н.Зайченко, Н. Э. Ордян [и др.] // Рос. физиол. ж. —2001. — Т. 87, № 9. — С. 1193—1201.
- 39.Изучение суточных вариаций содержания мелатонина в слюне и иммунокомпетентных клеток в крови у здоровых людей / Г. И. Литвиненко, А. В. Шурлыгина, О. А. Малышева [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2002. — Т. 133, № 5. — С. 578—571.
- 40.Исследование роли простагландина  $\text{E}_2$  в регуляции мочеотделения при хронической почечной недостаточности и ночном энурезе / Б А. Е.оголепова, А. А. Кузнецова , Б. А. Лукичев [и др.] // Нефрология. — 2001. — Т. 5, № 2. — С. 44—49.

41. Камскова Ю. Г. Изменение антиоксидантного статуса и уровня ПОЛ в крови и печени в динамике 30-суточной гипокинезии / Ю. Г. Камскова // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2001. — Т. 131, № 10. — С. 387—389.
42. Кветной И. М. Экстрапинеальный мелатонин: место и роль в нейроэндокринной регуляции гомеостаза / И. М. Кветной, Н. Т. Райхлин, В. В. Южаков, И. Э. Ингель // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 1999. — Т. 127, № 4. — С. 364—370.
43. Комаров Ф. И. Мелатонин и биоритмы организма // Хронобиология и хрономедицина / Ф. И. Комаров, Н. К. Малиновская., С. И. Рапопорт. — М. : Триада — X, 2000. — С. 82-90.
44. Комаров Ф. И. Хронобиология и хрономедицина / Ф. И. Комаров, С. И. Рапопорт. — М. : Триада-X, 2000. — 488с.
45. Копылова Г. В. Влияние фотопериодов на ультраструктуру пинеалоцитов мышцей разного возраста: выявление мелатонина / Г. В. Копылова, И. Ф. Лабунец // Пробл. старения и долголетия. — 2004. — Т. 13, № 4. — С. 486—493.
46. Коррекция пептидами эпифиза нарушений суточных биоритмов секреции мелатонина и тимического сывороточного фактора у практически здоровых людей пожилого возраста / О. В. Коркушко, Г. М. Бутенко, И. Ф. Лабунец [и др.] // Пробл. старения и долголетия. — 2006. — Т. 15, № 1. — С. 23—25.
47. Кримкевич Е. И. Хронобиологические исследования в урологии и нефрологии / Е. И. Кримкевич, Н. Я. Мельман, Л. А. Пыриг // Врачебное дело. — 1987. — №3. — С. 80—84.
48. Курумшиева А. Ш. Биологические ритмы парциальных функций почек при хроническом гломерулонефрите в динамике развития почечной недостаточности : автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. мед. наук / А. Ш. Курумшиева. — Л., 1985. — 16 с.

49. Лемко О. І. Роль циркадіанних ритмів в адаптаційних реакціях організму та розвитку патології / О. І. Лемко, М. М. Сливканич, І. І. Лемко, В. М. Турлик // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту, серія "Медицина". — 2002. — Вип. 17. — С. 91—97.
50. Логвинов С. В. Ультраструктура пинеалоцитів у крыс при впливі світла та радіації / С. В. Логвинов, А. В. Герасимов, В. П. Костюченко. — Морфологія. — 2004, № 1. — С. 71—75.
51. Ломакіна Ю. В. Вплив іммобілізаційного стресу на функціональний стан нирок за умов нормального функціонування шишкоподібної залози / Ю. В. Ломакіна, М. І. Грицюк // Молодь та поступ біології : III Міжнар. конф. студ. та аспір. 23-27 квітня 2007 р. : тези доп. — Львів, 2005. — С. 462-463.
52. Ломакіна Ю. В. Вплив мелатоніну на показники про- та антиоксидантного стану крові старих щурів за зміненого фотоперіоду та іммобілізаційного стресу / Ю. В. Ломакіна // Бук. мед. вісник. — 2007. — Т. 11, № 4. — С. 108—110.
53. 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 // Акт. пробл. сучасної медицини. — 2007. — Т. 7, № 20. — С. 263—266.
54. Ломакіна Ю. В. Особливості впливу іммобілізаційного стресу на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу у старих щурів за умов гіперфункції шишкоподібної залози / Ю. В. Ломакіна, Н. М. Шумко, Н. В. Черновська // Акт. проблеми сучасної медицини. — 2007. — Т. 7, № 4. — С. 306—307.
55. 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 : матер. наук.-

- практ. конф. 2—3 листопада 2007 р. : тези доп. — Рівне, 2007. — С. 95—96.
56. 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.
57. Ломакіна Ю. В. Порівняльна характеристика коригувальної дії мелатоніну та епіталону на морфологічно змінні 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.
58. 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 ім. І. Я. Горбачевського, 2008. — С. 77—79.
59. Ломакіна Ю. В. Стрес-індуковані зміни екскреторної функції нирок у старих щурів за умов гіпофункції епіфіза мозку / Ю. В. Ломакіна, В. П. Пішак, В. Г. Висоцька, Н. М. Шумко // Розвиток наукової думки – 2008 : матер. Всеукр. наук.-практ. конф. 10 жовт. 2008 р. : тези доп. — Миколаїв, 2008. — С. 61-63.
60. Ломакіна Ю. В. Хроноритмічні перебудови екскреторної функції нирок старих щурів за поєднаного 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 : матер. наук.-практ. конф. 6—7 листопада 2008 р. : тези доп. — Тернопіль : Терноп. держ. мед. ун-т ім. І. Я. Горбачевського, 2008. — С. 133.
61. Максимович А. А. Структура и функции пинеальной железы позвоночных / А. А. Максимович // Эволюция биохим. и физиол. — 2002. — Т. 38,

- № 1. — С. 3—13.
62. Малиновская Н. К. Мелатонин: вчера, сегодня, завтра / Н. К. Малиновская // Клиническая медицина. — 2002. — № 6. — С. 71—73.
63. Малиновская Н. К. Роль мелатонина в организме человека / Н. К. Малиновская // Клиническая медицина. — 1998. — № 10. — С. 15—22.
64. Малышев В. В. Взаимосвязь воспаления и стресса — общебиологическая закономерность, определяющая принцип оптимизации воспалительного процесса / В. В. Малышев, Л. С. Васильева, В. В. Кузьменко // Успехи совр. биологии. — 1997. — Т. 117, вып. 4. — С. 405—419.
65. Меерсон Ф. З. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова. — М. : Медицина, 1988. — 253 с.
66. Мелатонин и биоритмы организма / Ф. И. Комаров, Н. К. Малиновская, С. И. Рапопорт // Хронобиология и хрономедицина : под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта. — М. : Триада-Х, 2000. — С. 82—90.
67. Мещишен І. Ф. Мелатонін: обмін та механізм дії / І. Ф. Мещишен, В. П. Пішак, І. І. Заморський // Бук. мед. вісник. — 2001. — Т. 5, № 2. — С. 3—15.
68. Недзвецкий В. С. Влияние постоянного освещения и мелатонина на белок глиальных промежуточных филаментов в различных отделах головного мозга шуров / В. С. Недзвецкий, П. О. Неруш. — Медицинская химия. — 2004. — Т. 6, № 1. — С. 27—31.
69. Нейрохимические особенности развития стресс-реакции у шуров в условиях изменения функционального состояния гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы / В. Кононенко, О. Калиниченко, Т. Мишуніна [та ін.] // Ж. Акад. мед. наук України. — 2002. — Т. 8, № 1. — С. 164—170.
70. Никула Т. Д. Диагностика гломерулонефрита та хронічної ниркової недостатності / Т. Д. Никула. — К. : “Задруга”, 2000. — 128 с.



- 71.Оськина И. П., Плюснина И. З., Сысолетина Л. Ю. Влияние отбора по поведению на гипофизарно-надпочечниковую функцию серых крыс *Rattus norvegicus* в постнатальном онтогенезе / И. П. Оськина, И. З. Плюснина, Л. Ю. Сысолетина // Ж. эвол. биохим. и физиол. — 2000. — Т. 36, № 2. — С. 120—126.
- 72.Павлов А. С. Физиологические механизмы гомеостатического обеспечения человека при стрессе / А. С. Павлов // Физиол. человека. — 2001. — Т. 27, № 1. — С. 65—73.
- 73.Патин Е. Л., Вайдо А. И, Кустова А. И. и др. Однонитевые разрывы ДНК в отдельных клетках мозга различных линий крыс в норме и при стрессорном воздействии / Е. Л. Патин, А. И. Вайдо, А. И. Кустова [и др.] // Цитология. — 2001. — Т. 43, № 3. — С. 269—273.
- 74.Переокисление и стресс / В. А. Барабой, И. И. Брехман, В. Г. Голотин [и др.]. — М. : Наука, 1992. —148 с.
- 75.С. С. Влияние мелатонина на состояние тимуса, надпочечников и селезенки у крыс при острой стрессорной нагрузке / С. С. Перцов // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2006. — Т. 141, № 3. — С. 63—65.
- 76.Перцов С. С. ПОЛ в головном мозге и печени крыс при острой стрессорной нагрузке и введении мелатонина / С. С. Перцов, Г. В. Пирогова // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2004. — Т. 138, № 7. — С. 19—23.
- 77.Петришен О. І. Функціональна спроможність морфологічно змінених нирок за умов порушеного добового ритму / О. І. Петришен // Бук. мед. вісник. — 2006. — Т. 10, № 4. — С. 126—129.
- 78.Петрунь Н. М. Дисхронизация функциональной деятельности почек в эволюции гломерулонефрита : матер. II Всесоюз. съезда нефрологов / Н. М. Петрунь, Е. И. Кримкевич, Л. А. Мигаль. — Баку, 1980. — С.48—49.

79. Пишак В. П. Влияние эпифизэктомии на деятельность почек // Клини. Патологическая физиология почек и водно-солевого обмена / В. П. Пишак, М. Ф. Горобец. — М., 1979. — С. 35—36.
80. Пишак В. П. Сезонные ритмы функции почек эпифизэктомизированных крыс в постнатальном периоде / Временная организация чувствительности организма к биологически и экологически активным веществам : матер. Всесоюз. конф. / В. П. Пишак. — Свердловск, 1991. — С. 34—35.
81. Пишак В. П. Участие эпифиза в регуляции почечных функций у позвоночных : матер. XIV съезда Всесоюз. физиол. об-ва / В. П. Пишак. — Л., 1983. — С. 310.
82. Пишак В. П. Функциональные связи эпифиза и почек у позвоночных : автореф. дисс. на соискание уч. степени докт. мед. наук: спец. 14.00.17 / В. П. Пишак. — К., 1985. — 33 с.
83. Пишак В. П. Хронобиологические особенности функции почек в условиях Т<sub>4</sub>- и Т<sub>3</sub>-гипертиреоза / В. П. Пишак, С. И. Доломатов, О. В. Клыков, И. М. Черевко // Авиакосм. и экол. мед. — 2000. — №1. — С. 53 — 56.
84. Пількевич Л. І. Вплив стресу на активність 5'-нуклеотидази та аденозиндезамінази в мозку і надниркових залозах щурів за умов пригнічення функції гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи / Л. І. Пількевич, В. Л. Кононенко // Ж. Акад. мед. наук України. — 2001. — Т. 7, № 2. — С. 352—358.
85. Пишак В. П. Клиническая анатомия шишкоподобного тела / В. П. Пишак. — Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. — 160 с.
86. Пишак В. П. Механизмы участия шишкоподобной железы в обеспечении циркадианной ритмичности физиологических функций / В. П. Пишак, Р. Є. Булик // Бук. мед. вісник. — 2006. — Т. 10, № 4. — С. 5—8.

87. Пішак В. П. Ренальні ефекти мелатоніну в інтактних і епіфізектомованих щурів / В. П. Пішак, Г. І. Кокощук // Фізіол. журн. — 1995. — Т. 41, № 5—6. — С. 23—26.
88. Пішак В. П. Тиреоїдний гомеостаз в умовах стресу на фоні введення мелатоніну / В. П. Пішак, А. А. Ходоровська // Бук. мед. вісник. — 2004. — Т. 8, № 4. — С. 104—108.
89. Пішак В. П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / В. П. Пішак. — Чернівці: Медакадемія, 2003. — 152 с.
90. Пішак В. П. Шишкоподібне тіло у нижчих хребетних / В. П. Пішак. — Чернівці: Медакадемія, 2002. — 126 с.
91. Пішак В. П. Шишкоподібне тіло: місце і роль у хроноритмологічній організації фізіологічних функцій / В. П. Пішак // Бук. мед. вісник. — 2002. — Т. 6, № 3—4. — С. 4—6.
92. Пішак В. П., Бойчук Т. М. Нові визначення ранньої діагностики порушень функцій нирок при дії на організм малих доз важких металів / В. П. Пішак, Т. М. Бойчук // Фізіол. журн. — 2002. — Т. 48, № 4. — С. 111—112.
93. Пішак В. П. 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 нар-ня Н. М. Шінкермана 21—22 трав. 2007 р. : тези доп. — Чернівці : Бук. держ. мед. ун-т, 2007. — С. 143—145.
94. Пішак В. П. Структурная организация и окислительная модификация белков пинеалоцитов старых крыс в зависимости от длительности фотопериода / В. П. Пишак, Ю. В. Ломакина, М. И. Грицюк // Адаптационная физиология и качество жизни: проблемы традиционной и инновационной медицины : междунар. симпоз., посвящ. 80-летию акад. РАМН Н. А. Агад-

- жання на 14—16 мая 2008 г. : тезиси докл. — М. : Рос. ун-т дружбы народов, 2008. — С. 1—
95. Пішак В. П. Гістологічні та ультраструктурні критерії ефективності корекції мелатоніном та епіталоном 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.
96. Пішак В. П. 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.
97. Пішак В. П., Ломакіна Ю. В. Спосіб корекції епіталоном показників про— та антиоксидантного стану крові при експериментальному моделюванні іммобілізаційного стресу у старих щурів на фоні зміненого фотоперіоду // Деклараційний патент на корисну модель UA (України) №35208, А61К31/00. Заявка №u200813568 від 21.03.2008 р. Видано — Бюл. №6 від 10.09.2008 р.
98. Пішак В.П., Ломакіна Ю.В., Висоцька В.Г., Булик Р.Є. Застосування епіталону як препарату для корекції змін про- та антиоксидантного захисту при стресі в експерименті // Деклараційний патент на корисну модель UA (України) №34455, А61К31/00. Заявка №u2008 03519 від 19.03.2008 р. Видано — Бюл. №6 від 11.08.2008 р.
99. Пішак В.П., Дікал М.В., Висоцька В.Г., Магальяс В.М., Ломакіна Ю.В. Спосіб біохімічної діагностики тубуло-інтерстиційного компонента // Деклараційний патент на корисну модель України UA №17321 МПК (2006) А61В 10/00. Бюл. №9 від 15.09.2006. Заявка № u 2006 03722 від 05.04.2006р.
100. Подвигина Т. Т. Закономерности реагирования гипофизарно-адренкортикальной системы на повторные стрессорные раздражители / Т. Т. Подвигина // Усп. физиол. наук . — 1998. — Т. 5, № 1. — С. 11—23.

101. Половые особенности кардиоваскулярной стресс-реактивности и их механизмы / Т. Г. Анищенко, Н. Б. Игошева, Л. Н. Шорина [и др.] // Докл. РАЕН. — 2000. — №2. — С. 23—29.
102. Попучиев В. В. Ультраструктура пинеальной железы: последствия глоблучения и модификация структурных повреждений / В. В. Попучиев, Н. Д. Яковлева // Радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность : IV Съезд по радиационным исследованиям, 20—24 нояб., 2001 г. : тезисы докл. — М., 2001. — С. 483.
103. Постстрессорные состояния и коммуникативные нарушения иммунитета и крови / Б. П. Суринов, Н. А. Карпова, В. Г. Исаева [и др.] // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2000. — №4. — С. 9 — 11.
104. Пулик О. Р. Актуальні питання хрономедицини / О. Р.Пулик, Р. О. Пулик // Наук. вісн. Ужгородського ун-ту, серія “Медицина”. — 2001. — Вип. 16. — С. 70—73.
105. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М. Г. Пшенникова // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2000. — №2. — С. 24—31.
106. Пыриг Л. А. Хронобиологические аспекты нефрологии / Л. А. Пыриг, Н. Я. Мельман, Е. И. Кримкевич // Хронобиология и : под ред. Ф. И. Комарова. — М. : Медицина, 1989. — С. 294—308.
107. Рапопорт С. И. К проблеме сезонных обострений заболеваний внутренних органов / С. И. Рапопорт, Н. К. Малиновская // Хронобиология и хрономедицина : под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта. — М. : Триада-Х, 2000. — С. 230 — 239.
108. Рендаков Н. А.. Влияние возраста, различных режимов освещения, мелатонина и эпиталона / Н. А. Рендаков, Н. Н. Тютюнник, И. А. Виноградова // Успехи геронтологии. — 2006. — Вып. 19. — С. 72 — 78.

109. Репаративное действие эпиталона на ультраструктуру пинеальной железы облученных крыс / В. Х. Хавинсон, Н. Д. Яковлева, В. В. Попучиев [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2001. — Т. 131, № 1. — С. 98—103.
110. Романов Ю. А. От хронобиологии к хронотопобиологии / Ю. А. Романов // Вест. РАМН. — 2000. — № 8. — С. 8—11.
111. Романов Ю. А. Пространственно-временная организация клеточных систем в норме и патологии / Ю. А. Романов, В. В. Маркина, Т. В. Савченко // Вестник АМН СССР. — 1990. — №2. — С. 27—34.
112. Рябов С. И. Функциональная нефрология / С. И. Рябов, Ю. В. Наточин. — СПб: Лань. — 1997. — С. 5—77, 131—147.
113. Селье Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. — М. : Прогресс, 1979. — 123 с.
114. Сергутина А. В. Пластичность мозга животных, различных по отношению к стрессу / А. В. Сергутина // Новое в изучение пластичности мозга : тезисы докл. — М., 2000. — С. 82.
115. Серцевий ритм у студентів з різними індивідуально-типологічними властивостями вищої нервової діяльності за умов емоційного стресу / М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб, Л. І. Юхименко // Фізіол. журн. — 2003. — Т. 49, № 1. — С. 28—33.
116. Слепушкин В. Д. Роль эпифиза в патогенезе нарушений водно-солевого обмена при травмах, шоке и охлаждении : автореф. дис. на соискание уч. степени докт. мед. наук : 14. 00. 16 / В. Д. Слепушкин. — Томск. гос. мед. ин-т. — Томск, 1981. — 30 с.
117. Слепушкин В. Д., Эпифиз и адаптация организма / В. Д. Слепушкин, В. Г. Пашинский. — Томск : изд-во Томск. ун-та, 1982. — 211 с.
118. Сомова Е. В. Хронобиологические аспекты антиоксидантного действия мелатонина у старых крыс / Е. В. Сомова, Ф. А. Колодуб, Л. А. Бондаренко // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2001. — Т. 132, № 9. — С. 320—323.

119. Специфические характеристики здоровых добровольцев с различной реакцией на эмоциональный стресс / Б. А. Бадыштов, Н. В. Колотилинская, А. Л. Махнычева и др. // Физиол. человека. — 2002. — Т. 28, № 2. — С. 55—62.
120. Степанчук В. В. Порухення місячних хроноритмів ниркового транспорту іонів натрію за умов гіперфункції шишкоподібної залози та сулемової інтоксикації організму / В. В. Степанчук // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. — 2005. — № 1. — С. 15—18.
121. Структурно-функциональная организация нейронов коры большого мозга у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу при воздействии пептида, вызывающего дельта-сон / Н. Н. Боголепов, Э. Н. Попова, Коплик Е. В. [и др.] // Морфология. — 2003. — Т. 123, № 2. — С. 15—19.
122. Ткачук О. В. Особливості реагування в-ендорфінергічної системи мозку на тимічні пептиди в самців із пренатальним стрес-синдромом / О. В. Ткачук // Бук. мед. вісник. — 2003. — Т. 7, № 1—2. — С. 147—149.
123. Ткачук С. С. Механізми ГАМК-ергічної регуляції рівнів в-ендорфіну в структурах гіпоталамуса пренатально стресованих самців щурів / С. С. Ткачук, В. П. Пішак, В. Ф. Мислицький // Физиол. ж. — 2000. — Т. 2, № 3. — С. 109 — 115.
124. Ткачук С. С. Нейроендокринні та біохімічні механізми порушень стрес — лімітуючої та стрес-реалізуючої систем мозку у щурів з синдромом пренатального стресу : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: 14. 03. 04 / С. С, Ткачук. — К., 2000. — 35 с.
125. Ткачук С. С. Нейроендокринні та біохімічні механізми порушень стрес — лімітуючої та стрес-реалізуючої систем мозку у щурів із синдромом пренатального стресу / С. С. Ткачук // К. : Ін-т фізіол. ім. О. О. Богомольця, 2000. — 44 с.

126. Ткачук С. С. Нейропептидні та ендокринні механізми участі мелатоніну в стрес-реактивності самців із синдромом пренатального стресу / С. С. Ткачук, В. П. Пішак, В. Ф. Мислицький // Бук. мед. вісник. — 2002. — Т. 6., № 3—4. — С. 193—195.
127. Ткачук С. С. Порушення серотонінергічних механізмів мозку — одна з патогенетичних ланок синдрому пренатального стресу / С. С. Ткачук // Клін. та експерим. патол. — 2002. — Т. 1, № 1. — С. 2—5.
128. Фізіологічні механізми впливу мелатоніну як гепатопротектора за умов стрес-індукованих уражень / О. С. Заячківська, О. М. Гаврилук, І. О. Нектегаєв [та ін.] // Вісник наукових досліджень. — 2006. — № 3. — С. 101—105.
129. Хавинсон В. Х. Влияние тетрапептида эпифиза на состояние антиоксидантной защиты у *Drosophila Melanogaster* / В. Х. Хавинсон, С. В. Мыльников // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2000. — Т. 129, № 4. — С. 420—422.
130. Хавинсон В. Х. Влияние эпигаллона на возрастную динамику ПОЛ у *Drosophila Melanogaster* / В. Х. Хавинсон, С. В. Мыльников // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2000. — Т. 130, № 11. — С. 585—588.
131. Хавинсон В. Х. Генетические механизмы действия пептидных геропротекторов / В. Х. Хавинсон, В. В. Малинин // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2005. — Т. 137, № 2. — С. 73—75.
132. Хавинсон В. Х., Голубев А. Г. Старение эпифиза // Успехи геронтол. — 2002, № 9. — С. 67 — 72.
133. Характеристика основных параметров гормональной функции коры надпочечников и ее модификация в онтогенезе крыс / В. Г. Шаляпина, Я. А. Бедров, Н. Э. Ордян [и др.] // Ж. эволюц. биохим. и физиол. — 2001. — Т. 2, № 5. — С. 131—135.



134. Хлебородова Т. М. Как клетки защищаются от стресса? / Т. М. Хлебородова // Генетика. — 2002. — Т. 38, № 4. — С. 437—452.
135. Ховряков А. В. Морфофункциональные изменения некоторых отделов головного мозга при экспериментальном неврозе, обусловленном хроническим стрессом : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук / Ховряков А. В. — Мордов. гос. ун-т : Саранск, 2002. — 23 с.
136. Хронобиология и хрономедицина : под ред Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта. — М. : Триада-Х, 2000. — 488 с.
137. Хронобиология и хрономедицина : под ред. Ф. И. Комарова. — М. : Медицина, 1989. — 400 с.
138. Черкасова О. П. Одновременное исследование содержания кортикостерона и 11-дегидрокортикостерона в надпочечниках и плазме крови при остром стрессе / О. П. Черкасова, В. И. Федоров // Пробл. эндокринологии. — 2001. — Т. 47, № 1. — С. 37—39.
139. Черновська Н. В. Особливості хроноритмічних змін функцій нирок за умов гіперфункції шишкоподібної залози / Н. В. Черновська, Н. М. Шумко, Ю. М. Вепрюк, Ю. В. Ломакіна // Бук. мед. вісник. — 2006. — Т. 10, № 4. — С. 196—200.
140. Шатило В. Б. Комплексний вплив Віта-мелатоніну на покращення сну та стресову стійкість серцево-судинної системи у людей похилого віку / В. Б. Шатило // Ліки України. — 2004. — № 2. — С. 61—63.
141. Шахов В. П. Дрейфующий каскадоподобный медленно развивающийся механизм адаптации при действии на организм экстремальных факторов / В. П. Шахов // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1996. — Т. 121, № 5. — С. 571—574.
142. Шумко Н. М. Вплив іммобілізаційного стресу на екскреторну функцію нирок на тлі гіперфункції шишкоподібної залози / Н. М. Шумко // Динаміка наукових досліджень, 2004 : матер. III Міжнар. наук.-практ. конф. :

- тези доп. — Дніпропетровськ, 21—30 червн. 2004 р. — Т. 59, мед. — С. 17—18.
143. Шумко Н. М. Роль шишкоподібної залози в регуляції хроноритмів діяльності нирок за умов іммобілізаційного стресу : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / Н. М. Шумко. — Тернопіль, 2004. — 19 с.
144. Шумко Н. М. Хроноритмічна характеристика функцій нирок за умов гіперфункції шишкоподібної залози / Н. М. Шумко // Бук. мед. вісник. — 2004. — Т. 8, № 4. — С. 122—126.
145. Шумко Н. М. Дія екзогенного мелатоніну на іонорегулювальну функцію нирок за умов іммобілізаційного стресу / Н. М. Шумко, В. М. Гуралюк, В. Г. Висоцька, Ю. В. Ломакіна // Хист. — 2006. — № 8. — С. 246.
146. Шустов С. Б. Хронобиологические аспекты эндокринологии / С. Б. Шустов, В. А. Яковлев, Ю. Ш. Халимов // Хронобиология и хрономедицина : под ред Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта. — М. : Триада-Х, 2000. — С. 356—377.
147. Эмирбеков Э. З. Влияние многократного холодого стресса на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему тканей / Э. З. Эмирбеков, С. П. Львова, А. Г. Гасанзаджиева // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1998. — Т. 125, № 4. — С. 385—387.
148. Ягмуров О. Д. Стресс и иммунная система / О. Д. Ягмуров. — Учен. зап. СПбГМУ. — 1999. — Т. 4. — С. 100—104.
149. Яковлев В. А. Биоритмы при гастродуоденальной патологии / В. А. Яковлев, П. А. Дулин // Тер. архив. — 1998. — № 3. — С. 152—156.
150. A biphasic regulation of receptor mRNA expressions for growth hormone, glucocorticoid and mineralocorticoid in the rat dentate gyrus during acute stress

- / T. Fujikawa, H. Soya, H. Fukuoka [et al.] // *Brain Res.* — 2000. — Vol. 874, N2. — P. 186—193.
151. Abraham D. Restoration of circadian rhythmicity in circadian clock-deficient mice in constant light / D. Abraham, R. Dallmann, S. Steinlechner // *J. Biol. Rhythms.* — 2006. — Vol. 21, N 3. — P. 169—176.
152. Acute mental stress elicits delayed increases in circulating inflammatory cytokine levels / A. Steptoe, G. Willemsen, N. Owen [et al.] // *Clin. Sci.* — 2001. — Vol. 101, N 2. — P. 185 — 193.
153. Akbulut K. G. The effects of melatonin on humoral immune responses of young and aged rats / K. Akbulut, B. Gonul, H. Akbulut // *Immunol. Invest.* — 2001. — Vol. 30, N 1. — P. 17—20.
154. Altered expression of circadian clock gene, *mPer1*, in mouse brain and kidney under morphine dependence and withdrawal / T. Lahti, S. Leppämäki, S.-M. Ojanen [et al.] // *Journal of Circadian Rhythms.* — 2006. — Vol. 4, N 1 — P. 1.
155. Are Involved in Glucose Homeostasis / R. D. Rudic, P. McNamara, A.-M. Curtis [et al.] // *PLoS Biology.* — 2004. — Vol. 2, N 11. — P. 377.
156. Arend J. Melatonin, circadian rhythms, and sleep / J. Arend // *New England J. of Med.* — 2000. — Vol. 343, N 15. — P. 1114—1116.
157. Arendt J. Melatonin and the mammalian pineal gland / J. Arendt. — Chpman&Hall. — 1995. — 321 p.
158. Associations by signatures and coherences between the human circulation and helio- and geomagnrtic activity / Y. Watanabe, G. Cornelissen, F. Halberg [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* — 2001. — Vol. 55, Suppl. 1. — P. 76—83.
159. Autoradiografiphic evidence of delta-opoid receptor downregulation after prenatal stress in offspring rat brain / S. M. Dolores, M. M. Victoria, A. I. Pazos [et al.] // *Pharmacology.* — 2000. — Vol. 60, N 1. — P. 13—18.
160. Banerjee B. D. Influence of stress on DDT-induced humoral immune res-

- ponsiveness in mice / B. D. Banerjee, B. C. Koner, A. Ray // *Environ. Res.* — 1997. — Vol. 1. — P. 43—47.
161. Beniashvili D. Sh. Ultrastructural organization of epiphysis in rats under action of electromagnetic fields and during mammary carcinogenesis / D. Sh. Beniashvili, D. I. Baazov // *Georg. Med. News.* — 2005. — N 10. — P. 61—64.
162. Benítez-King G. Melatonin as a cytoskeletal modulator: implications for cell physiology and disease / G. Benítez-King // *J. Pineal Res.* — 2006. — Vol. 40, N 1. — P. 1—9.
163. Bergiannaki J.-D. Seasonal pattern of melatonin excretion in humans: Relationship to daylength variation rate and geomagnetic field fluctuations / J.-D. Bergiannaki, T. J. Paparrigopoulos, C. N. Stefanis // *Experientia.* — 1996. — Vol. 52, N 3. — P. 253—258.
164. Bertuzzi M. Renal mechanisms involved in stress-induced antinatriuresis and antidiuresis in rats / M. Bertuzzi, N. Bensi, N. Mayer // *Arch. Physiol. Biochem.* — 2003. — Vol. 111, N 3. — P. 259—264.
165. Biological effects of power frequency magnetic fields: Neurochemical and toxicological changes in developing chick embryos / K. Lahiri, D. Vallone, S. Gondi [et al.] // *PLoS Biology.* — 2005. — Vol. 3, N 11. — P. 351.
166. BMAL1 and CLOCK, Two Essential Components of the Circadian Clock / P. Rajendra, H. Sujatha, D. Devendranath [et al.] // *BioMagnetic Research and Technology.* — 2004. — Vol. 2, N 1. — P.1.
167. Brodsky V. Y. Direct cell-cell communication: a new approach derived from recent data on the nature and self-organisation of ultradian (circadian) intracellular rhythms / V. Y. Brodsky // *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* — 2006. Vol. 81, N 1. — P. 143—162.

168. Cajochen C. Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep / C. Cajochen, K. Krauchi, A. Wirz-Justice // *J. Neuroendocrinol.* — 2003. — Vol. 15, N 4. — P. 432—437.
169. Charman W. N. Age, lens transmittance, and the possible effects of light on melatonin suppression / W. N. Charman // *Ophthalmic Physiol. Opt.* — 2003. — Vol. 23, N 2. — P. 181—187.
170. Chichinadze K. Stress and gametogenesis / K. Chichinadze // *Annals Biomed. Res. and Educ.* — 2001. — Vol. 1, N 2. — P. 88—92.
171. Circadian Clock mutation disrupt estrous cyclicity and maintenance of pregnancy / B. H. Miller, S. L. Olson, F. W. Turek [et al.] // *Curr. Biol.* — 2004. — Vol. 14, P. 1367 — 1373.
172. Circadian melatonin and young-to-old pineal grafting postpone aging and maintain juvenile conditions of reproductive functions in mice and rats / W. Pierpaoli, D. Bulian, A. Dall'Ara [et al.] // *Exp. Gerontol.* — 2001. — Vol. 32. — N4—5. — P. 587—602.
173. Circadian regulation of melatonin production / M. L. Pita, M. Hoyos, I. Martin-Lacave [et al.] // *J. Pineal Res.* — 2002. — Vol. 32, N 3. — P. 179—186.
174. Circadian rhythms in systemic hemodynamics and renal function in healthy subjects and patients with nephrotic syndrome / A. J. Voogel, M. G. Koopman, A. A. Hart [et al.] // *Kidney Int.* — 2001. — Vol. 59, N5. — P. 1873—1880.
175. Clock gene expression in the murine gastrointestinal tract: endogenous rhythmicity and effects of a feeding regimen / W. A. Hoogerwerf, H. L. Hellich, G. Cornilissen [et al.] // *Gastroenterology.* — 2007. — Vol. 133, N 4. — P. 1250—1260.
176. Cornwell A. Sleep biological rhythms in normal infants and those at high risk for SIDS / A. Cornwell, P. Feigenbaum // *Chronobiol. Int.* — 2006. — Vol. 23, N 5. — P. 935—961.

177. Csernus V. Biorhythms and pineal gland / V. Csernus, B. Mess // *Neuro Endocrinol. Lett.* — 2003. — Vol. 24, N 6. — P. 404—411.
178. Daily illumination exposure and melatonin: influence of ophthalmic dysfunction and sleep duration / G. Jean-Louis, D. Kripke, J. Elliott [et al.] // *Journal of Circadian Rhythms.* — 2005. — Vol. 3. — P. 124—137.
179. Dardente H. How many pieces to build a circadian clock? / H. Dardente, N. Cermakian // *Med. Sci. (Paris).* — 2005. — Vol. 21, N 1. — P. 66—72.
180. David R. W. The Suprachiasmatic Nucleus: A 25-Year Retrospective / R. W. David // *Journal of Biological Rhythms* — 1998. — Vol. 13, N 2. — P. 100—112.
181. De Kloet E. R. Hormones, brain and stress / E. R. De Kloet // *Endocr. Regul.* — 2003. — Vol. 37, N2. — P. 51—68.
182. Decreased MT1 melatonin receptor expression in the suprachiasmatic nucleus in aging and Alzheimer's disease / Y. H. Wu, J. N. Zhou, J. Van Heerikhuize [et al] // *Neurobiol. Aging.* — 2007. — Vol. 28, N 8. — P. 1239—1247.
183. Development of renal potassium excretion capacity in the neonatal rat / N. Anzai, Y. Suzuki, M. Nishikitani [et al.] // *Jap. J. Physiol.* — 2001. — Vol. 51, N 6. — P. 745—752.
184. Du J. Molecular mechanisms activating muscle protein degradation in chronic kidney disease and other catabolic conditions / J. Du, Z. Hu, W. Mitch // *Eur. J. Clin. Invest.* — 2005. — Vol. 35, N 3. — P. 157—163.
185. Duchon M. R. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology / M. R. Duchon // *Mol. Aspects Med.* — 2004. — Vol. 25, N 4. — P. 365—451.
186. Dutch monitor on stress and physical load: risk factors, consequences, and preventive action / L. Houtman, A. Goudswaard, S. Dhondt [et al.] // *Occup. Environ. Med.* — 1998. — Vol. 55, N 2. — P. 73—83.

187. Electrolyte and fluid secretion by cultured human inner medullary collecting duct cells / D. P. Wallace, M. Christensen, G. Reif [et al.] // *Am. J. Physiol.* — 2002. — Vol. 283, N 6. — P. F1337—F1350.
188. Evans P. Stress and the immune system / P. Evans, A. Clow, F. Hucklebridge // *Psychologist.* — 2001. — Vol. 7, N 3. — P. 303—307.
189. Fauvel J. P. Stress mental et systeme cardiovasculaire / J. P. Fauvel // *Ann. cardiol. et angiolog.* — 2002. — Vol. 51, N 2. — P. 76—80.
190. Further assessments of the relationship between jet lag and some of its symptoms / J. Waterhouse, A. Nevill, J. Finnegan [et al.] // *Chronobiol. Int.* — 2005, Vol. 22, N1. — P. 121 — 136.
191. General inhibition of renocortical cyclooxygenase-2 expression by the renin-angiotensin system / H. Castrop, J. Klar, C. Wagner [et al.] // *Am. J. Physiol.* — 2003. — Vol. 284, N 3. — P. F518—F524.
192. Givalois L. Concomitant changes in CRH mRNA levels in rat hippocampus and hypothalamus following immobilization stress / L. Givalois, S. Aranzibia, L. Tapia-Arancibia // *Mol. Brain Res.* — 2000. — Vol. 75, N 1. — P. 166 — 171.
193. Griffin E. Light-independent role of CRY1 and CRY2 in the mammalian circadian clock / E. Griffin, D. Staknis., C. Weitz // *Science.* — 1999. — Vol. 286, N 5440. — P. 768—771.
194. Guixiang F., Junyang W. Xian yike daxue xuebao (Связь между мелатонином и иммунорегуляторными клетками) / F. Guixiang, W. Junyang // *J. Xian Med. Univ.* — 2004. Vol. 23, N 1. — P. 8—12.
195. Guron G. Renal haemodynamics and function in weanling rats treated with enalapril from birth / G. Guron // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* — 2005. — Vol. 32, N10. — P. 865—870.

196. Hardeland R. Circadian rhythms, oxidative stress, and antioxidative defense mechanisms / R. Hardeland // *Chronobiol. Int.* 2003. — Vol. 20. — N 6. — P. 921—962.
197. Hardeland R. Melatonin / R. Hardeland, S. Pandi-Perumal, D. Cardinali // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2006 — Vol. 38, N 3. — P. 313—316.
198. Hardeland R. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: Actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug / R. Hardeland, S. Pandi-Perumal // *Nutrition & Metabolism.* — 2005. — Vol. 2. — P. 226—248.
199. Hastings M. Circadian clocks: regulators of endocrine and metabolic rhythms / M. Hastings, J. O'Neill, E. M. Maywood // *J. Endocrinol.* — 2007. — Vol. 195, N 2. — P. 187—198.
200. Hazlerigg D. G. What is the role of melatonin within the anterior pituitary? / D. G. Hazlerigg // *J. Endocrinol.* — 2001. — Vol. 170, N 2. — P. 493—501.
201. Herzog E. D. The mammalian circadian clock shop / E. D. Herzog, G. Tosini // *Semin. Cell Dev. Biol.* — 2001. — Vol. 12, N 4. — P. 295—303.
202. Honma K. Period and phase adjustments of human circadian rhythms in the real world / K. Honma, S. Hashimoto, M. Nakao, S. Honma // *J. Biol. Rhythms.* — 2003. — Vol. 18, N 3. — P. 261—270.
203. Human organic anion transporters and human organic cation transporters mediate renal transport of prostaglandins / H. Kimura, M. Takeda, S. Narikawa [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2002. — Vol. 301, N1. — P. 293 — 298.,
204. Hurd M. W. The significance of circadian organization for longevity in the golden hamster / M. W. Hurd, M. R. Ralph // *J. Biol. Rhythms.* — 1998. — Vol. 13, — P. 430—436.
205. Impaired circadian rhythm of melatonin secretion in sedated critically ill patients with severe sepsis / G. Mundigler, G. Delle-Karth, M. Koreny [et al.] // *Crit. Care. Med.* — 2002. — Vol. 30, N 3. — P. 536—540.



206. Influence of photoperiod and running wheel access on the entrainment of split circadian rhythms in hamsters / S. Rosenthal, M. Vakili, J. Evans [et al.] // *BMC Neuroscience*. — 2005. — Vol. 6, N 1. — P. 45—51.
207. Influence of photoperiod and running wheel access on the entrainment of split circadian rhythms in hamsters / X. Wang, Y. Wang, H. Xin [et al.] // *Journal of Circadian Rhythms*. — 2006. — Vol. 4, N 1. — P. 9.
208. Isobe Y. Melatonin inhibits Arg-vasopressin release via MT receptor in the suprachiasmatic nucleus-slice culture of rats / Y. Isobe, T. Torii, H. Nishino // *Brain Res*. — 2001. — Vol. 889, N 1. — P. 214—219.
209. Johnsson A. Rhythms, depressions and light / A. Johnsson, J. Moan // *Tidsskr. Nor. Laegeforen*. — 2006. — Vol. 126, N 8. — P. 1044 — 1047.
210. Khichinadze K. Stress and gametogenesis / K. Khichinadze // *Annals Biomed. Res. and Educ*. — 2001. — Vol. 1, N 2. — P. 88—92.
211. Koc M. The effect of melatonin on peripheral blood cells during total body irradiation in rats / M. Koc, M. Buyukokuroglu, T. Seyithan // *Biol. and Pharm. Bull*. — 2001. — Vol. 25, N 5. — P. 656—657.
212. Kume K. Molecular biology of biological clock-genetic regulation of circadian rhythm and sleep / K. Kume // *No To Hattatsu*. — 2006. — Vol. 38, N4. — P. 247—252.
213. Kus I. Light and electron microscopic examination of pineal gland in rats exposed to constant light and constant darkness / I. Kus, M. Sarsilmaz, O. Ozen // *Neuro Endocrinol. Lett*. — 2004. Vol. 25, N 1—2. — P. 102—108.
214. Lawson T. Inhibition of nighttime melatonin secretion in cattle. Threshold light intensity for dairy heifers / T. Lawson, A. Kennedy // *Can. J. Anim. Sci*. — 2001/ — Vol. 81, N 1. — P. 153—156.
215. Lemmer B. Circadian rhythms and clinical pharmacology / B. Lemmer // *Internist (Berl)*. — 2004. — Vol. 45, N 9. — P. 1006—1020.

216. Lewczuk B. Qualitative and quantitative studies on the ultrastructure of ovine pinealocytes during postnatal development / B. Lewczuk, B. Przybylska-Gornowicz, H. Brzostowski // *Neuro Endocrinol Lett.* — 2004. — Vol. 25, N 1. — 2. — P. 127 — 134.
217. Li J. Значение шишковидного тела и эффекты мелатонина в процессе старения *Shenyang yaoke daxue xuebao* / J. Li, F. Wang, F. Xu // *J. Shenyang Pharm. Univ.* — 2002. — Vol. 19, N 3. — P. 196—200.
218. Lincoln G. Temporal expression of seven clock genes in the suprachiasmatic nucleus and the pars tuberalis of the sheep: evidence for an internal coincidence timer / G. Lincoln, S. Messenger, H. Andersson, D. Hazlerigg // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 2002. — Vol. 99, N 21. — P. — 13890—13895.
219. Liu T. A computational model for functional mapping of genes that regulate intracellular circadian rhythms / T. Liu, X. Liu, Y. Chen, R. Wu // *Theoretical Biology and Medical Modelling.* — 2007. — Vol. 4, N 1. — P. 5.
220. Liu T. Free-running rhythms of pineal circadian output / T. Liu, J. Borjigin // *J. Biol. Rhythms.* — 2005. — Vol. 20, N 5. — P. 430—440.
221. 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.
222. Luyckx V. A. Acute renal failure associated with the use of traditional folk remedies in South Africa / V. A. Luyckx, V. Steenkamp, M. J. Stewart, F. R. Path // *Renal Failure.* — 2005. — Vol. 27, N 1. — P. 35—43.
223. Marek W. Chronobiology of the bronchial system / W. Marek // *Pneumologie.* — 1997. — Vol. 51, N 2. — P. 430—439.

224. mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop / K. Kume, M. Zylka, S. Sriram [et al.] // *Cell*. — 1999. — Vol. 98, N 2. — P. 193—205.
225. Mechanism of inhibition of small intestinal motility by restraint stress differs from that with norepinephrine treatment in rats / F. Tsukada, K. Sawamura, H. Kohno [et al.] // *Biol. and Pharm. Bull.* — 2002. — Vol. 25, N 1. — P. 122—124.
226. Melatonin receptors and their regulation: biochemical and structural mechanisms / P. A. Witt-Enderby, J. Bennett, M. J. Jarzynka [et al.] // *Life Sci.* — 2003. — Vol. 72, N 20. — P. 2183—2198.
227. Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a hypothesis / B. Poeggeler, R. Reiter, D. Tan [et al.] // *J. Pineal Res.* — 1993. — N 14. — P. 151—168.
228. Melatonin: potential utility for improving public health / J. Reiter, F. Gultekin, J. Flores [et al.] // *Taf Preventive Medicine Bulletin*. — 2006. — Vol. 5. — P. 131—158.
229. Menaker M. Circadian organization in the real world / M. Menaker // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 2006. — Vol. 103, N 9. — P. 3015—3016.
230. Mendoza J. Circadian clocks: setting time by food / J. Mendoza // *J. Neuroendocrinol.* — 2007. Vol. 19, N 2. — P. 127—137.
231. Minois N. Longevity and aging: Beneficial effects of exposure to mild stress / N. Minois // *Biogerontology*. — 2000. — Vol. 1, N 1. — P. 15—29.
232. Miyasako Y. Separate sets of cerebral clock neurons are responsible for light and temperature entrainment of *Drosophila* circadian locomotor rhythms / Y. Miyasako, Y. Umezaki, K. Tomioka // *J Biol Rhythms*. — 2007. — Vol. 22, N 2. — P. 115 — 126.

233. Molis T. M. Modulation of estrogen receptor mRNA expression by melatonin in MCF-7 human breast cancer cells / T. M. Molis, L. L. Spriggs, S. M. Hill // *Mol. Endocrinol.* — 1994. — Vol. 8, N 12. — P. 1681—1690.
234. Moller M. Peptidergic cells in the mammalian pineal gland / M. Moller // *Biol. Cell.* — 1997. — Vol. 89, N 9. — P. 561—567.
235. Morphometric parameters of the human pineal gland in relation to age, body weight and height / J. Golan, K. Torres, G. J. Stankiewicz // *Folia Morphol. (Warsz).* — 2002. — Vol. 6, N 12. — P. 111—113.
236. Natochin Y. V. Study of the role of prostaglandin E<sub>2</sub> in urine flow regulation in chronic renal failure / Y. V. Natochin, A. E. Bogolepova, A. A. Kuznetsova, E. I. Shakhmatova // *Scand. J. Urol. Nephrol.* — 2000. — Vol. 34, N 5. — P. 327—330.
237. Newport D. J. Neurobiology of posttraumatic stress disorders / D. J. Newport, C. B. Nemeroff // *Curr. Opin. Neurobiol.* — 2000. — Vol. 10. — P. 211—218.
238. Niebylski A. Renal excretion and saline intake during post-stress immobilization period in rats / A. Niebylski, M. Bertuzzi, T. Bensi // *Arch. Physiol. Biochem.* — 2000. — Vol. 874, N 2. — P. 268—274.
239. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice / F. W. Turek, C. Joshu, A. Koshaka [et al.] // *Science.* — 2005. — Vol. 308. — P. 1043—1045.
240. Ohdo S. Development of new chronopharmacotherapies based on biological rhythm / S. Ohdo // *Yakugaku Zasshi.* — 2002. — Vol. 122, N 12. — P. 1059—1080.
241. Paredes S. D. Altered circadian rhythms of corticosterone, melatonin, and phagocytic activity in response to stress in rats / S. D. Paredes, S. Sónchez, H. Parvez // *Neuro Endocrinol. Lett.* // 2007. — Vol. 11, N 4. — P. 176—179.

242. Periodically fluctuating protein kinases phosphorylate CLOCK, the putative target in the suprachiasmatic nucleus / K. Nagai, T. Tamaru, M. Okada [et al.] // *J. Neurochem.* — 1999. — Vol. 72, N 5. — P. 2191—2197.
243. Pevet P. The chronobiotic properties of melatonin / P. Pevet, B. Bothorel, H. Slotten // *Cell Tissue Res.* — 2002. — Vol. 309. — N1. — P. 183 — 191.
244. Pishak V. P. Comparison of renal functions indexes in the conditions of exogenous melatonin administration one hour before the immobilizing stress / V. P. Pishak, M. I. Grytsyuk, J. V. Lomakina // *Annales Universitatis Mariae Curie-Sclodowska.* — 2008. — Vol. XXI, № 2, 33. — P. 187-189.
245. Pkhakadze L. Electrocardiographic changed during the psychogenic stress in rats / L. Pkhakadze, N. Abashidze, T. Orjonikidze // *Bull. Georg. Acad. Sci.* — 2002. — Vol. 166, N 1. — P. 110—113.
246. Popa D. Homeostatic Regulation of Sleep in a Genetic Model of Depression in the Mouse: Effects of Muscarinic and 5-HT(1A) Receptor Activation / D. Popa, M. Yacoubi, J.-M. Vaugeois // *Neuropsychopharmacology.* — 2005. Vol. 9. — P. 162—169.
247. Price-Lloyd N. Synchronizing the *Neurospora crassa* circadian clock with the rhythmic environment / N. Price-Lloyd, M. Elvin, C. Heintzen // *Biochem. Soc. Trans.* — 2005. — Vol. 33, N 5. — P. 949—952.
248. Prusik M., Lewczuk B., Nowicki M. Histology and ultrastructure of the pineal organ in the domestic goose / M. Prusik, B. Lewczuk, M. Nowicki // *Histol Histopathol.* — 2006. — Vol. 21, N 10. — P. 1075—1090.
249. Ramirez-Rodriguez G. Melatonin increases stress fibers and focal adhesions in MDCK cells: participation of Rho-associated kinase and protein kinase C / G. Ramirez-Rodriguez, L. Ortiz-Lypez, G. Benitez-King // *J. Pineal Res.* 2007. — Vol. 42, N 2. — P. 180—190.

250. Rappaport N. Temperature regulates transcription in the zebrafish circadian clock / N. Rappaport, S. Winter, N. Barkai // *Theoretical Biology and Medical Modelling*. — 2005. — Vol. 2, N 1. — P. 22.
251. Reghunandanan V. Neurotransmitters of the suprachiasmatic nuclei / V. Reghunandanan, R. Reghunandanan // *Journal of Circadian Rhythms*. — 2006. — Vol. 4. — N 1. — P. 2.
252. Renal proximal tubule response to acid / K. Alpern, Y. Yamaji, M. Amemiya [et al.] // *News Physiol. Sci.* — 1995, 10 apr. — P. 77—81.
253. Review A. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress / A. Review // *J. Biomed. Sci.* — 2000. — Vol. 7, N 6. — P. 448—458.
254. Robert J. Photoentrainment in Mammals: A Role for Cryptochrome? / J. Robert, G. Russell // *Journal of Biological Rhythms*. — 1999. — Vol. 14, N 1. — P. 4—10.
255. Romero L. M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research / L. M. Romero // *Trends Ecol. Evol.* — 2004. — Vol. 19, N5. — P. 249—255.
256. Sahin E. Immobilization stress in rat tissues: alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system / E. Sahin, S. Gynalon // *Comp. Biochem. Physiol. Toxicol. Pharmacol.* — 2006. Vol. — 144, N 4. — P. 342—347.
257. Sahin E. Stress-dependent induction of protein oxidation, lipid peroxidation and anti-oxidants in peripheral tissues of rats: comparison of three stress models (immobilization, cold and immobilization-cold) / E. Sahin, S. Gimel // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* — 2007. — Vol. — 34, N5—6. — P. 425—431.
258. Sakamoto S. Melatonin regulates TSH accumulation in thyrotropes of the rat pars tuberalis (PT) / S. Sakamoto, K. Inoue, T. Sakai // *Zool. Sci.* — 1997. — Vol. 14. — Suppl. — P. 12.
259. Sands S. Effects of acute restraint stress on tyrosine hydroxylase mRNA

- expression in locus coeruleus of Wistar and Wistar-Kyoto rats / S. Sands, R. Strong, J. Corbitt, D. Morilak // *Mol. Brain Res.* — 2007. — Vol. 75, N 1. — P. 1—7.
260. Sensitivity of human circadian pacemaker to nocturnal light: Melatonin phase resetting and suppression / J. M. Zeitzer, D.-J. Dijk, R. E. Kronauer [et al.] // *J. Physiol.* — 2000. — N3. — P. 695—702.
261. Shaheen A. A. Effect of various stressors on the level of lipid peroxide, antioxidants and  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity in rat brain / A. A. Shaheen, A. A. Etfattah, M. Z. Gad // *Experientia.* — 2000. — Vol. 52, N 4. — P. 336—339.
262. Shearman L. P. Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock / L. P. Shearman, S. Sriram, D. R. Weaver // *Science.* — 2000. — Vol. 288, N 5468. — P. 1013—1019.
263. Shvets V. N. NADP pool state and activity of NADP — dependent dehydrogenases in the heart tissue of adult and old rats during immobilization stress / V. N. Shvets, V. V. Davydov // *Ukr. Biokhim. Zh.* — 2007. — Vol. 79, N2. — P. 50 — 54.
264. Sibarov D. A. Epitalon influences pineal secretion in stress-exposed rats in the daytime / D. A. Sibarov, R. I. Kovalenko, V. V. Malinin, V. K. Khavinson // *Neuro Endocrinol. Lett.* — 2002. — Vol. 23, N5 —6. — P. 452—454.
265. Sleep restriction alters the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress / P. Meerlo, M. Koehl, K. Borghot [et al.] // *J. Neuroendocrinol.* — 2002. — Vol. 14, N 5. — P. 397—402.
266. Sleep-inducing effects of low doses of melatonin ingested in the evening / I. Zdanova, R. I. Wurtman, H. J. Lynch [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 1995. — Vol. 57. — P. 552 — 558.

267. Suprachiasmatic control of melatonin synthesis in rats: inhibitory and stimulatory mechanisms / S. Perreau-Lenz, A. Kalsbeek, M. L. Garidou [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* — 2003. — Vol. 17, N 2. — P. 221—228.
268. Swaab D. F. The human pineal gland and melatonin in aging and Alzheimer's disease / D. F. Swaab, Y. H. Wu // *J. Pineal Res.* — 2005. — Vol. 38, N 3. — P. 145—152.
269. The circadian gene *Period2* plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo / L. Fu, H. Pelicano, J. Liu [et al.] // *Cell.* — 2002. — Vol. 111, — P. 41—50.
270. The ups and downs of biological timers / S. Rosenthal, M. Vakili, J. Evans [et al.] // *BMC Neuroscience.* — 2005. — Vol. 6, N 1. — P. 41.
271. Tomson C. R. / C. R. Tomson, P. J. Roderick // *Ann. Clin. Biochem.* — 2006. — Vol. 43, N 1. — P. 85—87.
272. Touitou Y. Human aging and melatonin. Clinical relevance // *Exp. Gerontol.* — 2001. — Vol. 36, N7. — P. 1083 — 1100.
273. Toussaint O. Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes / O. Toussaint, E. Medrano, T. Zglinicki // *Exp. Gerontology.* — 2000. — Vol. 35, N 8. — P. 927—945.
274. Trufakin V. A. The influence of experimental desynchronization on the morphofunctional characteristics of mouse immune system / V. A. Trufakin, A. V. Shurlygina, S. V. Michurina // *Alaska Med.* — 2006. — Vol. 49, N 2. — P. 169—176.
275. Tsigos C., Chrousos G. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress / C. Tsigos, G. Chrousos // *J. Psychosom. Res.* — 2002. — Vol. 53, N 4. — P. 865 — 871.



276. Urinary excretion of vasoactive substances in chronic renal failure / S. Cantaro, M. Milan, R. Marcon [et al.] // *Clin. Nephrol.* — 2001. — Vol. 55, N 5. — P. 393—399.
277. Vagal regulation of respiratory clocks in mice / H. Bando, T. Nishio, G. T. van der Horst [et al.] // *J. Neurosci.* — 2007. — Vol. 27, N 16. — P. 4359—4365.
278. Wang S. Traumatic stress and attachment / S. Wang // *Acta Physiol. Scand. Suppl.* — 1997. — Vol. 640. — P. 164—169.
279. Wang T. The effects of the potassium channel opener minoxidil on renal electrolytes transport in the loop of henle / T. Wang // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2003. — Vol. 304, N 2. — P. 833—840.
280. Weber P. Increase of free arachidonic acid by furosemide in man as the cause of prostaglandin and renin release / P. Weber, B. Scherer, C. Larsson // *Eur. J. Pharmacol.* — 1987. — Vol. 41. — P. 329—332.
281. Wehr T. A. Photoperiodism in humans and other primates: evidence and implications / T. A. Wehr // *J. Biol. Rhythms.* — 2001. — Vol. 16, N4. — P. 348 — 364.
282. Weissbluth L. Colic, sleep, interia, melatonin and circannyal rhythms / L. Weissbluth, M. Weissbluth // *Med. Hypotheses.* — 1992. — Vol. 38, N 3. — P. 224—228.
283. Weissbluth L. Sudden infant death syndrome: a genetically determined impaired maturation of the neuroendocrine system. A unifying hypothesis / L. Weissbluth, M. Weissbluth // *J. Theor. Biol.* — 1994. — Vol. 167, N 1. — P. 13 — 20.
284. Yehuda R. Biology of posttraumatic stress disorders / R. Yehuda // *J. Clin. Psychiatry.* — 2001. — N51. — P. 41—46.

285. Ying-Iui Ho. Individual response profiles of male Wistar rats in animal models for anxiety and depression / Ho Ying-Iui, J. Eichendorff, R. Schwarting // *Behav. Brain Res.* — 2002. — N 136. — P. 1—12.
286. Yoneyama S. Seasonal changes of human circadian rhythms in Antarctica / S. Yoneyama, S. Hashimoto, K. Honma // *Amer. J. Physiol.* — 1999. — N 4. — P. 1091—1097.
287. Yoshii T. Induction of *Drosophila* behavioral and molecular circadian rhythms by temperature steps in constant light / T. Yoshii, K. Fujii, K. Tomioka // *J. Biol. Rhythms.* — 2007. — Vol. 22, N 2. — P. 103—114.
288. Zhou X. J. The hypothalamic suprachiasmatic nucleus and pineal gland in the circadian rhythmic organization of mammals / X. J. Zhou, G. D. Yu, Q. Z. Yin // *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan.* — 2001. — Vol. 32, N 2. — P. 116—120.