

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

Мамотенко Алла Віталіївна

УДК 591.46-026.611

**НОВІ ПІДХОДИ ДО КОРЕКЦІЇ РОЗЛАДІВ АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЇ ТА
РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗМІН РЕЖИМУ
ОСВІТЛЕННЯ**

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис
Робота виконана в Харківському національному педагогічному університеті імені Г.С. Сковороди
Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, доцент,
професор кафедри анатомії і фізіології
людини імені д.мед.н., проф. Я.Р. Синельникова,
Комісова Тетяна Євгенівна,
Харківський національний педагогічний
університет імені Г.С. Сковороди

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Янчій Роман Іванович,
Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
завідувач Відділу імунофізіології

кандидат біологічних наук,
Сачинська Ольга Володимирівна
провідний науковий співробітник Відділу ендокринології
репродукції та адаптації ДУ “Інститут ендокринології та
обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України”

Захист дисертації відбудеться «21» вересня 2021 р. о 14.00 годині на засіданні спеціалізованої
вченої ради Д 26.198.01 при Інституті фізіології імені О.О. Богомольця НАН України за адресою:
01024, м. Київ, вул. акад. Богомольця, 4; тел. (044) 256-24-46

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН
України та на сайті інституту: http://biph.kiev.ua/en/Specialized_Scientific_Council

Автореферат розісланий «16» серпня 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук

О.П. Любанова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Відомо, що згідно ВООЗ безпліддя в світі коливається в широких межах, від 9 % до 29 % , а показник 15 % є демографічно небезпечним (Chakravarty V.N., 2001). В Україні частота безплідних шлюбів становить 15-17 % та має тенденцію до зростання (Іркіна Т.К., 2002; Павлова Л.П., 2002). На теперішній час у країні нараховується близько одного мільйона безплідних пар (Бондаренко В.О., 2017; Гаврилук А.М., 2012). Такий стан проблеми обумовлює необхідність проведення наукових досліджень, спрямованих на визначення факторів ризику виникнення порушень репродуктивної функції. Причини, що призводять до її пригнічення дуже різноманітні, до їх переліку входить і несприятлива екологічна ситуація, і погіршення соціальних умов, і стрес. Не останнє місце займає і проблема світлового забруднення – пролонгація світлової фази доби та скорочення часу перебування у темряві (Falchi F., 2018). Отже, з одного боку, в останні роки неухильно зростає число людей, які перебувають в нічні години в умовах штучного освітлення, а з іншого – спостерігається одночасне збільшення розповсюдженості ендокринних захворювань невстановленого генезу.

Слід зазначити, що світло є важливим регулятором біологічних ритмів організму взагалі та ендокринної системи зокрема. Існування циркадних та циркануальних ритмів окремих органів і систем є необхідною умовою їх нормального функціонування (Helm V., 2014). Органом, здатним перетворювати світлові сигнали у нейрогуморальні трансмітери є пінеальна залоза. Вона є нейроендокринною структурою мозку, яка реагує на фактори зовнішнього середовища та здатна перетворювати їх у гормональні сигнали, приводячи рівень регуляції функціонування багатьох органів і систем у відповідність до змін світлового режиму. Ця функція реалізується завдяки гормону мелатоніну, який здійснює циркадний контроль (González-Arto M., 2016; Bentley G.E., 2013). Втрата пінеальною залозою здатності синтезувати біологічно активні речовини призводить до розвитку гіпопінеалізму, та, як наслідок, до цілого ряду поліендокринопатій (Бондаренко Л.О., 2005). Ці захворювання пов'язані, насамперед, із пригніченням мелатонінутворюючої функції пінеальної залози та нівелюванням нічного піка мелатоніну (Coelho L.A., 2019; Nduhirabandi F., 2018). В нормі нічний пік мелатоніну формується лише за умов відсутності світла, освітлення в темну пору доби пригнічує його формування. Доведено, що цілодобове освітлення щурів протягом усього трьох тижнів викликає зміни біохімічних процесів у пінеалоцитах (Семененко С.Б., 2017; Бондаренко Л.О., 1991). Тривалий вплив (протягом декількох місяців) цілодобового освітлення призводить не тільки до порушення мелатонінутворюючої функції, а також до патологічних змін мікроструктури пінеальної залози (Бондаренко Л.О., 2005).

У науковій літературі є посилання на те, що на тлі порушення добових ритмів функціонування пінеальної залози відбуваються зміни гормональної активності ендокринних залоз, зокрема статевих (Pévet P., 2016; Li C., 2015; Wright M.I., 2000) та надниркових (Лабунець І.Ф., 2003, 2004), хоча і досі немає єдиної точки зору щодо характеру цих змін.

Останнім часом для корекції розладів репродуктивної системи за умов світлового десинхронозу, застосовується препарат мелатонін. Крім того, однією з його властивостей, яка в даний час широко досліджується, є антиоксидантний ефект, спрямований на захист ядерної ДНК, протеїнів і ліпідів статевих клітин (Gorman M.R., 2020; Abecia J.A., 2019; Li Y., 2019; Talpur H.S., 2018). У той же час, одним з найважливіших чинників метаболічних розладів на сьогодні є незбалансоване харчування, на тлі якого знижується імунітет, порушується обмін речовин, що в підсумку призводить до розвитку різних захворювань, в тому числі й ендокринного генезу. Введення в раціон додаткових біологічно активних добавок дозволяє враховувати фізіологічні потреби організму. Однією з таких ефективних біодобавок є синьо-зелена водорість *Spirulina platensis*. Результати досліджень, проведених за кордоном і в Україні, підтверджують її унікальні лікувально-профілактичні властивості, зокрема, антиоксидантну та адаптогенну (Шидловська, О.Б., 2018; Finamore A., 2017; Nawrocka D., 2017).

Отже, враховуючи наявність проблеми світлового забруднення, визначення особливостей змін, що відбуваються у адренокортикальній та репродуктивній системах на тлі порушених циркадних ритмів на сьогодні є своєчасним та актуальним. Також доцільним за цих умов є пошук та вивчення ефективності нових засобів корекції з метою розв'язання проблеми усунення або зменшення патологічного впливу на дані системи змін режиму освітлення.

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

Дисертаційна робота «Нові підходи до корекції розладів аденокортикальної та репродуктивної систем щурів за умов змін режиму освітлення» виконана в рамках наукової теми кафедри анатомії і фізіології людини імені д.мед.н., проф. Я.Р. Синельникова Харківського національного педагогічного університету імені Г.С. Сковороди «Вплив факторів середовища на організм в онтогенезі» (№ держреєстрації 0187.0228336) та в рамках комплексної НДР пріоритетного фінансування МОЗ України «Порушення в морфофункціональному стані інтегративних систем плода за умов материнського неблагополуччя» (№ держреєстрації 0102U0018.71).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є встановлення наслідків деструктивного впливу довготривалих змін режиму освітлення на аденокортикальну і репродуктивну системи щурів та пошук комплексних підходів щодо їхньої фармакологічної корекції.

Досягнення поставленої мети здійснювалося шляхом вирішення наступних **завдань**:

1. Визначити динаміку зміни рівня мелатоніну у плазмі крові щурів на тлі пролонгованого фотоперіоду.
2. Оцінити стан напруженості аденокортикальної системи за умов змін режиму освітлення.
3. Вивчити особливості поведінкових реакцій щурів при експериментальній зміні режиму освітлення.
4. Встановити наслідки впливу різних режимів освітлення на стан репродуктивної системи самців та самиць щурів.
5. Визначити ефективність фармакологічної корекції розладів репродуктивної системи щурів, що розвиваються на тлі зміненого фотоперіоду.

Об'єкт дослідження – функціональний стан аденокортикальної та репродуктивної систем самців та самиць щурів за умов зміни режиму освітлення.

Предмет дослідження – розлади у функціонуванні репродуктивних органів, надниркових залоз і зміни показників плазми крові щурів та їх комплексна фармакологічна корекція.

Методи дослідження: фізіологічні (визначення поведінкових реакцій тварин у тесті «відкрите поле» та абсолютної і відносної маси надниркових залоз, яєчників і сім'яників), цитологічні (дослідження вагінальних мазків у щурів); гістологічні (дослідження мікропрепаратів надниркових залоз); біохімічні (вміст фруктози у сім'яних пухирцях за методом Бокуняєвої та вміст мелатоніну, тестостерону, естрадіолу, кортикостерону і адреналіну в плазмі крові тварин), морфологічні (кількість, рухливість, патологічні форми сперматозоїдів); статистичний аналіз (згідно програми “Excel-7” (Microsoft office, США)).

Наукова новизна одержаних результатів. На експериментальній моделі інволютивних процесів у пінеальній залозі встановлено, що на тлі мелатонінової недостатності, індукованої тривалим освітленням, спостерігалася активація стрес-реалізуючих систем організму, провідною ланкою яких є надниркові залози.

Вперше показано, що виявлені морфофункціональні зміни знаходяться у відповідності з результатами аналізу основних поведінкових патернів у тварин, які утримувалися при зміні режиму освітлення. У самців спостерігалася пасивно-оборонна поведінка, у самиць – агресивно-домінантна. Вперше, на тлі зміненого фотоперіоду у щурів обох статей, яким вводили мелатонін та спіруліну, виявлено модулюючу дію останніх на рівень тривожності та агресивності, особливо самиць.

Вперше розроблено новий підхід щодо корекції та профілактики розладів репродуктивної та аденокортикальної систем, які розвиваються на тлі пролонгованого режиму освітлення, що може бути екстрапольований в клінічну практику. Вперше виявлений синергетичний позитивний ефект від комплексного застосування мелатоніну сумісно із спіруліною для корекції виявлених патологічних змін. Доведено, що їхнє сумісне використання суттєво посилювало дію мелатоніну: за цих умов морфофункціональний стан надниркових і статевих залоз нормалізувався більш ефективно. Експериментально доведено, що відпрацьовану у роботі схему їх профілактичного курсового введення, завдяки своїй безпечності та високому ступеню протективних ефектів, можна рекомендувати для застосування у групах ризику світлового десинхронозу.

Отримані результати дозволяють розширити наукові дані про провідну роль мелатоніну в регуляції взаємозв'язків між адренокортикальною та репродуктивною системами в умовах стресу світлового навантаження.

Практичне значення одержаних результатів. Наведені в роботі дані можна розглядати як експериментальне обґрунтування доцільності сумісного застосування мелатоніну та спіруліни для профілактики і корекції розладів в системі гонади–надниркові залози. Розроблена схема їхнього введення дає можливість поповнити арсенал ефективних нешкідливих засобів, для мінімізації розвитку означених розладів у людей, які знаходяться в умовах тривалого штучного освітлення.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес в ХНПУ ім. Г.С. Сковороди при викладанні навчальних дисциплін «Фізіологія людини і тварин», «Обмін речовин і гуморальна регуляція функцій та механізми стресу і адаптації» та «Фізіологія людини, фізичного виховання і спорту».

Особистий внесок здобувача. Авторкою самостійно проаналізовано наукову літературу, проведено експериментальні дослідження, визначено концентрації гормонів, аналіз та систематизацію результатів, статистичну обробку даних, обґрунтування висновків, а також написання дисертаційної роботи.

Схему дослідження розроблено під керівництвом к.б.н., проф. кафедри анатомії і фізіології людини імені Я.Р. Синельникова Т.Є. Комісової, також спільно з науковим керівником проведена інтерпретація отриманих результатів. Гістологічні дослідження виконано на базі кафедри патоморфології Харківського національного медичного університету за участю д.мед.н., проф. Г.І. Губіної-Вакулик. Дисертантка, разом з науковим керівником, брала участь у підготовці публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені на III Міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів: Молодь та поступ біології (Львів, 2007); II Міжнародній науково-практичній конференції «Гендер. Екологія. Здоров'я» (Харків, 2008); Міжнародній науково-практичній конференції «Зимові наукові читання», 1 частина (Київ, 2016); XXVIII Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка «Topical issues of new medicines development» (Харків, 2021); Всеукраїнській науково-практичній конференції: Перші читання, присвячені Д.О. Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології» (Харків, 2021) та I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 2021).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових робіт, з яких 6 статей у фахових виданнях, 1 стаття у інших виданнях та 6 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена на 167 сторінках машинописного тексту і включає: вступ, огляд літератури, розділ, в якому описані матеріали та методи досліджень, розділ власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, список використаних джерел, що містить 250 посилань. Робота ілюстрована 34 рисунками та 15 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність теми, визначено мету, об'єкт і предмет дослідження, відображено наукову новизну та практичну цінність, представлено відомості про апробацію результатів дисертації, наведено структуру наукової роботи.

Огляд літературних даних складається з 4 підрозділів, в яких наведено сучасні уявлення про вплив зміни режиму освітлення на морфофункціональну активність епіфізу та гіпомелатоніемії на функціональний стан організму, розглянуто роль пінеальної залози в регуляції гіпофізарно–надниркової системи та статевої функції.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено на 280 статевозрілих самцях та самицях щурів популяції Wistar з вихідною масою тіла 120-140 г та кінцевою 280-320 г. Репрезентативна вибірка була сформована методом випадкового відбору тварин з генеральної сукупності. Розподіл на експериментальні групи проведено рандомним методом.

Всі експериментальні процедури було виконано в літньо-осінній період, на тлі зменшення тривалості світлового дня (липень-жовтень). Щурів утримували в стандартних умовах віварію при природному та штучному освітленні.

Відповідно режимам освітлення щури утримувалися в окремих приміщеннях. Тварини знаходилися в стандартних клітках по 5 щурів у кожній при годуванні *ad libitum* та вільному доступі до води. Контрольну групу тварин утримували за умов природної зміни дня і ночі, тобто світлий період зменшувався з 16 годин до 11-ти. У тварин другої групи (12/12-група) тривалість світлої і темної фаз доби були однаковими за плинністю часу і становили 12 годин на добу. Тварин третьої групи (24/00-група) утримували в умовах постійного цілодобового освітлення (24 години на добу). Змінений фотоперіод для щурів другої і третьої груп моделювався шляхом застосування електричного освітлення, а саме – за рахунок використання ламп розжарення потужністю 100 Вт, які розміщувалися над клітками на відстані 0,5 м впродовж 3,5 місяців. Інтенсивність освітлення в клітках, яку вимірювали за допомогою люкметра «Ю-117», склала 40-50 люкс. Утримання щурів та експериментальні дослідження проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей», Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики.

За характером дії та інтенсивності освітлення на початку експерименту сформовано 7 груп та 14 підгруп по 20 особин у кожній:

1. **група К** – контроль, (підгрупи а – самці та б – самиці) – тварини якої знаходилися в умовах природного освітлення;
2. **група 12/12**, (підгрупи а – самці та б – самиці) – тварини знаходилися при штучному освітленні впродовж 12 годин на добу, з 6 години ранку до 18 години вечора протягом 3,5 міс.;
3. **група 24/00**, (підгрупи а – самці та б – самиці) – щури утримувалися при цілодобовому штучному освітленні впродовж 3,5 міс.;
4. **група 12/12+М**, (підгрупи а – самці та б – самиці) – тварини отримували у вечірній час препарат «Віта-мелатонін» (Київський вітамінний завод).
5. **група 12/12+М+С**, (підгрупи а – самці та б – самиці) – тваринам цієї групи на тлі зміненого фоторежиму вводили у ранковий час препарат спіруліни («Spirulina», Solgar, USA) та ввечері «Віта-мелатонін».
6. **група 24/00+М**, (підгрупи а – самці та б – самиці) – на тлі цілодобового освітлення тварини отримували у вечірній час препарат «Віта-мелатонін».
7. **група 24/00+М+С**, (підгрупи а – самці та б – самиці) – тваринам цієї групи на тлі зміненого фоторежиму вводили у ранковий час препарат спіруліни («Spirulina», Solgar USA) і ввечері «Віта-мелатонін».

Препарати вводили щурам внутрішньошлунково, за допомогою зонду, у 2 % розчині крохмалю. Спіруліну («Spirulina», Solgar USA) вводили тваринам щоденно, натщесерце, 1 раз на добу з 9 до 10 години ранку протягом усього експерименту у дозі 100 мг/кг м.т. «Віта-мелатонін» (виробництво Київського вітамінного заводу) вводили один раз на добу у дозі 0,15 мг/кг м.т., ввечері, з 19 до 20 год. курсами тривалістю 1 місяць, з тижневою перервою, усього 3 курси.

Виведення з експерименту контрольних і піддослідних тварин проводили відповідно до умов евтаназії, зазначених в методичних рекомендаціях МОЗ України та загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах, погодженими з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей». Евтаназію тварин здійснювали внутрішньочеревним введенням трикратної наркотичної дози етамінал-натрія. Самиць виводили з експерименту на стадії дієструсу. Для визначення абсолютної маси надниркових залоз, яєчників та сім'яників проводили зважування на аналітичних електронних вагах AXIS AN50 (ціна ділення – 0,0001г). У подальшому розраховувалася відносна маса даних залоз. Масу тіла щурів контролювали шляхом зважування тварин на настільних циферблатних вагах ВНЦ-2М (погрішність: ± 2 г).

Рівень гормонів у плазмі крові щурів визначали імуноферментним методом відповідно до інструкцій фірм-виробників: тестостерону (Т) за допомогою наборів «130202010M, Testosterone» (виробник «Snibe Co., Ltd», China); естрадіолу (E₂) – «DRG Estradiol ELISA» фірми DRG (USA);

кортикостерону – «ELISA Corticosterone DRG» (Germany); адреналіну – «Adrenaline ELISA Fast Track» (виробник «Labor Diagnostika Nord GmbH & Co, KG» (Germany); мелатоніну – «ELISA IBL» (Germany).

Для оцінки впливу наслідків зміни режиму освітлення на репродуктивну систему самців шурів вентральну частину передміхурової залози (ВПЗ); сім'яні пухирці (СП) виділяли та зважували, у суспензії придатків сім'яників за допомогою камери Горяєва оцінювали показники морфофункціонального стану сперматозоїдів (кількість, рухливість, патологічні форми) за методичними рекомендаціями МОЗ України (Бариліак І.Р. і ін., 2001). У СП визначали вміст фруктози за методом Бокуняєвої. У самиць оцінювали зміни естрального циклу за допомогою піхвових мазків за загальноприйнятою методикою (Котельников А.В., 2005; Кабак Я.М., 1968), вилучали та зважували яєчники. При дослідженні естрального циклу встановлювали його тривалість, при цьому враховували частоту зустрічі еструсу, тривалість тічкового та міжтічкового періодів.

Надниркові залози фіксували в 10-12 % охолодженому розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спиртах висхідної концентрації та заливали в парафінові блоки за звичайною схемою. Гістологічні зрізи товщиною 5-6 мкм фарбували гематоксиліном та еозином. У кожній групі тварин досліджували 25 гістологічних зрізів. Проводили вимірювання товщини зон кори надниркових залоз, площі мозкової речовини (окуляр-мікрометр АМ 9-2) та каріометрію ендокриноцитів (мікроскоп Axiostar (Zeiss) ФРН) на «екваторіальному» зрізі залози. Мікрофотографування проводили на мікроскопі «Olympus» (Японія). У кожному препараті методом випадкової вибірки оцінювали 10 полів зору. У обраних вибірках досліджували по 100 ядер.

Для дослідження поведінкових реакцій шурів, які утримувалися в умовах природного та зміненого режиму освітлення досліджували поведінку у тесті «відкрите поле» за загальноприйнятою методикою впродовж 3-х днів (Майоров О.Ю., 2011), в один і той же час доби за однакових умов освітлення і температури, за відсутності сторонніх запахів і шуму. У самиць оцінювали зміни поведінкових патерн на стадії діеструсу.

Отриманий цифровий матеріал обробляли математично методами параметричної та непараметричної статистики за допомогою програми «Excel-7» (Microsoft office, США). Перевірку на нормальний розподіл проводили з використанням критерію W Шапіро-Уїлка. Порівняння груп з нормальним розподілом ознак проводили з використанням критерію Стьюдента (t). Розходження вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

Вплив зміни світлового режиму на мелатонінутворюючу функцію епіфіза шурів. Проведено вибіркоче визначення вмісту мелатоніну в крові самців та самиць шурів за умов світлового десинхронізу. Показано, що штучне освітлення впродовж 12 годин призвело до гальмування мелатонінутворюючої функції епіфізу, спостерігалось статистично значиме зниження як денної, так і нічної концентрації гормону, а амплітуда між цими показниками зменшилася майже вдвічі у порівнянні з контролем (на 46 % у ♀ та 39 % у ♂, $p < 0,05$).

У шурів, що знаходилися при цілодобовому освітленні спостерігалось більш виразне пригнічення гормональної активності епіфізу. У тварин хоча і зберігалися ознаки пікової секреції гормону, проте нічний пік був практично нівельованим. Так, у тварин обох статей він статистично значимо зменшився більш ніж у 5 разів відносно контрольних шурів. При порівнянні показника амплітуди добового ритму мелатоніну показано, що у самців він знизився у 9,9 та 6,2 рази відносно контролю та групи 12/12, відповідно. У самиць спостерігалася подібна дія (зниження було ще більш значимим – відповідно у 12,8 та 6,9 рази). Слід зазначити, що таке зменшення амплітуди може вказувати на дещо більшу чутливість самиць до деструктивного впливу цілодобового освітлення.

Таким чином, отримані результати і їх аналіз дозволяють зробити висновок про розвиток у шурів, в умовах цілодобового тривалого освітлення, вираженої мелатонінової недостатності на тлі послабленого добового ритму, що узгоджується з даними інших дослідників (Пшиченко В.В., 2011; Гладкова А.І., 2008; Горпинченко І.І., 2005).

Стан надниркових залоз шурів за умов зміни фотоперіоду та при корекції. Результати досліджень показали, що у шурів які знаходилися при цілодобовому освітленні, а також самиць,

які знаходилися під дією дванадцятигодинного освітлення, відносна маса та товщина кори надниркових залоз статистично значимо зменшилася (табл. 1).

Таблиця 1

Морфометричні показники надниркових залоз щурів, які знаходилися при різних умовах освітлення ($M \pm m$, $n=20$)

Групи тварин	Відн. маса надир.залоз, мг/100 г м.т.		Загальна товщина кори, мкм		Площа мозкової речовини, $\times 10^3$ мкм ²	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1	2	3	4	5	6	7
К-група	13,25± 0,61	14,04± 0,85	760,4± 18,6	792,2± 16,2	2531,7± 117,9	2514,0± 135,5
12/12-група	11,22± 0,56*	10,49± 0,58*	731,8± 15,8	542,2± 13,1*	1992,2± 28,7*	2443,8± 95,9
% К-12/12	-16	-26	-4	-32	-22	-3
12/12+М-група	11,87± 1,08	12,06± 1,13	756,4± 21,3	644,2± 31,5*/**	2261,4± 108,8	2424,7± 102,5
% 12/12-12/12+М	+5	+15	3	+19	+13	-1
12/12+М+С- група	14,41± 0,64**	13,08± 0,81**	772,4± 19,6	712,8± 22,0*/**	2355,5± 102,4**	2505,0± 121,8
% 12/12-12/12+М+С	+28	25	+6	+31	+18	+2
24/00-група	7,35± 0,39*	9,80± 0,55*	681,2± 14,6*	521,5± 16,9*	1794,7± 130,3*	1820,6± 104,3*
% К-24/00	-45	-31	-12	-45	-30	-28
% 12/12-24/24	-35	-7	-7	-4	-10	-26
24/00+М- група	10,49± 0,56*/**	10,73± 1,05*	766,5± 20,7	757,6± 29,2**	2333,7± 148,8**	2384,9± 142,2**
% 24/24-24/24+М	+42	+9	+12	+45	+30	+30
24/00+М+С- група	12,94± 1,12**	12,91± 0,82**	758,8± 21,3	803,8± 34,6**	2441,6± 125,5**	2494,4± 160,3**
% 24/00-24/00+М+С	+76	+32	+11	+54	+36	+37

Примітка: * – вірогідна різниця у порівнянні з К-групою, при $p < 0,05$; ** – вірогідність змін відносно відповідного експериментального контролю, при $p < 0,05$

У процесі дослідження виявлено, що показник площі мозкової речовини у самців досяг статистично значимих відмінностей вже при зміні режиму освітлення 12/12. При цілодобовому освітленні зменшення площі мозкової речовини спостерігалось у тварин обох статей практично в рівній мірі (див. табл. 1). У самців 12/12- і 24/00-груп клітини мали світліші ядра і цитоплазму, спостерігалися явища каріолізу, які були більш виразні у тварин 24/00-групи. Вірогідне зменшення площі мозкової речовини у щурів 24/00-групи, ймовірно, може бути пов'язане зі зменшенням кількості клітин, що входять до її складу.

Зафіксовано статистично значиме зменшення відносної маси надниркових залоз (НЗ) як у самців так і у самиць 24/00+М-груп, порівняно з контрольними величинами (див. табл. 1). Слід зазначити, що статистично значиме зменшення загальної товщини кори НЗ виявлено тільки у самиць груп 12/12+М та 12/12+М+С (див. табл. 1). Загалом, моноведення препарату мелатоніну (М), як і сумісне його введення із спіруліною (С) призвело до певної нормалізації морфометричних показників надниркових залоз.

Також показано, що умови постійного освітлення призвели до напруження діяльності ендокриноцитів клубочкової і сітчастої зон у самців, та клубочкової і пучкової зон у самиць. Це свідчило про гіперпродукцію кортикостероїдів у тварин експериментальних груп у порівнянні з контролем та формування виснаженого стану залози (табл. 2). Слід зазначити, що ряд науковців (Pilorz V., Helfrich-Förster C., Oster H., 2018; Булик Р.Є., Пішак В.П., 2007; Jorsa R., Olah A., Cornelissen G. et al., 2005; Lin A.N., Paget S.A., 2002) у своїх дослідженнях також спостерігали підвищену активність зон кори НЗ у тварин, які знаходилися в умовах постійного освітлення.

Товщина зон кори надниркових залоз щурів, що знаходилися при різних умовах освітлення (M±m, n=20)

Групи тварин	Клубочкова зона, мкм		Пучкова зона, мкм		Сітчаста зона, мкм	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1	2	3	4	5	6	7
К-група	173,8± 11,3	106,2± 3,3	358,2± 14,3	399,2± 5,7	251,6± 11,0	266,2± 7,6
12/12-група	154,4± 1,9	96,4± 1,8*	290,6± 18,7 *	336,4± 5,2 *	300,4± 1,7 *	205,6± 9,8 *
% К-12/12	-12	-10	-19	-16	+19	-23
12/12+М-група	173,8± 11,3	101,5± 4,4	328,8± 11,3	349,2± 7,7*	284,6± 9,0*	236,6± 7,8*
% 12/12-12/12+М	+13	+5	+13	+4	-6	+15
12/12+М+С-група	180,1± 9,5 **	110,8± 3,7**	347,0± 19,3**	387,4± 10,1**	261,9± 16,2	254,7± 9,1**
% 12/12-12/12+М+С	+17	+16	+19	+15	-13	+23
24/00-група	141,1± 5,9 *	92,0± 2,2*	358,8± 9,5	425,2± 5,8*	205,8± 6,1 *	270,8± 11,4
% К-24/00	-19	-14	-	+6	-19	+1
% 12/12-24/24	-10	-5	+23	+26	-32	+31
24/00+М-група	166,9± 12,7	105,6± 4,2	339,2± 16,6	374,3± 8,7	248,5± 9,0**	249,2± 12,6
% 24/24-24/24+М	+8	+14	-6	-12	+35	-8
24/00+М+С-група	182,2± 8,3 **	108,6± 3,0 **	370,4± 11,8	380,8± 10,6	257,6± 11,0 **	270,0± 9,8
% 24/00-24/00+М+С	+18	+18	+3	-11	+25	-

Примітка: * – вірогідна різниця у порівнянні з К-групою, при $p < 0,05$; ** – вірогідність змін відносно відповідного експериментального контролю, при $p < 0,05$

Аналізуючи результати гістологічного і морфометричного дослідження кори надниркових залоз можна стверджувати, що рівний 12-годинний режим день/ніч у порівнянні з природним осіннім зменшенням дня викликав морфофункціональну активацію усіх зон. Цілодобове освітлення тварин протягом 3,5 місяців призвело до зростання напруженості функціональної активності НЗ, спостерігалася картина початкової морфофункціональної виснаженості зон кори надниркових залоз, що більшою мірою виражена у самців. Тобто, адренкортикальна функція самців виявилася більш уразливою до стресової дії світлового десинхронозу у порівнянні з самицями. Отримані результати узгоджуються з даними закордонних дослідників, у яких показано, що зміна освітлення призводить до експресії генів у надниркових залозах та первинних змін гормональної активності у корі (Ishida Atsushi, et al., 2005).

Застосування М – як самостійно та в комбінації з С – в рівній мірі м'яко корегувало негативні наслідки пролонгованого режиму освітлення. Патологічних відхилень з боку жодного проаналізованого показника не зареєстровано (див. табл. 2).

Оскільки самці виявилися більш чутливими до порушень світлового режиму, проведено вибірку каріометрію ендокриноцитів НЗ самців групи 24/00 у порівнянні з контролем.

При проведенні каріометрії виявлено зменшення об'єму ядер ендокриноцитів у сітчастій зоні щурів 24/00 групи, що вказувало на пригнічення їх функції (рис. 1). У пучковій зоні та у мозковій речовині тварин 24/00-групи у порівнянні з контролем спостерігалася характерне збільшення об'єму ядер ендокриноцитів на тлі зменшення запасів холестерину в цитоплазмі, що свідчило про стимуляцію її функціональної активності. Застосування мелатоніну та спіруліни незначною мірою впливало на площу ядер. Виявлені позитивні зміни, хоча і мали тенденцію до нормалізації, не досягли статистично значимих відмінностей, порівняно з контролем.

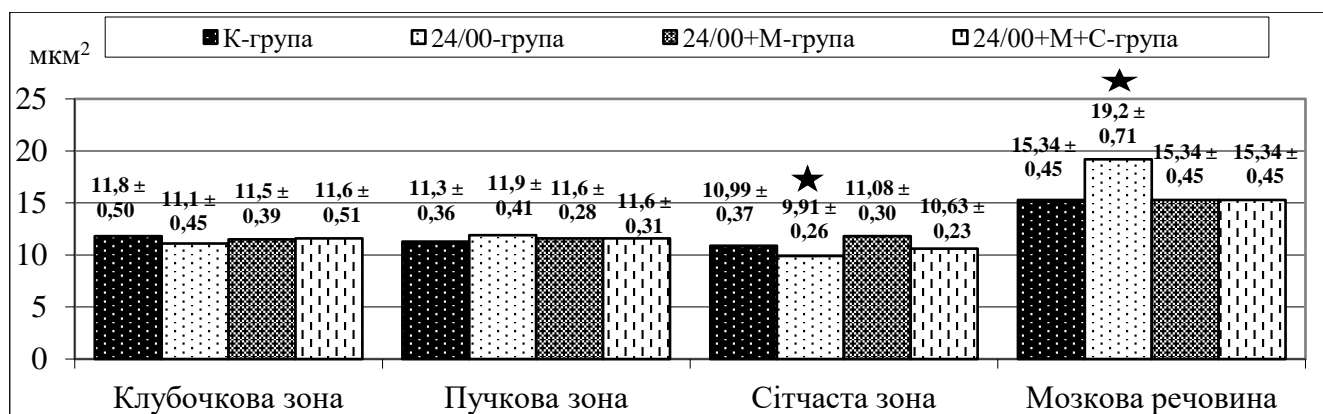


Рисунок 1. Площа ядер ендокриноцитів (мкм²) самців щурів за природного та цілодобового освітлення

Примітка: ★ – вірогідна різниця у порівнянні з контрольної групою, при $p < 0,05$

Проведені дослідження свідчать, що утримання тварин в умовах постійного освітлення призвело до стимуляції функціональної активності пучкової зони кори надниркових залоз і пригнічення діяльності ендокриноцитів клубочкової і сітчастої зон, що вказувало на гіперпродукцію кортикостероїдів і зниження утворення статевих гормонів НЗ у тварин 24/00-групи, у порівнянні з К-групою. Утримування щурів обох статей, особливо самців в умовах постійного освітлення протягом 3,5 місяців обумовило розвиток морфофункціональних явищ атрофування усіх зон кори і мозкової речовини як результат вичерпання компенсаторних можливостей.

Аналіз гормоноутворюючої активності надниркових залоз щурів при зміні режиму освітлення та корекції. Отримані результати щодо визначення рівня адреналіну та кортикостерону у плазмі крові, свідчать про негативний вплив зміни режиму освітлення на функціонування надниркових залоз щурів. У ході дослідження виявлено, що рівень адреналіну у плазмі крові самців статистично значимо зростає пропорційно ступеню світлового десинхронізу (рис. 2).

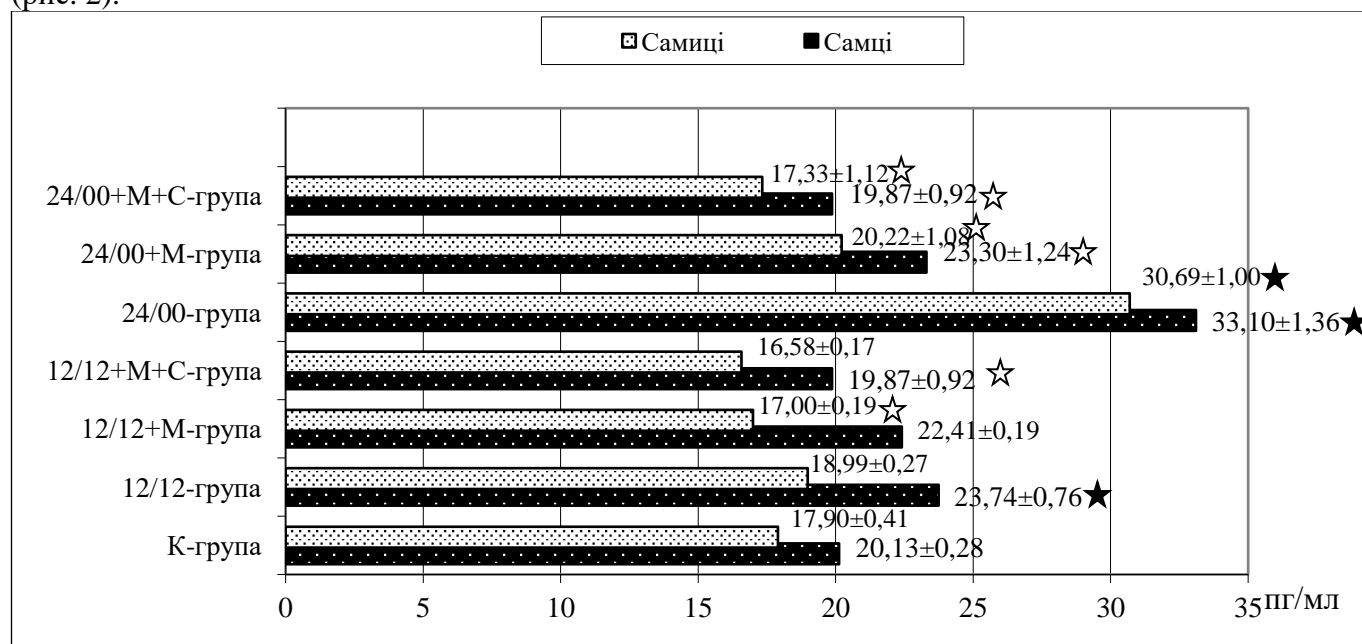


Рисунок 2. Рівень адреналіну (пг/мл) у плазмі крові у щурів в умовах природного та штучно подовженого фотоперіоду;

Примітка: ★ – вірогідна різниця у порівнянні з контрольною групою, ($p < 0,05$); ☆ – вірогідність змін відносно відповідного експериментального контролю, ($p < 0,05$)

У самиць всіх трьох груп, порівняно з самцями, спостерігався нижчий рівень адреналіну, особливо у контрольній та 12/12 групі (див. рис. 2). За результатами дослідження Гайдей О.С.

(2012), ймовірно на тлі встановлених змін структури НЗ, підвищений рівень адреналіну при довготривалому стресі (постійне освітлення) може призвести до «зношування» надниркових залоз і розвитку гострої надниркової недостатності та швидкого старіння організму.

При зміні фотоперіоду, рівень кортикостерону у плазмі крові статистично значимо зростає як у самців, так і у самиць (рис. 3).

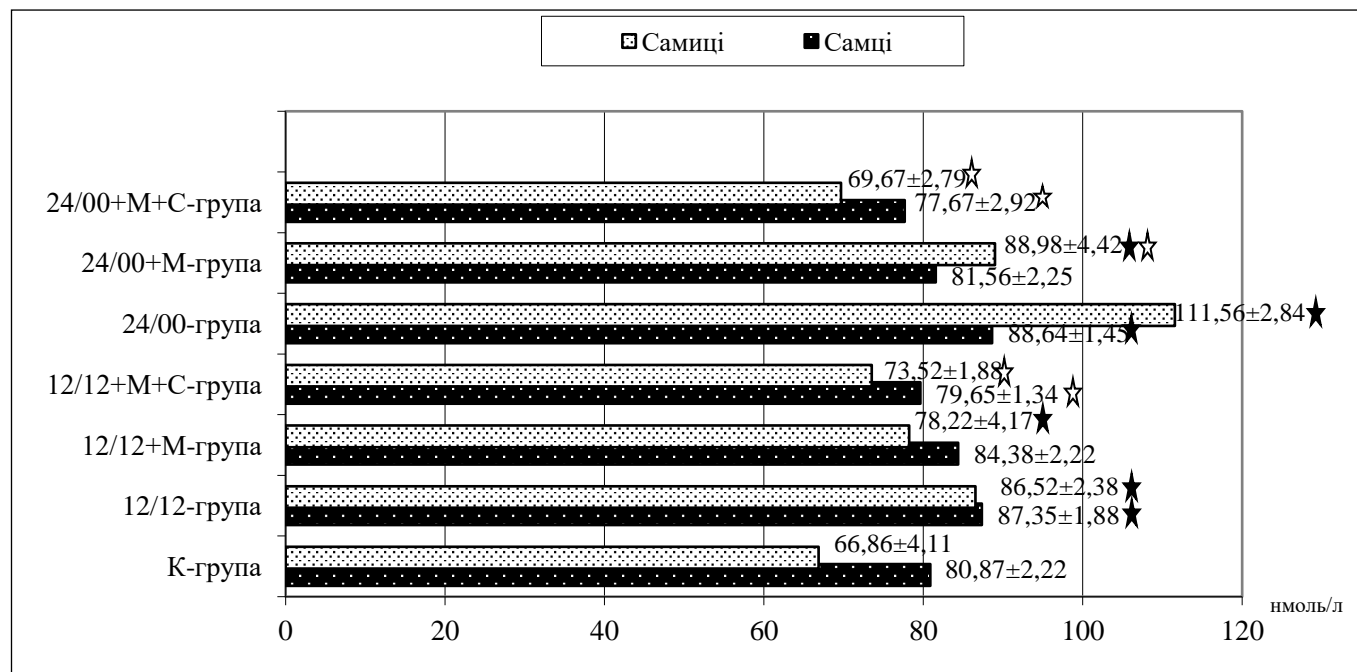


Рисунок 3. Рівень кортикостерону (нмоль/л) у плазмі крові у щурів в умовах природного та штучно подовженого фотоперіоду

Примітка: ★ – вірогідна різниця у порівнянні з контрольної групою, ($p < 0,05$); ☆ – вірогідність змін відносно відповідного експериментального контролю, ($p < 0,05$)

У самиць експериментальних груп спостерігалася більш виражена реакція пучкової зони НЗ: приріст рівня кортикостерону у плазмі крові самиць експериментальних груп порівняно з відповідними групами самців був статистично значимо вищим (див. рис. 3). Так, у порівнянні з самцями відповідних груп, у самиць групи 12/12 виявлено статистично значиме збільшення рівня кортикостерону на 22,7 % ($p < 0,05$), на тлі цілодобового освітлення – на 40,1 % ($p < 0,05$) (див. рис. 3). Тобто, самиці при зміні фотоперіоду, проявили більш гостру реакцію на стресовий чинник, порівняно з самцями. Імовірно, у самиць при порушенні фотоперіоду високий рівень кортикостерону на тлі виявлених мофоструктурних змін НЗ свідчить про виснаження синтетичної активності клітин кори надниркових залоз, в той час, як підвищений рівень у самців – про порушення мобілізаційних сил організму на протидію стресу і, як наслідок, дисбалансу гомеостазу та розвиток десинхронозу функцій залози.

Застосування мелатоніну в усіх групах щурів із зміненим фотоперіодом призвело до зниження концентрації обох стрес-гормонів НЗ (див. рис. 2 та рис. 3). У групах тварин 12/12 та 24/24 після моноведення мелатоніну спостерігалася зниження рівня як адреналіну, так і кортикостерону практично до контрольних величин. Ще більш ефективним виявилось сполучене введення щурам мелатоніну в комбінації зі спіруліною, тобто спостерігався синергетичний ефект.

Вплив зміни світлового режиму на поведінкові патерни самців та самиць щурів.

Встановлено, що підвищення рівня глюкокортикоїдів при стресі, зокрема – при світловому десинхронозі, призводить не тільки до зміни гомеостазу в цілому, а і до зміни поведінкових патерн. При аналізі поведінкових характеристик щурів у тесті «відкрите поле» з позиції статевого диморфізму виявлено, що середні величини горизонтальної рухової активності за всі дні експерименту у самиць досліджуваних груп були вищими у порівнянні з самцями (табл. 3).

Зміна основних поведінкових патерн, таких як локомоції та дефекації, у тварин, які утримувалися при зміні режиму освітлення, кардинально відрізняються у самиць і самців. Так, у самців кількість локомоцій до третього експериментального дня зростала, а дефекації –

знижувалася, у самиць – навпаки. Це відображалось на стратегії їхньої поведінки відносно до дії стресового фактора. Так, ймовірно високий рівень кортикостерону у самиць 24/00-групи спровокував появу у них агресивно-домінантної поведінки, як прояв адаптації до стресового чинника, що узгоджується з даними літератури (Neumann Inga D., Alexa H., Veenema and Daniela I. Beiderbeck, 2010).

Таблиця 3

Середні величини поведінкових характеристик щурів, які утримувалися при різних режимах освітлення з урахуванням статевого диморфізму ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин	Поведінкові показники											
	локомоція		перінг		грумінг		принюхування		урінація		дефекація	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
К-група	19,7± 2,20	31,8± 3,90**	3,6± 1,28	8,0± 1,51**	3,8± 0,17	2,2± 0,46**	38,6± 4,19	31,3± 1,45	0,8± 0,23	0,7± 0,06	2,9± 0,24	1,0± 0,33**
12/12-група	27,4± 4,06***	36,4± 3,21	5,9± 2,06	7,6± 1,41	3,3± 0,55	2,5± 0,40	43,0± 1,07	25,9± 1,36**	0,7± 0,13	0,6± 0,12	3,5± 0,70	0,6± 0,26***/**
24/00-група	18,8± 3,81	45,7 5,18***	3,2± 1,15	9,2± 1,26**	2,9± 0,20***	1,4± 0,29**/**	36,3± 1,54	32,6± 3,47	0,5± 0,13	0,5± 0,22	3,3± 0,90	0,8± 0,26**
12/12+М-група	22,1± 4,11	34,3± 2,11**	4,2± 1,16	8,4± 1,51**	3,6± 0,13	2,2± 0,34**	39,4± 2,77	29,7± 1,04**	0,8± 0,21	0,7± 0,11	3,3± 0,22	0,6± 0,27**
12/12+М+С-група	20,8± 3,22	31,4± 3,03**	3,9± 1,33	7,9± 0,66**	3,8± 0,25	2,3± 0,19**	37,2± 1,2**2	33,1± 1,21	0,9± 0,12	0,8± 0,16	3,0± 0,34	1,0± 0,16**
24/00+М-група	21,8± 3,47	35,2± 3,08**	3,7± 1,21	8,2± 1,20**	3,1± 0,18	2,0± 0,20**	34,3± 1,05	30,8± 2,52	0,7± 0,20	0,7± 0,22	3,0± 0,19	0,8± 0,10**
24/00+М+С-група	20,1± 1,91	30,5 1,46**	3,7± 2,12	7,8± 1,37**	4,0± 0,30	2,4± 0,27**	40,3± 2,25	30,1± 1,50**	0,8± 0,20	0,8± 0,12	2,8± 0,19	1,1± 0,14**

Примітка: * – вірогідна різниця у порівнянні з контрольної групою ($p < 0,05$); ** – значуща різниця у порівнянні з відповідним показником самців ($p < 0,05$); *** – тенденція до змін у порівнянні з контрольною групою ($0,05 < p < 0,1$);

При порівнянні поведінкових патерн у тварин, що утримувалися в режимі зміненого фотоперіоду та щурів, яких тримали за тих же умов та вводили мелатонін та спіруліну виявлено моделюючи дію останніх на рівень тривожності та агресивності піддослідних щурів, особливо самиць (див. табл. 3). Виявлено позитивний вплив як самостійного введення мелатоніну, так і його сумісного застосування із спіруліною, що нормалізує морфофункціональну структуру НЗ та їх гормональну стрес-активність.

Вплив профілактичного введення мелатоніну та спіруліни на морфофункціональні показники органів репродуктивної системи щурів за умов зміни режиму освітлення. У ході дослідження виявлено, що у самців, які перебували в умовах зміненого фотоперіоду, особливо групи 24/00, маса статевих органів була вірогідно нижчою, у порівнянні з контрольними тваринами на тлі незначного підвищення маси тіла (табл. 4). Виявлений гіпогонадізм, ймовірно обумовлений підтвердженням стресовим напруженням та мелатоніновою недостатністю. Отримані результати узгоджуються з літературними даними щодо гальмування функціональної активності статевих залоз індукованого тривалим освітленням (Гладкова А.І., 2008; Бондаренко Л.О., Сергієнко Л.Ю., Сотник Н.Н. и др., 2007; Бондаренко Л.О., Губіна-Вакулік Г.І., Чаговець О.М. та ін., 2004; Albarran M.T., et al., 2001).

Прояви деградаційних процесів статевих органів самців спостерігалися вже при пролонгації часу освітлення до 12 годин. У тварин групи 12/12 зниження ваги вентральної передміхурової залози (ВПЗ) порівняно з контрольними величинами склало 21 % ($p < 0,05$), сім'яних пухирців – 26 % ($p < 0,05$), придатків яєчка – 16 % ($p < 0,05$).

Вплив досліджуваних препаратів на відносну масу органів репродуктивної системи щурів-самців (M±m, n=20)

Групи тварин	Відносна маса органу			
	сім'яники, мг/100 г м.т.	вентральна частина передміхурової залози, мг/100 г м.т.	сім'яні пухирці, мг/100 г м.т.	придатки яєчок, мг/100 г м.т.
1	2	3	4	5
К-група	1243,3±33,0	219,6±24,7	560,8±38,2	451,7±22,4
12/12-група	1056,5±35,8*	175,9±23,1*	413,3±29,8*	382,8±13,1*
% К-12/12	-15	-21	-27	-16
12/12+М-група	1211,5±41,2**	190,3±9,2	486,5±29,2	414,9±34,2
% 12/12-12/12+М	+15	+8	+18	+9
12/12+М+С-група	1293,4±58,3**	202,2±9,1**	530,4±44,2**	431,0±18,9**
% 12/12-12/12+М+С	+22	+15	+28	+13
24/00-група	1017,8±49,8*	138,3±12,3*	400,3±25,8*	331,7±35,0*
% К-24/00	-19	-37	-29	-27
% 12/12-24/24	-4	-22	-3	-13
24/00+М-група	1265,2±82,6	198,1±13,1**	492,4±31,3	414,8±37,3
% 24/24-24/24+М	+24	+43	+23	+25
24/00+М+С-група	1303,4±51,6**	206,9±27,9**	523,4±33,5**	465,1±26,3**
% 24/00-24/00+М+С	+28	+50	+31	+40

Примітка: * – значуще відхилення показника відносно груп контролю, $p < 0,05$; ** – значуще відхилення показника відносно груп відповідного експериментального контролю, $p < 0,05$

У щурів, що знаходилися при цілодобовому освітленні деградаційні процеси пропорційно поглиблювалися. Зменшення відносної маси репродуктивних органів у самців при зміні режиму освітлення можна пояснити зниженням андрогенної насиченості організму тварин у стані гіпопінеалізму, що цілком узгоджується з літературними даними (Valenti S., Giusti M., 2002).

У щурів на тлі світлового десинхронозу при використанні лише препарату мелатоніну регресія ВПЖ, СП та придатків яєчка в порівнянні з контрольними тваринами в певній мірі збереглася. В той час у групах тварин при сумісному введенні М+С відновлення відносної маси всіх досліджуваних органів виявилось більш ефективним.

У процесі дослідження відмічено взаємну пропорційність змін кількості та рухливості сперматозоїдів як в групі 12/12, так і в групі 24/00 (рис. 4), що, ймовірно, пов'язано зі зниженням рівня тестостерону в крові та фруктози у СП тварин, які знаходилися при штучному освітленні. Так, 12-годинне освітлення призводить до статистично значимого зниження рівня фруктози у сім'яних пухирцях на 24 % ($p < 0,05$). Цілодобове освітлення викликало ще більш значущі відхилення цього показника на 49 % ($p < 0,05$) від контрольних величин.

Після введення тільки М в обох групах щурів, що знаходилися за умов штучного освітлення, відбулася нормалізація кількості сперматозоїдів, проте в групі 12/12+М їх кількість не досягла показників контролю. Вірогідно збільшувався й відсоток рухливих сперматозоїдів (див. рис. 4). Застосування мелатоніну значною мірою запобігало і зниженню рівня фруктози у сім'яних пухирцях (її вміст зростав відповідно на 26 % та 36 % у групах 12/12+М та 24/00+М ($p < 0,05$)).

Сумісне застосування М та С було більш ефективним. Особливо виразна позитивна дія такого комплексу спостерігалася у групі 24/00. Так, пропорційно зростанню вмісту фруктози у СП (+ 57 %) підвищувалися і показники кількості та рухливості сперматозоїдів (відповідно на 60 % та 53%, $p < 0,05$) (див. рис. 4).

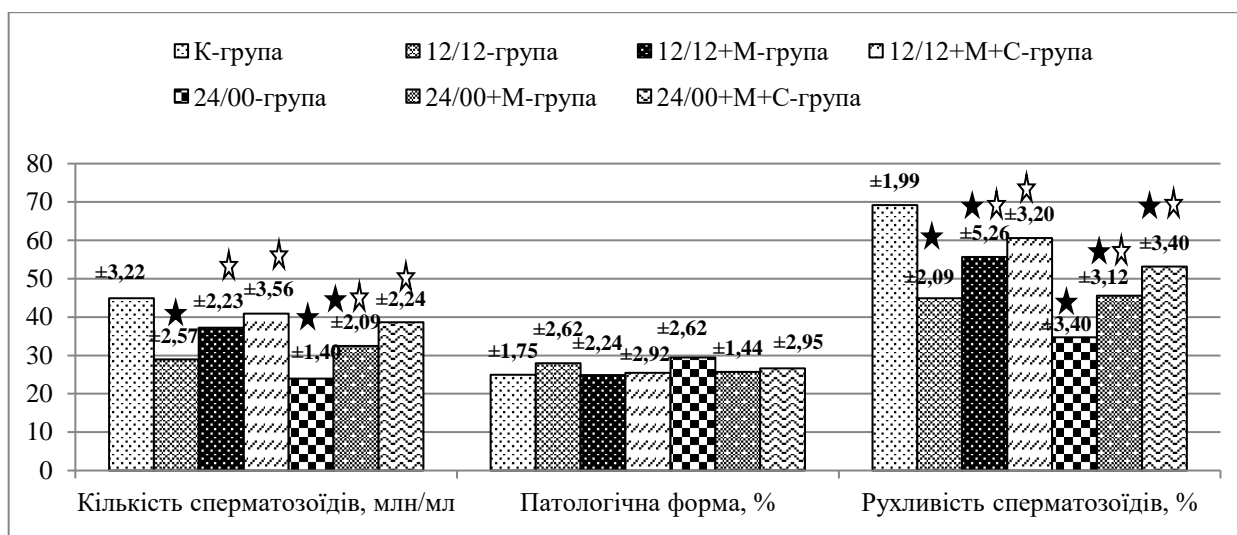


Рисунок 4. Вплив мелатоніну та спіруліни на морфофункціональні показники сперматозоїдів у щурів на тлі світлового десинхронізу

Примітка: ★ – вірогідна різниця у порівнянні з контрольної групою, ($p < 0,05$); ☆ – вірогідність змін відносно відповідного експериментального контролю, ($p < 0,05$)

Для оцінки ефективності профілактичного впливу М та С на репродуктивну систему самиць проведено аналіз показників відносної маси яєчників та естрального циклу. Встановлено статистично значиме зниження маси яєчників у щурів на тлі зміненого режиму освітлення на 26% у групі 12/12 та на 32% у групі 24/00 відносно контрольних тварин ($p < 0,05$). Отже, більша пролонгація часу освітлення негативно впливала на репродуктивну систему самиць. На тлі корекції С+М відмічена нормалізація маси яєчників в усіх експериментальних групах самиць.

Тривалість і фазова структура естрального циклу у тварин контрольної групи, що утримувалися в умовах природного освітлення, впродовж експериментального періоду практично не змінювалася. У тварин 12/12-групи та 24/00 спостерігалось статистично значиме збільшення тривалості естрального циклу за рахунок зростання стадії тічки, що включала еструс та проеструс, і міжтічкової фази у порівнянні з вихідними даними (табл. 5).

Таблиця 5

Показники естрального циклу самиць, які утримувалися в умовах природного та штучно зміненого освітлення ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи тварин	Тривалість циклу, дні	Тривалість тічкового періоду, дні	Тривалість міжтічкового періоду, дні
1	2	3	4
Вихідні дані	4,76±0,08	2,07±0,03	2,61±0,09
К-група	4,77±0,09	2,08±0,08	2,60±0,02
12/12-група	6,31±0,20 ^{^/*}	2,77±0,12 ^{^/*}	3,63±0,24 ^{^/*}
% К-12/12	+32	+33	40
12/12+М-група	5,15±0,11 ^{**}	2,33±0,09 ^{**}	3,00±0,11
% К-12/12+М	+8	+12	+15
% 12/12-12/12+М	-19	-16	-18
12/12+М+С-група	4,90±0,13 ^{**}	2,10±0,10 ^{**}	2,80±0,02 ^{**}
% К+12/12+М+С	+3	+1	+8
% 12/12-12/12+М+С	-23	-24	-23
24/00-група	8,77±0,41 ^{^/*}	3,07±0,11 ^{^/*}	5,72±0,40 ^{^/*}
% К-24/00	+84	+47	+120
% 12/12-24/00	+39	+11	+57
24/00+М-група	5,84±0,28 ^{^/**}	2,55±0,13 ^{^/**}	3,02±0,13 ^{^/**}
% К-24/00+М	+22	+22	+16
% 24/00-24/00+М	-34	-17	-47

Продовження табл. 5

1	2	3	4
24/00+М+С-група	5,22±0,21**	2,17±0,11**	2,76±0,23**
% К-24/00+М+С	+9	+4	+6
% 24/00-24/00+М+С	-41	-30	-52

Примітка: ^ – вірогідна різниця у порівнянні з вихідними даними, $p < 0,05$; * – значуще відхилення показника відносно груп контролю, $p < 0,05$; ** – значущість відносно експериментального контролю відповідних груп, $p < 0,05$

Антистресовий і нормалізуючий гормональний ефект від застосування мелатоніну та спіруліни виявився і на показниках естрального циклу самиць щурів, що знаходилися в умовах світлового десинхронозу. Так, у тварин 12/12-групи на тлі введення мелатоніну нормалізувалася тривалість циклу, тічкового та межтічкового періодів. Особливо демонстративними ці зміни виявилися у 24/00-групі у порівнянні з контролем. Сумісне введення мелатоніну разом із спіруліною викликало підсилення ефекту на проаналізовані показники у групах 12/12+М+С та 24/00+М+С, що практично не відрізнялися від вихідних даних та величин у групі контролю (див. рис. 5).

Порушення естрального циклу у самиць, які утримувалися при різних режимах штучного освітлення, обумовлені гормональним дисбалансом тварин, що також показано і в інших дослідженнях (Виноградова І.А., 2006; Пішак В.П., 2012; Кореневський А.В, 2013; Аҗауї А.Ф., Akhigbe R.E., 2020). Ключовим механізмом при цьому є зміна порогу чутливості гіпоталамусу до гальмування естрогенами. При цьому циклічна секреція гонадотропінів, пролактину, естрогенів та прогестерону, що характеризує нормальну репродуктивну функцію, перебудовується на ациклічний механізм.

Вплив профілактичного введення мелатоніну та спіруліни на рівень статевих гормонів щурів за умов зміни режиму освітлення. Проведеними дослідженнями виявлено, що у щурів обох статей зміна режиму освітлення призвела до статистично значимих змін профілю статевих гормонів: до зменшення рівня тестостерону і збільшення естрадіолу в плазмі крові у самців, та зростання рівня тестостерону і зменшення естрадіолу у плазмі крові у самиць (рис. 5 та рис. 6). Ці зміни були співвідносними із зміною тривалості часу освітлення.

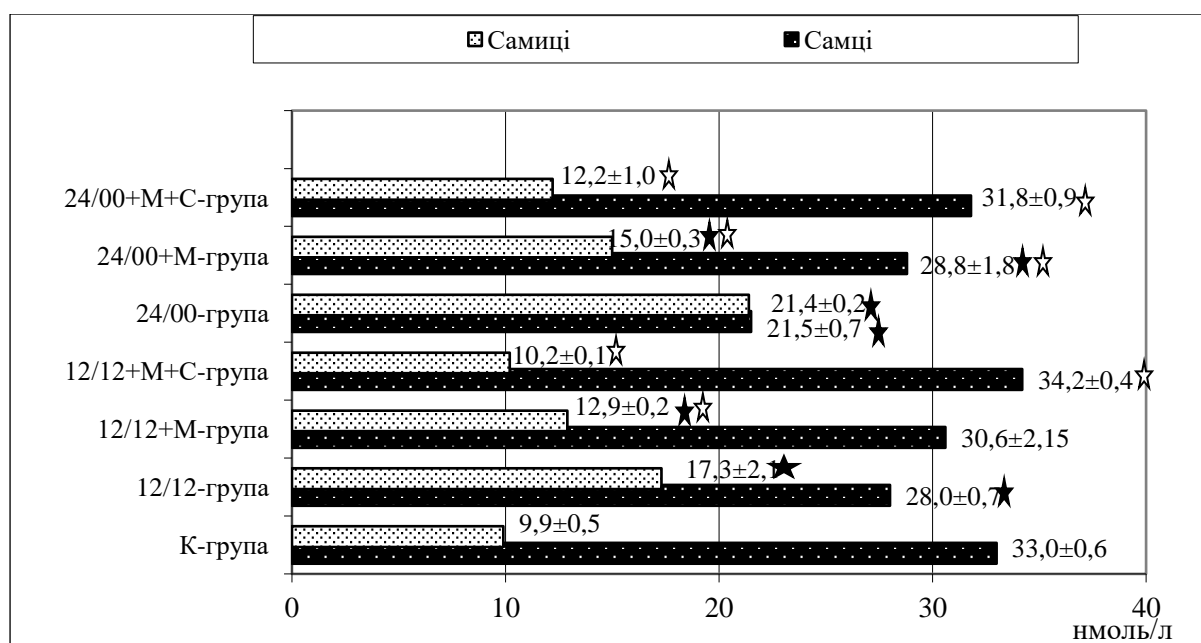


Рисунок 5. Концентрація тестостерону (нмоль/л) у щурів в умовах природного та штучно подовженого фотоперіоду

Примітка: ★ – вірогідна різниця у порівнянні з контрольної групою, ($p < 0,05$); ☆ – вірогідність змін відносно відповідного експериментального контролю, ($p < 0,05$)

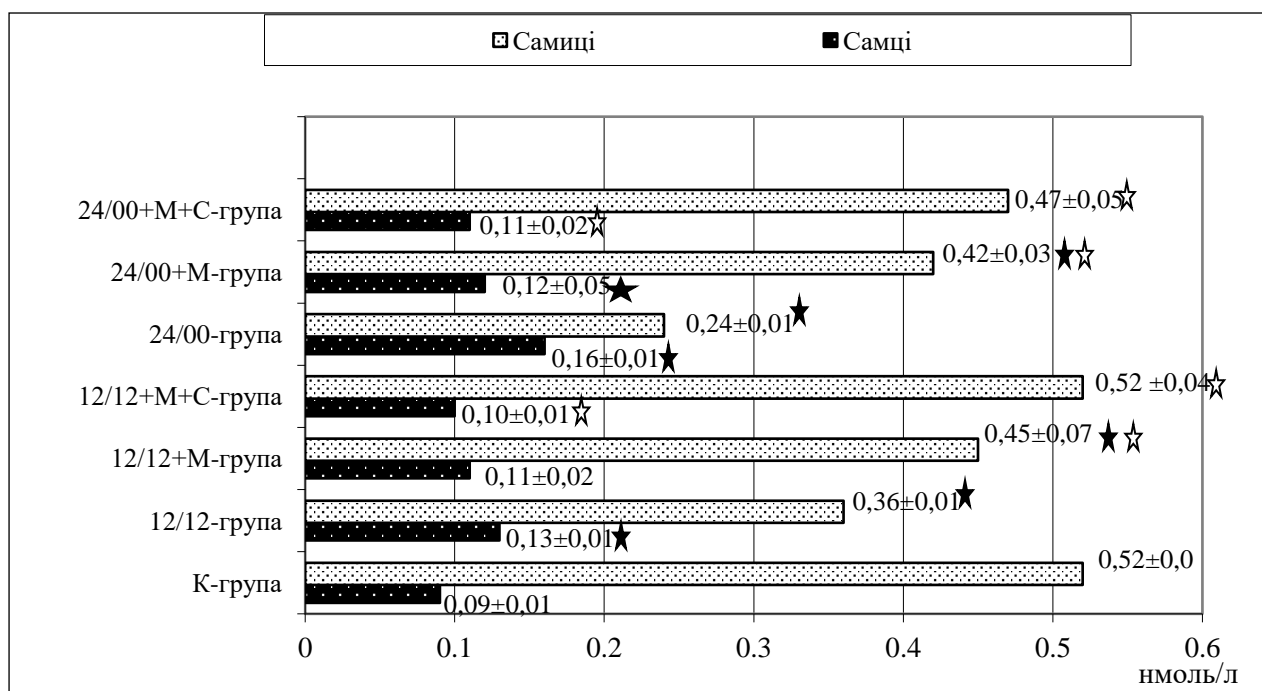


Рисунок 6. Концентрація естрадіолу (нмоль/л) у щурів в умовах природного та штучно подовженого фотоперіоду

Примітка: ★ – вірогідна різниця у порівнянні з контрольної групою, ($p < 0,05$); ☆ – вірогідність змін відносно відповідного експериментального контролю, ($p < 0,05$)

Гіпотестостеронемія у самців 12/12 та 24/00-груп, що відбувається на тлі статистично значимих змін концентрації естрадіолу та відносно домінування естрогену над андрогеном можливо пов'язані з посиленням активності ароматаз під впливом глюкокортикоїдів (Goncalves D., Savaiva J., Teles M. et al., 2010). Гіпертестостеронемія у самиць 12/12 та 24/00-груп, ймовірно вказує на статистично значиме ($p < 0,05$) збільшення у них рівня неароматизованого андрогену у плазмі крові. Вона розвивається на тлі пригнічення продукції ароматази під впливом посиленого виділення лютеїнізуючого гормону (Takahashi K., Nosoya T., Onoe K., et al., 2018).

Встановлено, що статистично значиме зниження індексу тестостерон/естрадіол у самців (у 12/12-групі на 42,6 %; у 24/00-групі – на 65 %) та його статистично значиме підвищення у самиць (у 12/12-групі на 60,6 %; у 24/00-групі – на 79 %) є реакціями на стресовий чинник, яким є довготривала зміна режиму освітлення. Слід зазначити, що репродуктивна система самиць виявилася більш чутливою до цього чинника.

Ймовірно, виявлене зменшення вмісту естрадіолу у плазмі крові у самиць та тестостерону у самців 12/12- та 24/00-груп відносно контролю вказувало на розвиток у них стресового стану та появи вторинного гіпогонадізму. Він може бути пов'язаний не тільки з порушенням нормальної гормональної активності в яєчниках та сім'яниках тварин та інверсією їх периферичного метаболізму і перетворенням одного на інший, а також зі зниженням функціональних можливостей надниркових залоз на тлі дефіциту статевих гормонів та зниження адаптаційних можливостей НЗ.

Курсове введення мелатоніну сприяло підвищенню рівня тестостерону у самців, знижувало рівень естрадіолу, що призвело до відповідного підвищення індексу співвідношення Т/Е₂. У самиць введення мелатоніну викликало протилежні зміни: зростав рівень естрадіолу на тлі зменшення вмісту тестостерону крові та, як наслідок цього відбувалася нормалізація співвідношення Т/Е₂.

Сумісне введення М+С більшою мірою впливало на нормалізацію проаналізованих показників. Так, індекс співвідношення Т/Е₂, який відображає динаміку змін статевих гормонів, під синергетичною дією обох препаратів у самиць груп 12/12 та 24/00 зменшувався відповідно у 2,3 та 3,5 рази ($p < 0,05$) тоді, як самостійне введення мелатоніну призвело до більш помірних зсувів цього показника у бік нормалізації (1,6 та 2,3 рази, відповідно). У самців спостерігалася така ж

тенденція: на тлі моноведення мелатоніну відмічалось зростання індексу співвідношення T/E₂ у 1,25 та 1,7 рази відносно груп 12/12 та 24/00. При сумісному його застосуванні зі спіруліною відмічалось більш ефективно зростання цього показника – у 1,5 та 2,2 рази, відповідно груп 12/12 та 24/00.

Таким чином, у ході дослідження отримано експериментальні докази доцільності та високої ефективності запобіжного застосування препарату мелатоніну в комплексі із спіруліною при репродуктивних розладах та виснаженні резервних можливостей адренкортикальної системи, в патогенезі яких є світловий стрес та тривала мелатонінова недостатність.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі, на підставі комплексного дослідження гормональних, морфометричних та фізіологічних показників, доповнено дані щодо провідної ролі мелатоніну в регуляції взаємозв'язків між адренкортикальною та репродуктивною системами і поведінковими патернами в умовах світлового навантаження. Запропоновано нове рішення проблеми сучасної хронобіології – комплексна профілактика патологічних змін, що розвиваються на тлі світлового десинхронозу за допомогою сумісного застосування регулятора біоритмів мелатоніну разом з потужним природним антиоксидантом спіруліною.

1. Виявлено, що у щурів в умовах світлового десинхронозу сформувалися ознаки вираженої мелатонінової недостатності на тлі послабленого добового ритму. Показано, що штучне освітлення впродовж 12 годин призвело до статистично значимого зниження як денної, так і нічної концентрації гормону, а амплітуда між даними показниками зменшувалася майже вдвічі у порівнянні з контролем (з $146,3 \pm 12,0$ до $89,9 \pm 7,7$ пмоль/л – у самців та з $138,7 \pm 13,2$ пмоль/л до $79,0 \pm 5,8$ пмоль/л – у самиць, $p < 0,05$). При цілодобовому освітленні, відмічено виразне пригнічення гормональної активності епіфізу: нічний пік мелатоніну був практично нівельованим (у самців він зменшувався у 9,9 разів, а у самиць у 12,8 рази, відносно інтактних щурів). До деструкуючого впливу цілодобового освітлення самиці виявились більш чутливими.

2. Визначено, що пролонгація режиму штучного освітлення тварин призвела до зростання напруженості функціональної активності кори та мозкової речовини надниркових залоз, з подальшими ознаками їх морфофункціональної виснаженості. Виявлене зменшення маси НЗ у самців та самиць обумовлено різними факторами. У самців значуще зменшувалась площа мозкової речовини (на 22 % супротив 3 % – у самиць). В той же час у самиць спостерігалось вірогідне зниження товщини кори (-32 %, $p < 0,05$). Рівень адреналіну та кортикостерону у плазмі крові щурів обох статей статистично значимо зростав пропорційно ступеню світлового десинхронозу. У самиць виявлені патологічні зміни були більш значимими.

3. Установлено, що застосування мелатоніну – як самостійно так і в комбінації зі спіруліною – корегувало негативні наслідки впливу пролонгованого режиму освітлення на адренкортикальну систему: в усіх щурів із зміненним фотоперіодом спостерігалось значуще зниження рівня обох стрес-гормонів надниркових залоз та відмічена нормалізація морфофункціональних показників. Більш виразний ефект спостерігався після комбінованого введення мелатоніну із спіруліною, тобто спостерігався синергетичний ефект.

4. Показано, що зміна рухової та вегетативної поведінки на тлі активації стрес-системи надниркових залоз у тварин, які утримувалися при штучному освітленні, кардинально відрізнялися у плані статевого диморфізму. За рівнем емоційності самиці усіх експериментальних груп були більш тривожними, це відображалось на стратегії їхньої поведінки відносно адаптації до стресового фактору. У тварин, що утримувалися в режимі зміненого фотоперіоду та отримували мелатонін і спіруліну виявлено модулюючу дію останніх на рівень тривожності та агресивності, особливо самиць. Визначена перевага сумісного застосування мелатоніну із спіруліною у порівнянні з його моноведенням.

5. Визначено, що активація стрес-реалізуючих систем у щурів обох статей негативно впливала на морфофункціональний стан репродуктивної системи. У тварин спостерігалось фотозалежне зниження відносної маси репродуктивних органів, пролонгація естрального циклу, зменшення кількості і рухливості сперматозоїдів (у середньому на 35 % при режимі освітлення 12/12 та практично вдвічі за умов цілодобового освітлення) та зниження вмісту фруктози у

сім'яних пухирцях (з $2,14 \pm 0,11$ нмоль/л до $1,06 \pm 0,08$ нмоль/л в режимі 24/00, $p < 0,05$). Показано, що гіпертестостеронемія у самиць та гіпотестостеронемія у самців на тлі зміни рівня естрадіолу є адаптаційними реакціями до зміни фотоперіоду. Інверсія індексу тестостерон/естрадіол – його статистично значиме зниження у самців та підвищення у самиць, є свідченням зменшення адаптаційних можливостей організму та гострої реакції на стресовий чинник, яким є довготривала зміна режиму освітлення. Ці зміни були співвідносні з тривалістю часу освітлення.

6. Виявлена нормалізуюча дія мелатоніну на гормональний профіль статевих гормонів. Його курсове введення сприяло відновленню індексу співвідношення Т/Е₂ у тварин обох статей (зростання на 25 % ÷ 77 % у самців та зниження на 42 % ÷ 61 % у самиць), що призвело у самиць до нормалізації складових естрального циклу, а у самців до покращення морфофункціональних показників сперматозоїдів. Сумісне введення мелатоніну в комплексі із спіруліною більш ефективно впливало на відновлення системи репродукції у тварин обох статей, порівняно із самостійним введенням мелатоніну.

7. Відпрацьовану у роботі схему профілактичного курсового введення мелатоніну сумісно із спіруліною завдяки своїй безпечності та широкому спектру і високому ступеню протективних ефектів можна рекомендувати для застосування у групах ризику світлового десинхронозу.

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ:

Статті у фахових виданнях:

1. **Мамотенко АВ**, Комісова ТЄ. Поведінкові реакції самців-щурів при експериментальній зміні освітлення. Біологія та валеологія. 2009;11:52–58. *(Особистий внесок здобувача: проведення тесту «Відкрите поле», аналіз поведінкових патерн щурів різних груп, статистична обробка даних).*
2. **Мамотенко АВ**, Комісова ТЄ, Губіна-Вакулік ГІ. Вплив зміни тривалості світлової доби на морфофункціональний стан надниркових залоз щурів. Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка (біологічні науки): зб. наук. пр. Луганськ: ЛНУ. 2014;12:81–87. *(Особистий внесок здобувача: виготовлення зразків для гістології; морфологічне і гістологічне дослідження надниркових залоз, аналіз, статистична обробка даних).*
3. **Мамотенко АВ**, Комісова ТЄ. Дослідження поведінкових реакцій самиць щурів, які утримувалися в умовах природного та зміненого режиму освітлення. Український журнал медицини, біології та спорту: наук.-практ. журн. Миколаїв: ЧНУ. 2018;3(5(14)):293–299. *(Особистий внесок здобувача: проведення тесту «Відкрите поле», аналіз поведінкових патерн щурів різних груп, статистична обробка даних).*
4. **Мамотенко АВ**, Комісова ТЄ. Вплив світлового режиму на естральний цикл самиць щурів. Біологія та валеологія. 2018;18:57–61. *(Особистий внесок здобувача: визначення тривалості і структури естрального циклу у самиць різних груп за допомогою піхвових мазків, статистична обробка даних).*
5. **Мамотенко АВ**. Вплив довготривалої зміни режиму освітлення на рівень статевих гормонів у щурів. Український журнал медицини, біології та спорту: наук.-практ. журн. Миколаїв: ЧНУ. 2021;6(1(29)):355–362. *(Особистий внесок здобувача: аналіз рівня тестостерону та естрадіолу у плазмі крові щурів різних груп, статистична обробка даних).*
6. **Мамотенко АВ**, Комісова ТЄ., Іонов ІА. Корекція розладів репродуктивної системи щурів за умов змін світлового режиму. Проблеми ендокринної патології. 2021;2(76):78–85. *(Особистий внесок здобувача: проведено вибіркоче імуноферментне визначення вмісту мелатоніну в плазмі крові щурів; здійснено аналіз морфофункціонального стану сперматозоїдів та визначено вміст фруктози за методом Бокуняєвої у суспензії додатків сім'яників; статистична обробка даних).*

Статті у інших виданнях:

1. **Мамотенко АВ.**, Комісова ТЄ., Губіна-Вакулік ГІ. Морфофункціональна характеристика надниркових залоз щурів за умов порушеного фотоперіоду. Біологія та валеологія. 2008;10:1–5. *(Особистий внесок здобувача: виготовлення зразків для гістології; визначення товщини зон кори надниркових залоз, площі мозкової речовини; каріометрія ендокриноцитів; статистична обробка даних).*

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертаційного дослідження:

1. **Мамотенко АВ**, Микитюк ОМ. Вплив зміни освітлення на поведінкові реакції самців щурів. Молодь та поступ біології: збірник тез третьої міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів, Львів, 23-27 квітня; 2007, с.474–475.
2. **Мамотенко АВ**, Губіна-Вакулик ГІ., Комісова ТЄ. Морфофункціональні особливості наднирників самців-щурів, які знаходилися під дією постійного освітлення. Гендер. Екологія. Здоров'я: зб. наук. праць. Матеріали II міжнародної науково-практичної конференції, м. Харків, 22-23 жовтня 2008 р. Харків: Екограф; 2008, с.170–172.
3. **Мамотенко АВ**, Комісова ТЄ. Морфофункціональна зміна надниркових залоз у щурів, які утримувалися в умовах зміненого освітлення. Зб. центру наук. публікацій “Велес” за метеріал. міжнарод. нак.-практ. конфер.: «Зимові наукові читання», 1 частина, м. Київ. Київ: центр наук. Публікацій; 2016, с.54–57.
4. **Мамотенко АВ**. Вплив зміни тривалого світлового десинхронозу, сумісного введення мелатоніну і спіруліни на масу тіла щурів. Перші читання, присвячені ДО Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. ДО Альперна): тези доп. Харків: ХНМУ; 2021, с.100–103.
5. **Мамотенко АВ**. Вплив комплексного введення мелатоніну та спіруліни на морфоструктуру надниркових залоз самців щурів за умов зміни фотоперіоду. Topical issues of new medicines development: матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження МО. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків): тези доп. Харків: НФаУ; 2021, с.284–286.
6. **Мамотенко АВ**, Комісова Т.Є. Корекція порушень морфоструктури надниркових залоз самиць щурів, що виникли за умов зміни фотоперіоду. Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали I міжнародної наук.-практ. інтернет-конф. (25 березня 2021 р., м. Харків): тези доп. Харків: НФаУ; 2021, с.241–242.

АНОТАЦІЯ

Мамотенко А.В. Нові підходи до корекції розладів адренокортикальної та репродуктивної систем щурів за умов змін режиму освітлення – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин. – Харківський національний педагогічний університет імені ГС Сковороди, Харків, 2021.

Дисертація присвячена розв'язанню актуальної проблеми сучасної фізіології – встановленню причинних наслідків деструктивного впливу довготривалих змін режиму освітлення на адренокортикальну і репродуктивну системи щурів та пошуку комплексних підходів щодо їхньої фармакологічної корекції.

Здійснено оцінку дії мелатоніну та ефективності підсилення його антиоксидантних та моделюючих ефектів за рахунок додаткового сумісного введення у раціон щурів біодобавки спіруліни. Виявлено, що моноведення мелатоніну ефективно запобігало розвитку деструктивних явищ, викликаних зміною режиму освітлення, що підтверджувало важливість нормальної секреторної функції епіфізу для регуляції багатьох систем організму, зокрема, надниркових залоз. Отримано експериментальні докази доцільності та високої ефективності застосування препаратів мелатоніну при гіпогонадізмі, в патогенезі якого основною причиною є тривала мелатонінова недостатність. Однак, хоча самостійне введення піддослідним тваринам у курсовому режимі мелатоніну суттєво поліпшувало показники морфофункціонального стану досліджуваних залоз внутрішньої секреції, проте воно їх остаточно не нормалізувало. Визначено, що додаткове застосування біодобавки спіруліни підсилювало протективну дію мелатоніну, тобто спостерігався синергетичний ефект. Більш висока реактивність до впливу мелатоніну та спіруліни спостерігалась у самиць. Виявлено, що статистично значиме зниження індексу тестостерон/естрадіол у самців та його підвищення у самиць є свідченням зменшення адаптаційних можливостей організму та гострої реакції на стресовий чинник, яким є довготривала

зміна режиму освітлення. Показана висока ефективність використаної схеми курсового сумісного профілактичного застосування мелатоніну у комплексі із спіруліною для превентивного зниження ризику репродуктивних та аденокортикальних розладів у тварин обох статей.

Використана схема курсового введення мелатоніну сумісно зі спіруліною може розглядатися як ефективний засіб профілактики розвитку гіпопінеалізму та порушень ендокринної системи, які обумовлені пролонгацією фотоперіоду. Відпрацьовану у роботі схему їх профілактичного курсового введення, завдяки своїй безпечності та високому ступеню протективних ефектів, можна рекомендувати для застосування у групах ризику світлового десинхронозу.

Ключові слова: світловий десинхроноз, гіпопінеалізм, гіпогонадізм, надниркові залози, репродуктивна система, заходи корекції, мелатонін, спіруліна.

АННОТАЦІЯ

Мамотенко А.В. Новые подходы к коррекции расстройств аденокортикальной и репродуктивной систем крыс в условиях изменений режима освещения – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 – физиология человека и животных. – Харьковский национальный педагогический университет имени ГС Сковороды, Харьков, 2021.

Диссертация посвящена решению актуальной проблемы современной физиологии – установлению причинных последствий деструктивного влияния длительных изменений режима освещения на аденокортикальную и репродуктивную системы крыс и поиску комплексных подходов к их фармакологической коррекции.

Осуществлена оценка действия мелатонина и эффективности усиления его антиоксидантных и модулирующих эффектов за счет дополнительного совместного введения в рацион крыс биодобавки спирулины. Выявлено, что моноведение мелатонина эффективно предупреждало развитие деструктивных явлений, вызванных изменением режима освещения, подтверждало важность нормальной секреторной функции эпифиза для регуляции многих систем организма, в частности, надпочечных желез. Получены экспериментальные доказательства целесообразности и высокой эффективности применения препаратов мелатонина при гипогонадизме, в патогенезе которого основной причиной является длительная мелатониновая недостаточность. Однако, хотя самостоятельное введение подопытным животным в курсовом режиме мелатонина существенно улучшало показатели морфофункционального состояния исследованных желез внутренней секреции, однако оно их окончательно не нормализовало. Определено, что дополнительное применение биодобавки спирулины усиливало протективное действие мелатонина, то есть наблюдался синергический эффект. Более высокая реактивность к воздействию мелатонина и спирулины наблюдалась у самок. Выявлено, что статистически значимое снижение индекса тестостерон / эстрадиол у самцов и его повышение у самок свидетельствует о уменьшении адаптационных возможностей организма и острой реакции на стрессовый фактор, которым является долговременное изменение режима освещения. Показана высокая эффективность использованной схемы курсового совместного профилактического применения мелатонина в комплексе с спирулиной для превентивного снижения риска репродуктивных и аденокортикальных расстройств у животных обоих полов.

Использованная схема курсового введения мелатонина совместно со спирулиной может рассматриваться как эффективное средство профилактики развития гипопинеализма и нарушений эндокринной системы, обусловленных пролонгацией фотопериода. Отработанную в работе схему их профилактического курсового введения, благодаря своей безопасности и высокой степени протективных эффектов, можно рекомендовать для применения в группах риска светового десинхроноза.

Ключевые слова: световой десинхроноз, гипопинеализм, гипогонадизм, надпочечные железы, репродуктивная система, меры коррекции, мелатонин, спирулина.

ANNOTATION

Mamotenko A.V. New approaches to the correction of disorders of the adrenocortical and reproductive systems of rats under conditions of changes in the lighting regime – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the scientific degree of candidate of biological sciences in specialty 03.00.13 - Human and animal physiology. – Kharkiv National Pedagogical University named after GS Skovoroda, Kharkiv, 2021.

The dissertation is devoted to solving the topical problem of modern physiology – establishing the causal consequences of the destructive effects of long-term changes in lighting mode on the adrenocortical and reproductive systems of rats and the search for integrated approaches to their pharmacological correction.

The effect of melatonin and the effectiveness of enhancing its antioxidant and moderating effects due to additional co-introduction of spirulina bioadditive into the diet of rats has been evaluated. It has been found that the introduction of melatonin effectively prevented the development of destructive phenomena caused by changes in lighting, which confirmed the importance of normal secretory function of the pineal gland for the regulation of many body systems, including the adrenal glands. Experimental evidence of the feasibility and high effectiveness of melatonin in hypogonadism, in the pathogenesis of which the main reason has been prolonged melatonin deficiency has been obtained. However, although self-administration of melatonin in experimental animals in the course mode significantly has improved the indicators of morphofunctional state of the endocrine glands, but it has not been completely normalized them. It has been determined that the additional use of spirulina bioadditive has enhanced the protective effect of melatonin, ie there was a synergistic effect. Higher reactivity to melatonin and spirulina has been observed in females. It has been found that a statistically significant decrease in the testosterone/estradiol index in males and its increase in females is evidence of a decrease in the adaptive capacity of the body and an acute response to stress, which is a long-term change in lighting. The high efficiency of the used scheme of course compatible prophylactic use of melatonin in combination with spirulina for preventive reduction of the risk of reproductive disorders in animals of both sexes is being shown.

The used scheme of course administration of melatonin in combination with spirulina could be considered as an effective means of preventing the development of hypopinealism and disturbances of endocrine system which are caused by prolongation of a photoperiod. The scheme of their preventive course introduction, worked out in the work, due to its safety and high degree of protective effects, can be recommended for use in risk groups of light desynchrony. The scheme of their preventive course introduction, worked out in the work, due to its safety and high degree of protective effects, could be recommended for use in risk groups of light desynchrony.

Key words: light desynchrony, hypopinealism, hypogonadism, adrenal glands, reproductive system, corrective measures, melatonin, spirulina.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

М	- мелатонін
С	- спіруліна
Т	- тестостерон
Е ₂	- естрадіол
СП	- сім'яні пухирці
ВПЗ	- вентральна частина передміхурової залози
НЗ	- надниркові залози

