

**ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені Г.С. СКОВОРОДИ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Мамотенко Алла Віталіївна

УДК 591.46-026.611

ДИСЕРТАЦІЯ

**Нові підходи до корекції розладів адренотікальної та
репродуктивної систем щурів за умов змін режиму
освітлення**

Спеціальність 03.00.13 – фізіологія людини і тварин
Біологічні науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук. Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело. А.В. Мамотенко.

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

Харків – 2021

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 Г.С. Сковороди, Харків, 2021.

На теперішній час для України покращення стану репродуктивного здоров'я, підвищення фертильності та профілактика захворювань органів репродуктивної системи, в тому числі і ендокринного генезу є вкрай нагальною проблемою. Означене обумовлює необхідність проведення наукових досліджень, спрямованих на визначення факторів ризику виникнення порушень репродуктивної функції. Причини, що призводять до її пригнічення дуже різноманітні, і серед них не останнє місце займає проблема світлового забруднення – пролонгація світлової фази та скорочення терміну перебування у темряві. Так, з одного боку, в останні роки неухильно зростає кількість людей, які перебувають у нічні часи 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. У науковій літературі є посилення на те, що на тлі порушення добових ритмів функціонування пінеальної залози відбуваються зміни гормональної активності ендокринних залоз, зокрема надниркових та статевих, проте і досі немає єдиної точки зору щодо характеру цих патологічних розладів. Тому визначення особливостей змін, що відбуваються у репродуктивній і адренокортикальній системах на тлі порушених циркадних ритмів, та розв'язання проблеми усунення або зменшення патологічного впливу штучного режиму освітлення шляхом

пошуку засобів фармакологічної корекції для відновлення їх нормального функціонування на сьогодні є своєчасним та актуальним.

У зв'язку з актуальністю теми, мета нашого дослідження – встановлення наслідків деструктивного впливу довготривалих змін режиму освітлення на адренокортикальну і репродуктивну системи щурів та пошук комплексних підходів щодо їхньої фармакологічної корекції. Об'єкт дослідження – функціональний стан адренокортикальної та репродуктивної систем самців та самок щурів. Для досягнення поставленої мети і виконання завдань застосовувалися фізіологічні, біохімічні, морфологічні, імуноферментні та статистичні методи наукових досліджень.

Експеримент проведено на 280 статевозрілих самцях та самках щурів популяції Wistar в літньо-осінній період, на тлі зменшення тривалості світлового дня (липень-жовтень).

У ході дослідження вивчали вплив зміни світлового режиму на мелатонін-утворюючу функцію епіфіза. Результати проведеного дослідження показали, що тривале утримування щурів в умовах зміненого фотоперіоду вже при режимі 12 годин освітлення та 12 годин темряви в період сезонного скорочення часу природного освітлення спостерігалися ознаки мелатонінової недостатності, які значною мірою поглиблювалися на тлі цілодобового освітлення, що призводило до розвитку гіпопінеалізму. Динаміка добових змін рівня мелатоніну у контрольних самців та самок практично не відрізнялася. У щурів за умов освітлення 12/12 годин спостерігалось статистично значиме зниження як денної (σ $34,3 \pm 2,9$; ϕ $39,2 \pm 4,1$), так і нічної (σ $124,4 \pm 9,8$; ϕ $118,2 \pm 12,0$) концентрації гормону, а амплітуда між цими показниками зменшувалася майже вдвічі у порівнянні з контролем (на 39 % σ та на 46 % ϕ , $p \leq 0,05$). При цілодобовому освітленні у тварин обох статей нічний пік мелатоніну (σ $29,9 \pm 1,8$; ϕ $25,7 \pm 2,2$) статистично значимо зменшився більш ніж у 5 разів відносно контрольних щурів. У той же час, у самців цієї групи, амплітуда добового ритму мелатоніну зменшувалася у 9,9

разів відносно контролю, у самок – у 12,8 рази. Ймовірно, самкам характерна дещо більша чутливість до деструкуючого впливу цілодобового освітлення.

У подальшому оцінено стан напруженості адренокортикальної системи за умов змін режиму освітлення. Встановлено, що цілодобове освітлення тварин протягом 3,5 місяців призводило до зростання напруженості функціональної активності надниркових залоз, спостерігалася картина початкової морфофункціонального виснаження зон кори надниркових залоз, що більшою мірою виражена у самців. Тобто, адренокортикальна функція самців виявилася більш уразливою до стресової дії світлового десинхронозу у порівнянні з самками.

Результати визначення показників гормональної активності надниркових залоз свідчили про посилення утворення стрес-гормонів адреналіну та кортикостерону. Рівень адреналіну у плазмі крові самців статистично значимо зростав пропорційно ступеню світлового десинхронозу (на 64 %, $p \leq 0,05$ при цілодобовому освітленні). У самок всіх трьох груп, порівняно з самцями, спостерігався нижчий рівень адреналіну, особливо у контрольної та групи 12-годинного світлового навантаження. Однак, при цілодобовому освітленні у них також спостерігається значиме збільшення рівня гормону у плазмі крові на 71,5 % ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем. Виявлені гормональні зміни на тлі зменшення абсолютної та відносної маси надниркових залоз та площі мозкової речовини є наслідком глибоких патологічних змін гістоструктури органу. Ці зміни, ймовірно, можуть бути пов'язані зі зменшенням кількості клітин, що входять до складу різних структурних елементів надниркових залоз.

Умови постійного освітлення призводили до пригнічення діяльності ендокриноцитів клубочкової і сітчастої зон у самців, та пучкової зони у самок, це свідчило про гіперпродукцію кортикостероїдів у тварин експериментальних груп. Так, при зміні фотоперіоду, у самок рівень кортикостерону у плазмі крові статистично значимо зростав (відповідно при

12-годинному та цілодобовому освітленні на 29 % та 67 %, $p \leq 0,05$). Можна припустити, що у самок при порушенні фотоперіоду високий рівень кортикостерону на тлі виявлених морфоструктурних змін надниркових залоз свідчить про виснаження синтетичної активності клітин кори. Підвищений рівень у самців – про порушення мобілізаційних сил організму на протидію стресу і, як наслідок, дисбалансу гомеостазу та розвиток десинхронозу функцій залози. Отже, самки при зміні фотоперіоду проявили більш гостру реакцію на стресовий чинник порівняно з самцями. Так, як катехоламіни у мозковій речовині надниркових залоз підвищують кортикальну стероїдогенну активність, а кора першою активується на дію світла, можна зробити висновок, що у самців і самок при дії постійного освітлення залози знаходяться на межі виснаження.

Визначено, що гостре підвищення рівня глюкокортикоїдів призводить не тільки до зміни біохімічної активності надниркових залоз і організму в цілому, а і до зміни поведінкових патерн. Тварини контрольної групи як і самці експериментальних груп демонстрували кращі адаптаційні можливості до умов тесту «відкрите поле». Проте самки усіх груп за рівнем емоційності вивилися більш тривожними. Ймовірно, саме високий рівень кортикостерону, порівняно з контрольною групою, у самок групи цілодобового освітлення ($111,56 \pm 2,84$, нмоль/л) спровокував появу у них агресії і, загалом, агресивно-домінантної поведінки, як прояв адаптації до стресового чинника.

Також у ході дослідження вивчено динаміку гормональної активності та морфофункціональний стан статевих залоз у самців та самок щурів із гіпопінеалізмом. Виявлено глибокі морфоструктурні та функціональні зміни системи репродукції у самців і самок щурів на тлі світлового навантаження, які прогресують та поглиблюються при пролонгації режиму освітлення. Прояви деградаційних процесів у самців спостерігалися вже при пролонгації часу освітлення до 12 годин: зниження ваги вентральної частини

передміхурової залози (ВПЗ) складало 21 % ($p \leq 0,05$), сім'яних пухирців – 26% ($p \leq 0,05$), а придатків яєчка – 16 % ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем. У щурів, що знаходилися при цілодобовому освітленні деградаційні процеси пропорційно поглиблювалися. У самців, підданих тривалому (12/12) та цілодобовому (24/00) освітленню, визначено зміни андрогенної активності гонад – зниження тестостеронемії на тлі відносної естрогенізації; ці зміни, ймовірно, можуть відбуватися за рахунок значних деструктивних змін гормонпродукуючих клітин Лейдіга і Сертолі, що врешті-решт призводить до повного припинення процесу гаметогенезу. У щурів відмічено інверсію балансу статевих гормонів – зменшення рівня тестостерону і збільшення естрадіолу в плазмі крові у самців, та зростання рівня тестостерону і зменшення естрадіолу у плазмі крові у самок, що призводило до різких відхилень від норми співвідношення T/E_2 . У самок на тлі зміненого режиму освітлення з боку репродуктивних органів також встановлено статистично значимі морфоструктурні та функціональні зміни. Маса гормон-залежного органу – яєчників зменшувалася на третину – на 26 % у групі 12/12 та на 32% у групі 24/00 ($p \leq 0,05$) відносно контрольних тварин. Крім того, пролонгація режиму освітлення призвела до зміни у структурі та тривалості естрального циклу та до зростання тестостеронемії на тлі зниження рівня естрогенів. Гіпертестостеронемія у самиць експериментальних груп на тлі статистично значимого зменшення концентрації естрадіолу, спровокувала у них відповідно збільшення співвідношення тестостерон/естрадіол (T/E_2) у 2,5 рази (12/12 групи) та у 4,8 рази (24/00 групи), порівняно з тваринами, які утримувалися при природному освітленні. Виявлені зрушення співвідношення T/E_2 у самців характеризували розвиток у них фемінізації, у самок – маскулінізації.

Встановлено, що статистично значиме зниження індексу тестостерон/естрадіол у самців та його підвищення у самок є свідченням

зменшення адапційних можливостей організму та гострої реакції на стресовий чинник, яким є довготривала зміна режиму освітлення.

За результатами визначення гормонального профілю статевих гормонів при тривалій (3,5 місяці) світлової експозиції зроблено висновок про розвиток у щурів обох статей гіпогонадізму нейроендокринного генезу, в основі якого лежить прогресуюче у часі гальмування функціональної активності статевих залоз, першопричиною чого є мелатонінова недостатність та гіпопінеалізм, індукований тривалим освітленням.

На підставі отриманих даних, виявлені порушення гормональної активності і морфофункціонального стану надниркових залоз, пінеальної та статевих залоз, дають підставу розцінювати їх як патогенетичну модель поліендокринопатії.

Здійснено оцінку дії мелатоніну та ефективності підсилення його антиоксидантних та моделюючих ефектів за рахунок додаткового сумісного введення у раціон щурів біодобавки спіруліни. Виявлено, що моно введення мелатоніну ефективно попереджало запобігання розвитку деструктивних змін в адренкортикальній та репродуктивних системах, що були обумовлені зміною режиму освітлення. Ці результати підтверджували важливість нормальної секреторної функції епіфізу для регуляції багатьох систем організму, зокрема, надниркових залоз та гонад. Отримано експериментальні докази доцільності та високої ефективності застосування препаратів мелатоніну при гіпогонадізмі, в патогенезі якого є тривала мелатонінова недостатність. Слід відзначити, самостійне введення піддослідним тваринам у курсовому режимі мелатоніну суттєво поліпшувало показники гормональної активності і морфофункціонального стану залоз внутрішньої секреції, проте воно їх остаточно не нормалізувало.

Вперше визначений синергетичний позитивний ефект від комплексного застосування препаратів мелатоніну та спіруліни для профілактики та корекції розладів репродуктивної та адренкортикальної системи на тлі пролонгованого режиму освітлення. Показано, що їхнє

сумісне використання суттєво поліпшує гормональну активність та морфофункціональний стан надниркових та статевих залоз. Виявлено, що додаткове застосування біодобавки спіруліни підсилювало протективну дію мелатоніну, тобто спостерігався синергетичний ефект. Більш висока реактивність до впливу мелатоніну та спіруліни спостерігалась у самок. Показана висока ефективність використаної схеми курсового сумісного профілактичного застосування мелатоніну у комплексі із спіруліною для превентивного зниження ризику репродуктивних розладів та зменшення напруги та виснаження надниркових залоз 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.

SUMMARY

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

The dissertation on competition of a scientific degree of the candidate of biological sciences on a specialty 03.00.13 – human and animal physiology. – Kharkiv National Pedagogical University named after G.S. Skovoroda, Kharkiv, 2021.

The reproductive health improving, increasing fertility and preventing the reproductive system diseases, in part, endocrine genesis is an extremely urgent problem for Ukraine, which necessitates research to determine the risk factors for reproductive dysfunction. The reasons that lead to its suppression are very diverse, and among them is the problem of light pollution - the prolongation of the light phase and the reduction of the dark period. In recent years the number of people who are in artificial light at night is steadily increasing, at the same time, there is a simultaneous increase in the prevalence of unknown origin endocrine diseases.

It should be noted that light is an important regulator of biological rhythms in general and the endocrine system in particular. In the scientific literature there is a reference to the fact that against the background of the pineal gland circadian rhythm disorders there are changes in hormonal activity of endocrine glands, including adrenal and gonadal, although there is still no consensus on the nature of these pathological disorders. Therefore, to determine the features of changes that occur in the reproductive and adrenocortical systems against the background of disturbed circadian rhythms, and to solve the problem of eliminating or reducing the pathological effects of artificial lighting by search for means of pharmacological correction to restore their normal functioning today is timely and relevant.

Due to the urgency of the problem, the purpose of our study is to establish the light regime long-term changes destructive effects on the adrenocortical and

reproductive systems of rats and to find comprehensive approaches to their pharmacological correction. The object of study is the functional state of the adrenocortical and reproductive systems of male and female rats. To achieve this goal and perform the necessary tasks, physiological, biochemical, morphological, enzyme-linked immunosorbent and statistical methods of scientific research were used.

The experiment were performed on 280 adult male and female Wistar rats in the summer-autumn period, against the background of reducing the length of daylight (July-October).

The study examined the effect of changes in light regime on melatonin-forming function of the pineal gland. The results of the study showed that long-term retention of rats in a modified photoperiod at 12 hours lighting and 12 hours dark in the period of seasonal reduction of the time of natural insolation, there were signs of melatonin deficiency, which significantly deepened against the background of round-the-clock lighting, which led to the development of severe melatonin deficiency (hypopinealism). The dynamics of daily changes in melatonin levels in intact males and females did not differ. In rats under lighting conditions 12/12 hours there was a statistically significant decrease in both day (σ 34.4 ± 2.9 ; ϕ 39.2 ± 4.1) and night (σ 124.4 ± 9.8 ; ϕ 118.2 ± 12.0) hormone concentration, and the amplitude between these indicators decreased almost twice compared to the control (by 39 % σ and 46 % ϕ , $p \leq 0.05$). At round-the-clock lighting in animals of both sexes, the nocturnal peak of melatonin (σ 29.9 ± 1.8 ; ϕ 25.7 ± 2.2) decreased statistically significantly by more than 5 times relative to intact rats. At the same time, in males of this group, the amplitude of the circadian rhythm of melatonin decreased by 9.9 times relative to search for means of pharmacological correction to restore their normal functioning today is timely and relevant.

At the same time, in males of this group, the amplitude of the circadian rhythm of melatonin decreased by 9.9 times relative to control, in females – by

12.8 times. Presumably, females are characterized by a slightly greater sensitivity to the destructive effects of round-the-clock lighting.

In the future, the state of the adrenocortical system tension under conditions of changes in the lighting regime was estimated. It was found that round-the-clock lighting of animals for 3.5 months led to an increase in the intensity of the adrenal glands functional activity, there was a picture of the initial morpho-functional exhaustion of the adrenal cortex, which is more pronounced in males. That is, the adrenocortical function of males was more vulnerable to the stress of light desynchrony than females.

According to the results of research, it is established that prolonged lightening leads to stimulation of morphofunctional activity of the adrenal glands cortex and adrenal medulla with the subsequent appearance of signs of depleted glands. The results of determining adrenal glands hormonal activity data showed an increase in the production of stress hormones adrenaline and corticosterone. The level of adrenaline in the blood plasma of males increased statistically significantly in proportion to the degree of light desynchrony (by 64 %, $p \leq 0.05$ in round-the-clock lighting). Females of all three groups, compared with males, had lower levels of adrenaline, especially in the intact and 12-hour light load groups. However, with round-the-clock lighting, they also have a statistically significant increase in plasma hormone levels by 71.5 % ($p \leq 0.05$), compared with controls. The detected hormonal changes against the background of a decrease in the absolute and relative mass of the adrenal glands and the area of adrenal medulla, which is a consequence of profound pathological changes in the histological structure of the organ. These changes may be due to a decrease in the number of cells in their structure.

Round the clock lighting also led to inhibition of the activity of endocrinocytes of the glomerular and reticular zones in males, and the beam zone in females, which indicated the overproduction of corticosteroids in animals of experimental groups. With the change of the photoperiod, the level of

corticosterone in the blood plasma increased statistically significantly in females (respectively at 12-hour and round-the-clock lighting by 29 % and 67 %, $p \leq 0.05$). We can assume that in females in violation of the photoperiod high levels of corticosterone on the background of detected adrenal morphostructural changes indicates depletion of synthetic activity of adrenal cortex cells. Elevated levels in males – a violation of the body's mobilizing forces to counteract stress and, consequently imbalance of homeostasis and the development of desynchrony of gland functions. Thus, females when changing the photoperiod showed a more acute reaction to the stress factor compared to males. Just as catecholamines in the adrenal medulla increase cortical steroid activity, and the cortex is the first to be activated by light, it can be concluded that males and females are on the verge of depletion under constant light.

It is determined that an acute increase in glucocorticoids leads not only to changes in the adrenal gland activity and total biochemical metabolism, but also to changes of behavioral patterns. Animals in the control group as well as males of the experimental groups showed better adaptability to the conditions of the "open field" test. However, females of all groups were more anxious in terms of emotionality. Presumably, exactly the high level of corticosterone in females of the round-the-clock lighting group (111.56 ± 2.84 , nmol/l) that provoked the appearance of aggression and, in general, aggressive-dominant behavior as a manifestation of adaptation to the stress factor.

It was also studied the dynamics of hormonal activity and morpho-functional state of the gonads in male and female rats with hypopinealism. Deep morphostructural and functional changes of the reproductive system in male and female rats against the background of light load, which progress and deepen with increasing insolation time, were revealed. Thus, the manifestations of degradation processes in males were observed when prolonging the exposure time to 12 hours: weight loss of the ventral prostate was 21 % ($p \leq 0.05$), seminal vesicles (-) 26 % ($p \leq 0.05$), and testicular appendages – 16 % ($p \leq 0.05$), compared with the control.

In rats exposed to round-the-clock lighting, the degradation processes deepened proportionally. In males exposed to prolonged (12/12) and round-the-clock (24/00) light, changes in the androgenic activity of the gonads – a decrease testosteroneemia on the background of relative estrogenization was detected. These changes are likely to occur due to significant destructive changes in hormone-producing of Leydig and Sertoli cells, which eventually leads to a complete cessation of gametogenesis. In rat females against the background of the changed mode of illumination statistically significant changes from reproductive organs are established. The mass of hormone-dependent organ – the ovaries decreased by a third – by 26 % in group 12/12 and 32 % in the 24/00 group ($p \leq 0.05$) relative to intact animals. In addition, the change in light regime led to a change in the structure and duration of the estrous cycle and to an increase in testosteroneemia with a decrease in estrogen levels. The detected shifts in the testosterone/estradiol (T/E_2) ratio in males characterized the development of feminization in them, and in females - masculinization. Hypertestosteronemia in females of the experimental groups against the background of a statistically significant decrease in estradiol concentration provoked a 2.5-fold (12/12-group) and 4.8-fold (24/00-group) increase in the T/E_2 ratio, respectively, compared to animals kept in natural light. It was 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 body's adaptive capacity and an acute response to a stress factor, which is a long-term change in light regime.

According to the results of determining the hormonal profile of sex hormones with prolonged (3.5 months) light exposure, it was concluded that rats of both sexes have hypogonadism of neuroendocrine genesis, which is based on progressive inhibition of gonadal functional activity, the main cause of which is induced by prolonged lighting.

On the basis of the received data the disturbances of hormonal activity and a morpho-functional condition of adrenal glands, pineal and gonads, induced by long

illumination are revealed, give the basis to consider them as pathogenetic polyendocrinopathies model.

The effect of melatonin and the effectiveness of enhancing its antioxidant and moderating effects due to the additional co-introduction of spirulina biological additive in the diet of rats evaluated. It was found that the melatonin introduction effectively prevented destructive changes caused by changes in the mode of illumination, 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 for the feasibility and high efficacy of melatonin using in hypogonadism, in the pathogenesis of which the main cause is prolonged melatonin deficiency was obtained. However, although self-administration of melatonin to experimental animals in the course mode significantly improved, the endocrine glands hormonal activity and morphofunctional state, however, it did not completely normalize them. For the first time, a synergistic positive effect from the complex use of melatonin and spirulina drugs for the prevention and correction of disorders of the reproductive and adrenocortical systems against the background of prolonged lighting. It has been shown, their combined use lead to significantly improve hormonal activity and to normalization of the adrenal and gonads morphofunctional status. It was determined that the additional use of spirulina bioadditive enhanced the protective effect of melatonin, a synergistic effect was observed. Higher reactivity to melatonin and spirulina was observed in females. It was shown the high efficiency of the course compatible prophylactic of melatonin in combination with spirulina use scheme for preventive reduction of the risk of reproductive disorders and reduction of stress and adrenal depletion in animals of both sexes.

The used scheme of course melatonin in combination with spirulina administration can be considered as an effective means of preventing the development of hypopinealism and the endocrine system disorders, which are due to the prolongation of the photoperiod. These worked out scheme of their

preventive course introduction, due to its safety and high degree of protective effects, can be recommended for use in risk groups of light desynchrony.

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

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 вибіркове імуноферментне визначення вмісту мелатоніну в плазмі крові щурів; здійснено аналіз морфофункціонального стану сперматозоїдів та визначено вміст фруктози за методом Бокуняєвої у суспензії придатків сім'яників; статистична обробка даних).*

Статті у інших виданнях:

1. **Мамотенко АВ.,** Комісова ТЄ., Губіна-Вакулик 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 наднирникових 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 самок 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.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ЗМІСТ.....	18
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	21
ВСТУП.....	22
РОЗДІЛ 1 РОЛЬ ПІНЕЛЬНОЇ ЗАЛОЗИ В ЗАБЕЗПЕЧЕННІ БІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	29
1.1 Вплив зміни режиму освітлення на морфофункціональну активність епіфізу.....	29
1.2 Вплив гіпомелатоніємії на функціональний стан організму.....	32
1.3 Сучасні уявлення щодо епіфізарної регуляції функціонування гіпофізарно-надниркової системи.....	37
1.4 Роль пінеальної залози в регуляції статевих функцій.....	40
1.4.1 Залежність циклічності функцій гіпофізарно-гонадної системи від освітлення.....	40
1.4.2 Мелатонін і функціональна активність гіпофізарно-гонадної системи.....	43
1.5 Резюме.....	50
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	51
2.1 Дизайн експерименту.....	51
2.2 Збір матеріалу та визначення вмісту гормонів у плазмі крові.....	54
2.3 Дослідження впливу зміни режиму освітлення на репродуктивну систему.....	55
2.4 Морфометричні дослідження.....	57
2.5 Дослідження поведінкових реакцій щурів.....	57
2.6 Методи статистичної обробки результатів.....	58
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	59

3.1 Вплив зміни світлового десинхронозу на масу тіла та стан внутрішніх органів щурів.....	59
3.1.1 Характеристика показників маси тіла щурів у динаміці експерименту.....	59
3.1.2 Загальне макроскопічне дослідження стану внутрішніх органів щурів.....	60
3.2 Вплив зміни світлового режиму на мелатонінутворюючу функцію епіфіза щурів.....	62
3.3 Вплив зміни світлового режиму на стан адренокортикальної системи щурів та корекція розладів функціональної активності надниркових залоз.....	65
3.3.1 Морфометричний аналіз будови надниркових залоз щурів за умов зміни фотоперіоду.....	65
3.3.2 Вплив комплексного введення мелатоніну та спіруліни на морфоструктуру надниркових залоз щурів за умов зміни фотоперіоду.....	78
3.3.3 Аналіз гормоноутворюючої активності надниркових залоз щурів при зміні режиму освітлення та за умов корекції	83
3.4 Вплив зміни світлового режиму на поведінкові патерни щурів.....	89
3.5 Вплив мелатоніну та спіруліни на репродуктивну функцію щурів при зміненому фотоперіоді.....	98
3.5.1 Вплив профілактичного введення мелатоніну та спіруліни на морфофункціональні показники органів репродуктивної системи щурів за умов зміни режиму освітлення.....	98
3.5.2 Вплив профілактичного введення мелатоніну та спіруліни на рівень статевих гормонів самців щурів за умов зміни режиму освітлення.....	108
3.5.3 Вплив профілактичного введення мелатоніну та спіруліни на	

рівень статевих гормонів самок щурів за умов зміни режиму освітлення.....	115
РОЗДІЛ 4 ОБГОВОРЕННЯ ВЛАСНИХ І ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ....	123
ВИСНОВКИ.....	136
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	139

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВПЗ	–	вентральна частина передміхурової залози
ГАМК	–	гамма аміномасляна кислота
ГнРГ	–	гонадотропін-релізінг гормон
ДГТ	–	дигідротестостерон
E ₂	–	естрадіол
ЛГ	–	лютеїнізуючий гормон
М	–	мелатонін
НЗ	–	надниркові залози
С	–	спіруліна
СОЯ	–	супраоптичні ядра гіпоталамуса
СП	–	сім'яні пухирці
СХЯ	–	супрахіазматичні ядра гіпоталамуса
Т	–	тестостерон
ФСГ	–	фолікулостимулюючий гормон
НАТ	–	N-ацетилтрансфераза
12/12	–	групи щурів, що утримувалися при 12-годинному освітленні
24/00	–	групи щурів, що утримувалися при цілодобовому освітленні

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Відомо, що показники безпліддя в світі коливаються в широких межах, від 9 % до 29 %, а показник 15 % є демографічно небезпечним [1]. В Україні частота безплідних шлюбів становить 15-17 % та має тенденцію до зростання [2-4]. На теперішній час у країні нараховується близько одного мільйона безплідних пар [5, 6], у 40 % випадків причиною є чоловіча безплідність [7]. 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 проблема світлового забруднення – пролонгація світлової фази та скорочення терміну перебування у темряві [8]. 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 цирканнуальних ритмів окремих органів і систем є необхідною умовою їх нормального функціонування [9]. 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 [10, 11]. Втрата пінеальною залозою здатності синтезувати біологічно активні речовини призводить до

розвитку гіпопінеалізму, та, як наслідок, до цілого ряду поліендокринопатій [12]. Ці захворювання пов'язані насамперед з пригніченням мелатонінутворюючої функції пінеальної залози та нівелюванням нічного піка мелатоніну [13, 14]. 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 [15, 16]. Тривалий вплив (протягом декількох місяців) цілодобового освітлення призводить не тільки до порушення мелатонін-утворюючої функції, а також до патологічних змін мікроструктури пінеальної залози [17].

У науковій літературі є посилання на те, що на тлі порушення добових ритмів функціонування пінеальної залози відбуваються зміни гормональної активності ендокринних залоз, зокрема статевих, хоча і досі немає єдиної точки зору щодо характеру цих змін. Більшість авторів вказують на підвищення гормональної активності сім'яників на тлі пригнічення функції пінеальної залози [18-20]. В той же час, зустрічаються і протилежні дані, які свідчать про гальмування андрогенної активності [21, 22].

Останнім часом для корекції розладів репродуктивної системи за умов світлового десинхронозу, застосовується препарат мелатонін. Він може відігравати важливу роль у захисті гамет і ембріонів від окисного стресу. Крім того, однією з властивостей мелатоніну, яка в даний час широко досліджується, є антиоксидантний ефект, спрямований на захист ядерної ДНК, протеїнів і ліпідів статевих клітин [23]. 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 [24].

Отже, враховуючи наявність проблеми світлового забруднення, визначення особливостей змін, що відбуваються у адренкортикальній 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 адренкортикальної 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 та задачі дослідження. Метою роботи є встановлення наслідків деструктивного впливу довготривалих змін режиму освітлення на адренкортикальну і репродуктивну системи щурів та пошук комплексних підходів щодо їхньої фармакологічної корекції.

Відповідно до поставленої мети в ході роботи вирішувались наступні задачі:

1. Визначити динаміку зміни рівня мелатоніну у плазмі 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 самок 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 самок щурів.

Предмет дослідження – репродуктивні органи (сім'яники, сім'яні пухирці, передміхурова залоза, яєчники), надниркові залози, плазма крові (визначення концентрації мелатоніну, кортикостерону, адреналіну, тестостерону та естрадіолу).

Методи дослідження: фізіологічні, біохімічні, морфологічні, імуноферментні, статистичні.

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

Доповнено дані, щодо оцінки взаємозв'язку між репродуктивною та стресс-реалізуючою системою надниркових залоз і поведінкових патерн у щурів за умов світлового десинхронозу. Показано, що коливання гормональної активності надниркових залоз відбуваються на тлі значних морфологічних змін усіх структур органу. Визначено, що активація стрес-реалізуючих систем у щурів обох статей негативно впливала на морфофункціональний стан репродуктивної системи. Встановлено також,

що інверсія індексу тестостерон/естрадіол – його статистично значиме зниження у самців та підвищення у самок, є свідченням зменшення адаптаційних можливостей організму та гострої реакції на стресовий чинник, яким є довготривала зміна режиму освітлення.

Вперше показано, що виявлені гормональні та морфофункціональні зміни знаходяться у відповідності з результатами аналізу основних поведінкових патерн у тварин, які утримувалися при зміні режиму освітлення. У самців спостерігається пасивно-оборонна поведінка, у самок – 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 самок.

Вперше розроблено новий підхід щодо корекції та профілактики розладів репродуктивної та адренкортикальної 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 поліпшує дію мелатоніну: за цих умов гормональна активність та морфофункціональний стан надниркових і статевих залоз нормалізується 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 адренкортикальною та репродуктивною системами в умовах стресу світлового навантаження.

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. Гістоморфологічні 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.

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 нешкідливих засобів, для мінімізації маніфестації 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, фізіологія стресу і адаптації» та «Фізіологія людини, фізичного виховання і спорту».

Апробація результатів дисертації. Результати дисертації доповідалися на таких конференціях: 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 І 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 166 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 244 посилань. Робота ілюстрована 32 рисунками та 15 таблицями.

РОЗДІЛ 1

РОЛЬ ПІНЕЛЬНОЇ ЗАЛОЗИ В ЗАБЕЗПЕЧЕННІ БІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Вплив зміни режиму освітлення на морфофункціональну активність епіфізу

Механізми адаптивних і фізіологічних процесів у живих істот нерозривно пов'язані з циклічними змінами довкілля, обертанням нашої планети навколо своєї осі і одночасно навколо Сонця [28-29]. Одним з найважливіших регуляторів біологічних ритмів усіх живих організмів виступає саме світловий чинник: освітленість, фотоперіод, спектральний склад світла і кут розташування Сонця над горизонтом у нічний період доби [27, 30].

Слід зазначити, що циркадіанність найбільш повно віддзеркалює процес пристосування організму до зміни умов довкілля, що зумовило генетичне закріплення періодичності ритмічних коливань фізіологічних функцій. Усі біологічні ритми чітко підпорядковані основному водію, розташованому в супрахіазматичних ядрах гіпоталамуса, нейрони яких осцилюють з 24-годинним періодом або підлаштовуються до ритму «день-ніч» освітленням. Роботу молекулярного механізму забезпечують часові гени, а світло безпосередньо впливає на роботу тих із них, що контролюють циркадіанні ритми [27, 31-33]. Фотоперіод також впливає і на інший пейсмейкер – шишкоподібну залозу (епіфіз мозку, гулясте тіло) [34].

Епіфіз є непарною залозою, яка в процесі еволюції перетворилася в нейроендокринний трансдуктор [35]. Відповідно до Міжнародної анатомічної номенклатури його позначають терміном *glandula pinealis* (шишкоподібна залоза) [36]. У людини епіфіз досягає максимального розвитку у 5–6 років, після чого, незважаючи на тривале функціонування,

починається його вікова інволюція. До 10–15 років життя в клітинах епіфізу утворюється пігмент (ліпохром), а до періоду статевого дозрівання розміри епіфіза зазвичай зменшуються. Певна кількість пінеалоцитів зазнає атрофії, а строма розростається, в ній збільшується відкладення фосфатних і карбонатних солей у вигляді шарових кульок – мозковий пісок [37, 38]. Паренхіма залози зберігається до глибокої старості. У пінеалоцитах синтезуються пептидні гормони, найважливіші з яких аргінін-вазотоцин, вазоактивний інтерстиціальний пептид, аргінін-вазопресин, тироліберин, антигонадотропін, люліберин, тиротропін та біогенні аміни (серотонін і мелатонін) [34, 39, 40].

Епіфіз є складовою частиною фотонейроендокринної системи, саме тому фізіологічний контроль його ендокринної функції здійснюється світловим режимом навколишнього середовища [41-43]. У інтактних щурів шишкоподібна залоза оточена м'якою павутинною оболонкою, а безпосередньо до його поверхні щільно прилягає судинна оболонка. Паренхіма епіфіза складається зі спеціалізованих елементів, серед яких виділяються пінеалоцити та гліальні клітини [44]. У свою чергу пінеалоцити (*endocrinocytus pinealis*) у ссавців і людини становлять 80-90 % клітин паренхіми шишкоподібної залози [45]. Серед пінеалоцитів, відповідно до Міжнародної гістологічної номенклатури (INH), виділяють блискучі (*pinealocytus lucidus*) та щільні (*pinealocytus densus*) [46]. Перші – світліші, є головними або пінеалоцитами I-го типу; темні (гліальні) – пінеалоцитами II-го типу [47]. Світлі пінеалоцити мають добре виражене ядро з невеликою кількістю хроматину та ядерце. Вони можуть виявлятися у вигляді округлих гніздних скупчень, іноді формувати ланцюжки розосереджені вздовж внутрішньоорганних перегородок, а часом поодинокі рівномірно серед гліальних клітин [44]. Темні пінеалоцити (клітини II типу), значно менших розмірів, ніж світлі. Для них характерні темні великі ядра різноманітної форми. Ядерця у зв'язку з інтенсивним забарвленням ядер практично не

визначаються. Цитоплазма темних клітин виглядає значно світліше ядер та містить різну кількість базофільних гранул. Темні пінеалоцити розосереджені дифузно, як правило в глибоких шарах органу [44, 48]. Слід зазначити, що у інтактних статевозрілих білих щурів-самців частка світлих клітин становить приблизно 80-82 %, темних – 16-18 % [49]. При впливі когерентним світлом впродовж 10 хвилин через орган зору або безпосередньо на шишкоподібну залозу щура кількість темних пінеалоцитів збільшується [50].

Порушення світлового режиму безпосередньо впливає, як на функціональний стан епіфізу, так і на його мікроскопічну будову [51-54]. Поєднання хронічного стресу з умовами порушеного фотоперіоду, зумовленого перебуванням тварин при цілодобовому освітленні, супроводжується пригніченням функціональної активності залози [55]. Так, за умов іммобілізаційного стресу для субмікроскопічної структури пінеальної залози характерне зменшення активних пінеалоцитів та утворення на місці загиблих клітин пустот; маргінація хроматину в ядрах, що вказує на початкову стадію форсованого апоптозу; наявні гранули гетерохроматину у каріоплазмі; компактна цитоплазма з щільно розташованими органелами, поодинокими, невеликими осмофільними гранулами серотоніну [56, 57]. Також епіфізарна гіпофункція супроводжується зростанням інтенсивності метаболізму у базальних ядрах головного мозку, про що свідчить збільшення активності протеолізу у цих структурах [58]. В умовах гіперфункції залози при гіпермелатоніемії спостерігається значне просвітлення світлих пінеалоцитів за рахунок зменшення в їхніх ядрах та цитоплазмі базофільних грудочек. У темних пінеалоцитах також відмічається просвітлення ядер, з тієї ж причини [44, 56].

Слід зазначити, що порушення світлового режиму, впливає і на масу шишкоподібної залози. Так, при тривалому утриманні щурів у повній темряві вона не змінюється, проте при постійному освітленні – помітно знижується, в середньому на 25 % [59].

1.2 Вплив гіпомелатоніемії на функціональний стан організму

Світлове забруднення (електричне освітлення у нічні години) стало суттєвою частиною стилю життя сучасної людини. Воно обумовлене вуличним освітленням, рекламними щитами, що світяться, чи прожекторами. В Європі розважальні заклади спрямовують потужні пучки світла до нічного неба. Значна частина міського чи промислового освітлення відбивається вгору, що створює над містами так звані світлові куполи. У журналі *Science Advances*, зазначено що з 2012 по 2016 роки площа освітленої поверхні Землі вночі зросла на 2 % [60]. За цей період рівень освітленості в 59 країнах світу збільшився на 110-150 %, у 20 країнах – більш ніж на 150 %. Розширення світлового забруднення несе ризики для здоров'я людей. Крім того, забруднення може порушити репродукцію птахів, риб, амфібій, комах і кажанів.

Відомо, що епіфіз перетворює закодовану в нервових імпульсах інформацію про тривалість фотоперіоду в гуморальну відповідь у вигляді рівня циркулюючого мелатоніну. Саме він синхронізує ритми периферичних тканин, модулює активність нейромедіаторних систем головного мозку та всієї нейроендокринної системи [61-63].

Слід зазначити, що пінеальна залоза здатна сприймати зміни рівня освітленості навколишнього середовища через сітківку, звідки ретиногіпоталамічним шляхом (глутаматергічних проєкція – *Глу*) імпульси надходять до супрахізматичного (СХЯ), і – в меншій мірі – до супраоптичного ядер (СОЯ) гіпоталамуса [64, 65]. У темряві сигнали від супрахізматичних ядер посилюють синтез і вивільнення норадреналіну із симпатичних закінчень. У свою чергу, цей нейромедіатор збуджує рецептори на поверхні клітин шишкоподібної залози [27, 66]. Функціонально активні пінеалоцити здатні селективно зв'язувати із кровообігу амінокислоту триптофан і послідовно піддавати її гідроксилюванню та

декарбоксилюванню. При цьому синтезується епіфізарний серотонін, який є первинною субстанцією для біосинтезу індолів [64, 67, 68].

Саме перетворення серотоніну в мелатонін і секреція останнього у внутрішнє середовище організму є гуморальним сигналом про настання темного періоду доби [69-71]. Відомо що активність ферментів, які беруть участь у перетворенні серотоніну в мелатонін, пригнічується освітленням, тому рівень у крові останнього максимальний вночі, а в ранкові і денні години – мінімальний [72-74]. Від рівня мелатоніну у крові та тривалості його нічної секреції залежить характер відповіді органів і тканин до яких він надходить.

Виділяють два види мелатоніну: екстрапінеальний [75-78] і пінеальний (80 %). Екстрапінеальний мелатонін виявлено практично в усіх ділянках шлунково-кишкового тракту щурів і людини (в 400 разів більше, ніж в епіфізі); в дихальних шляхах і підшлунковій залозі, надниркових залозах і щитовидній залозі, тимусі і мозочку, сечостатевої системі і плаценті, печінці і нирках та інших органах; в еозинофільних лейкоцитах, тромбоцитах та ендотеліоцитах [79]. Таке широке поширення мелатоніну та можливість легко долати тканинні бар'єри, проходити через клітинну мембрану, відображає його важливу роль як міжклітинного нейроендокринного регулятора і координатора багатьох складних і взаємозалежних біологічних процесів [63, 80, 81]. Епіфізарний мелатонін, синтезований в пінеалоцитах, може секретуватися в порожнину третього шлуночка, в ліквор.

Пінеальний мелатонін, який вважають водієм ритму залоз внутрішньої секреції, контролює цикл «сон-неспанья» [81], добові зміни локомоторної активності, температури тіла. Секреція мелатоніну підпорядкована сезонній періодичності. У весняні місяці (подовження світлового дня) синтез гормону падає, а восени (вкорочення світлового дня) спостерігається зворотна картина [82]. Тривалість нічного підвищення рівня мелатоніну більше в зимовий період, ніж у літній [83]. Крива добової секреції даного індолюного

гормону у денних і нічних тварин має подібний профіль, хоча й існують певні видові відмінності. У людини, після настання темряви, концентрація мелатоніну зростає поступово, досягаючи свого максимуму в середині темної фази доби [78, 84]. Так, концентрація гормону, мінімальна вдень (1–3 пг/мл). Уночі концентрація мелатоніну в крові в 5–10 разів вище денного рівня і досягає свого піку до 3-ї години ночі, потім його кількість знижується до 7-ї години ранку і до вечора залишається дуже низькою. У людини на нічні години припадає 70 % добової продукції мелатоніну. Зміни концентрації денного/нічного ритмів також виявлено у слині, жіночому молоці, амніотичній рідині та сечі [85, 86]. Слід зазначити, що наукових праць, у яких розглядаються циркануальні зміни синтезу мелатоніну у чоловіків та жінок різних вікових груп, обмаль [87, 88].

Відомо, що зміна фотоперіоду у добровольців, в умовах освітлення вночі в продовж двох тижнів, супроводжується зниженням рівня мелатоніну та порушеннями фізіологічних механізмів [72, 89]. У той же час тривале освітлення у нічні години призводить до серйозних розладів поведінки і функціонального стану на молекулярному, клітинному та організменному рівнях [90, 91]. Виявлена залежність між інтенсивністю освітлення та синтезом мелатоніну. Вплив яскравого світла вночі (~2500 лк) повністю пригнічує секрецію мелатоніну, особливо при синьо-зеленому освітленні. Виявлено, що у жінок секреція мелатоніну є більш чутливою до нічного світла, ніж у чоловіків [92, 93].

Встановлено, що цілодобове освітлення негативно відбивається на функціонуванні організму, викликаючи патофізіологічні зміни майже в усіх системах [76, 94]. Порушуються негативні і позитивні зворотні взаємозв'язки, діяльність серцево-судинної, дихальної, травної та інших систем, в органах яких зосереджені мелатоніновмісні клітини. Не проявляється ієрархічний принцип функціонування мелатонін-продукуючої системи [95, 96]. Саме з періодом штучного подовження тривалості світлової

добі пов'язана поява «хвороб цивілізації», до яких і належать поліендокринопатії (цукровий діабет, метаболічний синдром, патологія статевих та щитовидної залози). Причинно-наслідкові відносини, ймовірно, теж існують між порушенням природного світлового режиму і виникненням тиреоїдної патології та захворюваннями статевих залоз невизначеного генезу (ідіопатичні форми).

Слід зазначити, що серед серйозних проблем зі здоров'ям позмінних працівників є, саме, порушення сну, метаболізму, шлунково-кишкові захворювання та високий ризик захворювання діабету. Також у цій групі частіше, ніж у працюючих денних змін, спостерігається ожиріння, високий рівень тригліцеридів і холестерину [72].

При освітленні в темновий час доби, як у людини, так і у тварин (щурів), що ведуть активний нічний спосіб життя, посилюється секреція соляної кислоти в шлунку, сприяючи розвитку виразкового дефекту стінки, проявляється синдром подразненого кишечника [97]. Частішає серцевий ритм і частота дихання, підвищується рівень артеріального тиску. Серцево-судинна система зазнає значного напруження особливо в досвітні години, коли відбувається переналаштування вегетативної регуляції циркадіанним годинником організму [98-102]. Загалом, судинні рецептори мелатоніну визначають розвиток як судинозвужувального, так і судинорозширювального ефектів [103].

Виявилося, що виникнення та прискорення темпів прогресії гормонально залежних пухлин зростає з почастищенням нічного безсоння, збільшенням рівня нічного освітлення і при роботі в нічну зміну [93, 104]. Існують дані про збільшений ризик раку товстої кишки і раку прямої кишки у жінок, які працюють на радіо і телеграфі [77]. Аналіз даних Гарвардського дослідження з вивчення стану здоров'я 79 тисячних медичних сестер, виявив, що жінки, які працюють в нічні зміни, мають більш високий ризик раку молочної залози. Також встановлено, що рак товстої і прямої кишки

зустрічаються частіше у робітників, які мають не менше трьох нічних змін на місяць впродовж п'ятнадцяти і більше років [72]. Підвищений ризик злоякісних лімфом виявлений серед ісландських стюардес, також зазначено про збільшений ризик виникнення раку простати у скандинавських пілотів авіаліній залежно від кількості тривалих рейсів [77].

Встановлено, що порушення циркадних ритмів організму внаслідок впливу постійного світла мало стимулюючу дію на канцерогенез в печінці щурів [105]. Також спостерігали істотне збільшення кількості аденокарцином у висхідному і низхідному відділах товстої кишки у щурів, які перебували в умовах постійного освітлення, в порівнянні з щурами, які знаходилися в умовах природного світлового режиму [72].

Застосування епіфізарного гормону пригнічує канцерогенез у тварин як при звичайному світловому режимі, так і при постійному освітленні. На системному рівні мелатонін знижує продукцію гормонів, які сприяють старінню і раку, стимулює імунну систему, попереджає розвиток метаболічного синдрому. Одночасно пригнічується продукція вільних радикалів кисню і активується антиоксидантний захист. Мелатонін гальмує проліферативну активність клітин і підвищує рівень апоптозу в пухлинах, але зменшує його в нервовій системі, пригнічує активність теломери. На генетичному рівні він пригнічує дію мутагенів і кластогенів, а також експресію онкогенів [72].

Порушення добового ритму секреції мелатоніну призводять до змін у поведінкових реакціях і когнітивних функціях: дисфорії, дратівливості, розладів пам'яті і здатності концентрувати увагу, депресивних розладів, а також до виникнення різних психічних захворювань (наприклад, ендогенна депресія) [93]. Численними дослідженнями доведено, що мелатонін контролює біоелектричну активність мозку, впливаючи на розвиток епілептичних нападів [106]. Припускають, що момент статевого дозрівання α -ритмів, який співпадає з періодом статевого дозрівання людини, залежить

від нейроендокринних впливів, які встановлюють психостатеву зрілість. Епіфіз регулює рівень цієї зрілості та загальне формування мозку. Призначення мелатоніну – блок α -ритмів. Таким чином, прогресуюче зниження синтезу мелатоніну в дитячому віці полегшує дозрівання α -ритму [106], особливо у період статевого дозрівання, коли кількість гормону в крові найбільш явно знижується [107].

Таким чином, на сьогодні визначена роль мелатоніну як універсального адаптогену. Різноманітні зміни його секреції, що виходять за межі фізіологічних коливань, здатні призвести до неузгодженості як власних біологічних ритмів організму між собою, так і ритмів організму з ритмами навколишнього середовища. Як внутрішній, так і зовнішній десинхронози можуть бути причинами різних патологічних станів і супроводжувати захворювання органів шлунково-кишкового тракту, серцево-судинної, нервової, імунної та, особливо, репродуктивної систем [108-111].

1.3 Сучасні уявлення щодо епіфізарної регуляції функціонування гіпофізарно-надниркової системи

Активність надниркових залоз перебуває під контролем гіпофіза та гіпоталамуса, а вони, в свою чергу, під контролем позагіпоталамічних структур мозку [112]. До таких структур відноситься й епіфіз, гормон якого мелатонін є координатором добових та сезонних ритмів активності нейроендокринної системи, а сама залоза забезпечує високу ступінь адаптації організму до умов існування [85].

Своєрідна морфологія надниркових залоз, які у кірковій речовині містять три концентричні зони – клубочкову (складає 10-15 % товщини кори і найбільш мітотично активну), пучкову (80 % товщини кори) і сітчасту (на частку якої припадає 5-10 % товщини кори і найбільшу кількість апоптотичних тілець), а мозкова речовина має хромафінну тканину – забезпечує врахування залозами внутрішнього гормонального фону та

опосередковане надання впливу ряду факторів зовнішнього середовища на фізіологічні процеси і поведінкові реакції [113].

Кіркова речовина надниркових залоз захоплює з крові ліпопротеїди низької щільності і утилізує наявний у складі ліпопротеїдних частинок холестерин для вироблення стероїдних гормонів. Холестерин перетворюється в стероїдогенних клітинах в 5-прегненолон, що в клубочковій зоні, у свою чергу, перетворюється в прогестерон, останній – в кортикостерон. Загалом, глюкокортикоїди виробляються не тільки пучковою, але й сітчастою зоною. У свою чергу, не тільки сітчаста, але і пучкова зона виділяє статеві стероїди [113]. Надниркові андростероїди діють на андрогенний рецептор і беруть участь у формуванні чоловічих вторинних статевих ознак. І у чоловіків, і у жінок вони мають відношення до формування лібідо, агресивності, домінантної поведінки і анаболічних ефектів, особливо, в м'язах [114]. У свою чергу, біохімічні ефекти глюкокортикоїдів складають основу стресорної адаптації.

Епіфіз – важливий елемент антистресового «захисту» організму, в якому мелатоніну відводиться роль фактора неспецифічного захисту [41, 78]. У високоорганізованих тварин, і особливо людини, стартовим моментом розвитку стресу є негативні емоції. Мелатонін сприяє ослабленню емоційної реактивності. При стресовій дії цілодобового освітлення [61, 115, 116], відбувається стимуляція секреції в кров гормонів: кортиколіберину, вазопресину, окситоцину та кортикостероїдів. Останні, проникаючи через гематоенцефалічний бар'єр, гальмують синтез і секрецію кортиколіберину, а також активність нейронів СХЯ і СОЯ [117]. У свою чергу, ГАМК-ергічна проекція зі СХЯ пригнічує синтез і секрецію мелатоніну в шишкоподібній залозі [118-121].

Відомо, що збільшення тривалості освітлення вночі навіть на 2-3 години є стресовим фактором для організму. Хронічний стрес, на тлі збільшення тривалості освітлення вночі, призводить до вираженої

неузгодженості добових біоритмів, при цьому виникають проблеми зі сном, змінюється електроенцефалограма, порушується секреція ряду біологічно активних сполук [70, 91].

Тривале перебування в умовах постійного освітлення зумовлює повне пригнічення синтезу мелатоніну шишкоподібною залозою, що спричиняє десинхронізацію глюкокортикоїдної функції надниркових залоз [67, 122]. Це призводить до порушення узгодженого функціонування стрес-реалізуючих та стрес-лімітуючих систем. За умов гіперфункції шишкоподібної залози відмічене збільшення середнього діаметра епітеліоцитів пучкової зони кіркової речовини надниркових залоз. Вплив іммобілізаційного стресу та постійного освітлення ізолювано один від одного на організм тварин, характеризується вираженою реакцією надниркових залоз на подразник та підвищенням рівня кортикостерону в крові на 60-80 % порівняно з контролем [122]. Утримання тварин при цілодобовому освітленні призводить до інверсії та зменшення амплітуди добового ритму секреції кортикостерону. Комбінована дія зазначених факторів призводить до виснаження адаптаційних можливостей стрес-реалізуючих систем організму [44, 91, 122].

Загалом, мелатонін підключається до ендокринної регуляції тільки у випадках різких відхилень у роботі надниркових залоз. Він відіграє суттєву роль у нормалізації післястресових станів організму, яка обумовлена його впливом на нейромедіаторні системи та синхронізацію циркадіанної ритміки. При дослідженнях на тваринах в умовах стресу мелатонін попереджає підйом рівня нуклеїнових кислот і зниження вмісту глікогену, а також протидіє збільшенню ядерно-цитоплазматичного співвідношення, яке приймається за морфометричний критерій підвищеної збудливості клітин. Впливаючи одночасно на нейроендокринну та імунну системи, мелатонін оптимізує гомеостаз [87, 104, 122].

На сьогоднішній день встановлена властивість мелатоніну безпосередньо взаємодіяти із вільними радикалами та впливати на гени, які

кодують антиоксидантні ферменти [123, 124]. Інтенсивність синтезу мелатоніну може значно змінюватись в умовах різної освітленості, що впливає на стан антиоксидантної системи в цілому. Загалом, мелатонін виявляє радіопротекторну, антистресорну дію, покращує мікроциркуляцію, стимулює імунну відповідь, регенерацію, пригнічує апоптоз та сповільнює старіння [125, 126].

Таким чином, 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 органу широко досліджується впродовж останніх десятиріч [127-131]. Однак, не дивлячись на велику кількість наукових публікацій, маловивченими залишаються питання, які стосуються морфофункціональних змін в епіфізі при хронічному стресі поєднано з умовами порушеного світлового режиму.

1.4 Роль пінеальної залози в регуляції статевих функцій

1.4.1 Залежність циклічності функцій гіпофізарно-гонадної системи від освітлення

Умови освітленості відносяться до одних з найбільш потужних чинників зовнішнього середовища, що впливають на ендокринні, і, в першу чергу, репродуктивні органи [132]. Зміни тривалості світлового періоду протягом року детермінують сезонні коливання ендокринної функції гонад, змінюють статеві інстинкти у багатьох видів ссавців.

Відомо, що головним регуляторним фактором, що забезпечує циклічну функцію як жіночих, так і чоловічих периферичних статевих залоз, є синтез і секреція в кров пептидного гонадотропін-рилізінг гормону (ГнРГ), або гонадоліберину, відповідними нейронами гіпоталамусу. Регулювання його секреції відбувається двома сигналами, один із яких має гуморальну природу і працює за механізмом зворотного зв'язку, згідно з яким підвищення рівня

статевих стероїдів у крові призводить до зниження рівня ГнРГ і гонадотропінів. Другий сигнал, необхідний для секреції ГнРГ, має нейрональну природу, і щоденно надходить від циркадіанного осцилятора СХЯ. Окрім цього, циркадіанний контроль за синтезом та секрецією ГнРГ виконується і нейрогуморальним шляхом, а саме мелатоніном [133].

Слід зазначити, що у тварин (а також у людини), які виявляють здатність до розмноження протягом року, максимальна активність мелатонінутворюючої функції пінеальної залози спостерігається у зимові місяці (з листопада по лютий), тобто в період короткого світлового дня та відзначається сексуально пасивна фаза. Навесні (березень – квітень) при збільшенні тривалості світлового дня й зниженні рівня циркулюючого в крові мелатоніну – спостерігається фаза відновлення статевої активності. Влітку (із травня по вересень) – у період довгого світлового дня й мінімальної продукції мелатоніну – сексуально активна фаза; восени (вересень – жовтень) – світлозалежна (і відповідно мелатонінзалежна) фаза пригнічення статевої активності [134]. Найбільш виражені сезонні ритми біосинтезу і секреції тестостерону у тварин, які змушені адаптуватися з народженням потомства до певної пори року. Їхня висока гормональна активність співпадає з темпом розмноження й плодовитістю. Людині теж властива сезонна ритмічність процесів розмноження (запліднююча здатність сперматозоїдів знижується влітку), проте, вона нівельована у зв'язку з штучним подовженням тривалості світлового дня та комфортними умовами проживання [135].

Функціональна епіфізектомія (тривале перешкоджання формування нічного піка мелатоніну) перетворює тварину із сезонним типом розмноження в тварину з перманентним типом розмноження. Проте це не відноситься до тварин з відносно великою тривалістю життя – таким, наприклад, як вівця, олень [136].

Дані про зміну у жінок продукції мелатоніну залежно від фази менструального циклу мають неоднозначний характер [71, 137]. R.J. Reiter

[121] не виявив відмінностей у секреції мелатоніну на різних стадіях менструального циклу. Інші вчені встановили, що у молодих жінок з нормальним менструальним циклом мінімальні рівні мелатоніну реєструються в овуляторну фазу [138]. Зниження екскреції мелатоніну в цей період, на думку С.В. Герман [139], сприяє зменшенню інгібуючого впливу на гонади і, очевидно, пов'язано з настанням овуляції і з подальшим розвитком жовтого тіла на тлі ще не різко збільшеної інкреторної функції епіфіза. Також фізіологічний цикл вагітності і настання пологів тісно пов'язані з циркадіанними та циркануальними ритмами різних функцій організму. Так 84,42 % усіх пологів починаються в другу фазу передбачуваного менструального циклу, що пояснюється зниженням секреції епіфізом мелатоніну саме в цю фазу циклу [140]. З іншого боку, Viswanathan і Davis [141] повідомляють, що введення мелатоніну в денний або нічний час у стандартних лабораторних умовах вагітним самкам хом'ячків з пошкодженням СХЯ не впливає на час настання пологів. Тобто, саме СХЯ, а не ритм секреції мелатоніну визначає час початку пологів [141].

У чоловіків добові ритми статевої активності, особливо сексуальної, чітко простежуються. Вони максимальні в період найбільшого підйому тестостерону в крові, тобто в досвітній час. Зокрема, відомо що у чоловіків концентрація тестостерону в крові найбільш висока в останній чверті нічного сну (04.00 – 08.00), а найнижча – уночі (з 24.00 до 04.00) [135, 142]. Аналогічні коливання зазнає й рівень вільного, не зв'язаного з білками крові тестостерону, що і визначає мотивацію та форми статевої поведінки [141, 143]. Ранкове підвищення концентрації тестостерону пов'язане із активізацією гормональної функції сім'яників, що є наслідком збільшення чутливості клітин Лейдіга до лютеїнізуючого гормону. В свою чергу, посилення лютеїнізуючої та фолікулостимулюючої функції гіпофіза вранці регулюється зняттям так званого «мелатонінового гальма» [144]. Приуроченість сексуальної активності у ранні ранкові години притаманна й

молодим чоловікам, проте вона майже зникає в старості, коли циркадні ритми формування нічного піка мелатоніну та пов'язаного з цим рівня тестостерону виражені дуже слабо [145, 146].

У ссавців видалення епіфіза викликає збільшення маси тіла; у самців – гіпертрофію сім'яників і посилення сперматогенезу, а у самок – подовження періоду життя жовтих тіл яєчника та збільшення матки. Схожа картина, а саме зменшення маси сім'яників та додаткових статевих органів на тлі посиленого біосинтезу мелатоніну в пінеальній залозі спостерігається за умови тривалого знаходження тварини в умовах темряви [147]. Встановлено, що у самців щурів, яких утримували протягом 72 діб в умовах постійної темряви, маса яєчок, сім'яних пухирців і простати становила – 29; 6,2 і 6 % відносно відповідних показників контрольних тварин, виявлялися ознаки атрофії цих органів, а в сім'яниках спостерігалось різке пригнічення сперматогенезу [148].

Таким чином, нормальну ритмічну нейрогуморальну регуляцію системи репродукції забезпечують прямі і зворотні зв'язки між шишкоподібною залозою і гіпофізарно-гонадною системою. У тварин, розмноження яких прямо пов'язано із сезоном, на тлі гіпофункції пінеальної залози, гормональна активність і, як наслідок, статеве поведінка посилюються.

1.4.2 Мелатонін і функціональна активність гіпофізарно-гонадної системи

Пініальна залоза, робота якої залежить від інтенсивності освітлення, регулює процеси статевого дозрівання і репродукції у тварин і людей завдяки індольному гормону мелатоніну [84, 143]. Про це, зокрема, свідчить виявлення рецепторів до даного гормону в репродуктивних органах і наявність рецепторів до статевих стероїдів в самій залозі [128, 149]. Загалом, мелатонін сприяє затримці спонтанного відкриття піхви, зменшенню об'єму

яєчників, зниженню частоти фаз естрального циклу та визначає ритмічність гонадотропних ефектів, у тому числі і тривалість менструального циклу.

Мелатонін пригнічує секрецію гонадотропінів на рівні гіпоталамусу та гіпофізу [126, 138, 150]. Так, механізм включення репродуктивної функції включає активацію гонадотропної функції гіпофізу при зниженні рівня мелатоніну в період статевого дозрівання та, як наслідок, вироблення фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) і лютеїнізуючого гормону (ЛГ), які стимулюючи впливають на статеві залози. Таким чином зміна режиму освітлення впливає на добову концентрацію фолікулостимулюючого гормону, який, в свою чергу, регулює утворення сперми у чоловіків і дозрівання яйцеклітин у жінок. Надлишок фолітропіну викликає передчасне статеве дозрівання, недостатня кількість – є причиною появи безпліддя.

Добова зміна концентрації мелатоніну впливає на рівень пролактину, окситоцину та ЛГ. У зв'язку з цим він опосередковано регулює, відповідно, розвиток статевих залоз і лактацію; скорочення гладеньких м'язів матки під час родової діяльності і скорочення м'язових волокон розміщених навколо альвеол молочних залоз, при виділенні молока та прояв материнської прив'язаності; овуляцію і секрецію естрогену. У свою чергу, ЛГ за рахунок блокування трансляції інформаційної РНК ферменту NAT (N-ацетилтрансферази), пригнічує секрецію епіфізарного мелатоніну. Такі властивості має і тестостерон. Останній може метаболізуватися у двох напрямках: з утворенням естрадіолу (і відповідно втратою андрогенних властивостей) або 5 α -відновлених метаболітів, коли утворюються андрогени більш активні, ніж сам тестостерон [135]. Перетворення тестостерону у естрадіол здійснюється за участю ферменту ароматази, у ДГТ – 5 α -редуктази. Коливання вмісту андрогенів в організмі може бути обумовлено як фізіологічними причинами (добові і сезонні ритми, вікові зміни), так і порушенням функції клітин Лейдіга і, відповідно, зниженням концентрації тестостерону або розладом його обміну і рецепції [151] Так, встановлено, що

при утриманні тварин у темряві або в умовах скороченого добового періоду освітлення в пінеальній залозі активується N-ацетилтрансфераза, внаслідок чого відбувається посилення синтезу мелатоніну [152].

Пролактин у щурів вважається третім гонадотропним гормоном, який приймає участь у здійсненні оваріального циклу [20]. Проте літературні дані з цього питання неоднозначні. Одні автори виявили стимулюючий ефект мелатоніну на секрецію пролактину, в той час як інші – пригнічуваний, не вказуючи при цьому, як правило, часу проведення експерименту [153]. Е.Б. Арушанян [63] виявив, що тривале (протягом кількох тижнів) введення мелатоніну людям знижує рівень пролактину в плазмі крові.

За результатами досліджень Харківського інституту ендокринної патології, за півтори години до, після та упродовж сонячного затемнення у крові кроликів, яка відтікала від сім'яників практично відсутній тестостерон та його попередники – дельта-4-андростендіон, 17-альфа-прогестерон та прогестерон. Тобто, у цей час біосинтез андрогенів у яєчках повністю блокується, що, ймовірно, пов'язано з посиленням мелатонінутворюючої функції епіфізу у відповідь на темноту. У той же час, вночі після затемнення Сонця (через 12-ть годин), у периферичній крові щурів зафіксовано дворазове зменшення концентрації тестостерону та відповідне збільшення пролактину, у епіфізі – чотирьохкратне зменшення мелатоніну, за відношенням до норми. Таке різке зниження нічного піку мелатоніну дослідники пов'язують з його високою продукцією вдень, під час затемнення [154].

Пригнічення мелатонінутворюючої функції епіфізу при постійному освітленні призводить до посиленого виділення статевих стероїдів порушуючи при цьому жіночий репродуктивний цикл та згубно впливаючи на виживання в цілому [155], у зв'язку з індукуванням повного пригнічення циркадіанних ритмів температури тіла та рухової активності у щурів. Надмірна секреція андрогенних стероїдів під час статевого дозрівання або в

період статевої зрілості особливо небезпечна для формування жіночої репродуктивної системи, так як призводить до патологічних змін в нейроендокринній регуляції секреції гонадотропних гормонів і статевій поведінці [156] та до різноманітних розладів репродуктивної функції [157-159]. Причиною формування таких зрушень під впливом постійного освітлення є не тільки підвищення продукції ФСГ і зменшення рівня ЛГ у гіпофізі, а і зниження рівня дофаміну, функціонального антагоніста мелатоніну й норадреналіну в гіпоталамусі [160].

Вплив зміни режиму освітлення у бік збільшення тривалості фотоперіоду, особливо світло у нічні години, викликає ановуляцію і прискорене виключення репродуктивної функції у гризунів та до дисменорії у жінок [161]. Так, у лабораторних гризунів штучне збільшення тривалості світлового періоду на 2-4 години викликає подовження естрального циклу і у деяких випадках порушує його. При постійному освітленні 24 години на добу у більшості щурів та мишей відбувається пригнічення естральної функції та дуже швидко розвивається синдром персистуючого еструсу, що переходить в анеструс, що є фізіологічним еквівалентом клімаксу в жінок [162]. У яєчниках таких тварин утворюються кісти, спостерігається гіперплазія клітин, які продукують статеві гормони та відсутність жовтих тіл [160]. Замість циклічної секреції гонадотропінів, пролактину, естрогенів та прогестерону, характерної для нормального репродуктивного періоду ці гормони продукуються ациклічно, викликаючи гіперпластичні процеси в матці та молочних залозах [143]. Такі патологічні зміни та наявність персистуючого еструсу знижує толерантність до глюкози і чутливість до інсуліну, що в кінцевому результаті порушує обмін вісцерального жиру [162]. У жінок на тлі зниженого продукування жіночих статевих гормонів та зміни їх співвідношення розвиваються вазомоторні симптоми, ендокринно-обмінні, нервово-психічні, пізніше генітоуринарні порушення, серцево-судинні захворювання та ендотеліальна дисфункція [163]. В той же час

великі дози гормону мелатоніну спрацьовують як контрацептивні засоби. Так, щоденне споживання 75 мг мелатоніну у поєднанні з прогестероном викликає у жінок пригнічення овуляції, не порушуючи при цьому менструальний цикл та стимулюючи статевий потяг [164].

Вплив світла вночі скорочує тривалість менструального циклу у жінок з більш пролонгованим (біля 33 днів) циклом: так серед досліджуваних медичних сестер, які часто працюють у нічну зміну – у 70 % виник його збій, у 60 % він став коротшим (25 днів) [164]. Деякі дослідження свідчать, що мелатонін впливає на секрецію гормонів під час вагітності та виживання плодів. Guerrero M.O. та співавтори [165] повідомили, що видалення шишкоподібної залози індукує викидень у вагітних щурів. Це пов'язано з тим, що в умовах нестачі мелатоніну в організмі відбувається активація тромбоцитів та порушення периферійного кровообігу зі зниженням судинного опору і підвищенням проникності судинної стінки, що призводить до порушення мікроциркуляції. У дослідженні О.Н. Аржанової і співавторів [166] виявлена експресія рецепторів мелатоніну у всіх структурних елементах ворсинчастого хоріона. Автори показали зниження площі експресії мелатоніну у 2,1 рази у вагітних з фетоплацентарною дисфункцією та гестозом, що враховуючи ангіотропні та загальнорегуляторні ефекти дії мелатоніну, пов'язане з порушенням мікроциркуляції, трофіки та проліферації клітинних елементів плаценти, які є морфологічним вираженням патофізіологічних механізмів розвитку плацентарної недостатності [166]. Відомо, що материнський мелатонін проникає крізь плаценту і його рівні в плазмі крові схильні до двофазної динаміки під час вагітності – підвищуються протягом перших 20 тижнів гестації, потім знижуються протягом 20-36 тижнів перед черговим підйомом упродовж 36-42 тижнів [167]. Дослідження, проведене на щурах, дозволило встановити, що мелатонін, циркулюючий в материнській крові, утворюється в материнській шишкоподібній залозі і його рівень збільшується під час

вагітності завдяки стимулюючому впливу плаценти [167]. Пінеалектомія ж у овець призводила до переривання вагітності.

Вплив мелатоніну на імунну систему, зокрема на її цитокінову ланку, також зараз активно вивчається. Роботи дослідників показують, що даний гормон дещо «пом'якшує» запальну імунну відповідь при сепсисі шляхом зниження рівня інтерлейкіну-6 (IL-6) та підвищення рівня інтерлейкіну-10 (IL-10) [168]; також відомо, що він (в експерименті на мишах) зменшує стрес-індуковане запалення [169]. Враховуючи це, можна припустити, що мелатонін відіграє важливу роль у встановленні фізіологічних взаємозв'язків між імунною системою матері та вагітністю як на етапі імплантації, так і в процесі формування трофобласту/плаценти.

Слід зазначити, що стимулювання інкреторної та генеративної функції сім'яників відбувається за рахунок активації гіпоталамо-гіпофізарної системи, насамперед, гіпоталамічного гонадоліберину і гіпофізарних гонадотропінів, а гальмування, навпаки, за рахунок активації гормональної активності пінеальної залози і, передусім, біосинтезу і секреції мелатоніну. В умовах цілодобового освітлення протягом 5 місяців Л.О. Бондаренко і співавт. [155] спостерігали як про-, так і антигонадні ефекти в сім'яниках залежно від тривалості гіпопінеального стану. Посилення андрогенної активності на початкових термінах (1 місяць) змінювалося прогресуючим гальмуванням інкреторної та генеративної функції сім'яників внаслідок перебудови морфоструктури: відбувалось зменшення кількості клітин Лейдіга та зумовлене цим порушення сперматогенезу [170].

Встановлено, що ризик появи раку зростає при збільшенні частоти нічного безсоння, підвищенні рівня освітлення у нічні години та при праці у нічні години [171]. Ще в 1964 році німецький дослідник В. Йохле відзначив, що при цілодобовому освітленні кількість пухлин молочної залози і зумовлена ними смертність значно вища у порівнянні з тваринами, які знаходилися при природному режимі. «Гіпотеза мелатоніну» передбачає, що зниження виробництва мелатоніну в шишкоподібній залозі може підвищити

ризик розвитку раку молочної залози у людини, оскільки зниження виходу мелатоніну призведе до збільшення рівня жіночих статевих гормонів і буде стимулювати проліферацію тканин молочної залози [172]. За дослідженнями датських вчених, праця у нічні години, статистично значимо збільшує ризик розвитку раку молочної залози у жінок віком 30-54 років. Аналогічні спостереження відмічені у Фінляндії та США при медичному огляді стюардес. При цьому ризик зростає зі збільшенням стажу роботи [173]. Збільшення ризику раку молочної залози і колоректального раку виявлено серед жінок, які часто не спали протягом нічного періоду, близько 1:30 ранку, коли рівень мелатоніну, як правило, знаходиться на найвищому рівні [174, 175]. Вплив постійного освітлення супроводжувалося прискоренням розвитку спонтанних маткових гемангіом і сарком у самок мишей [176]. За даними О.І. Смирнової гіперпластичні процеси в молочній залозі та мастопатія властива 78-88 % самкам щурів які знаходилися 7 місяців під впливом постійного освітлення. Цілодобове освітлення впродовж 18-ти місяців призводить до загибелі майже половини самок, тоді як при стандартному режимі утримання виживання склало майже 90 % тварин [156]. Збільшення появи ризику раку простати у скандинавських пілотів, ймовірно, пов'язаний з порушенням добових ритмів під впливом світла вночі, що призводить до скорочення виділення мелатоніну, який є відомим блокатором канцерогенезу [176].

Постійне освітлення збільшує поріг чутливості гіпоталамусу до дії естрогенів, які пригнічують його діяльність. Цей механізм лежить в основі старіння репродуктивної системи у самок щурів та жінок [41]. Блокада функції епіфіза при постійному режиму освітленні або порушенні функції епіфіза за рахунок сезонних коливань освітленості пришвидшує темпи старіння організму самок щурів, скорочує їх тривалість життя [177]. Зазначається що у хлопчиків, які знаходяться на ранніх етапах статевого дозрівання рівень епіфізарного мелатоніну статистично значимо нижчий за рівень дорослих чоловіків. У процесі статевого дозрівання, на тлі загального

збільшення рівня мелатоніну у сечі, відбувається зменшення його екскреції у нічні часи. Різниця між його нічною і денною концентрацією скорочується до 10 разів. У дівчат такі зміни не виявлені [178].

Відзначено, що у дітей з уповільненим статевим дозріванням рівень мелатоніну вищий. Якщо вміст гормону продовжує залишатися високим (у п'ять і більше разів вище вікової норми), статеве дозрівання затягується надовго [178]. Ймовірно, завдяки мелатоніну дорослі люди бачать еротичні сни, а сон переходить в «швидку стадію» (парадоксальний сон) і в пам'яті оживають яскраві емоційні переживання.

1.5. Резюме

Узагальнюючи наведені відомості зазначимо, що вплив світла вночі призводить до: пригнічення синтезу й секреції мелатоніну; збільшення синтезу й секреції пролактину; підвищення порогу чутливості гіпоталамуса до гальмування естрогенами; індукування ановуляції й утворення кіст та дисменорії у жінок; прискорення вимкнення репродуктивної функції у гризунів, пов'язаного з віком; посилення утворення активних форм кисню. Проте, у науковій літературі і до теперішнього часу, немає єдиної точки зору щодо характеру зміни гормональної активності як надниркових, так і статевих залоз за умов пролонгованого світлового періоду.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Дизайн експерименту

Дисертаційна робота виконана відповідно до планів кафедри анатомії і фізіології людини імені д.мед.н., проф. Я. Р. Синельникова природничого факультету ХНПУ імені Г. С. Сковороди в рамках наукової теми, прийнятої рішенням вченої ради ХНПУ імені Г. С. Сковороди «Вплив факторів середовища на організм в онтогенезі», № держреєстрації 01870228336.

Дослідження проведено на 280 статевозрілих самцях та самках щурів популяції Wistar з вихідною масою тіла 120-140 г та кінцевою 280-320 г. Репрезентативна вибірка сформована методом випадкового відбору тварин з генеральної сукупності. Розподіл на експериментальні групи проведено рандомним методом [179]. Дослідження проведено 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 рівнозначними за плинністю часу і становили 12 годин на добу. Тварин третьої групи (24/00-група) утримували в умовах постійного цілодобового освітлення (24 годин 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 люксметра «Ю-117», складала 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» [180, 181], Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» [182], «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених II національним конгресом з біоетики [183].

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

група К – контроль, (підгрупи а – самці та б – самки) – тварини знаходилися в умовах природного освітлення;

група 12/12, (підгрупи а – самці та б – самки) – тварини знаходилися при штучному освітленні впродовж 12 годин на добу, з 6 години ранку до 18 години вечора протягом 3,5 міс.;

група 24/00, (підгрупи а – самці та б – самки) – щури утримувалися при цілодобовому штучному освітленні впродовж 3,5 міс.;

група 12/12+М, (підгрупи а – самці та б – самки) – тварини отримували у вечірній час препарат «Віта-мелатонін» (Київський вітамінний завод).

група 12/12+М+С, (підгрупи а – самці та б – самки) – тваринам цієї групи на тлі зміненого фоторежиму вводили у ранковий час препарат спіруліни («Spirulina», Solgar, USA) та ввечері «Віта-мелатонін».

група 24/00+М, (підгрупи а – самці та б – самки) – на тлі цілодобового освітлення тварини отримували у вечірній час препарат «Віта-мелатонін».

група 24/00+М+С, (підгрупи а – самці та б – самки) – тваринам цієї групи на тлі зміненого фоторежиму вводили у ранковий час препарат спіруліни («Spirulina», Solgar USA) та ввечері «Віта-мелатонін».

Препарати вводилися щурам внутрішньошлунково, за допомогою зонду, у 2 % розчині крохмалю. Спіруліна («Spirulina», Solgar USA) вводилася 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) вводився одноразово у дозі 0,15 мг/кг м.т., ввечері, з 19 до 20 год. курсами тривалістю 1 місяць, з тижневою перервою, усього 3 курси.

Дослідження проведені за схемою (рис. 2.1).

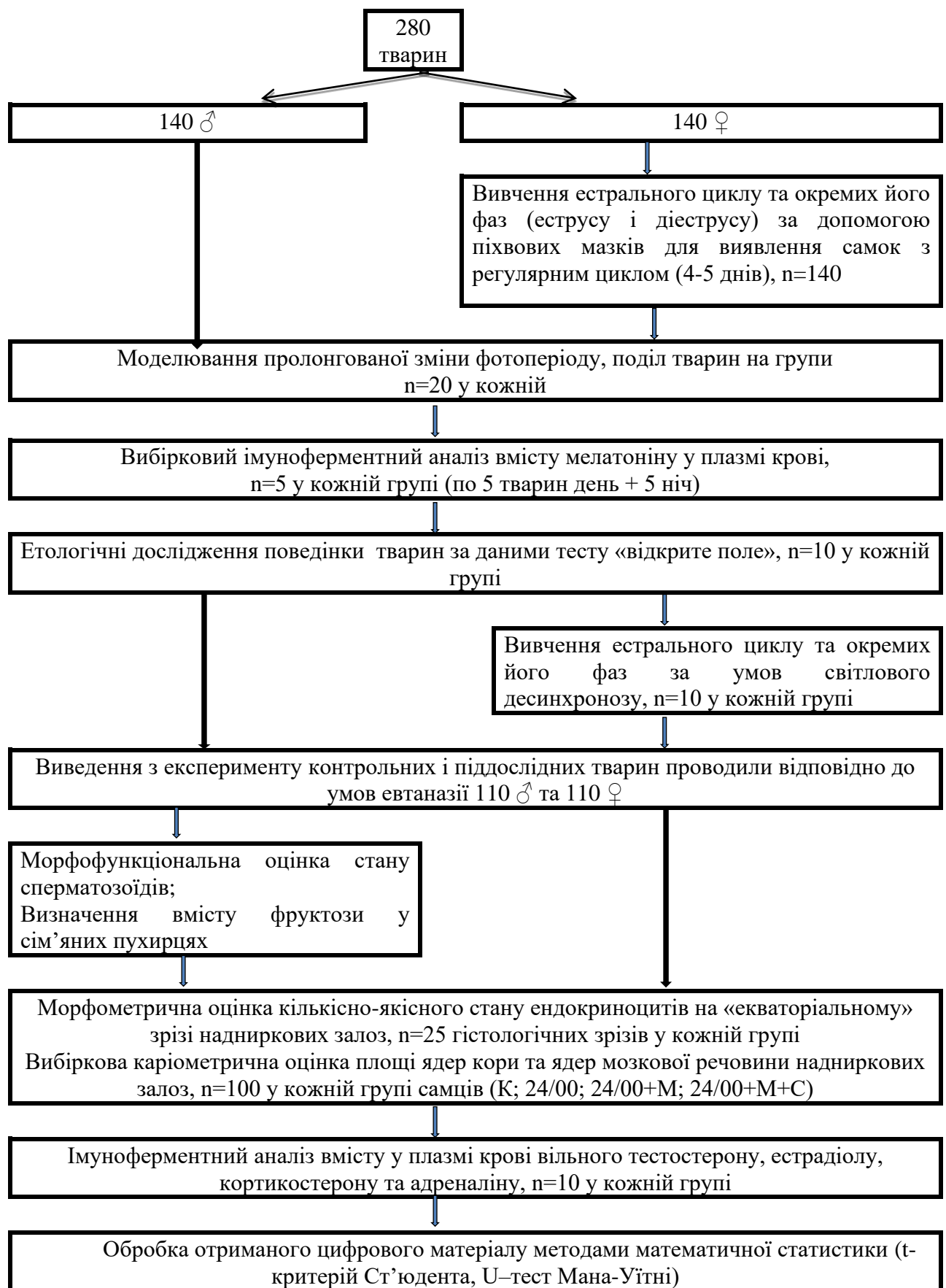


Рис. 2.1. Схема дослідження

Виведення з експерименту контрольних і піддослідних тварин проводили відповідно до умов евтаназії, зазначених в методичних рекомендаціях МОЗ України [184] та загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах [185], погодженими з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» [181]. Евтаназію тварин здійснювали внутрішньочеревним введенням трикратної наркотичної дози етамінал-натрія. 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, що розраховувалася у відношенні до маси тіла тварини. Масу тіла щурів контролювали шляхом зважування тварин на настільних циферблатних вагах ВНЦ-2М (погрішність: ± 2 г).

2.2 Забір матеріалу та визначення вмісту гормонів у плазмі крові

Забір крові проводили з 11:00 до 13:00 години. Період для забору крові було обрано таким чином, щоби не було збігів піків циркадіанних ритмів секреції досліджуваних гормонів для: мелатоніну – з 2:00 до 4:00 [72, 144], тестостерону – з 6:00 до 8:00 [151]; адреналіну – з 18:00 та кортикостерону – з 7:00 до 9:00 [144]. Кров отримували шляхом декапітації наркотизованої тварини. Кров після забору розміщували в термостат на 15 хв при температурі 36–37 °С. У подальшому її центрифугували впродовж 15 хв на 500 об/хв. Після центригування, кров упродовж 30 хв зберігали у холодильнику при температурі 2–4 °С. Надосадовий шар (плазму) переносили силіконованою піпеткою у силіконовану пробірку. Отриману плазму зберігали в умовах охолодження до - 20 °С.

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

ELISA» фірми DRG (USA); кортикостерону – з використанням наборів «ELISA Corticosterone DRG» (Germany); адреналіну – з використанням наборів реагентів «Adrenaline ELISA Fast Track» (виробник «Labor Diagnostika Nord GmbH & Co, KG» (Germany); мелатоніну – за допомогою стандартних наборів «ELISA IBL» (Germany).

2.3 Дослідження впливу зміни режиму освітлення на репродуктивну систему

Для оцінки впливу наслідків зміни режиму освітлення на репродуктивну систему самців щурів вентральну частину передміхурової залози (ВПЗ); сім'яні пухирці (СП) виділяли та зважували [186], у суспензії придатків сім'яників за допомогою камери Горяєва оцінювали показники морфофункціонального стану сперматозоїдів (кількість, рухомість, патологічні форми) за методичними рекомендаціями МОЗ України [187]. Крім того у СП визначали вміст фруктози за методом Бокуняєвої [186]. У самок оцінювали зміни естрального циклу [188]; вилучали та зважували яєчники [186].

Визначення кількості та функціонального стану сперматозоїдів. Придатки сім'яників розрізали і обережно гомогенізували кожний з 2 мл 0,9% розчину натрію хлориду. Одержану суспензію використовували для підрахунку кількості і оцінки функціонального стану сперматозоїдів [187]. Суспензію сперматозоїдів набирали в меланжер до мітки 0,5 і доводили спеціальним розчином до мітки 2, змішували і вносили до камери Горяєва. Підраховували кількість клітин у 5 великих квадратах і перемножували на 1000000 (до складу спеціального розчину входили 5 г натрію бікарбонату, формалін і дистильована вода до 100 мл). З метою визначення кінезіограми краплю суспензії сперматозоїдів переносили на предметне скло. В нативних препаратах за умов світлової мікроскопії з віконцем Фоніо серед 100 сперматозоїдів підраховували відсоток клітин із швидким поступальним рухом (50 мкм/с) (нормокінезія, категорія А), повільним поступальним рухом

(гіпокінезія, категорія В); коливальним неупорядкованим рухом (дискінезія, категорія С) та нерухомих (акінезія, категорія D) [189]. Для визначення відносної кількості патологічних форм сперматозоїдів краплю суспензії розподіляли на предметному склі, висушували, фіксували етанолом і фарбували 1 % розчином метиленового синього. Мазки досліджували з імерсійним об'єктивом мікроскопу. Підрахунок проводили на 200 сперматозоїдах. Патологічними формами сперматозоїдів вважали ті, що мали аномалії голівки, тіла, хвоста [189, 190].

Визначення вмісту фруктози за методом Бокуняєвої. СП гомогенезували з 1 мл дистильованої води, потім послідовно додавали 2 мл 2 % розчину сульфату цинку (ZnSO_4), 2 мл 0,1 N розчину гідроксиду натрію (NaOH). Суміш підігрівали дві хвилини на киплячій водяній бані та фільтрували через паперовий фільтр. Після чого до 0,5 мл фільтрату додавали 0,5 мл розчину резорцину та 1,5 мл 30 % розчину соляної кислоти (HCl). Все змішували та розміщували на водяній бані при 80°C на п'ять хвилин. Інтенсивність рожево-червоного забарвлення, що виникає при цьому, вимірювали на фотоелектроколориметрі при зеленому світлофільтрі. Розрахунок кількості фруктози проводили за калібровочним графіком, відтворюючи у ммоль/літр [186].

Дослідження естрального циклу та його складових здійснювали на статевозрілих самках білих щурів. До початку експерименту зі зміною світлового режиму у піддослідних групах тварин, вивчали тривалість і структуру естрального циклу в продовж двох тижнів за допомогою піхвових мазків за загальноприйнятою методикою [188]. Мазки (піхвові змиви) брали тонкою очною піпеткою, розміщували на предметне скло, потім здійснювали фарбування гематоксилін-еозином, розміщуючи при цьому скло у барвник на 2-3 секунди. Стадії естрального циклу визначали за співвідношенням клітинних елементів розглядаючи мазки під мікроскопом при збільшенні в 300 разів. Вагінальні мазки досліджували щоденно в одні й ті ж години доби.

У подальшому в експеримент включені самки щурів з 4-5 денним естральним циклом з послідовним чергуванням фаз (дієструс, проєструс, еструс та метаєструс). При дослідженні естрального циклу у піддослідних тварин враховували наступні показники: тривалість циклу, частоту зустрічі еструсу, тривалість тічкового періоду та тривалість періоду спокою.

2.4 Морфометричні дослідження

Надниркові залози фіксували в 10-12 % охолоджену розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спиртах висхідної концентрації та заливали в парафінові блоки за звичайною схемою [191]. Гістологічні зрізи товщиною 5-6 мкм фарбували гематоксиліном та еозином [192]. У кожній групі тварин досліджувалося 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.

2.5 Дослідження поведінкових реакцій щурів

Поведінку щурів, які утримувалися в умовах природного та зміненого режиму освітлення досліджували у тесті «відкрите поле» [193]. Методика «відкритого поля» проводилася з використанням устрою, який являє собою квадрат розміром 1м×1м, обмежений бортами висотою 40 см. Вся площа поля розкреслена лініями на 25 квадратів зі стороною 20 см. Над центром поля на відстані 0,5 м розташована лампа потужністю 100 Вт. Устрій знаходився у затемненому приміщенні. Перед розміщенням у «відкрите поле» щурів поодиночі саджали в коробку і через 10 хвилин проводили тестування. Спостереження за тваринами у «відкритому полі» відбувалися впродовж трьох днів в один і той же час доби за однакових умов освітлення і

температури, за відсутністю сторонніх запахів і будь-якого шуму. Час експозиції кожної тварини у «відкритому полі» становив 5 хвилин.

В індивідуальній поведінці тварин реєстрували їх горизонтальну рухову активність (локомоції, амбуляції), вертикальну активність (підведення на задні лапи, «стійка», рерінг), та прояв вегетативних реакцій - дефекації (кількість фекальних шариків - болюсів) та урінації. Рерінг або вставання тварини на задні лапи є основним показником активності. Рухову активність (амбуляції, або локомоції) підраховували за кількістю перетнутих квадратів твариною всіма чотирма лапами, що відображає рівень дослідницької діяльності та емоційності. Частоту дефекацій та урінацій розглядали як основні показники рівня емоційності.

2.6 Методи статистичної обробки результатів

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). При порівнянні двох груп з розподілом ознак, відмінних від нормального, використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні [194]. Розходження вважали статистично значущими при $p \leq 0.05$.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Вплив зміни світлового десинхронозу на масу тіла та стан внутрішніх органів щурів

3.1.1. Характеристика показників маси тіла щурів у динаміці експерименту

Темпи приросту маси тіла щурів оцінювалися за відсотковим співвідношенням середнього приросту цього показника від вихідних значень в групах тварин протягом усього періоду експерименту та порівнювалися з контролем.

Результати наведено в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Вплив тривалості світлового навантаження та дія мелатоніну і спіруліни на зміни маси тіла самців та самок щурів у динаміці експерименту ($M \pm m$, $n=20$)

Групи тварин	Вихідні дані маса тіла, г	Строк дослідження					
		1 місяць		2 місяці		3,5 місяці	
		маса тіла, г	зміна від вих. даних, %	маса тіла, г	зміна від вих. даних, %	маса тіла, г	зміна від вих. даних, %
1	2	3	4	5	6	7	8
1a	106,2±5,6	142,4±10,1	+34,1	214,5±7,8	+101,3	281,5±8,6	+165,2
1б	102,3±3,7	133,5±8,6	+30,3	208,2±6,9	+103,9	266,5±5,6	+160,7
2a	110,0±8,5	140,3±9,0	+27,0	200,3±9,4	+81,8	288,5±8,8	+161,8
2б	116,4±6,0	151,0±12,7	+30,7	198,2±11,3	+70,6	274,5±12,4	+136,4
3a	108,0±8,6	159,0±10,6	+47,4 ¹⁾	218,7±9,0	+ 101,7	314,5±12,8	+190,7
3б	114,0±8,7	158,2±12,3	+39,2	211,0±8,6	+85,3	268,3±9,1	+ 135,0
4a	110,0±7,6	141,4±11,2	+28,5	198,0±10,6	+ 80,0	260,0±7,9	+ 136,3
4б	109,1±4,6	152,4±11,2	+39,2	218,9±9,8	+100,2	278,5±7,7	+155,7
5a	110,8±10,5	139,9±8,0	+26,3	206,3±7,7	+87,2	280,5±10,0	+154,5

Продовження табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8
5б	112,4±8,5	155,0±10,7	+38,3	212,2±9,7	+89,2	284,4±11,2	+153,6
6а	107,0±9,8	160,0±7,6	+49,5 ¹⁾	222,1±10,0	+106,5	301,5±17,6	+181,3
6б	115,7±8,6	158,8±8,3	+37,0	213,4±9,1	+83,6	288,8±11,1	+149,1
7а	114,8±7,0	150,4±10,1	+30,4	199,3±11,2	+73,0	270,4±9,9	+134,0
7б	114,5±9,1	154,5±8,8	+35,0	204,5±9,0	+78,6	274,5±11,3	+139,7

Примітка: ¹⁾ – значущість змін показників відносно вихідних даних, ($p \leq 0,05$); 1а – контроль самці; 1б – контроль самки; 2а – гр. 12/12 самці; 2б – гр. 12/12 самки; 3а – гр. 24/00 самці; 3б – гр. 24/00 самки; 4а – гр. 12/12+М самці; 4б – гр. 12/12+М+С самці; 5а – гр. 12/12+М самки; 5б – гр. 12/12+М+С самки; 6а – гр. 24/00+М самці; 6б – гр. 24/00+М+С самці; 7а – гр. 24/00+М самки; 7б – гр. 24/00+М+С самки

Аналіз отриманих даних показав, що в усіх групах тварин відхилення у темпі приросту маси на кінцевому етапі дослідження були незначними за винятком самців групи 24/00, у яких маса тіла була надлишковою. Однак у термін спостереження 1 місяць відмічалось певне гальмування зростання цього показника у самців груп 12/12 відносно контролю (див. табл. 3.1). Це, ймовірно, може бути пов'язано із наслідками більш важкої адаптації самців до зміни фотоперіоду, що буде оговорено нижче. Слід відмітити, що в жодній з експериментальних груп не виявлено зменшення абсолютного показника маси тіла, тобто, не спостерігався катаболічний ефект, який є ознакою тяжкого патологічного стану.

3.1.2 Загальне макроскопічне дослідження стану внутрішніх органів щурів

Всі піддослідні щури не мали ознак облісіння, злущування, виразок. Слизові оболонки природних отворів були не змінені. Поверхневі лімфовузли звичайні за розміром. Розташування органів грудної клітки анатомічно вірно, плевра гладка, блискуча. Спайок між листками плеври не помічено. При розтині в грудній порожнині легені були сірувато-рожевого кольору, рівномірно-еластичної консистенції, повітряні, вільно лежали у плевральних порожнинах. Стінки бронхів не потовщено. Тимус – м'яко

еластичний на дотик, сірувато-рожевого кольору. Серце дещо подовжено конусоподібної форми, м'язові стінки щільні, пружні, компактні. Порожнини лівого та правого шлуночків вузькі. У порожнинах серця рідка кров. Перикард та епікард гладкі, блискучі. Міокард на розрізі однорідний, темно-червоний. Візуально товщина стінки лівого та правого шлуночків звичайна. Коронарні судини на погляд не змінено. Інтима аорти та легеневої артерії кольору слонової кістки, гладка, блискуча. Дослідження органів черевинної порожнини виявило, що положення їх анатомічно правильне. У підшкірній клітковині помірне відкладення жиру, очеревина прозора, гладенька, без крововиливів. Слизова оболонка стравоходу, шлунку, кишечника сірувато-рожева. Слизова шлунка з характерним рельєфом зморшок, без геморагій, набряку, ерозивних пошкоджень. Слизова різних відділів кишківнику без видимих ознак подразнення. Вміст відповідає відділам. У порожнині стороннього вмісту не знайдено. Поверхня печінки гладенька, частки звичайного розміру, на розрізі – паренхіма червоно-коричневого кольору. Підшлункова залоза без ознак жирових некрозів. Селезінка пружна, повнокровна. Нирки візуально звичайні, капсула легко знімається, на розрізі темно-червоно-коричневі, щільні, зі збереженим малюнком шарів. Надниркові залози (НЗ) подовженої форми, щільні, асиметричні. Внутрішні статеві органи звичайні. Таким чином, за даними протоколу розтину щурів виразних патологічних змін органів та тканин не виявлено. Результати наведені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Результати протоколу розтину щурів (контрольні та після зміни фотоперіоду)

Досліджуваний орган і тканина	Опис стану органів і тканин контрольної і дослідної групи тварин
1	2
Ротова порожнина, глотка, стравохід	Без вмісту, прохідність збережена, слизова оболонка без видимих патологоанатомічних змін, блідо-рожевого кольору.

1	2
Шлунок, кишківник	Слизова оболонка сіро-білого кольору. Підшлункова залоза світло-рожевого кольору, не збільшена.
Селезінка	Розмір в усіх групах коливається у межах норми, значуще не збільшена, темно-вишневого кольору, на розрізі дрібнозерниста.
Печінка	Не збільшена, червоно-коричневого кольору, на розрізі структура виражена.
Нирки, сечоводи, сечовий міхур	Не збільшені, сіро-коричневого кольору, щільної консистенції, межа між кірковим і мозковим шарами виражена, капсула важко знімається.
Статеві органи	Без видимих патологоанатомічних змін.
Грудна порожнина	Положення анатомічних органів правильне. Плевра блідо-рожевого кольору, гладка, блискуча, помірно волога.
Легені	Світло-рожевого кольору, не спалі, легенева тканина еластична, помірно волога. Легенева плевра блідо-рожевого кольору, гладка, блискуча, помірно волога.
Кров	Темно-червоного кольору, добре згортається.
Серце	У інтактних тварин не збільшено, форма не змінена, структура м'язових волокон добре виражена, пружною консистенції, сіро-червоного кольору. У щурів груп 24/00 пружність серцевого м'язу помірно знижена.
Головний мозок	Сіро-білого кольору, помірно вологий, звивини добре виражені, кровоносні судини помірно кровонаповненні.

Слід відмітити, що при візуальному огляді органів самців щурів після зміни світлової експозиції 24/00 тимус виглядав щільнішим та більшим за розміром.

3.2. Вплив зміни світлового режиму на мелатонінутворюючу функцію епіфіза щурів

Оскільки утворення та секреція мелатоніну має виразний добовий ритм, для більш детальної його характеристики проведено вибіркове

визначення вмісту мелатоніну в крові самців та самок щурів за умов світлового десинхронозу. Щурів виводили з експерименту опівдні та опівночі (відповідно мінімальна та максимальна гормональна активність епіфізу. Показано, що для тварин обох статей притаманний виражений добовий ритм секреції мелатоніну (табл. 3.3 та рис. 3.1).

Таблиця 3.3

Вплив зміни режиму освітлення на добові коливання рівня мелатоніну у плазмі крові самців і самок щурів ($M \pm m$, пмоль/л, $n=5$)

Групи тварин	Рівень мелатоніну, пмоль/л					
	день		ніч		амплітуда	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
К-група	43,3± 3,7	51,6± 6,3	189,6± 14,6	198,3± 15,8	146,3± 12,0	138,7± 13,2
% ♂-♀		+19		+5		-
12/12-група	34,4± 2,9	39,2± 4,1	124,4± 9,8	118,2± 12,0	89,9± 7,7	79,0± 5,8
% ♂-♀		+13		-5		-13
% К-12/12	-8,9	-25	-34,4	-41	-38,6	-46
p К-12/12	-	-	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05
24/00-група	15,3± 1,9	14,3± 1,2	29,9± 1,8	25,7± 2,2	14,7± 1,6	11,4± 1,4
% ♂-♀		-7		-15		-23
% К-24/00	-64,7	-72	-84,3	-88	-90,0	-92
p К-24/00	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05
p 12/12-24/00	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05

Отримані результати свідчать, що динаміка добових змін рівня мелатоніну у контрольних самців та самок практично не відрізнялася. Штучне освітлення впродовж 12 годин призводило до гальмування мелатонінутворюючої функції епіфізу, спостерігалось статистично значиме зниження як денної, так і нічної концентрації гормону, а амплітуда між цими показниками зменшувалася майже вдвічі у порівнянні з контролем (на 46 % у ♀ та 39 % у ♂, $p \leq 0,05$) (рис. 3.1).

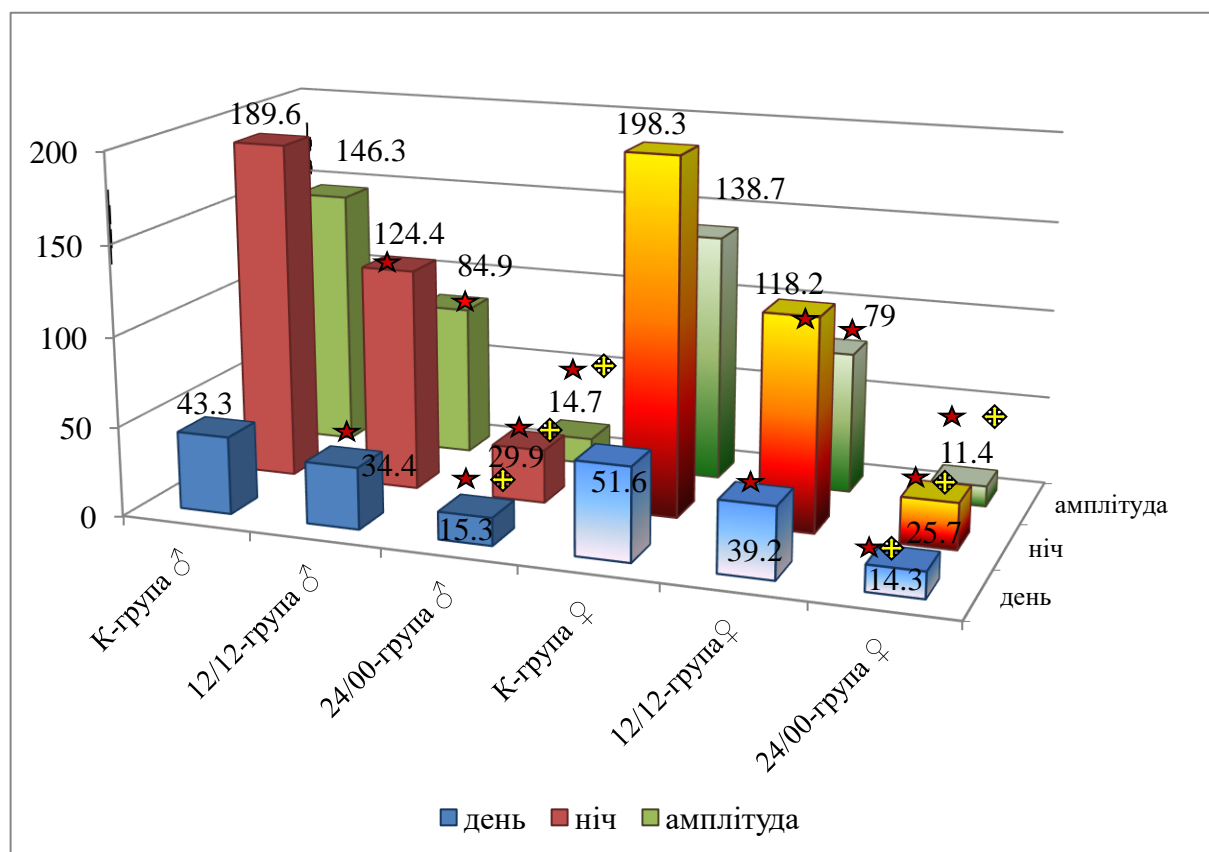


Рис. 3.1. Зміни добової концентрації мелатоніну у плазмі крові самців та самок щурів за умов зміни режиму освітлення (пмоль/л); ★ – значущість змін порівняно до відповідного контролю, ($p \leq 0,05$); ♦ – значущість змін відповідно до гр. 12/12 ($p \leq 0,05$)

У щурів, які знаходилися при цілодобовому освітленні спостерігалася 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 щурів. 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 самок спостерігалася анологічна картина, однак зниження було ще більш значним – відповідно у 12,8 та 6,9 рази. Слід зазначити, що таке зниження амплітуди

може вказувати на дещо більшу чутливість самок до деструкуючого впливу цілодобового освітлення.

Проте, не дивлячись на таке пригнічення функціональної активності епіфізу, у тварин все ж таки зберігалися ознаки добового ритму мелатоніну. Можна припустити, що нічний пік зберігається, окрім остаточно збереженої функції пінеалоцитів, за рахунок паралельного значного зниження денної концентрації гормону.

РЕЗЮМЕ. Отримані результати дозволяють зробити висновок про розвиток у щурів в умовах цілодобового тривалого освітлення вираженої мелатонінової недостатності на тлі послабленого добового ритму, тобто проявів гіпопінеалізму, що співпадає з даними інших авторів [44, 135, 145].

3.3 Вплив зміни світлового режиму на стан адренокортикальної системи щурів та корекція розладів функціональної активності надниркових залоз

3.3.1 Морфометричний аналіз будови надниркових залоз щурів за умов зміни фотоперіоду

Збільшення тривалості світлової частини доби, що призводить до пригнічення синтезу мелатоніну епіфізом, є потужним фактором, який запускає активацію стрес-реалізуючих систем організму [72, 195-200]. Провідною ланкою такої стрес-реалізуючої системи є надниркові залози (НЗ), які першими реагують у відповідь на стресові чинники навколишнього середовища [81]. Саме вони синтезують речовини, які регулюють водно-сольовий баланс [201-203], метаболізм ліпідів, білків та, особливо, вуглеводів [204]. Відомо, що участь НЗ у розвитку і реалізації адаптаційних реакцій [205] проявляється в своєрідній перебудові структури залози, що підтверджується змінами її морфології [206]. У зв'язку з вище зазначеним, проведено порівняльну морфометричну оцінку структурних змін кори і

мозкової речовини НЗ у самців та самок щурів, які утримувалися в умовах зміни тривалості світлової доби.

При макроскопічному аналізі у всіх групах тварин виявлено округло-трикутну форму НЗ, зовні вони вкриті сполучнотканинною капсулою, що утворена з волокон та клітин-фіброцитів. Для тварин усіх експериментальних груп характерне збереження гістоархітекτονіки органу з чітким розподілом на мозковий та кірковий шари, останній при цьому має виражену зональність. У самців групи 24/00 зафіксоване зменшення кількості клітин у субкапсулярному шарі.

При оцінці показників відносної маси та товщини кори НЗ виявлено, що дванадцятигодинне штучне освітлення призводило до помірного зниження маси органу у самців та більш виразного – у самок. При цьому в обох групах зміни мали статистично значущі відмінності (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

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 ¹⁾	10,49± 0,58 ¹⁾	731,8± 15,8	542,2± 13,1 ¹⁾	1992,2± 28,7 ¹⁾	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 ²⁾	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 ²⁾	13,08± 0,81 ²⁾	772,4± 19,6	712,8± 22,0 ²⁾	2355,5± 102,4 ²⁾	2505,0± 121,8
% 12/12-12/12+М+С	+28	25	+6	+31	+18	+2
24/00-група	7,35± 0,39 ¹⁾	9,80± 0,55 ¹⁾	681,2± 14,6 ¹⁾	521,5± 16,9 ¹⁾	1794,7± 130,3 ¹⁾	1820,6± 104,3 ¹⁾
% К-24/00	-45	-31	-12	-45	-30	-28
% 12/12-24/24	-35	-7	-7	-4	-10	-26
24/00+М-	10,49±	10,73±	766,5±	757,6±	2333,7±	2384,9±

1	2	3	4	5	6	7
група	0,56 ²⁾	1,05	20,7	29,2 ²⁾	148,8 ²⁾	142,2 ²⁾
% 24/24-24/24+M	+42	+9	+12	+45	+30	+30
24/00+M+C- група	12,94± 1,12 ²⁾	12,91± 0,82 ²⁾	758,8± 21,3	803,8± 34,6 ²⁾	2441,6± 125,5 ²⁾	2494,4± 160,3 ²⁾
% 24/00-24/00+M+C	+76	+32	+11	+54	+36	+37

Примітка: ¹⁾ – вірогідна різниця у порівнянні з К-групою, при $p \leq 0,05$; ²⁾ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, при $p \leq 0,05$

Слід відмітити, що зменшення маси надниркових залоз у самців та самок може бути обумовлено дещо різними факторами. Так, у самців 12/12-групи значуще зменшувалась площа мозкової речовини (на 22 %, проти 3 % – у самок 12/12-групи, $p \leq 0,05$). У той же час у самок, на відміну від самців, спостерігалось статистично значиме зниження товщини кори (-32 %, $p \leq 0,05$).

Отже, у тварин різної статі на зміну режиму освітлення реагують різні структурні елементи НЗ.

Слід зазначити, що цілодобове освітлення ще більш негативно впливало на стан надниркових залоз. При цьому до такої пролонгації фотоперіоду чутливими виявилися тварини обох статей. Однак у самців групи 24/00 відносна маса органу зменшувалась більш демонстративно.

У порівнянні з групою 12/12 цей показник знизився більш ніж на третину (-35 %, $p \leq 0,05$). Таке значне падіння відносної маси НЗ у самців групи 24/00 частково пов'язано із зростанням у них абсолютної маси тіла у порівнянні з контрольними щурами та тваринами групи 12/12.

У самок 24/00 спостерігалось помірне зниження відносної маси НЗ порівняно з 12/12-гр (-7 %). Таке зниження могло бути частково обумовлено з одного боку – меншою масою тіла, з іншого – його значним зниженням на тлі 12-годинного розподілення режиму світло/темрява. Тобто, НЗ самок різко реагували на стресовий вплив зміни режиму освітлення навіть за більш м'яких умов пролонгації світлового навантаження і при цілодобовому освітленні виходили на плато виснаженості цього органу. Товщина кори НЗ

за режиму 24/00, як і в групах 12/12, статистично значуще змінювалась лише у самок.

Слід зазначити, що цілодобове освітлення призводило до статистично значимого зменшення площі мозкової речовини в рівній мірі і у самців, і у самок (на 30 % та 28 % відповідно, $p \leq 0,05$). Звертає на себе увагу те, що у самців хромафінні клітини мозкової речовини, які відповідають за продукцію катехоламінів та координують роботу організму за умов стресу, гостріше реагують на світлове навантаження вже на тлі 12-годинної пролонгації фотоперіоду. Така підвищена реактивність швидше призводить до виснаження цих структур: при цілодобовому освітленні зменшення площі мозкової речовини у самців спостерігається лише на 10 % відносно групи 12/12. У самок режим цілодобового освітлення призводить до різкого зниження цього показника, у порівнянні як з групою контролю, так і з групою 12/12.

Морфометричні дослідження показали, що мозкова речовина НЗ тварин К-групи мала скупчення великих, чітко окреслених клітин з масивними світлими ядрами і конденсованим хроматином та вакуолями у цитоплазмі (рис. 3.2).

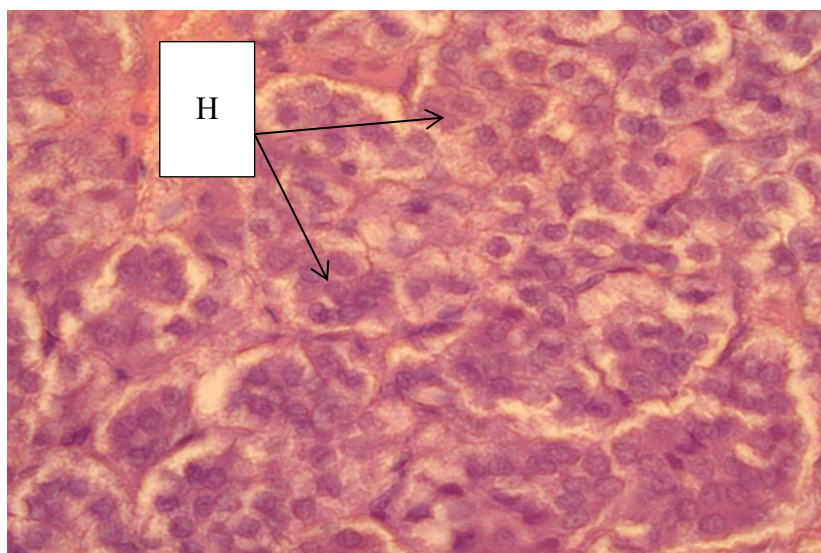


Рис. 3.2. Мозкова речовина надниркових залоз тварин К-групи. Нейроендокриноцити (Н) великі з масивними ядрами. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення $\times 400$

У самців і самок 12/12-груп клітини більшого розміру з високим вмістом адреналіну і норадреналіну. У самців 12/12- і 24/00-груп клітини мали світліші ядра і цитоплазму, спостерігалися явища цитолізу, які були більш значущі у тварин 24/00-групи (рис. 3.3). Статистично значиме зменшення площі мозкової речовини у щурів 24/00-групи, ймовірно, може бути пов'язане з зменшенням кількості клітин, що входять до її складу.

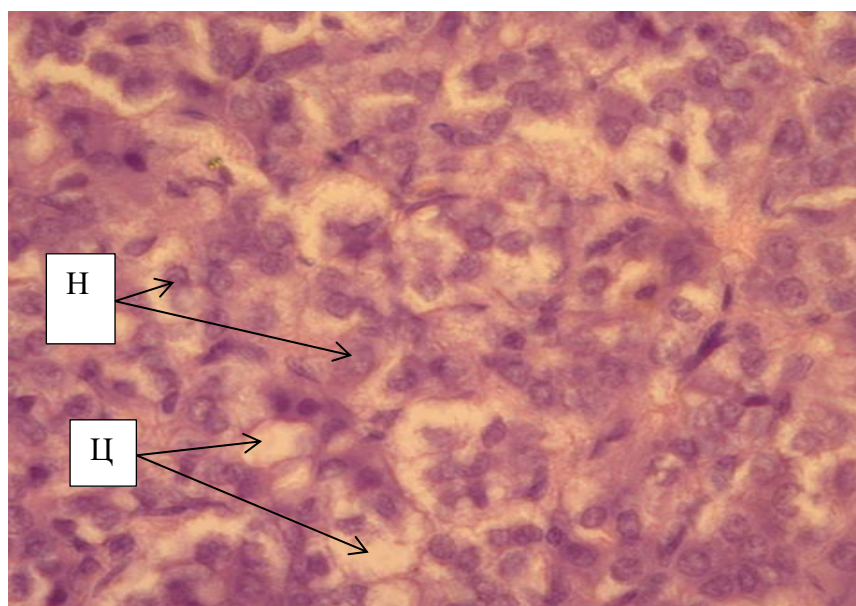


Рис. 3.3. Мозкова речовина надниркових залоз самців 24/00-групи. Нейроендокриноцити (Н) мають світлі ядра і цитоплазму, спостерігається цитоліз (Ц). Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення x 400

При аналізі результатів морфометричних досліджень окремих зон кори НЗ у самців 12/12-групи виявлено незначне зменшення товщини клубочкової і пучкової зон, відповідно на 12 % і 19 %, та статистично значиме збільшення товщини сітчастої зони на 19 % ($p \leq 0,05$) у порівнянні з контрольною групою щурів (табл. 3.5). Тобто зниження абсолютної маси надниркових залоз у тварин, які утримувалися при 12-годинному освітленні відбувалося зокрема і за рахунок звуження клубочкової та пучкової зон.

Таблиця 3.5

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

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 ¹⁾	336,4± 5,2 ¹⁾	300,4± 1,7 ¹⁾	205,6± 9,8 ¹⁾
% 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 ²⁾	110,8± 3,7 ²⁾	347,0± 19,3 ²⁾	387,4± 10,1 ²⁾	261,9± 16,2	254,7± 9,1 ²⁾
% 12/12-12/12+М+С	+17	+16	+19	+15	-13	+23
24/00-група	141,1± 5,9 ¹⁾	92,0± 2,2 ¹⁾	358,8± 9,5	425,2± 5,8	205,8± 6,1 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 ²⁾	249,2± 12,6
% 24/24-24/24+М	+8	+14	-6	-12	+35	-8
24/00+М+С-група	182,2± 8,3 ²⁾	108,6± 3,0 ²⁾	370,4± 11,8	380,8± 10,6	257,6± 11,0 ²⁾	270,0± 9,8
% 24/00-24/00+М+С	+18	+18	+3	-11	+25	-

Примітка: ¹⁾ – вірогідна різниця у порівнянні з К-групою, при $p \leq 0,05$; ²⁾ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, при $p \leq 0,05$.

У самок групи 12/12 також відмічено незначне зменшення товщини клубочкової та пучкової зон НЗ (відповідно на 10 % та 16 %). На відміну від самців, у яких сітчаста зона була статистично значимо ширшою за контроль, у самок вона значуще зменшувалась на 23 %, ($p \leq 0,05$). Ці відмінності, ймовірно, вказують на те, що у самців на тлі 12-часової пролонгації

фотоперіоду відбувається активація утворення статевих стероїдів, а у самок, навпаки пригнічення цього процесу.

У самців 24/00-групи значиме зменшення товщини кори ($p \leq 0,05$), у порівнянні з К-групою, може в певній мірі відбуватися за рахунок зменшення товщини клубочкової (на 19 %) та сітчастої (на 19 %) зон, ($p \leq 0,05$). Статистично значимих змін товщини пучкової зони тварин, які утримувалися при цілодобовому освітленні, не відмічено. Тобто, у досліджуваних самців, які знаходилися при зміні режиму освітлення, середні значення ширини кори можуть корелювати із середніми значеннями маси надниркових залоз.

У самок групи 24/00 вірогідних відхилень товщини клубочкової зони, як і в групі 12/00 не виявлено. Товщина пучкової зони зростала пропорційно із самцями, тобто у тварин обох статей при цілодобовому освітленні відмічається підвищення біосинтезу стрес-глюкокортикоїду кортикостерону. В той же час, як і в групі 12/12, у самців і самок спостерігались діаметрально протилежні зміни товщини сітчастої зони кори надниркових залоз. При порівнянні змін цього показника між групами 12/12 та 24/00 виявлено протилежну закономірність: у самців відмічено його зниження на 32 %, ($p \leq 0,05$), а у самок – його зростання на 31 %, ($p \leq 0,05$) (див. табл. 3.5). На основі цих даних можна припустити, що у самців на тлі тривалого стресу та гіпопінеалізму відбувається поступове зменшення утворення андрогенів, а у самок навпроти – іде активізація синтезу статевих стероїдів.

При аналізі морфоструктурних особливостей окремих зон кори НЗ показано, що у тварин контрольної групи (як у самців, так і у самок) клубочкова зона складалася з дрібних компактних клітин з темними ядрами. Проте у самок цитоплазма була більш вакуолізована і мала більшу кількість інкрементів холестерину (рис. 3.4).

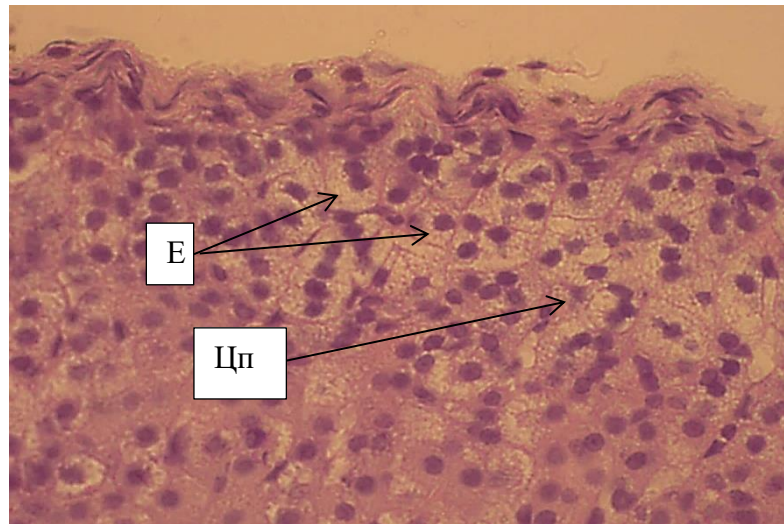


Рис. 3.4. Клубочкова зона кори надниркових залоз самок К-групи. Ендокриноцити (Е) мають темні ядра та вакуалізовану цитоплазму (Цп). Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення x 400

За морфофункціональною характеристикою ендокриноцити клубочкової зони самців 12/12-групи не відрізнялися від контрольної, проте їх кількість зростала. Ядра клітин у самців 24/00-гр. у порівнянні з контролем та 12/12-групою були темнішими, відносно дрібнішими, ущільненими. Клубочкова зона самок 12/12- і 24/00-груп (рис. 3.5) складалася з відносно меншої кількості клітин у порівнянні з контролем, вони мали округлі темні ядра і були пухко розміщені.

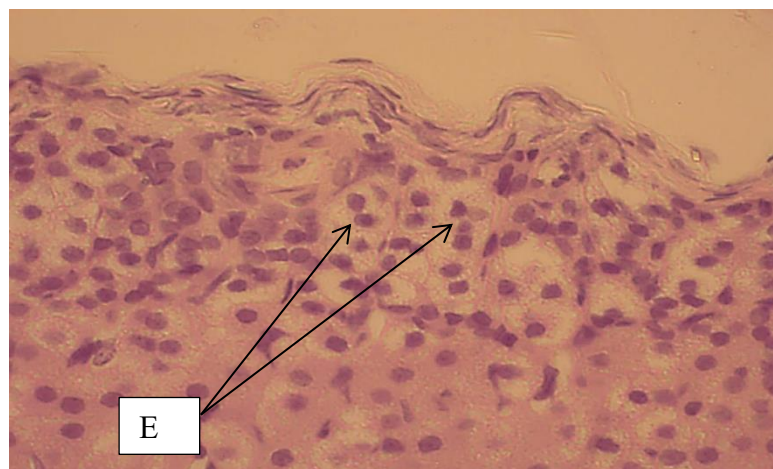


Рис. 3.5. Клубочкова зона кори надниркових залоз самок 24/00-групи. Ендокриноцити (Е) пухко розміщені, з темними ядрами. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення x 400

Слід зазначити, що у самок, які знаходилися при цілодобовому освітленні, розмір ядер збільшувався, а спіненість цитоплазми була більш виражена, у порівнянні з групою 12/12. Такі особливості змін будови клубочкової зони кори у 24/00-груп щурів обох статей можуть обумовлювати значуще зменшення її товщини (див. табл. 3.5).

Пучкова зона у тварин К-групи, у порівнянні з ендокриноцитами клубочкової зони, утворена клітинами більшими за розмірами, вони мали великі, округлі і світліші ядра (рис. 3.6).

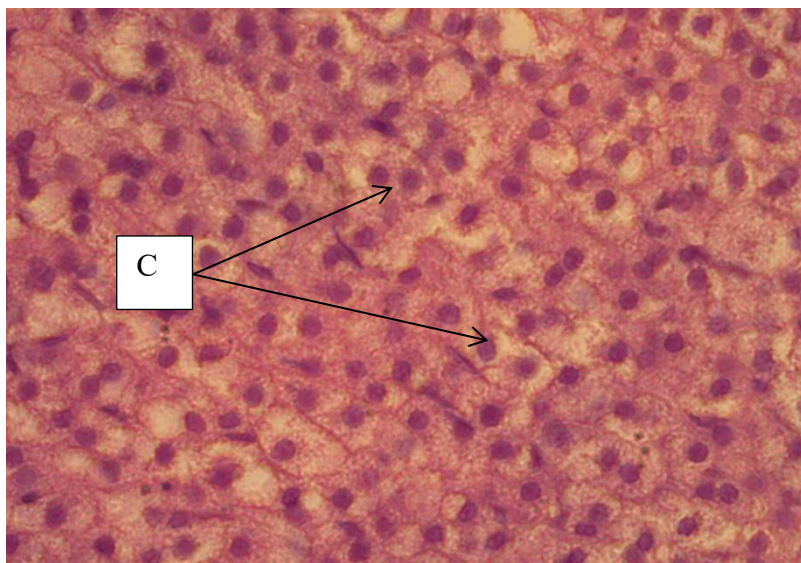


Рис. 3.6. Пучкова зона кори надниркових залоз самців К-групи. Спонгіоцити (С) з великими, округлими ядрами. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення x 400

Структура клітин пучкової зони у самців 12/12- і 24/00-груп схожа з контролем, проте розмір їх ядер був дещо більшим. Товщина середньої зони НЗ у тварин цих двох груп, у порівнянні з контрольними тваринами, статистично значимо зменшилася лише у групі 12/12 (див. табл. 3.5). Спонгіоцити у щурів групи 12/12 (рис. 3.7) мали менший запас холестерину, розмір клітин був меншим.

Оцінюючи ці дані загалом, можна констатувати збільшення активності пучкової зони кори наднирникових залоз самців експериментальних груп.

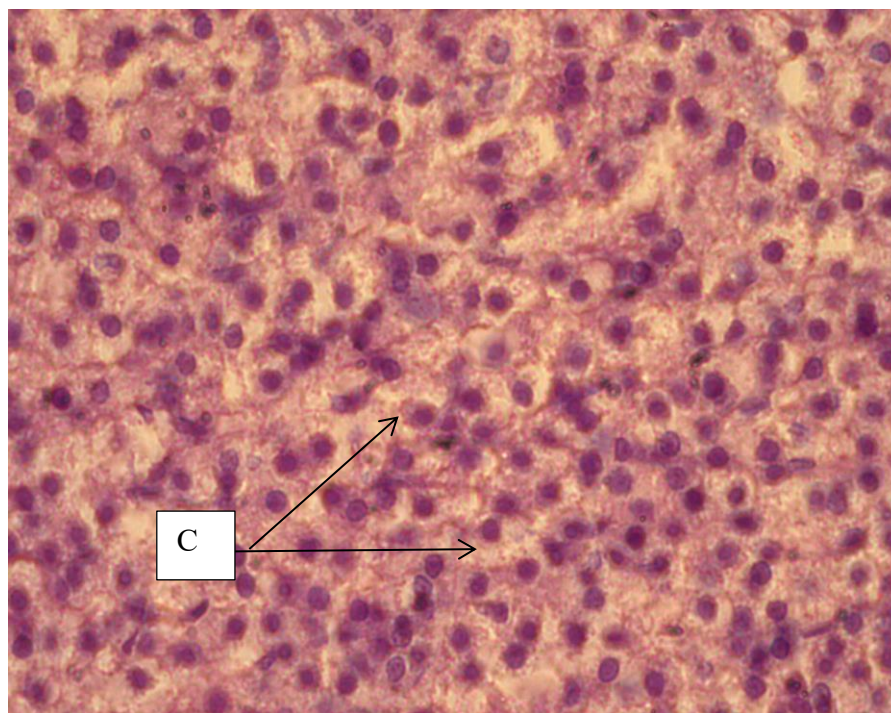


Рис. 3.7. Пучкова зона кори надниркових залоз самців 12/12-групи. Спонгіоцити (С) з невеликим запасом холестерину. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення x 400

Клітини пучкової зони кори НЗ самок 12/12-групи мали загальні характерні особливості, притаманні і контрольній групі. У той же час у них виявлено меншу кількість спонгіоцитів, що може обумовлювати зменшення товщини пучкової зони (див. табл. 3.5). На відміну від самців, у самок цієї групи цитоплазма була більш піниста, тобто вона містила більший запас холестерину. Виявлені особливості можна трактувати як знижену морфофункціональну активність у порівнянні з контрольними тваринами.

Кількість клітин пучкової зони НЗ самок 24/00-групи також була зменшеною, вони мали еозинофільну цитоплазму та були пухко розміщені. Треба зазначити, що у цій групі тварин спостерігаються великі ділянки цитолізу (рис. 3.8). Товщина зони НЗ незначно збільшувалася, що свідчило про активну роботу кожного спонгіоцита на тлі меншої їх кількості, ймовірно, у зв'язку з вичерпаністю камбіальних клітин, що було пов'язане з тривалим характером експерименту.

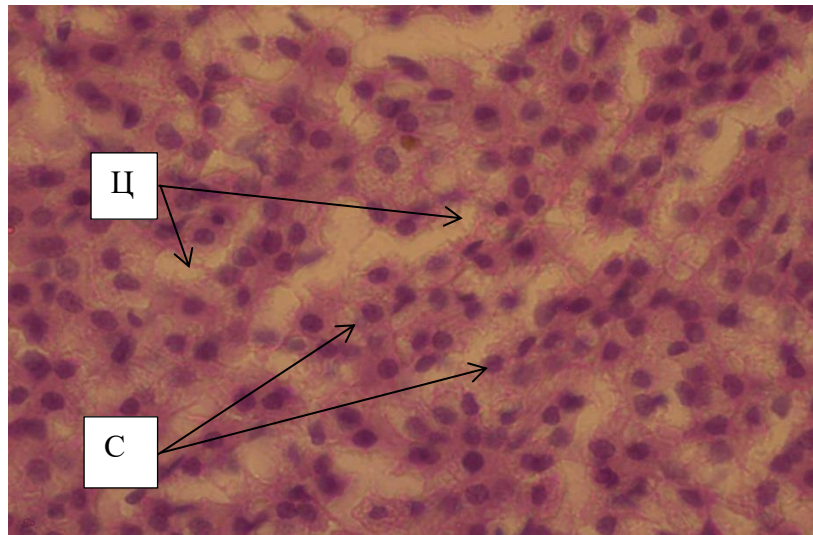


Рис. 3.8. Пучкова зона кори надниркових залоз самок 24/00-групи. Спонгіоцити (С) пучко розміщені. Наявність цитолізу (Ц). Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення x 400

У сітчастій зоні кори надниркових залоз тварин К-групи, порівняно з іншими зонами кори, ендокриноцити компактніше розміщені і менші за розмірами. Вони мали темні ядра і еозинофільну цитоплазму, яка у самок більш вакуолізована (рис. 3.9).

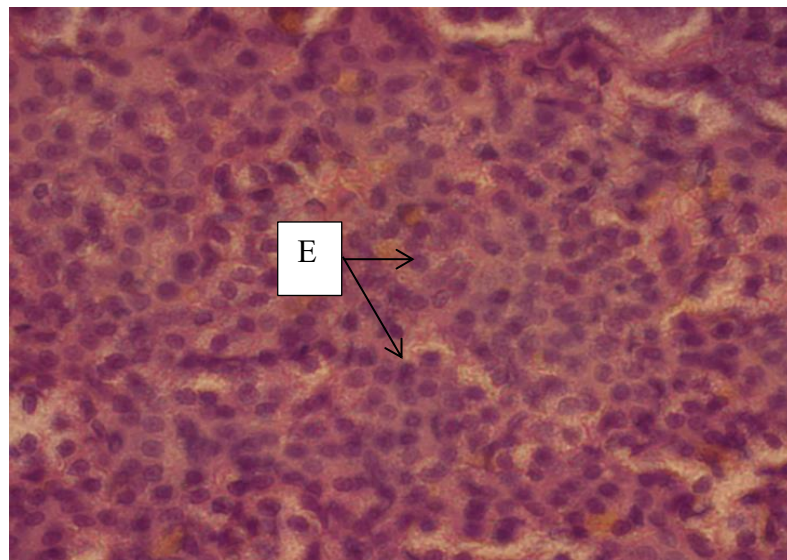


Рис. 3.9. Сітчаста зона кори надниркових залоз самок К-групи. Ендокриноцити (Е) компактні, мають темні ядра та еозинофільну цитоплазму. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення x 400

Ендокриноцити самців 12/12-групи мали невеликі темні ядра, пінисту цитоплазму, вони відрізнялися дуже збіднілими запасами холестерину і більшими розмірами, у порівнянні з контролем, що призводило до вірогідного збільшення товщини сітчастої зони кори (див. табл. 3.5). Клітинні ядра ендокриноцитів самців 24/00-гр. темні, відносно дрібні, ущільнені. Крім того, у цій групі відмічено особливо багато ендокриноцитів з явищами каріопікнозу та каріолізісу, що пояснювалося значною виснаженістю клітин сітчастої кори і масовою їх загибеллю (рис. 3.10).

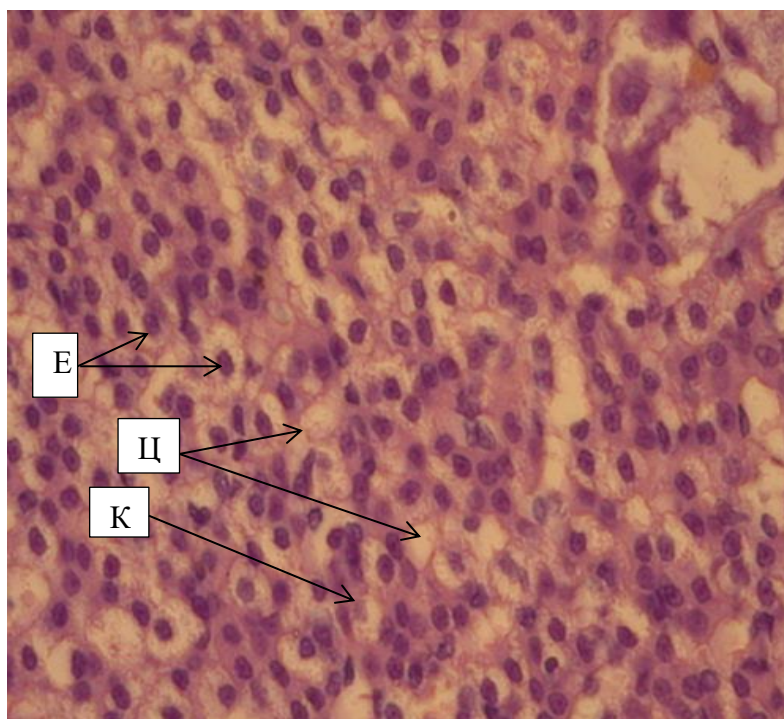


Рис. 3.10. Сітчаста зона кори надниркових залоз самців 24/00-групи. Ендокриноцити (Е) темні, дрібні, ущільнені. Поява каріолізісу (К) та цитолізу (Ц). Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення x 400

Сітчаста зона кори НЗ у самок 12/12-групи функціонально активніша ніж у щурів К-групи, її товщина статистично значимо менше. В той же час, у самок 24/00-групи характерні особливості будови цієї зони схожі з контрольними, її розміри вірогідно не змінювалися.

Підвищену активність зон кори НЗ у тварин, які знаходилися в умовах постійного освітлення, що характеризується посиленням синтезом

кортикостероїдів, підтверджують і результати, отримані R. Jorsa, A. Olah, G. Cornelissen et al., 2005 та ін. дослідниками [81, 207, 208].

Оскільки самці виявилися більш чутливими до порушень світлового режиму, проведено вибірккову каріометрію ендокриноцитів НЗ самців групи 24/00 у порівнянні з контролем (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Площа ядер ендокриноцитів ($M \pm m$, $n=100$)

Групи тварин	Площа ядер ендокриноцитів (в $\mu\text{м}^2$)			
	Клубочкова зона	Пучкова зона	Сітчаста зона	Мозкова речовина
К-група	$11,8 \pm 0,50$	$11,3 \pm 0,36$	$10,99 \pm 0,37$	$15,34 \pm 0,45$
24/00-група	$11,1 \pm 0,45$	$11,9 \pm 0,41$	$9,91 \pm 0,26^{1)}$	$19,2 \pm 0,71^{1)}$
24/00+М-група	$11,5 \pm 0,39$	$11,6 \pm 0,28$	$11,08 \pm 0,30$	$15,34 \pm 0,45$
24/00+М+С-група	$11,6 \pm 0,51$	$11,6 \pm 0,31$	$10,63 \pm 0,23$	$15,34 \pm 0,45$

Примітка: ¹⁾ – вірогідна різниця у порівнянні з контрольної групою, при $p \leq 0,05$.

У піддослідних самців щурів 24/00-групи спостерігалось зменшення об'єму клітин клубочкової і сітчастої зон кори НЗ, що могло бути пов'язане із зниженням вмісту холестерину в цитоплазмі. Каріометрія виявила зменшення об'єму ядер ендокриноцитів у цих зонах, що, вказувало на пригнічення їх функції. У пучковій зоні та у мозковій речовині тварин 24/00-групи, у порівнянні з контролем, спостерігалось характерне збільшення об'єму ядер ендокриноцитів на тлі зменшення запасів холестерину в цитоплазмі, що свідчило про стимуляцію її функціональної активності.

Проведені дослідження свідчили, що утримання тварин в умовах постійного освітлення призводить до стимуляції функціональної активності пучкової зони кори надниркових залоз і пригнічення діяльності ендокриноцитів клубочкової і сітчастої зон, що вказує 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 обумовлював

розвиток морфофункціональної картини атрофізації усіх зон кори і мозкової речовини як результат вичерпування компенсаторних можливостей.

РЕЗЮМЕ. Результати морфометричних досліджень НЗ показали, що знаходження тварин у режимі «12 годин день/12 годин ніч» у порівнянні з природним осіннім зменшенням дня незалежно від статі призводило до морфофункціональної активації усіх зон надниркових залоз з помірним підвищенням їх активності. Цілодобове освітлення тварин протягом 3,5 місяців призводило до зростання напруженості функціональної активності НЗ, що ймовірно супроводжувалося гіперпродукцією кортикостероїдів та проявами формування виснаженого стану залози. У тварин обох статей спостерігалася картина початкового морфофункціонального вичерпання зон кори НЗ, що більшою мірою виражена у самців, тобто, адренкортикальна функція самців виявилася більш уразливою до стресової дії світлового десинхронозу у порівнянні з самками.

3.3.2. Вплив комплексного введення мелатоніну та спіруліни на морфоструктуру надниркових залоз щурів за умов зміни фотоперіоду

Застосування мелатоніну (М) – як самостійно та в комбінації із спіруліною (С) м'яко корегувало негативні наслідки пролонгованого режиму освітлення (див. табл. 3.4 та 3.5). Патологічних відхилень з боку жодного проаналізованого показника не зареєстровано.

Моновведення препарату мелатоніну (М), так і сумісне його введення із спіруліною (С) призвело до нормалізації морфометричних показників надниркових залоз самців. В цих групах не зафіксовано статистично значимих відмінностей від контрольних величин (див. табл. 3.4 та рис. 3.11).

Зниження, що відмічалася на тлі обумовленого зміною фотоперіоду стану гіпопінеалізму та стресу, нівелювалися, особливо після комбінованого застосування М+С. Тобто, вже на цьому етапі дослідження спостерігався протективний ефект цих засобів.

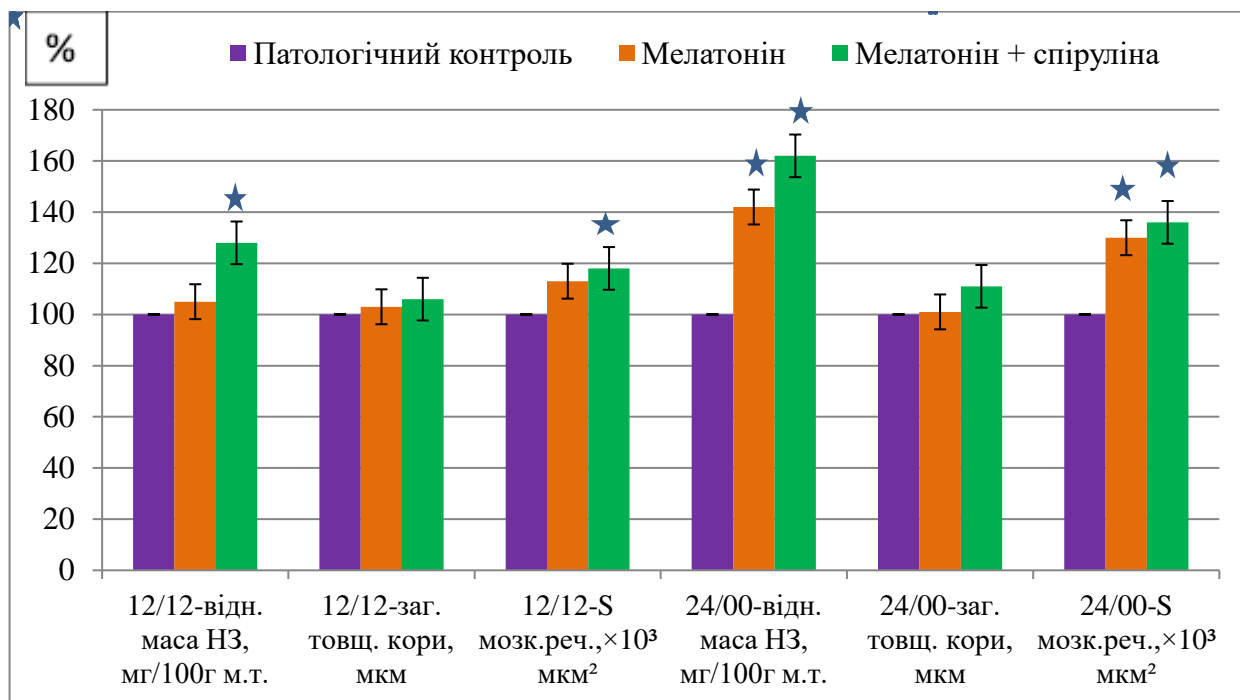


Рис. 3.11. Вплив мелатоніну та спіруліни на морфометричні показники надниркових залоз самців щурів, які знаходилися при різних умовах освітлення (відсоток від відповідного патологічного контролю); ★ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Показано, що у групі самців групи 12/12 при статистично значимому зменшенні площі мозкової речовини (на 22 %, $p \leq 0,05$) на тлі помірного зменшення товщини кори та відносної маси НЗ самостійне введення мелатоніну призводило до нормалізації проаналізованих показників, але виявлені зміни не мали значущих відмінностей від патологічного контролю, показник зростав на 13 % у порівнянні з групою 12/12 ($0,02 \leq p \leq 0,5$). Сумісне введення М+С було ефективнішим у порівнянні з моновведенням М. Таке курсове введення мелатоніну в комплексі із спіруліною викликало статистично значимий приріст відносної маси органу та зростання площі мозкової речовини на 28 % та 18 % відповідно, $p \leq 0,05$. При порівнянні ефективності моновпливу М відносно сумісного його введення із С показало, що відносна маса органу тварин з групи 12/12+М+С зростала на

21%, у порівнянні з групою 12/12+М ($p \leq 0,05$). Площа мозкової речовини відповідно відновлювалася на 16 %.

Ще більш виразним був ефект від застосування М та С у тварин, що знаходилися при цілодобовому освітленні. Визначено, що на тлі самостійного введення М спостерігалася вірогідне зростання відносної маси кори НЗ та площі мозкової речовини – відповідно на 42 %, та 30 %, $p \leq 0,05$. В групі щурів 24/00+М+С відмічено більшу ефективність від сумісного застосування обох сполук: зростання проаналізованих показників відбувалося відповідно на 62 % та 36 %, $p \leq 0,05$. Тобто, при демонстративних патологічних змінах структур надниркових залоз і дія ефекторів була більш значною.

У самок групи 12/12 спостерігалася подібна закономірність: зменшення відносної маси органу та товщини кори в більшій мірі компенсувалося сумісним введенням М та С, самостійне застосування мелатоніну проявляло значний протекторний ефект, проте було менш ефективним (рис. 3.12).

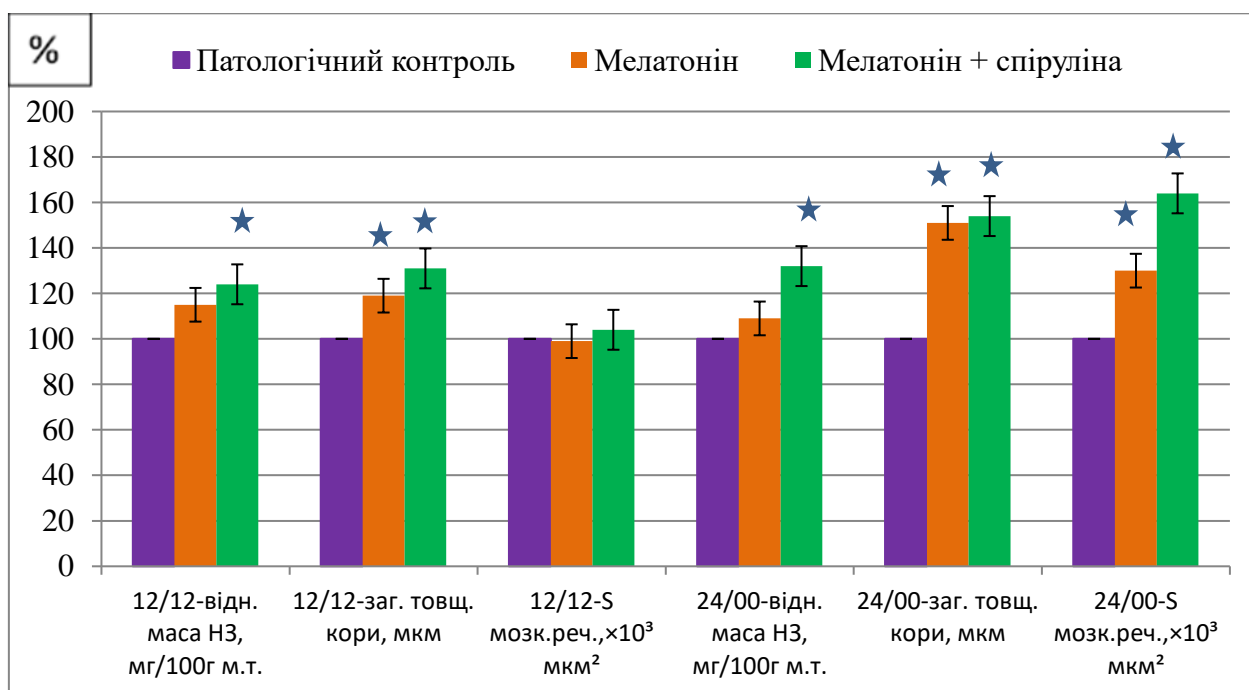


Рис. 3.12. Вплив мелатоніну та спіруліни на морфо метричні показники надниркових залоз самок щурів, які знаходилися при різних умовах освітлення (відсоток від відповідного патологічного контролю); ★ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Моно введення мелатоніну ефективно попереджало деструктивні зміни, викликані зміною режиму освітлення, що підтверджувало важливість нормальної секреторної функції епіфізу для регуляції багатьох систем організму, зокрема, НЗ.

У той же час виявлено, що сумісне введення спіруліни з мелатоніном мало синергетичний ефект та посилювало протективну дію останнього. Хоча загальних статевих особливостей виявлено не було, звертав на себе той факт, що мозкова речовина самок була більш резистентною до світлового навантаження. На відміну від самців цей показник в групах, що знаходилися в умовах 12-годинного освітлення практично не змінювався і лише цілодобове освітлення призводило до його зниження. За цих умов спостерігалась висока реактивність до застосування мелатоніну та спіруліни.

При аналізі модулюючого впливу мелатоніну та його комбінації із спіруліною на товщину окремих зон кори НЗ виявлено, що зазначені модератори проявляли помірну відновлюючу дію на проаналізовані показники (див. табл. 3.5 та рис. 3.13 і рис. 3.14).

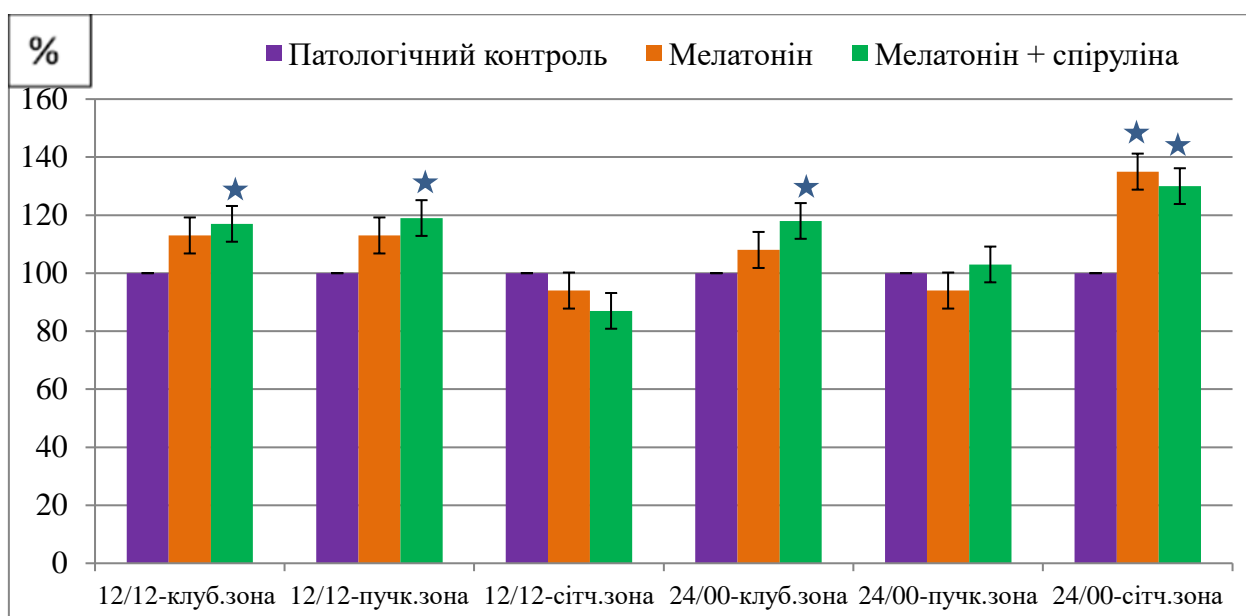


Рис. 3.13. Вплив мелатоніну та спіруліни на товщину різних зон кори надниркових залоз самців щурів, що знаходилися при різних умовах освітлення (відсоток від відповідного патологічного контролю); ★ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

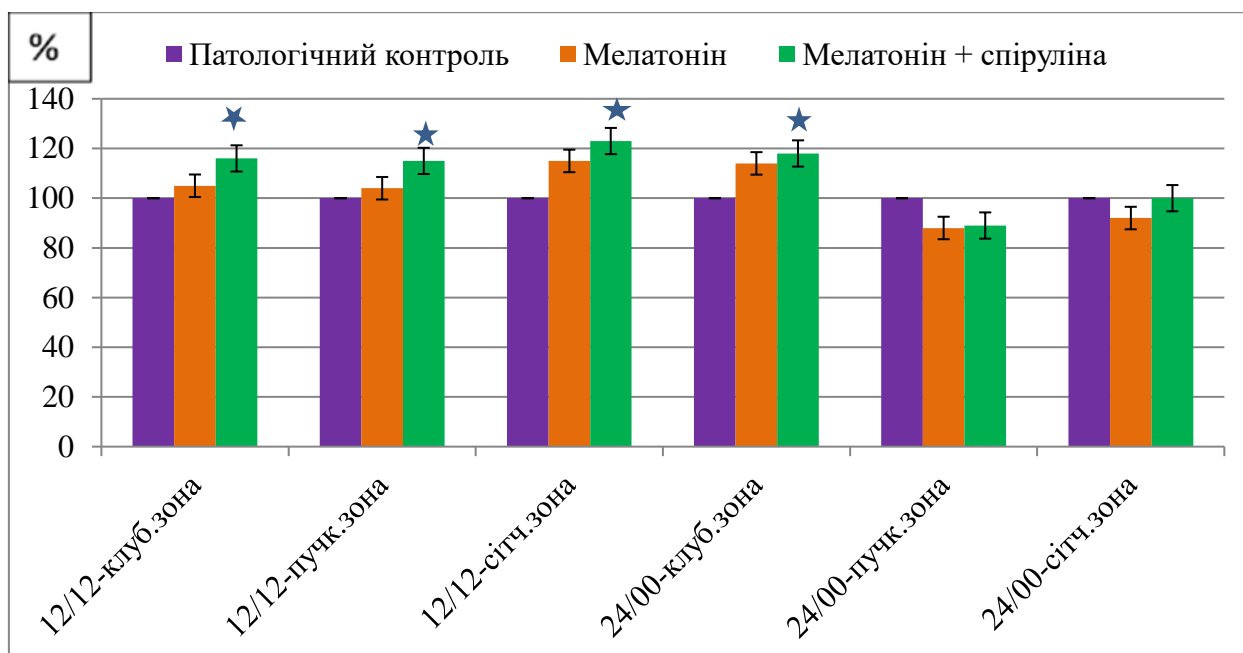


Рис. 3.14. Вплив мелатоніну та спіруліни на товщину різних зон кори надниркових залоз самок щурів, що знаходилися при різних умовах освітлення (відсоток від відповідного патологічного контролю); ★ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Слід зазначити, що як мелатонін, так і його сумісне введення із спіруліною проявляють різновекторну направленість своїх позитивних ефектів. У випадку відхилення показників у бік зниження відмічалася тенденція до їх відновлення у бік підвищення. Навпаки, при статистично значимому зростанні товщини сітчастої зони у самців групи 12/12 та незначному збільшенні пучкової зони у самок групи 24/00, спостерігалася нівелювання виявлених відхилень у напрямку їх помірною зменшення. У цьому дослідженні показана протективна та нормалізуюча дія мелатоніну, що була порівняна з сумісним його введенням із спіруліною, значущих відмінностей виявлено не було.

РЕЗЮМЕ. У випадках, де не виявлялося значного пошкоджуючої дії тривалого освітлення, вплив мелатоніну та спіруліни проявлявся помірно, більш помітний ефект спостерігався у випадках виразних відхилень від норми, зокрема, на показник відносної маси НЗ, площу мозкової речовини та ін. У тварин груп 24/00 наслідок дії М та С був виражений значніше у

порівнянні з групами 12/12. Тобто, мелатонін, компенсуючи стан гіпопінеалізму сам по собі, та в ще більш значному ступеню в комбінації із спіруліною проявляв протективну дію на більш чутливі до змін режиму освітлення ланки адренокортикальної системи. В жодному випадку не спостерігалось прояв гіперстимуляції структур органу та статистично значимого зростання проаналізованих показників вище контрольних значень. Таким чином, показано, що курсове комбіноване введення М+С сприяло запобіганню не тільки незначних розладів, а й більш глибоких деструктивних змін НЗ, що розвиваються на тлі цілодобового освітлення.

3.3.3 Аналіз гормонотворюючої активності надниркових залоз щурів при зміні режиму освітлення та за умов корекції

Широко відомо, що зміна фотоперіоду є типовим стресовим фактором, який призводить до серйозних змін в ендокринній сфері, які впливають насамперед на гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову систему [196, 209-212]. Однак і дотепер повністю не розкритим є характер стрес-індукованих змін морфо-функціонального стану надниркових залоз за умов різної функціональної активності пінеальної залози при різних умовах освітлення.

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 тварин обох статей статистично значимо зростає пропорційно ступеню світлового десинхронозу (табл. 3.7).

Адреналпродукуюча функція НЗ самців виявилася більш реактивною до чинників стресу світлового навантаження. Рівень адреналіну вже при режимі освітлення 12/12 зростав на 18 % ($p \leq 0,05$) проти 6% приросту у самок.

Таблиця 3.7

Концентрація адреналіну та кортикостерону у щурів в умовах природного та штучно подовженого фотоперіоду ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи тварин	Статистичні характеристики	адреналін, пг/мл		кортикостерон, нмоль/л	
		♂	♀	♂	♀
1	2	3	4	5	6
К-група	$M \pm m$	$20,13 \pm 0,28$	$17,90 \pm 0,41$	$80,87 \pm 2,22$	$66,86 \pm 4,11$
12/12-група	$M \pm m$ $p_{K-12/12}$	$23,74 \pm 0,76$ $\leq 0,05$	$18,99 \pm 0,27$ -	$87,35 \pm 1,88$ $\leq 0,05$	$86,52 \pm 2,38$ $\leq 0,05$
% К-12/12		+18	+6	+8	+29
12/12+М-група	$M \pm m$ $p_{K-12/12+M}$ $p_{12/12-12/12M}$	$22,41 \pm 0,19$ - -	$17,00 \pm 0,19$ - $\leq 0,05$	$84,38 \pm 2,22$ - -	$78,22 \pm 4,17$ $\leq 0,05$ -
% 12/12-12/12+М		-6	-11	-4	-10
12/12+М+С-група	$M \pm m$ $p_{K-12/12+M+C}$ $p_{12/12-12/12M+C}$	$19,87 \pm 0,92$ - $\leq 0,05$	$16,58 \pm 0,17$ - -	$79,65 \pm 1,34$ - $\leq 0,05$	$73,52 \pm 1,88$ - $\leq 0,05$
% 12/12-12/12+М+С		-17	-13	-9	-15
24/00-група	$M \pm m$ $p_{K-24/00}$	$33,10 \pm 1,36$ $\leq 0,05$	$30,69 \pm 1,00$ $\leq 0,05$	$88,64 \pm 1,45$ $\leq 0,05$	$111,56 \pm 2,84$ $\leq 0,05$
% К-24/00		+64	+71	+10	+67
% 12/12-24/24		+39	+61	+1	+29
24/00+М-група	$M \pm m$ $p_{K-24/24+M}$ $p_{24/00-24/00+M}$	$23,30 \pm 1,24$ - $\leq 0,05$	$20,22 \pm 1,08$ - $\leq 0,05$	$81,56 \pm 2,25$ - -	$88,98 \pm 4,42$ $\leq 0,05$ $\leq 0,05$
% 24/24-24/24+М		-30	-34	-8	-21
24/00+М+С-група	$M \pm m$ $p_{K-24/00+M+C}$ $p_{24/24-24/24+M+C}$	$19,87 \pm 0,92$ - $\leq 0,05$	$17,33 \pm 1,12$ - $\leq 0,05$	$77,67 \pm 2,92$ - $\leq 0,05$	$69,67 \pm 2,79$ - $\leq 0,05$
% 24/00-24/00+М+С		-40	-44	-13	-38

Цілодобове освітлення значною мірою сприяло підвищенню рівня адреналіну як у самців, так і у самок, при чому у самок виявлений приріст показника був вищим, ніж у самців (+71,5 % та + 64 %, відповідно).

На тлі застосування мелатоніну в групах 12/12 спостерігалось помірне падіння рівня адреналіну в крові, яке знижувалося до контрольних величин в групах 12/12+М+С. При цілодобовому освітленні в обох групах 24/00

самостійна дія мелатоніну ефективно попереджувала зростання рівня стрес-гормону адреналіну, зменшуючи його вміст у крові піддослідних тварин обох статей на третину відносно негативного контролю ($p \leq 0,05$). Сумісне введення спіруліни разом з мелатоніном підсилювало ефект останнього: рівень адреналіну і у самців, і у самок в групах 24/00+M+C не мав значущих відмінностей від контролю.

Слід відмітити, що у самців усіх експериментальних груп рівень кортикостерону у плазмі крові зберігався практично на одному рівні. Зміна режиму освітлення впливала на цей показник незначною мірою, його приріст коливався в межах 8-9 % відповідно в групах 12/12 та 24/00. Згідно з цим і виразного впливу після застосування як одного мелатоніну, так і його комбінації зі спіруліною не відмічалось.

На відміну від самців, у самок спостерігалася виразна реакція за зміну режиму освітлення з боку цього показника. Так, вміст кортикостерону в крові самок групи 12/12 зростав практично на третину +29 %, ($p \leq 0,05$). Цілодобове освітлення призводило у них до ще більш значущих відхилень від контролю: підвищення рівня кортикостерону досягало +67 % ($p \leq 0,05$). І в цьому дослідженні відмічено протективну дію моно введення мелатоніну, особливо в групі 24/00+M. Слід зазначити, що синергетичний ефект від застосування M+C підвищував таку дію майже вдвічі, знижуючи рівень кортикостерону в крові самок щурів на 38 % та доводячи його практично до контрольних значень.

Діапазон коливань рівня адреналіну у К-групи незначно розширений у бік низьких значень, у самців групи 12/12 – у бік високих (рис. 3.15. А). У самців, які знаходилися при постійному цілодобовому штучному освітленні діапазон значень адреналіну розширений як у бік високих, так і у бік низьких значень, що можливо пов'язано з індивідуальним реагуванням на стресовий чинник – зміну фотоперіоду.

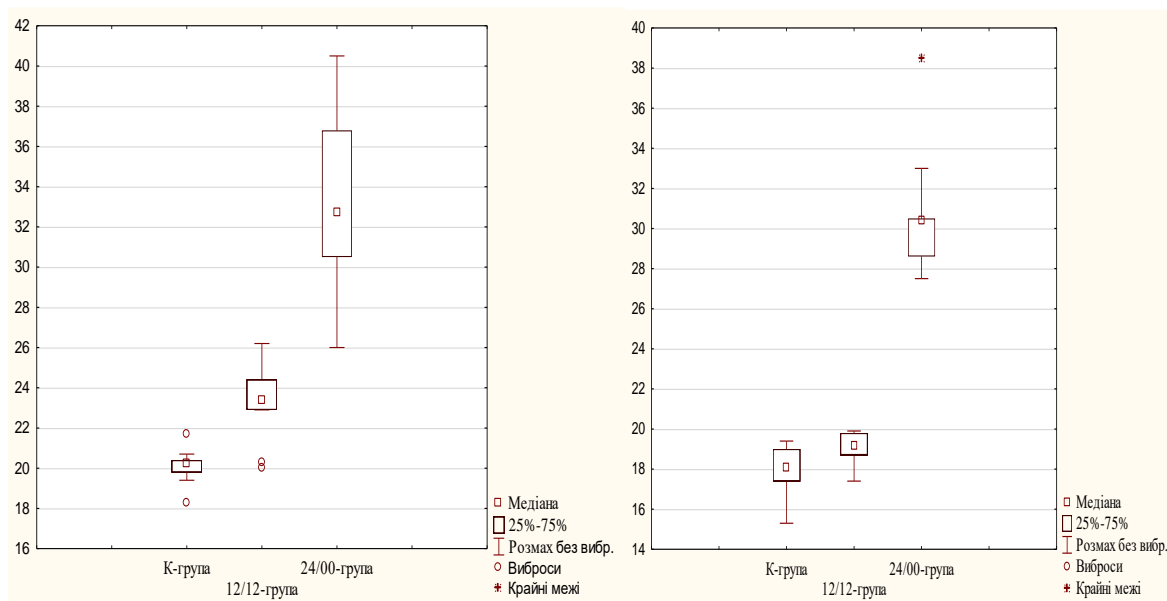


Рис. 3.15. Рівень адреналіну (пг/мл) у плазмі крові самців щурів (А) та самок (Б)

Як було відмічено вище, у самок всіх трьох груп порівняно з самцями спостерігався нижчий рівень адреналіну, особливо у контрольної та групи 12/12. Однак, при зміні фотоперіоду у них також спостерігається збільшення рівня гормону у плазмі крові (див. табл. 3.6). Діапазон його коливань у самок контрольної і 12/12-групи розширений у бік низьких значень, у самок 24/00-групи, навпаки, у бік високих (рис. 3.15. Б). Тобто, при цілодобовому освітленні у більшості самок спостерігається значуще зростання рівня адреналіну у плазмі крові.

Слід зазначити, що у самок експериментальних груп спостерігалася більш виразна фотозалежна реакція пучкової зони НЗ: приріст рівня кортикостерону у плазмі крові самок експериментальних груп порівняно з відповідними групами самців був значимо вищим (див. табл. 3.7). У порівнянні з самцями відповідних груп, у самок групи 12/12 виявлено статистично значиме збільшення рівня кортикостерону на 22,7 % ($p \leq 0,05$), у тварин на тлі цілодобового освітлення рівень цього гормону був ще вищим – на 40,1 % ($p \leq 0,05$) (див. табл. 3.7). Тобто, самки при зміні фотоперіоду,

проявили більш гостру реакцію на стресовий чинник, порівняно з самцями. Ймовірно, це пов'язано з підвищеною чутливістю надниркових залоз у жінок до стимуляції адренокортикотропного гормону [212].

Діапазон коливань рівня кортикостерону у самців всіх експериментальних груп зміщений у бік високих значень, особливо у групі 12/12 (рис. 3.16. А). Діапазон коливань рівня кортикостерону у самок К-групи був розширений у бік низьких значень, у самок 24/00-групи він також був направлений у бік низьких значень, але при цьому мав істотно вищі показники. В той же час, у групі самок 12/12, як і у експериментальних групах самців, діапазон коливань рівня кортикостерону був направлений у бік високих значень (рис 3.16. Б).

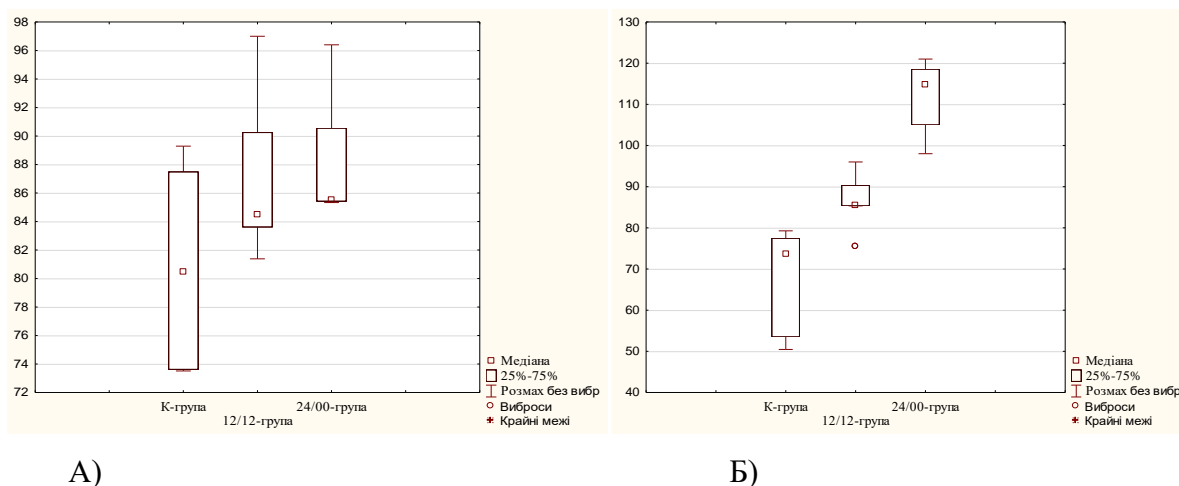


Рис. 3.16. Рівень кортикостерону (нмоль/л) у плазмі крові самців (А) та самок (Б) щурів

Ймовірно, у самок 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 щурів із зміненим фотоперіодом

призводило до ефективного зниження обох стрес-гормонів НЗ (див. табл. 3.7). У групах тварин 12/12 та 24/24 після моновведення мелатоніну спостерігалось зниження рівня як адреналіну, так і кортикостерону практично до контрольних величин. У той же час, у більшості груп вірогідних відмінностей від показників відповідного патологічного контролю не спостерігалось. Більш ефективним виявилось сполучене введення щурам мелатоніну в комбінації зі спіруліною, тобто спостерігався синергетичний ефект. За цих умов у тварин практично усіх груп відбувалося значуще зниження проаналізованих показників до показників в групах відповідного контролю.

Діапазон коливань рівня адреналіну та кортикостерону змінював вектор у бік більш низьких значень, що також було маркером зменшення напруги адренокортикальної функції НЗ та нормалізації її функціональної активності.

РЕЗЮМЕ. Проведені гістологічні та морфометричні дослідження надниркових залоз самців, свідчать про те, що утримання тварин в умовах зміни режиму освітлення супроводжується змінами в їхній структурі, які відповідають різним стадіям загального адаптаційного синдрому у відповідь на дію стресового фактору. Так, 12-годинне освітлення призводить до незначного зменшення абсолютної і відносної маси залози, зменшення загальної ширини кори за рахунок звуження клубочкової і пучкової зон, зменшення площі мозкової речовини при збільшенні площі ядер нейроендокриноцитів та до морфофункційної активації усіх зон, що відповідає стадії резистентності Цілодобове освітлення призводить до статистично значимих змін у морфофункціональній організації надниркових залоз самців, а саме зменшенні: абсолютної і відносної маси залоз; загальної ширини кори за рахунок клубочкової та сітчастої зон; площі мозкової речовини та збільшенні площі ядер нейроендокриноцитів з явищами каріолізису та цитолізу. Виявлена перебудова надниркових залоз у тварин групи 24/00 характерна для стадії виснаження механізмів регулювання

загального адаптаційного синдрому. У самок 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 десинхронізації функцій залози. Застосування мелатоніну в усіх щурів із зміненим фотоперіодом призводило до значущого зниження в крові рівня обох стрес-гормонів надниркових залоз. Більш ефективним виявилось сполучене введення мелатоніну в комбінації зі спіруліною, тобто спостерігався синергетичний ефект. Вміст адреналіну у самців і самок в групах 24/00+М+С знижувався на 40 % та 44 % відповідно, у самок падіння рівня кортикостерону становило -38 %, його величина практично не мала відмінностей від контрольних значень. На показник величини ядер ендокриноцитів застосування мелатоніну та спіруліни впливало незначною мірою, виявлені позитивні зміни, хоча і мали тенденцію до нормалізації, не досягали статистично значимих відмінностей, порівняно з контролем.

Використана схема курсового введення М+С може розглядатися як ефективний засіб профілактики порушень адренкортикальної системи, які обумовлені розвитком гіпопінеалізму та стресу, спричинених пролонгацією фотоперіоду.

3.4 Вплив зміни світлового режиму на поведінкові патерни щурів

Одним із завдань роботи було з'ясувати вплив зміни режиму освітлення, яке призводило до гіпопінеалізму та напруження адренкортикальної системи, розбалансування ендокринної системи, зокрема, репродуктивної функції, на поведінку досліджуваних тварин.

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 самок всіх груп

вищі у порівнянні з самцями (табл. 3.8 та табл. 3.9).

Таблиця 3.8

Середні величини поведінкових характеристик самців щурів, які утримувалися при різних режимах освітлення і на тлі застосування мелатоніну та спіруліни ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин	Поведінкові показники					
	локомоція	перінг	грумінг	принюхування	урінація	дефекація
К-група	19,7± 2,20	3,6± 1,28	3,8± 0,17	38,6± 4,19	0,8± 0,23	2,9± 0,24
12/12-група	27,4± 4,06*	5,9± 2,06	3,3± 0,55	43,0± 1,07	0,7± 0,13	3,5± 0,70
12/12+М-група	22,1± 4,11	4,2± 1,16	3,6± 0,13	39,4± 2,77	0,8± 0,21	3,3± 0,22
12/12+М+С-група	20,8± 3,22	3,9± 1,33	3,8± 0,25	37,2± 1,22	0,9± 0,12	3,0± 0,34
24/00-група	18,8± 3,81	3,2± 1,15	2,9± 0,20*	36,3± 1,54	0,5± 0,13	3,3± 0,90
24/00+М-група	21,8± 3,47	3,7± 1,21	3,1± 0,18	34,3± 1,05	0,7± 0,20	3,0± 0,19
24/00+М+С-група	20,1± 1,91	3,7± 2,12	4,0± 0,30	40,3± 2,25	0,8± 0,20	2,8± 0,19

Примітка: * – тенденція до змін у порівнянні з контрольною групою, ($0,1 > p > 0,05$).

За порівняльними результатами, контрольна група самок мала статистично значимо вищі на 38 % ($p \leq 0,05$) показники локомоції на відміну від самців, які утримувалися при природному освітленні. У той же час самки групи 12/12 – незначно вищі на 25 %, у порівнянні з самцями, які утримувалися при 12-годинному освітленні (див. табл. 3.8, рис. 3.17). Однак, у групах тварин, які зазнали 24-годинного впливу штучного освітлення, зафіксовано статистично значиме збільшення показників горизонтальної рухової патерни у самок на 59 % ($p \leq 0,05$), порівняно з середніми даними самців (див. табл. 3.8 та 3.9).

Таблиця 3.9

**Середні величини поведінкових характеристик самок щурів, які
утримувалися при різних режимах освітлення і на тлі застосування
мелатоніну та спіруліни ($M \pm m$, $n=10$)**

Групи тварин	Поведінкові показники					
	локомоція	рерінг	грумінг	принюху-вання	урінація	дефекація
К-група	31,8± 3,90 ²⁾	8,0± 1,51 ²⁾	2,2± 0,46 ²⁾	31,3± 1,45	0,7± 0,06	1,0± 0,33 ²⁾
12/12-група	36,4± 3,21	7,6± 1,41	2,5± 0,40	25,9± 1,36 ²⁾	0,6± 0,12	0,6± 0,26 ³⁾
12/12+М-група	34,3± 2,11 ²⁾	8,4± 1,51	2,2± 0,34	29,7± 1,04	0,7± 0,11	0,6± 0,27 ²⁾
12/12+М+С-група	31,4± 3,03	7,9± 0,66	2,3± 0,19	33,1± 1,21	0,8± 0,16	1,0± 0,16 ²⁾
24/00-група	45,7± 5,18 ^{1) 2)}	9,2± 1,26 ²⁾	1,4± 0,29 ^{1) 2)}	32,6± 3,47	0,5± 0,22	0,8± 0,26 ²⁾
24/00+М-група	35,2± 3,08 ²⁾	8,2± 1,20	2,0± 0,20 ²⁾	30,8± 2,52	0,7± 0,22	0,8± 0,10 ²⁾
24/00+М+С-група	30,5± 1,46 ²⁾	7,8± 1,37	2,4± 0,27	30,1± 1,50 ²⁾	0,8± 0,12	1,1± 0,14 ²⁾

Примітка: ¹⁾ – вірогідна різниця у порівнянні з контрольної групою ($p \leq 0,05$);

²⁾ – значуща різниця у порівнянні з відповідним показником самців ($p \leq 0,05$);

³⁾ – тенденція до змін у порівнянні з контрольною групою ($0,1 > p > 0,05$).

За результатами середніх показників вертикальної рухової патерни впродовж дослідження самки групи 12/12 мають незначно вищу активність на 22 %, у порівнянні з самцями цієї ж групи. Для самок як К-групи, так і 24/00-групи характерне статистично значиме збільшення середніх показників рерінгу у порівнянні з самцями на 55 % і 65 %, відповідно (рис. 3.17). Статистично значиме зниження показників гігієнічної поведінки властиве самкам контрольної групи на 42 % ($p \leq 0,05$) та групі, яка утримувалася при цілодобовому освітленні на 51 % ($p \leq 0,05$), відповідно до груп самців. Вірогідних змін грумінгу тварин, які утримувалися при 12-годинній дії штучного освітлення, у статевому аспекті, не зафіксовано (див. рис. 3.17).

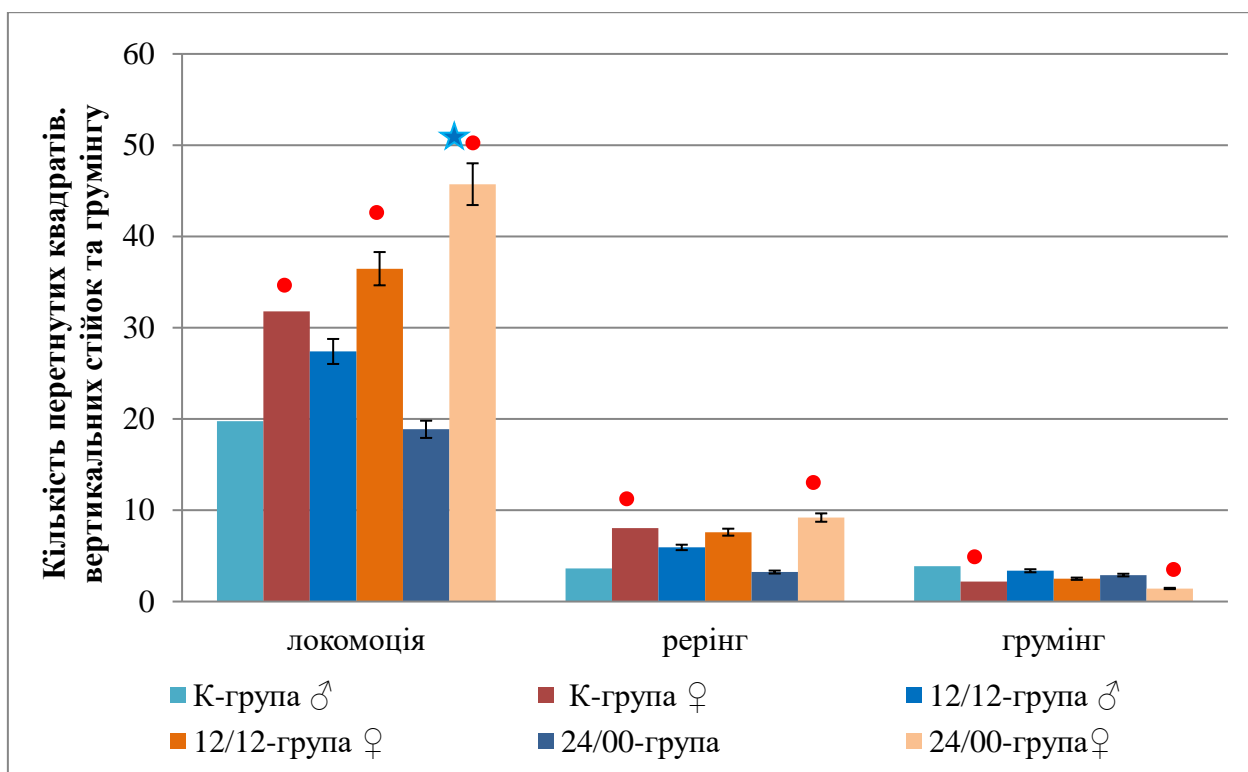


Рис. 3.17. Вплив зміни режиму освітлення на динаміку середніх показників рухової поведінки щурів у тесті «відкрите поле»; ★ – вірогідність змін відносно відповідного контролю, ($p \leq 0,05$); • – значуща різниця у порівнянні з відповідним показником самців, ($p \leq 0,05$)

Отже, рухова поведінка самців характеризується нижчою локомоторною активністю, як горизонтальною, так і вертикальною, у порівнянні з самками. Проте, за показниками грумінгу – вищу, особливо серед тварин, які утримувалися в умовах цілодобового освітлення.

Показники вегетативної поведінки, а саме урінація у тварин всіх груп, у статевому аспекті статистично значимо не відрізнялися, однак були дещо нижчими у самок (рис. 3.18). Так, кількість урінацій у самок контрольної групи та 12/12-групи знизилася на 14 % у порівнянні з самцями, відповідних груп. У щурів, які зазнали впливу 24-годинного освітлення, результати за даною поведінковою патерною майже не відрізняються.

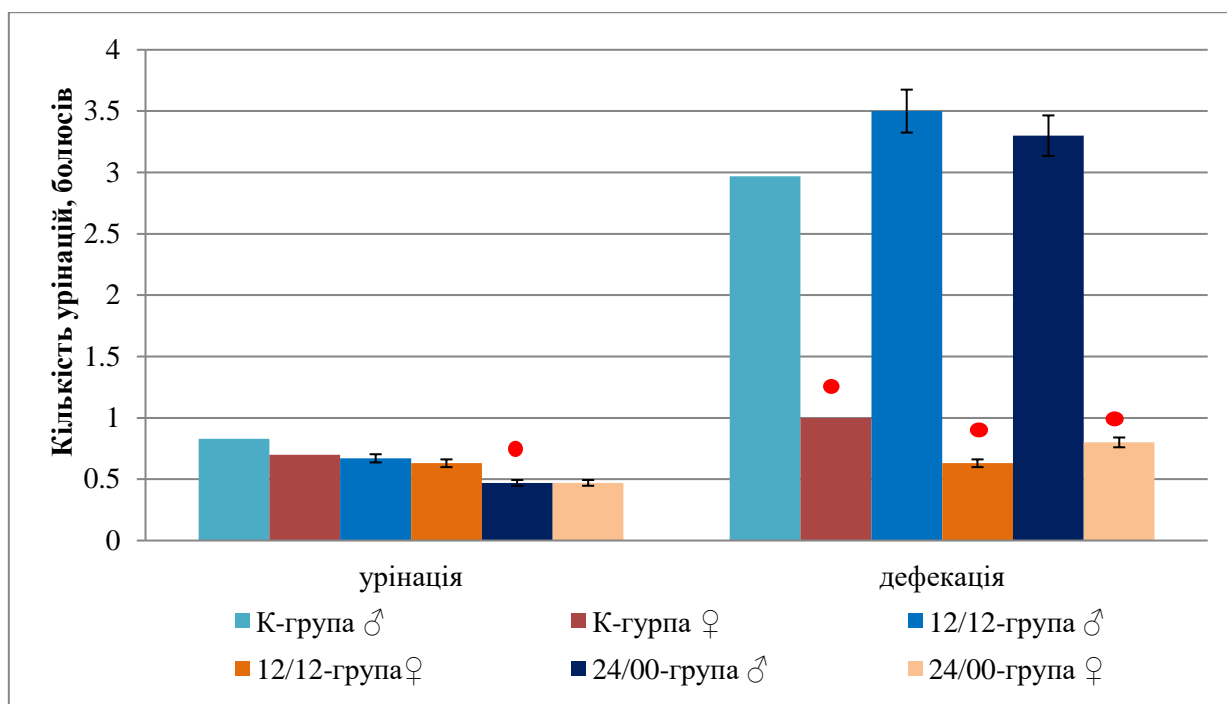


Рис. 3.18. Вплив зміни режиму освітлення на динаміку середніх показників вегетативної поведінки щурів у тесті «відкрите поле»; • – вірогідність змін відносно відповідного контролю, ($p \leq 0,05$)

Середні результати показників дефекації, яка є вірогідним критерієм емоційності тварин [213], серед щурів обох статей контрольних груп статистично значимо зменшуються на 66 % ($p \leq 0,05$) у самок. Кількість болюсів також статистично значимо зменшується як у самок 24/00-групи на 76 % ($p \leq 0,05$) так і у самок 12/12-групи на 82 % ($p \leq 0,05$), у порівнянні з самцями відповідних груп (див. табл. 3.8, 3.9 та рис. 3.18).

Як було показано вище на тлі 12-годинного освітлення у самців щурів спостерігалось підвищення рівня тривожності, на 39 % зростав показник кількості локомоцій, підвищувався також і рерінг (+63 % від групи контролю, ($p \leq 0,05$)) (див. табл. 3.8 та див. рис. 3.17).

На тлі самостійного застосування мелатоніну у тварин відмічено помірне зростання грумінгу та зниження кількості локомоцій і рерінгу (на 20% та 29 %, відповідно) (див табл. 3.8). Сумісне використання мелатоніну в комбінації зі спіруліною приводило усі проаналізовані показники до рівня

контрольних значень (рис. 3.19).

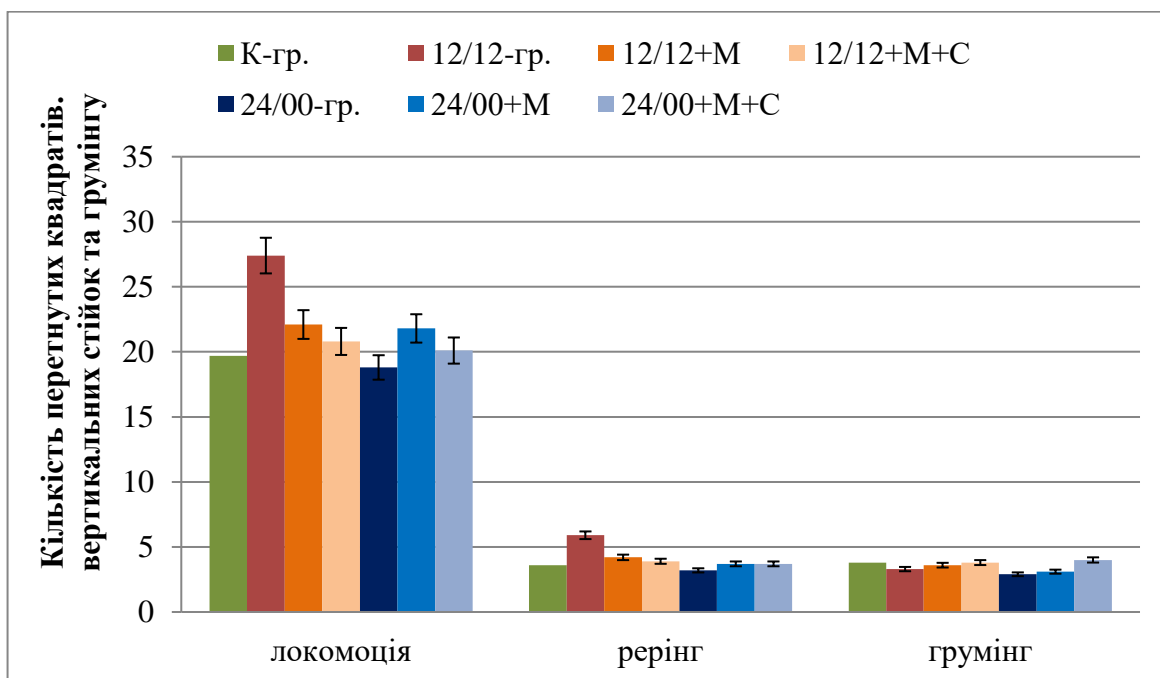


Рис. 3.19. Вплив мелатоніну та спіруліни на динаміку середніх показників рухової поведінки самців щурів у тесті «відкрите поле»

Цілодобове освітлення, навпаки, призводило до незначної пригніченості поведінкових реакцій самців щурів. При цьому, а ні самостійне введення мелатоніну, а ні його сумісне із спіруліною у таких тварин не викликало значущих змін відносно патологічного контролю. Слід відмітити, що в жодній з груп 24/00 статистично значимих відхилень від контрольної групи виявлено не було (див. рис. 3.19).

Відносно вегетативних реакцій, у щурів груп 12/12 показники дефекації та урінації відрізнялися від контролю незначною мірою. Коливання цих показників під впливом мелатоніну та спіруліни не мали значущих відмінностей, у порівнянні з контрольними величинами та групами патологічного контролю 12/12 (рис. 3.20, див. табл. 3.8).

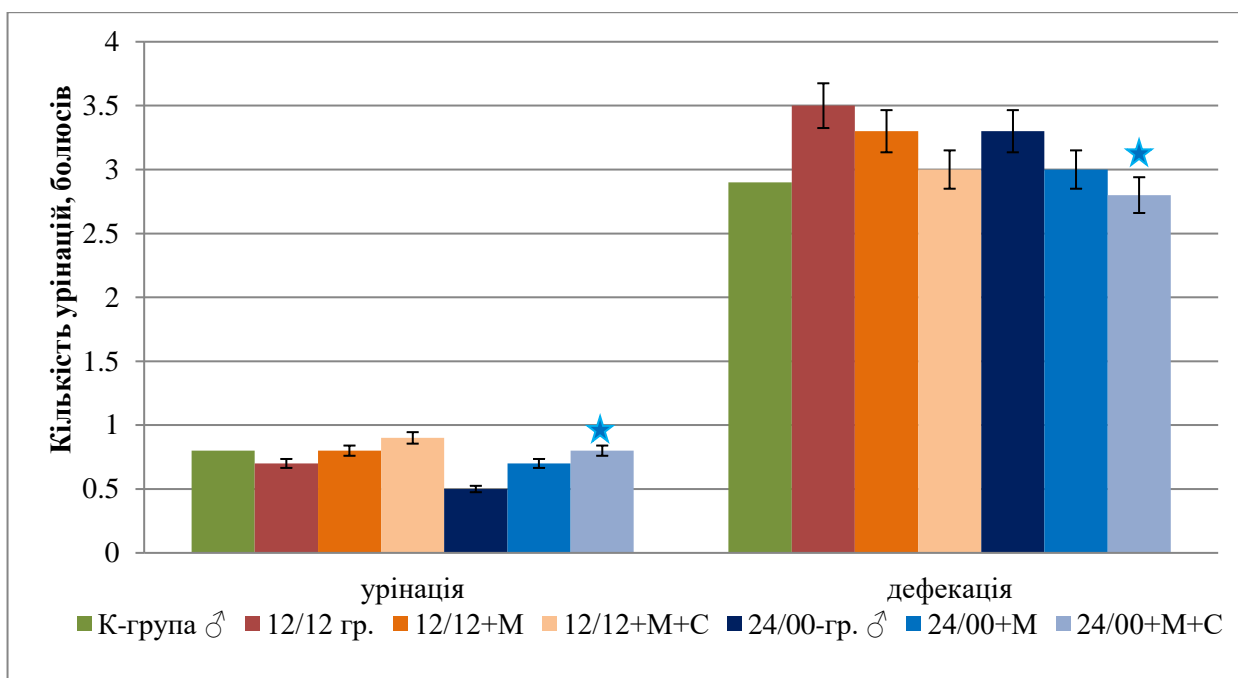


Рис. 3.20. Вплив мелатоніну та спіруліни на динаміку середніх показників вегетативної поведінки самців щурів у тесті «відкрите поле»; ★ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Слід зазначити, що самостійне застосування мелатоніну підвищувало у самців кількість урінацій та зменшувало кількість дефекацій, доводячи ці показники практично до контрольних величин. Проте, у групі 24/00+М спостерігалось статистично значиме збільшення кількості урінацій на 40 % ($p \leq 0,05$), порівняно з самцями групи 24/00. Сумісне введення М+С ще в більшій мірі наближало ці показники до контрольних величин (див. рис. 3.20). У порівнянні з самцями гр. 24/00, у групі 24/00+М+С спостерігалось статистично значиме підвищення кількості урінацій на 60 % ($p \leq 0,05$).

Самки виявилися більш чутливими до протективної дії як самого мелатоніну, так і його сумісного застосування із спіруліною (див. табл. 3.9). На тлі введення мелатоніну кількість локомоцій при 12-годинному освітленні незначно знижувалася на 6 %, порівняно з патологічною 12/12-групою, наближуючись до контрольних значень (рис. 3.21). У той же час, введення

мелатоніну при цілодобовому освітленні спровокувало зниження локомоцій на 23 %, порівняно з групою 24/00.

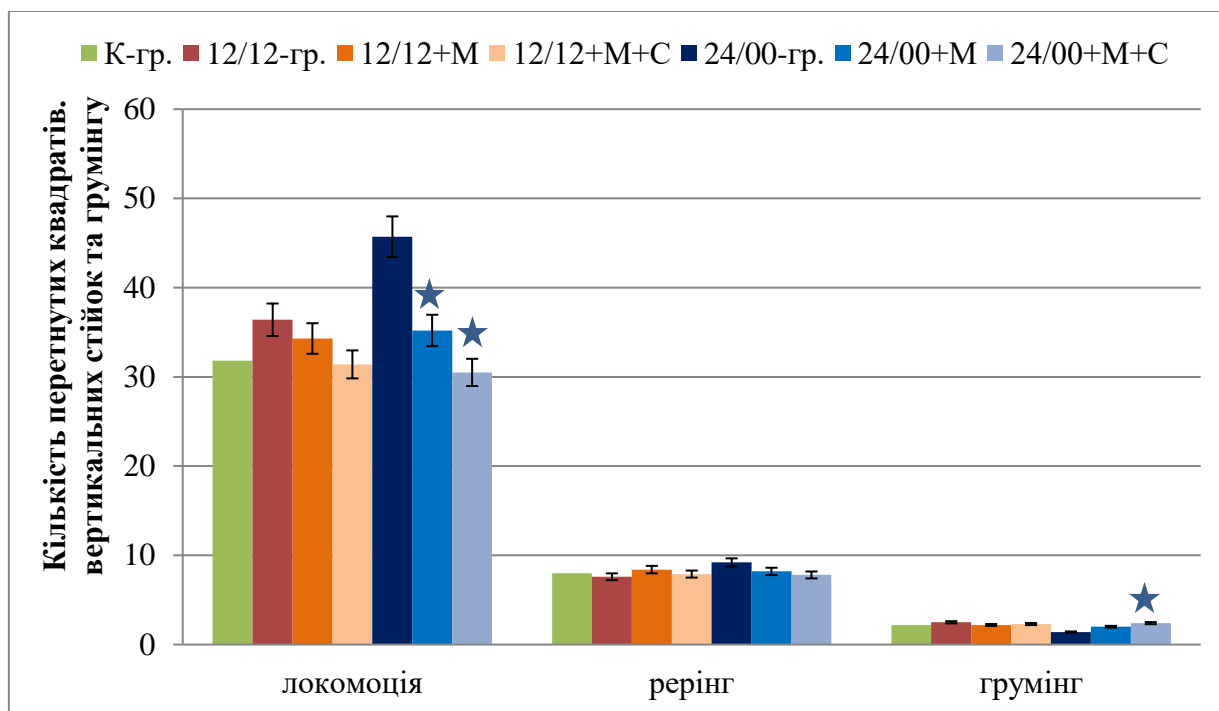


Рис. 3.21. Вплив мелатоніну та спіруліни на динаміку середніх показників рухової поведінки самок щурів у тесті «відкрите поле»; ★ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Сумісне введення тваринам М+С ще значніше знижувало ступінь тривожності тварин, при цьому кількість локомоцій у даних групах тварин знизилася наближуючись до контрольних значень. Слід зазначити, що у групі 24/00+М+С кількість перетнутих квадратів статистично значимо знижується на 33 % ($p \leq 0,05$), порівняно з групою 24/00 (див. рис. 3.21).

Також відмічено виразний вплив мелатоніну та спіруліни на показник грумінгу, який значною мірою був знижений саме у самок групи 24/00 на 36 %, порівняно з К-групою. Як самостійне введення мелатоніну, так і його композиційне застосування підвищувало значення цієї поведінкової патерни до контрольних величин (див. рис. 3.21). Слід зазначити, що у групі 24/00+М+С показник грумінгу статистично значимо зростає на 71 % ($p \leq 0,05$), порівняно з групою 24/00 (див. рис. 3.21)

Як і у самців, у самок під впливом мелатоніну і спіруліни відбувалося відновлення значень показника урінацій до величин, отриманих в контрольній групі. Такий же ефективний корегуючий вплив сумісної дії М та С відмічено на показник кількості дефекацій (рис. 3.22).

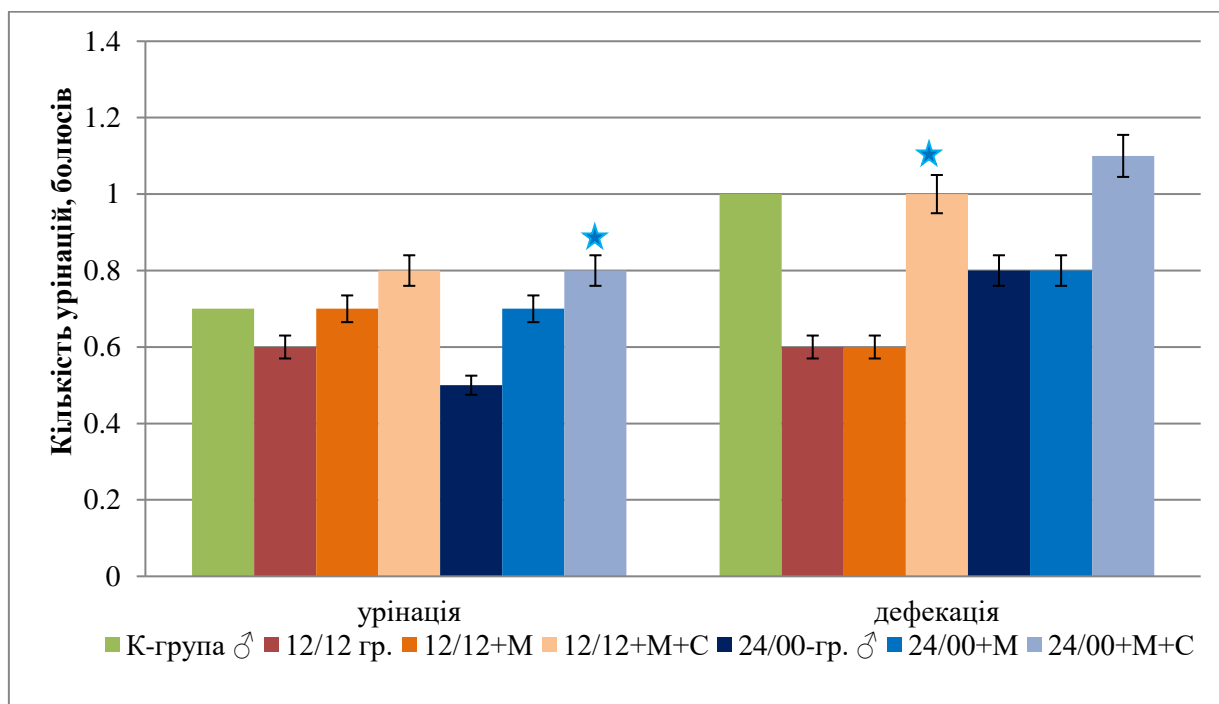


Рис. 3.22. Вплив мелатоніну та спіруліни на динаміку середніх показників вегетативної поведінки самок щурів у тесті «відкрите поле»;
★ – вірогідність змін відносно відповідного патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Слід зазначити, що величина показника кількості дефекацій статистично значимо знижена в групі 12/12 та групі 12/12+М на 40 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контрольними результатами.

РЕЗЮМЕ. За рівнем емоційності самки усіх груп є більш тривожними, у порівнянні з самцями, проте контрольна група має схожу динаміку з динамікою самців і вони демонструють вищі адаптаційні можливості. Зміна основних поведінкових патерн, таких як локомоції та дефекації, у тварин, які утримувалися при зміні режиму освітлення, кардинально відрізняються у плані статевих диморфізму. Так, у самців середній рівень локомоційної

активності до третього експериментального дня зростає, а дефекації – знижується, у самок – навпаки. Це відображається на стратегії їхньої поведінки відносно адаптації до стресового фактору. У самців патологічних груп спостерігається пасивно-оборонна поведінка, у самок – агресивно-домінантна. При порівнянні поведінкових патерн у тварин, що утримувалися в режимі зміненого фотоперіоду та щурів, яких тримали за тих же умов та вводили біодобавки мелатоніну та спіруліни виявлено моделюючу дію останніх на рівень тривожності та агресивності піддослідних щурів, особливо самок. Тобто, позитивний вплив як самотійного введення мелатоніну, так і його сумісного застосування із спіруліною, не тільки нормалізує морфофункціональну структуру НЗ та їх гормональну стрес-активність, але й відображається на показниках рухової та вегетативної поведінки тварин. Саме у цьому спостереженні виявлено певну перевагу сумісно введення мелатоніну із спіруліною.

3.5 Вплив мелатоніну та спіруліни на репродуктивну функцію щурів при зміненому фотоперіоді

3.5.1 Вплив профілактичного введення мелатоніну та спіруліни на морфофункціональні показники органів репродуктивної системи щурів за умов зміни режиму освітлення

Проведено порівняльне вивчення стану репродуктивної системи самців та самок щурів з експериментальним десинхронозом на тлі корекції його наслідків препаратами мелатоніну та спіруліни. Виявлено, що у самців, які перебували в умовах зміненого фотоперіоду, особливо групи 24/00, відбувалося незначне підвищення маси тіла. У самців щурів, що знаходилися в умовах зміненого режиму освітлення, маса усіх статевих органів була статистично значимо нижчою, у порівнянні з контрольними тваринами (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

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

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 \pm 33,0	219,6 \pm 24,7	560,8 \pm 38,2	451,7 \pm 22,4
12/12-група	1056,5 \pm 35,8 ¹⁾	175,9 \pm 23,1 ¹⁾	413,3 \pm 29,8 ¹⁾	382,8 \pm 13,1 ¹⁾
% К-12/12	-15	-21	-27	-16
12/12+М-група	1211,5 \pm 41,2 ²⁾	190,3 \pm 9,2	486,5 \pm 29,2	414,9 \pm 34,2
% 12/12-12/12+М	+15	+8	+18	+9
12/12+М+С-група	1293,4 \pm 58,3 ²⁾	202,2 \pm 9,1 ²⁾	530,4 \pm 44,2 ²⁾	431,0 \pm 18,9 ²⁾
% 12/12-12/12+М+С	+22	+15	+28	+13
24/00-група	1017,8 \pm 49,8 ¹⁾	138,3 \pm 12,3 ¹⁾	400,3 \pm 25,8 ¹⁾	331,7 \pm 35,0 ¹⁾
% К-24/00	-19	-37	-29	-27
% 12/12-24/24	-4	-22	-3	-13
24/00+М-група	1265,2 \pm 82,6	198,1 \pm 13,1 ²⁾	492,4 \pm 31,3	414,8 \pm 37,3
% 24/24-24/24+М	+24	+43	+23	+25
24/00+М+С-група	1303,4 \pm 51,6 ²⁾	206,9 \pm 27,9 ²⁾	523,4 \pm 33,5 ²⁾	465,1 \pm 26,3 ²⁾
% 24/00-24/00+М+С	+28	+50	+31	+40

Примітка: ¹⁾ – значуще відхилення показника відносно груп контролю, $p \leq 0,05$;

²⁾ – значуще відхилення показника відносно груп відповідного патологічного контролю, $p \leq 0,05$

Це може свідчити про явища гіпогонадізму та глибокі зміни у репродуктивній системі, що виникли на тлі підтвердженого стресового напруження та мелатонінової недостатності. Прояви деградаційних процесів спостерігалися вже при пролонгації часу освітлення до 12 годин. У тварин групи 12/12 зниження ваги вентральної передміхурової залози (ВПЗ) склало 21% ($p \leq 0,05$), сім'яних пухирців – 26 % ($p \leq 0,05$), а придатків яєчка – 16 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контрольними величинами.

У щурів, що знаходилися при цілодобовому освітленні деградаційні процеси пропорційно поглиблювалися. Таку зміну маси репродуктивних органів можна пояснити зниженням андрогенної насиченості організму тварин у стані гіпопінеалізму, що цілком узгоджується з даними літератури [214]. Стосовно сім'яників, які відносяться до андрогенпродукуючих залоз, слід зазначити що зменшення їхньої ваги відбувається в разі значних органічних уражень репродуктивної системи.

На тлі введення досліджуваних сполук, як окремо М, так і сумісно з С, у всіх групах щурів, що знаходилися в умовах пролонгації світлового навантаження спостерігалалося відновлення маси ВПЗ, сім'яних пухирців та придатку яєчка. Нормалізація стану статевих органів збігалася з відновленням балансу статевих гормонів, що буде показано нижче. Поясненням таких позитивних змін можна вважати зменшення напруження організму в цілому, яке виникало при зміні фотоперіоду та розвитку гіпопінеалізму за рахунок компенсації мелатонінової недостатності.

На тлі монозастосування препарату мелатоніну для корекції репродуктивних розладів у самців обох дослідних груп відмічалася помірне відновлення маси органів репродуктивної системи. У щурів на тлі світлового дисхронозу при використанні лише препарату мелатоніну регресія ВПЖ, СП та придатків яєчка в порівнянні з контрольними тваринами в певній мірі зберігалася. Більш ефективним і у цьому випадку виявилася сумісне введення М+С.

При оцінці впливу світлового навантаження на морфофункціональні показники сперматозоїдів виявлено, що на тлі зміненого фотоперіоду з боку статевих клітин самців спостерігалася порушення процесу сперматогенезу. При чому негативні зміни корелювали з тривалістю часу освітлення (табл. 3.11). Показано, що в найменшому ступеню пролонгація фотоперіоду впливала на кількість патологічних форм сперматозоїдів. Усі величини не мали значущих відмінностей від контрольної групи.

Таблиця 3.11

Вплив досліджуваних препаратів на морфофункціональні показники сперматозоїдів у щурів на тлі світлового десинхронізму ($M \pm m$, $n=20$)

Групи тварин	Кількість сперматозоїдів, млн/мл	Патологічна форма, %	Рухомість спермійів, %
1	2	3	4
К-група	44,88 \pm 3,22	25,00 \pm 1,75	69,25 \pm 1,99
12/12-група	29,00 \pm 2,57 ¹⁾	28,00 \pm 2,62	44,88 \pm 2,09 ¹⁾
% К-12/12	-35	+12	-35
12/12+М-група	37,25 \pm 2,23 ²⁾	24,88 \pm 2,24	55,75 \pm 5,26 ^{1) 2)}
% 12/12-12/12+М	+28	-12	+24
12/12+М+С-група	40,88 \pm 3,56 ²⁾	25,50 \pm 2,92	60,63 \pm 3,20 ²⁾
% 12/12-12/12+М+С	+40	-9	+33
24/00-група	24,00 \pm 1,40 ¹⁾	29,50 \pm 2,62	34,75 \pm 3,40 ¹⁾
% К-24/00	-47	+18	-50
% 12/12-24/24	-18	+5	-23
24/00+М-група	32,50 \pm 2,09 ^{1) 2)}	25,75 \pm 1,44	45,63 \pm 3,12 ^{1) 2)}
% 24/24-24/24+М	+35	-13	+31
24/00+М+С-група	38,63 \pm 2,24 ²⁾	26,63 \pm 2,95	53,25 \pm 3,40 ^{1) 2)}
% 24/00-24/00+М+С	+60	-10	+53

Примітка: ¹⁾ – значущість змін відносно тварин групи контролю, $p \leq 0,05$; ²⁾ – значущість змін відносно показника відповідного патологічного контролю, $p \leq 0,05$

На відміну від цього показника кількість та рухомість сперматозоїдів знижувалася вже при рівному співвідношенні режиму освітлення/темрява більш, ніж на третину ($p \leq 0,05$). Продовження часу освітлення до 24 годин зменшувала ці величини практично вдвічі. Спостерігалась взаємна пропорційність змін кількості та рухомості сперматозоїдів як в групі 12/12, так і в групі 24/00 (див. табл. 3.11). Оскільки проаналізовані показники є андроген-залежними, такі різкі негативні зміни можна пов'язати із падінням рівня тестостерону в крові та фруктози у СП тварин, що знаходилися при штучному освітленні, що буде показано нижче.

Крім того, у самців експериментальних груп статистично значимо знижувався рівень фруктози – показника андрогенної насиченості організму – та головного енергозабезпечуючого фактору життєздатності сперматозоїдів – кількість фруктози, що продукується у СП безпосередньо впливає на рухомість останніх (рис. 3.23).

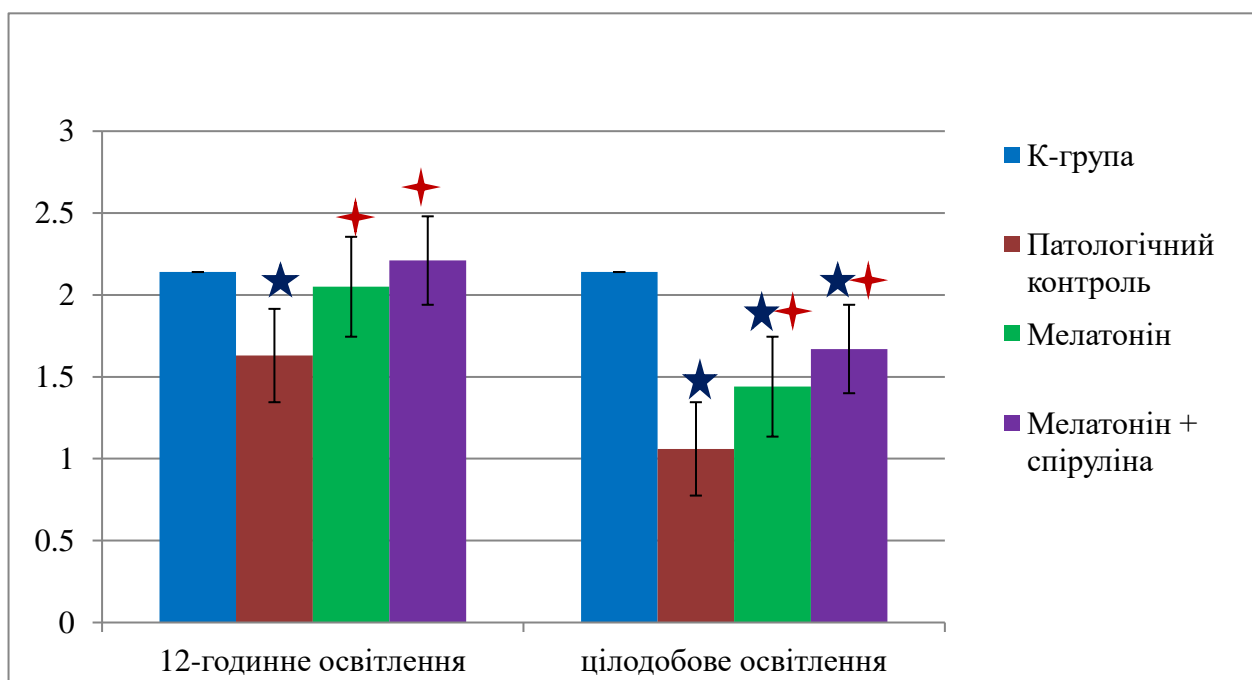


Рис. 3.23. Вплив зміни режиму освітлення та корегуючої дії мелатоніну і спіруліни на вміст фруктози у сім'яних пухирцях самців щурів (нмоль/л); ★ – значущість змін порівняно до контролю, ($p \leq 0,05$); ★ – значущість змін порівняно до патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Показано, що 12-годинне освітлення призводить до статистично значимого зниження рівня фруктози у сім'яних пухирцях на 24 % ($p \leq 0,05$). Цілодобове освітлення викликало ще більш значущі відхилення цього показника від контрольних величин – на 49 % ($p \leq 0,05$) (див. рис. 3.23). Відомо, що синтез фруктози у СП є андроген-залежним процесом, її концентрація є маркером реалізації дії тестостерону. Виявлені зміни у бік зниження її концентрації пояснюють зниження маси органів репродуктивної

системи та пошкодження сперматогенезу у тварин груп при штучно пролонгованому освітленні.

Після самотійного введення М в обох групах щурів, що знаходилися за умов штучного освітлення, відбувається нормалізація кількісних показників статевих клітин, статистично значимо збільшується й відсоток рухомих спермійів, але, за виключенням їх кількості в групі 12/12+М, вони не досягали показників контролю (див. табл. 3.11). Застосування мелатоніну значною мірою запобігало зниженню рівня фруктози у сім'яних пухирцях (її вміст зростав відповідно на 26 % та 36 % в групах 12/12+М та 24/00+М ($p \leq 0,05$)).

Сумісне застосування М у комплексі із С в обох групах піддослідних щурів було більш ефективним. Особливо виразна позитивна дія такого комплексу спостерігалася у групі 24/00. Так, пропорційно зростання вмісту фруктози у СП (+57 %) підвищувалися і показники кількості та рухомості спермійів (відповідно на 60 % та 53 %, $p \leq 0,05$) (див. табл. 3.11 та рис. 3.23).

Для оцінки ефективності профілактичного впливу М та С на репродуктивну систему самок, окрім гормональних досліджень проведено оцінку показників відносної маси яєчників та зміни естрального циклу тварин. Результати представлені у (табл. 3.12 та 3.13).

Таблиця 3.12

Вплив мелатоніну та спіруліни на масу тіла та відносну масу яєчників самок щурів за умов зміни режиму освітлення (М±m, n=20)

Групи тварин	Маса	
	маса тіла, г	яєчник, мг/100 г маси тіла
1	2	3
К-група	266,5±5,6	87,3±4,1
12/12-група	274,5±12,4	64,6±3,5 ¹⁾
% К-12/12	+3	-26
12/12+М-група	280,5±10,0	75,5±4,7
% 12/12-12/12+М	-2	+17
12/12+М+С-група	284,4±11,2	83,7±3,8 ²⁾
% 12/12-12/12+М+С	+4	+29
24/00-група	268,3±9,6	59,2±4,7 ¹⁾
% К-24/00	+0,7	-32

Продовження табл. 3.12

1	2	3
% _{12/12-24/24}	-2	-9
24/00+М-група	270,4±9,9	67,6±3,4
% _{24/24-24/24+М}	+0,7	+14
24/00+М+С-група	284,5±11,3	75,9±4,1 ²⁾
% _{24/00-24/00+М+С}	+6	+28

Примітка: ¹⁾ – значуще відхилення показника відносно груп контролю, $p \leq 0,05$; ²⁾ – значущість змін відносно патологічного контролю відповідних груп, $p \leq 0,05$

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 ($p \leq 0,05$). Тобто, більша пролонгація часу освітлення дуже негативно впливає на репродуктивну систему самок, знижуючи масу цього гормон-залежного органу на третину. Аналогічна закономірність спостерігалась і відносно маси репродуктивних органів самців (див. табл. 3.10).

На тлі застосування досліджуваних сполук відмічена нормалізація маси яєчників в усіх групах. Хоча використані протектори негативного впливу світлового навантаження за своєю природою та дією на організм принципово відрізняються один від одного, їх сумісне застосування позитивно впливало на стан репродуктивної системи самок, і в цьому випадку, як і у самців, спостерігався синергетичний ефект: маса яєчників дослідних тварин таких груп не мала значущих відмін від контрольних значень.

При дослідженні репродуктивної функції самок щурів за цитологічною картиною естрального циклу показано, що штучне збільшення тривалості і постійна дія освітлення як зовнішнього біогенного фактору навколишнього середовища призвело до зміни у структурі естрального циклу статевозрілих самок щурів. У тварин 24/00-групи та 12/12-групи спостерігалось статистично значиме збільшення тривалості естрального циклу за рахунок

зростання стадії тічки, що включала еструс та проеструс, і міжтічкової фази циклу у порівнянні з вихідними даними (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Показники естрального циклу самок, 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 \pm 0,08	2,07 \pm 0,03	2,61 \pm 0,09
К-група	4,77 \pm 0,09	2,08 \pm 0,08	2,60 \pm 0,02
12/12-група	6,31 \pm 0,20* ¹⁾	2,77 \pm 0,12* ¹⁾	3,63 \pm 0,24* ¹⁾
% К-12/12	+32	+33	40
12/12+М-група	5,15 \pm 0,11 ²⁾	2,33 \pm 0,09 ²⁾	3,00 \pm 0,11
% К-12/12+М	+8	+12	+15
% 12/12-12/12+М	-19	-16	-18
12/12+М+С-група	4,90 \pm 0,13 ²⁾	2,10 \pm 0,10 ²⁾	2,80 \pm 0,02 ²⁾
% К+12/12+М+С	+3	+1	+8
% 12/12-12/12+М+С	-23	-24	-23
24/00-група	8,77 \pm 0,41* ¹⁾	3,07 \pm 0,11* ¹⁾	5,72 \pm 0,40* ¹⁾
% К-24/00	+84	+47	+120
% 12/12-24/00	+39	+11	+57
24/00+М-група	5,84 \pm 0,28* ²⁾	2,55 \pm 0,13* ²⁾	3,02 \pm 0,13* ^{1) 2)}
% К-24/00+М	+22	+22	+16
% 24/00-24/00+М	-34	-17	-47
24/00+М+С-група	5,22 \pm 0,21 ²⁾	2,17 \pm 0,11 ²⁾	2,76 \pm 0,23 ²⁾
% 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, $p \leq 0,05$;

¹⁾ – значуще відхилення показника відносно груп контролю, $p \leq 0,05$; ²⁾ – значущість відносно патологічного контролю відповідних груп, $p \leq 0,05$

У тварин контрольної групи, які утримувалися в умовах природного освітлення впродовж експериментального періоду тривалість і фазова структура естрального циклу практично не змінювалася.

Антистресовий і нормалізуючий гормональний баланс ефект від застосування мелатоніну та спіруліни виявився і при визначенні показників естрального циклу самок щурів, що знаходилися в умовах світлового

десинхронозу. Так, у тварин 12/12-групи на тлі введення мелатоніну було відмічено зменшення усіх складових естрального циклу: нормалізувалася тривалість циклу, тічкового та межтічкового періоду. Особливо демонстративними у порівнянні з контролем ці зміни були у 24/00-групі.

Сумісне введення мелатоніну разом із спіруліною призводило до підсилення його дії у групах 12/12+М+С та 24/00+М+С, проаналізовані показники у яких практично не відрізнялися від вихідних даних та величин у групі контролю (рис. 3.24 та див. табл. 3.13).

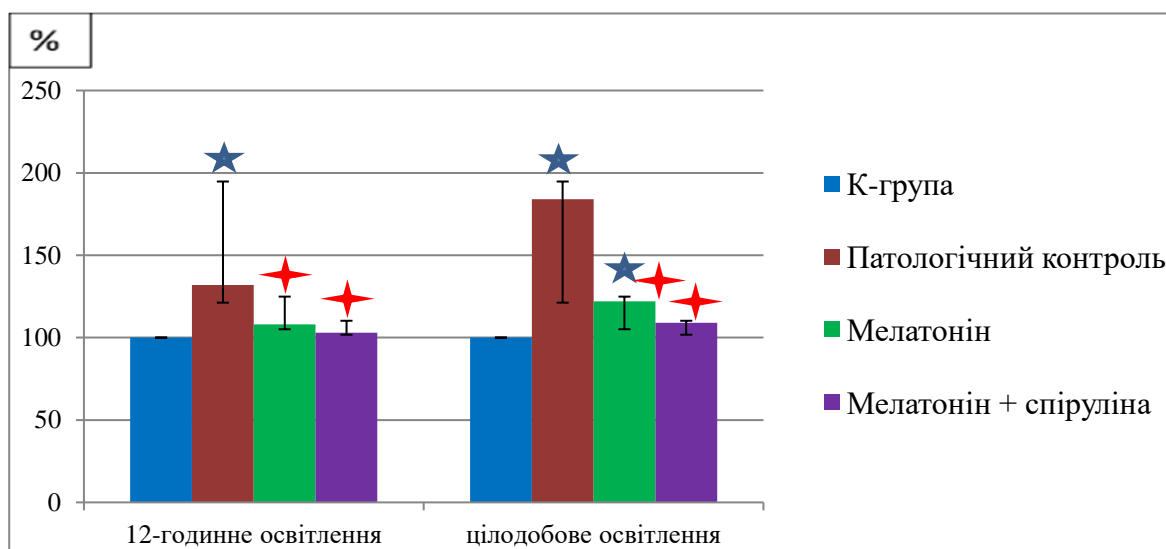


Рис. 3.24. Вплив зміни режиму освітлення та корегуючої дії мелатоніну і спіруліни на тривалість естрального циклу самок щурів (% від групи природного освітлення); ★ – значущість змін порівняно до контролю, ($p \leq 0,05$); ★ – значущість змін порівняно до патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Відомо, що добова динаміка гормональної активності є першопричиною найрізноманітніших періодичних змін інтенсивності фізіологічних і біохімічних реакцій організму. Зміна клітин епітеліальної тканини піхви самок щурів також відбувається за участю гормонів – естрогену і прогестерону [215]. Опираючись на літературні джерела, можна припустити, що порушення репродуктивної функції, а саме естрального циклу у самок, які утримувалися під дією різних режимів штучного

освітлення, обумовлені гормональним дисбалансом тварин. Ймовірно, що штучне подовження освітлення призводило до порушення гормонального балансу, ключовим механізмом при цьому є зміна порогу чутливості гіпоталамусу до гальмування естрогенами. При цьому циклічна продукція гонадотропінів, пролактину, естрогенів та прогестерону, що характеризує нормальний репродуктивний період життя, перебудовується на ациклічний механізм.

РЕЗЮМЕ. При вивченні особливостей реакції репродуктивної системи щурів обох статей на чинники пролонгації часу освітлення та протективну дію мелатоніну і спіруліни виявлявся залежний від ступеня важкості патологічних змін ефект: чим значніші функціональні розлади, тим виразніший ефект від застосування як самого мелатоніну, так і його сумісного зі спіруліною курсового введення. Такий синергетичний ефект може бути обумовлений тим, що за рахунок великої кількості біологічно активних речовин, зокрема фітогормонів, спіруліна надає загальний позитивний вплив на організм і сприяє розв'язанню цілого ряду проблем, пов'язаних з порушенням метаболізму. Завдяки вмісту великого комплексу вітамінів, макро- і мікроелементів вона значно підвищує імунологічну резистентність організму, має дезінтоксикаційні властивості, а також нормалізує метаболічні процеси, концентрацію цукру і рівню холестерину.

Призначення такої схеми з одного боку, за рахунок мелатоніну нормалізує циркадний ритм гормональної активності репродуктивної системи, що запобігає виснаженню гормон- продукуючих структур. З іншого боку, за рахунок багатого спектру біологічно активних речовин, що входять до складу спіруліни, активуються різноманітні захисні системи організму, головним чином ферментна, імунобіологічна реактивність, нормалізуються та активуються гормоноутворююча функція і тим самим поліпшується стан репродуктивної системи щурів в умовах світлового десинхронозу. Надалі це припущення підтверджено результатами гормональних досліджень.

3.5.2. Вплив профілактичного введення мелатоніну та спіруліни на рівень статевих гормонів самців щурів за умов зміни режиму освітлення

Для більш детальної характеристики процесів, що відбуваються у репродуктивній системі щурів, було проведено визначення рівня статевих гормонів.

Вплив зміни світлового режиму на рівень статевих гормонів широко висвітлений у науковій літературі [151, 164, 216, 217]. Сучасні публікації в основному спрямовані на аналіз гормональної зміни поведінки щурів та появи у них агресивності індукованих короткочасним подовженням фотоперіоду [218-220]. Проте наслідки тривалого впливу зміни періоду освітлення на рівень статевих гормонів висвітлено недостатньо.

У ході дослідження виявлено, що у щурів обох статей зміна режиму освітлення призводила 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 самок. Ці зміни були співвідносними із зміною тривалості часу освітлення (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Концентрація тестостерону (Т) та естрадіолу (Е₂) та співвідношення Т/Е₂ у самців щурів в умовах природного та штучно подовженого фотоперіоду (М±m, n= 10)

Групи тварин	Статистичні характеристики	Тестостерон (Т), нмоль/л	Естрадіол (Е ₂), нмоль/л	Співвідношення Т/Е ₂
1	2	3	4	5
К-група	М±m	33,0±0,6	0,09±0,01	386,8±26,7
12/12-група	М±m p _{К-12/12} % _{К-12/12}	28,0±0,7 ≤0,05 -15	0,13±0,01 ≤0,05 +44	221,9±15,7 ≤0,05 -43
12/12+М-	М±m	30,6±2,15	0,11±0,02	278,1±18,4

Продовження табл. 3.14

1	2	3	4	5
група	$\bar{p}_{K-12/12+M}$ $\bar{p}_{12/12-12/12+M}$ $\%_{12/12-12/12+M}$	- - +9	- - -15	$\leq 0,05$ $\leq 0,05$ +25
12/12+M+C-група	$M \pm m$ $\bar{p}_{K-12/12+M+C}$ $\bar{p}_{12/12-12/12+M+C}$ $\%_{12/12-12/12+M+C}$	$34,2 \pm 0,4$ - $\leq 0,05$ +23	$0,10 \pm 0,01$ - $\leq 0,05$ -23	$342,7 \pm 29,7$ - $\leq 0,05$ +54
24/00-група	$M \pm m$ $\bar{p}_{K-24/00}$ $\%_{K-24/00}$	$21,5 \pm 0,7$ $\leq 0,05$ -35	$0,16 \pm 0,01$ $\leq 0,05$ +78	$135,1 \pm 9,2$ $\leq 0,05$ -65
24/00+M-група	$M \pm m$ $\bar{p}_{K-24/00+M};$ $\bar{p}_{24/00-24/00+M}$ $\%_{24/00-24/00+M}$	$28,8 \pm 1,8$ $\leq 0,05$ $\leq 0,05$ +34	$0,12 \pm 0,05$ $\leq 0,05$ - -25	$240,0 \pm 19,8$ $\leq 0,05$ $\leq 0,05$ +77
24/00+M+C-група	$M \pm m$ $\bar{P}_{K-24/00+M+C}$ $\bar{P}_{24/24-24/24+M+C}$ $\%_{24/24-24/24+M+C}$	$31,8 \pm 0,9$ - $\leq 0,05$ +47	$0,11 \pm 0,02$ - $\leq 0,05$ -31	$289,8 \pm 21,1$ - $\leq 0,05$ +114

Показано, що при зміні режиму освітлення рівень тестостерону у плазмі крові самців статистично значимо зменшується. Так, при утриманні самців впродовж 3,5 місяців за умов дії штучного освітлення 12 годин на добу рівень тестостерону у групі 12/12 знижувався на 15 % ($p \leq 0,05$), у порівнянні з контрольними тваринами (див. табл. 3.14).

Цілодобове освітлення у групі 24/00 викликало зменшення рівня тестостерону у плазмі крові на 34,9 % ($p \leq 0,05$), порівняно з контрольною групою (див. табл. 3.14). Також слід зазначити, що статистично значиме зменшення рівня тестостерону на 23,4% ($p \leq 0,05$) спостерігається у групі самців 24/00, порівняно з групою 12/12 (див. табл. 3.14). Тобто, виразність виявлених гормональних ознак гіпогонадізму, що розвиваються на тлі прогресуючого гіпопінеалізму безпосередньо пов'язана з тривалістю світлового навантаження.

Діапазон коливань рівня тестостерону у К-групі розширений у бік

низьких значень, у самців 12/12- та 24/00-груп – у бік високих (рис. 3.25).

Тобто, при цілодобовому освітленні значуще падіння рівня тестостерону у плазмі крові спостерігається у більшості тварин.

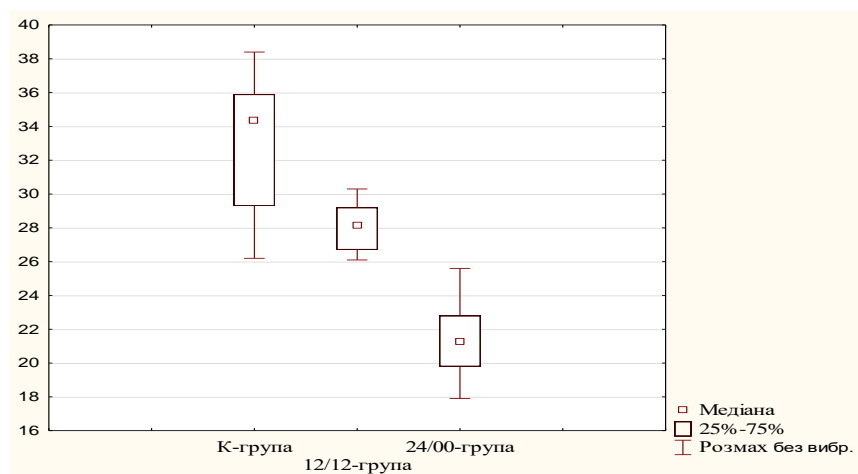


Рис. 3.25. Рівень тестостерону (нмоль/л) у плазмі крові самців щурів

Відомо, що гормональна активність сім'яників визначається не тільки біосинтезом андрогенів (передусім, тестостерону), який відбувається в клітинах Лейдіга, але й біосинтезом естрогенів (передусім, естрадіолу), який відбувається в клітинах Сертолі.

Закономірно нижчий рівень естрадіолу спостерігався у самців контрольної групи, порівняно з самками (див. табл. 3.14). У щурів, яких утримували в умовах рівного часу освітлення спостерігалось зростання естрогенізації, приріст вмісту E_2 становив +44 %, за умов цілодобового освітлення рівень естрогенемії підвищувався майже вдвічі – на 78% (показник статистично значимо виявлених змін $p \leq 0,05$ в обох випадках). Отримані дані свідчили також не тільки про стимуляцію процесу біосинтезу естрадіолу в статевих залозах самців щурів із гіпопінеалізмом, викликаним тривалою дією світла, а і ймовірним підсиленням конверсії андрогенів, зокрема тестостерону в естрогени в периферичних тканинах. За рахунок цього механізму (крім зниження утворення тестостерону в яєчках тварин)

може бути частково обумовлене значуще його зниження в крові самців щурів на тлі тривалого освітлення.

Слід зазначити, що постійне освітлення спричиняє статистично значиме збільшення рівня естрадіолу у самців 24/00-групи на 24,3 % ($p \leq 0,05$) у порівнянні з тваринами групи 12/12. Тобто, процес естрогенізації розвивається в прямій залежності від тривалості світлового навантаження.

Показано, що діапазон коливань рівня естрадіолу у самців К-групи був розширений у бік високих значень, у групах 12/12- та 24/00 – у бік низьких (рис. 3.26).

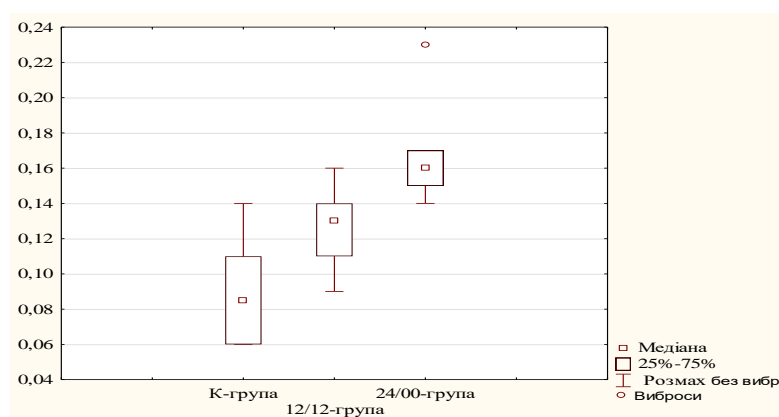


Рис. 3.26. Рівень естрадіолу (нмоль/л) у плазмі крові самців щурів

Отримані дані дають підставу характеризувати виявлені зміни як гіпогонадізм, першопричиною розвитку якого є тривала хронічна мелатонінова недостатність.

Для характеристики гіпогонадізму, який розвивається внаслідок світлового навантаження важливим слід вважати не тільки визначення показників концентрації статевих гормонів у крові а також їх співвідношення. Співвідношення тестостерон/естрадіол (T/E_2) характеризує рівень відносної андрогенізації [221, 222]. З'ясовано, що у самців, які зазнали впливу зміни режиму освітлення співвідношення T/E_2 значимо зменшується, у порівнянні з контрольною групою. Так, у самців групи 12/12, які утримувалися при штучному освітленні 12 годин на добу, співвідношення T/E_2 статистично значимо знижується на 42,6 % ($p \leq 0,05$), у групі

цілодобового освітлення (24/00) – на 65 % ($p \leq 0,05$), у порівнянні з інтактними тваринами (рис. 3.27 та див. табл. 3.14).

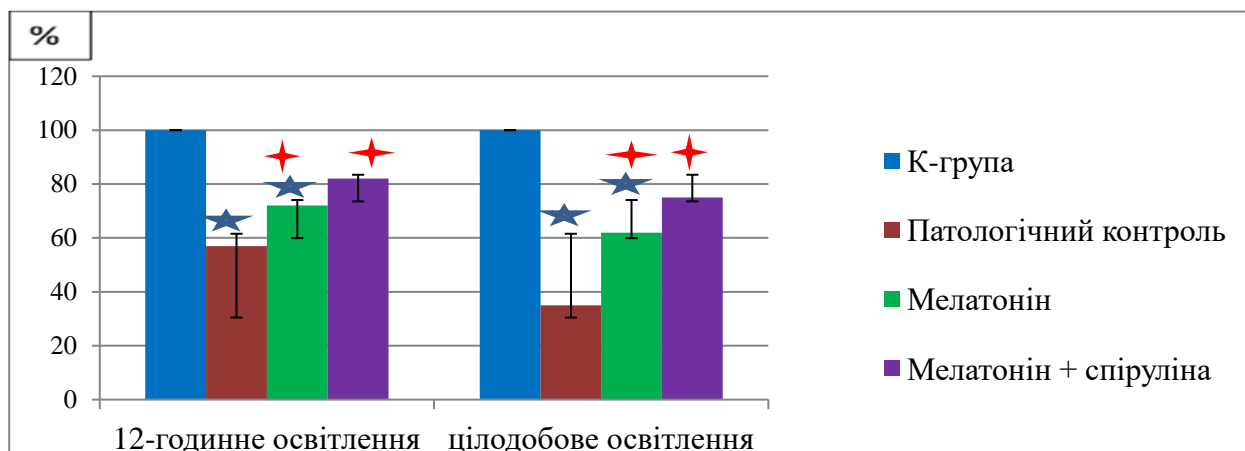


Рис. 3.27. Вплив зміни режиму освітлення та корегуючої дії мелатоніну і спіруліни на співвідношення Т/Е₂ у плазмі крові самців щурів (% від контролю); ★ – значущість змін порівняно до контролю, ($p \leq 0,05$); ★ – значущість змін порівняно до патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Статистично значиме (на 40 % ($p \leq 0,05$)) зменшення співвідношення Т/Е₂ спостерігається також у самців 24/00-групи, у порівнянні з 12/12-групою (див. табл. 3.14). Таким чином, у тварин, що знаходилися за умов тривалого фотоперіоду, вірогідне зниження співвідношення Т/Е₂ значною мірою відбувається за рахунок фотозалежного процесу естрогенізації, яка розвивається у самців в більшій мірі, ніж зниження рівня тестостерону.

Діапазон коливань співвідношення Т/Е₂ у К-групи та 12/12-групи розширений у бік високих значень, у 24/00-групи – у бік низьких (рис. 3.28).

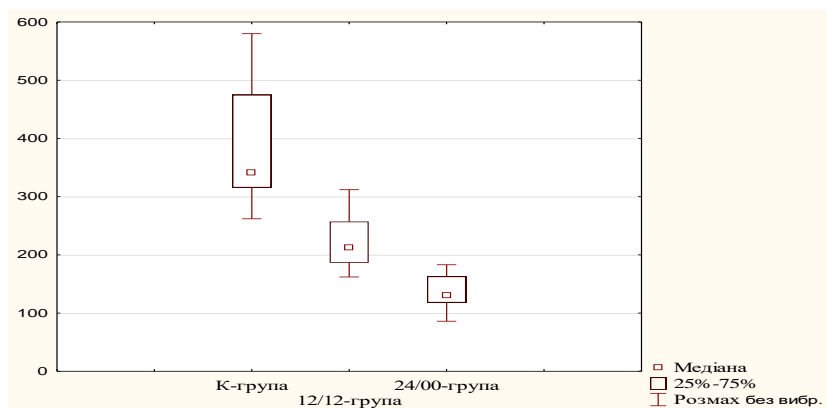


Рис. 3.28. Співвідношення Т/Е₂ (умов.од.) у самців щурів

Наведені дані свідчать про те, що у самців в патогенезі гіпогонадізму нейроендокринного генезу, індукованому тривалим освітленням у нічні часи, значну роль відіграє абсолютне зниження концентрації циркулюючого в крові тестостерону, високий приріст рівня естрадіолу та як наслідок цього – зміна співвідношення T/E_2 . 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 [222]. Тобто, у групах самців, які зазнали впливу зміни режиму освітлення, перетворення C19-андрогенних стероїдів в естрогени, а саме, біосинтез естрону з андростендіону, естрадіолу з тестостерону під впливом ароматази p450 статистично значимо зростає ($p \leq 0,05$). Це в свою чергу спровокувало зниження співвідношення тестостерон/естрадіол (T/E_2) у самців, які зазнали впливу 12-годинного штучного освітлення у 1,7 разів, та у групі цілодобового освітлення (24/00) у 2,8 разів, у порівнянні з самцями, які утримувалися при природному освітленні.

Самостійне введення мелатоніну призводило у самців до значущої зміни балансу статевих гормонів у бік нормалізації. Спостерігалася тенденція до зростання рівня тестостерону та зменшення вмісту естрадіолу в крові щурів групи 12/12, що призводило до значущого зростання індексу T/E_2 на 25 %, ($p \leq 0,05$). Тобто показана позитивна протективна дія відновлення в крові концентрації епіфізарного гормону мелатоніну на зниження ступеня естрогенізації щурів цієї групи. Сумісне введення М+С показало кращі результати. У тварин за цих умов відмічено вірогідне підвищення рівня тестостерону – до контрольних величин та пропорційне зниження вмісту естрадіолу в крові (на 23%, $p \leq 0,05$). Відповідно практично до нормальних значень підвищувалося співвідношення T/E_2 , що становило + 54 % від показників групи 12/12 (див. табл. 3.14).

У групі щурів 24/00 введення мелатоніну також запобігало розвитку гіпотестостеронемії – ще в більшій мірі, ніж при 12-годинному освітленні. Рівень тестостерону зростав більш, ніж на третину відносно групи патологічного контролю та не мав вірогідних відмінностей від значень групи контрольних щурів, що знаходилися в умовах природного освітлення. У той же час, естрогенемія у таких тварин зменшувалася у меншому ступені – на 25% від групи 24/00. За рахунок такого дисбалансу під самостійною дією мелатоніну не відбувалося відновлення співвідношення T/E_2 . Хоча цей показник і зростав на 75 % від величини в групі 24/00, він не досягав контрольних значень ($240,0 \pm 19,8$ ум. од. відносно $386,8 \pm 36,7$ ум. од. в контролі, $p \leq 0,05$).

При цілодобовому освітленні, на тлі більш значного дисбалансу статевих гормонів сумісне курсове введення М+С проявляло більш виразний протективний ефект. Рівень тестостерону в групі щурів 24/00+М+С зростав на 47 % від патологічного контролю та практично не відрізнявся від показників контрольних щурів (див. табл. 3.14). Однак, рівень естрадіолу в цій групі тварин, що підлягали цілодобовому освітленню, хоча і знижувався на 31 % від показників гр. 24/00, був вищим за контрольні значення на 22 %. Відповідно до цього співвідношення T/E_2 зростало більш ніж вдвічі, проте не досягало показників групи контролю.

РЕЗЮМЕ. У самців щурів на тлі світлового навантаження виявлено глибокі морфоструктурні та функціональні зміни системи репродукції, які прогресують та поглиблюються із зростанням часу штучного освітлення. Показана висока ефективність використаної схеми курсового сумісного профілактичного застосування мелатоніну у комплексі із спіруліною для превентивного зниження ризику репродуктивних розладів у самців щурів. Однак, на відміну від біосинтезу андрогену, який практично відновлювався, периферичне перетворення андрогенів в естрогени більш важко піддається повноцінній корекції застосованими засобами.

3.5.3 Вплив профілактичного введення мелатоніну та спіруліни на рівень статевих гормонів самок щурів за умов зміни режиму освітлення

У ході дослідження з'ясовано, що у самок всіх груп спостерігається закономірно менший рівень тестостерону порівняно з самцями. Також у них виявлено збільшення рівня цього гормону у плазмі крові при зміні фотоперіоду. Так, рівень тестостерону у самок, які знаходилися тривалий час при штучному освітленні 12 годин на добу (група 12/12) на 75 % ($p \leq 0,05$) вищий за рівень контрольної групи; у самок, які підлягали дії цілодобового освітлення (група 24/00) – на 116 % ($p \leq 0,05$) (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

Концентрація тестостерону (Т) та естрадіолу (Е₂) та співвідношення Т/Е₂ у самок щурів в умовах природного та штучно подовженого фотоперіоду (M±m, n= 10)

Групи тварин	Статистичні характеристики	Тестостерон (Т), нмоль/л	Естрадіол (Е ₂), нмоль/л	Співвідношення Т/Е ₂
1	2	3	4	5
К-група	M±m	9,9±0,5	0,52±0,01	19,3±1,1
12/12-група	M±m p К-12/12 % К-12/12	17,3±2,1 ≤0,05 +75	0,36±0,01 ≤0,05 -31	49,1±2,4 ≤0,05 +154
12/12+М-група	M±m p К-12/12+М p 12/12 -12/12+М % 12/12 -12/12+М	12,9±0,2 ≤0,05 ≤0,05 -25	0,45±0,07 ≤0,05 ≤0,05 +25	28,6±2,4 ≤0,05 ≤0,05 -42
12/12+М+С-група	M±m p К-12/12+М+С p 12/12 -12/12+М+С % 12/12 -12/12+М+С	10,2±0,1 - ≤0,05 -42	0,52 ±0,04 - ≤0,05 +44	21,6±1,4 - ≤0,05 -56
24/00-група	M±m p К-24/00 % К-24/00	21,4±0,2 ≤0,05 +116	0,24±0,01 ≤0,05 -54	92,0±4,0 ≤0,05 +376
24/00+М-група	M±m p К-24/00+М	15,0±0,3 ≤0,05	0,42±0,03 ≤0,05	35,7±4,2 ≤0,05

Продовження табл. 3.14

1	2	3	4	5
	$p_{24/00-24/00+M}$ $\%_{24/00-24/00+M}$	$\leq 0,05$ -30	$\leq 0,05$ +75	$\leq 0,05$ -61
24/00+M+C- група	$M \pm m$ $p_{K-24/00+M+C}$ $p_{24/24-24/24+M+C}$ $\%_{24/24-24/24+M+C}$	$12,2 \pm 1,0$ - $\leq 0,05$ -43	$0,47 \pm 0,05$ - $\leq 0,05$ +95	$25,8 \pm 1,8$ $\leq 0,05$ $\leq 0,05$ -72

Діапазон коливань рівня тестостерону у самок К-, 12/12- та 24/00- груп розширений у бік високих значень, особливо у групі 24/00 (рис. 3.29).

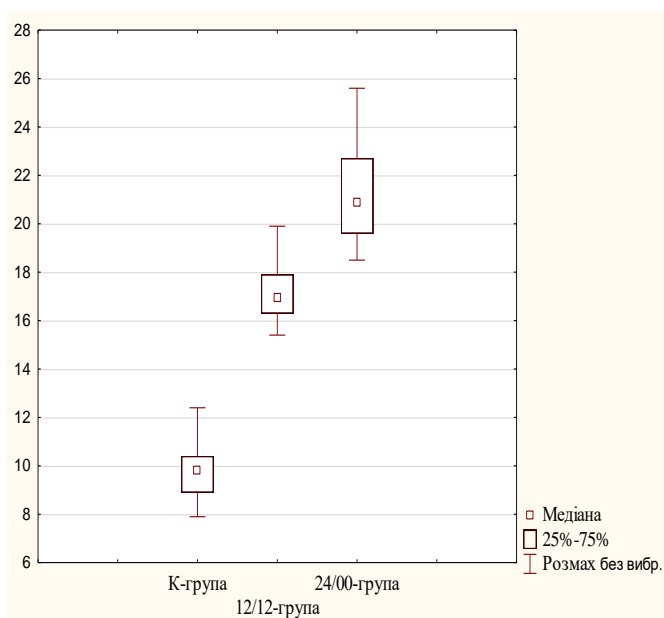


Рис. 3.29. Рівень тестостерону (нмоль/л) у плазмі крові самок щурів

Слід зазначити, що у групі самок 24/00 спостерігається статистично значиме підвищення рівня тестостерону на 19,4% ($p \leq 0,05$), порівняно з групою 12/12 (див. табл. 3.15).

При зміні режиму освітлення, рівень естрадіолу у плазмі крові самок статистично значимо знижується у порівнянні з інтактними групами, які знаходилися в умовах природного освітлення (див. табл. 3.15). Так, у самок 12/12-групи рівень E_2 статистично значимо зменшується на 30,8 % ($p \leq 0,05$), у

порівнянні з К-групою, а у самок 24/00-групи – на 53,8 % ($p \leq 0,05$) (див. табл. 3.15).

Також у ході дослідження з'ясовано, що у самок, які зазнали впливу цілодобового освітлення, зафіксовано статистично значиме зменшення рівня естрадіолу у плазмі крові на 33,3% ($p \leq 0,05$), у порівнянні з групою 12/12 (див. табл. 3.15). Діапазон коливань рівня естрадіолу у самок К-, 12/12- та 24/00-груп зміщений у бік низьких значень, особливо у групі 24/00-груп (рис. 3.30).

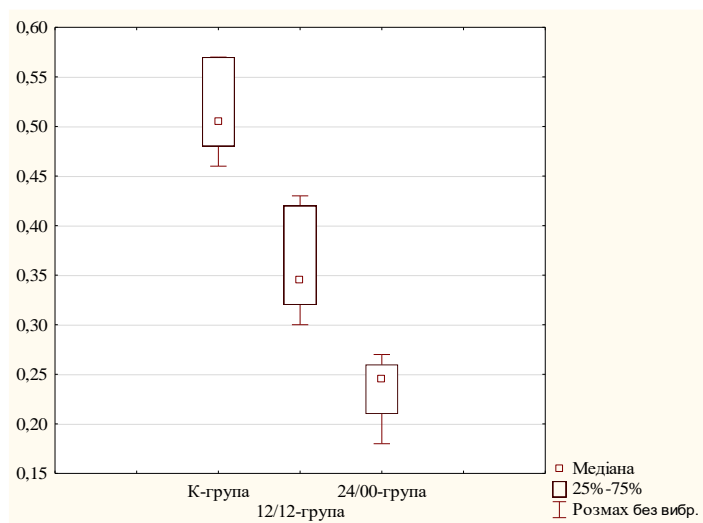


Рис. 3.30. Рівень естрадіолу (нмоль/л) у плазмі крові самок щурів

На відміну від самців, у самок, які зазнали впливу зміни режиму фотоперіоду, спостерігається статистично значиме збільшення співвідношення T/E_2 , у порівнянні з контрольною групою. Так, у групі 12-годинного освітлення (12/12) співвідношення T/E_2 вірогідно зростає у 2,5 рази ($p \leq 0,05$), у порівнянні з контрольною групою самок, у групі цілодобового освітлення (24/00) – майже вчетверо ($p \leq 0,05$) (рис. 3.31 та див. табл. 3.15).

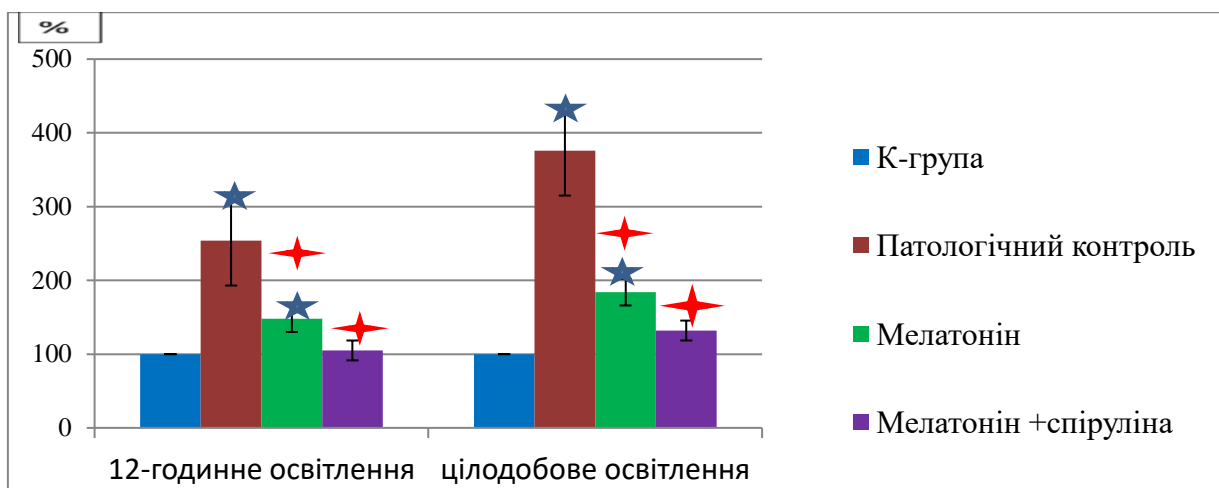


Рис. 3.31. Вплив зміни режиму освітлення та корегуючої дії мелатоніну і спіруліни на співвідношення T/E_2 у плазмі крові самок щурів (% від контролю); ★ – значущість змін порівняно до інтактного контролю, ($p \leq 0,05$); ★ – значущість змін порівняно до патологічного контролю, ($p \leq 0,05$)

Зміна співвідношення T/E_2 у бік зростання тестостеронемії мала прогресуючий характер, співвідносний з тривалістю часу світлового навантаження. У самок 24/00-групи у порівнянні з 12/12-групою спостерігається статистично значиме збільшення цього показника на 87,7 % ($p \leq 0,05$) (див. табл. 3.15). Діапазон коливань співвідношення T/E_2 у К-групи розширений у бік низьких значень, у самиць 12/12- та 24/00-груп – у бік високих (рис. 3.32).

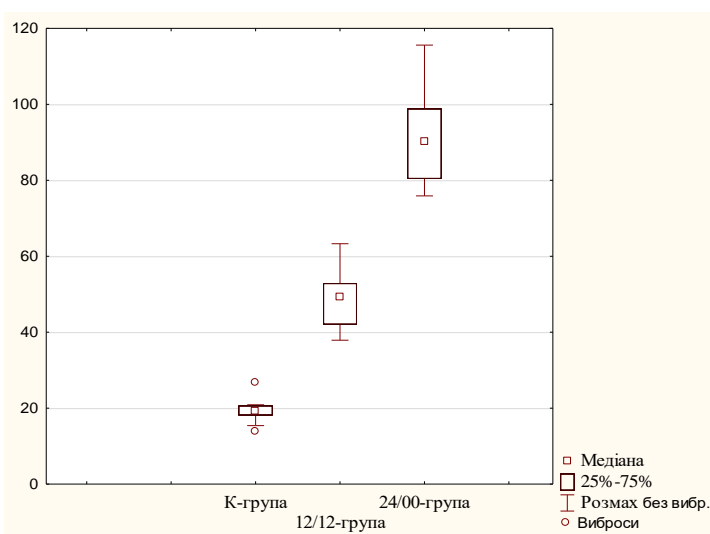


Рис. 3.32. Співвідношення T/E_2 (умов.од.) у самиць щурів

Курсове введення мелатоніну значною мірою запобігало розвитку обумовлених тривалим освітленням гормональних змін в репродуктивній системі самок щурів. Показано, що у тварин групи 12/12+М спостерігався значно менший приріст вмісту тестостерону в крові та гальмувалося зниження рівня естрадіолу. У самок цієї групи рівень тестостеронемії був на 25,3 % нижчим від значень групи патологічного контролю ($p \leq 0,05$). Відповідно співвідношення T/E_2 , хоча і не досягало контрольних значень, було на 42,6 % нижчим, ніж у щурів, що знаходилися в режимі 12-годинного освітлення ($p \leq 0,05$). Додаткове застосування спіруліни підсилювало протективні властивості мелатоніну. Так, рівень тестостерону в групі 12/12+М+С на 42,7% був нижчим від показника у групі 12/00 ($p \leq 0,05$), він практично не відрізнявся від контрольних величин. Пропорційно зростав і рівень естрогенемії (+44,5 % від групи 12/12, $p \leq 0,05$) (див. табл. 3.15). Співвідношення T/E_2 у таких тварин, було на 11,9 % вищим від контрольного показника, проте не мало від нього значущих відмінностей.

Як було показано вище, пролонгація часу освітлення до цілодобового режиму призводила до ще більш тяжких патологічних змін гормонального балансу статевих гормонів як у самців, так і у самок щурів (див. табл. 3.14 та див. табл. 3.15). У самок на тлі цілодобового освітлення відмічалось більш, ніж двократне підвищення рівня тестостерону та співвідносне зниження вмісту естрадіолу відносно контрольних величин. Індекс T/E_2 у таких тварин зростав практично в чотири рази, вказуючи на домінуючу тестостеронемію та маскулінізацію. Однак, хоча при режимі цілодобового освітлення і виявляється глибокий дисбаланс статевих гормонів, тим не менш, самотійне застосування мелатоніну і в цьому випадку мало значний протективно-модеруючий ефект. Моновведення мелатоніну призводило до зниження рівня Т на третину та до зростання естрадіолу на 75,7 % від значень групи 24/00, на тлі чого спостерігалось більш, ніж двократне зниження співвідношення T/E_2 (у всіх випадках $p \leq 0,05$). Таким чином показано, що вже самотійне введення

мелатоніну, яке вірогідно викликало відносне відновлення гормонального профілю цього епіфізарного гормону, у всіх групах дослідження сприяло зменшенню негативних наслідків пролонгації часу освітлення. Тим не менш, повної компенсації патологічних порушень у тварин, яким давали мелатонін, не спостерігалось (див. табл. 3.15 та див).

Сумісне композиційне введення мелатоніну у комплексі із спіруліною давало кращий результат. Визначено, що за цих умов рівень тестостерону, хоча і був на 23,3 % вищим, ніж у контрольних тварин, не мав значущих відмінностей від цієї групи (див. табл. 3.15). Цей показник знижувався вдвічі у порівнянні з групою 24/00. Подібна закономірність спостерігалася відносно відновлення рівня естрадіолу: у плазмі крові щурів групи 24/00+М+С: відмічено двократне його зростання порівняно з групою 24/00 ($p \leq 0,05$), вірогідних відмінностей від контролю не спостерігалось. Завдяки такій ефективній нормалізації проаналізованих показників, відмічається і значне відновлення балансу естрогену та андрогену в крові самок, що перебували при цілодобовому освітленні та отримували комплексні профілактичні засоби. У таких тварин індекс Т/Е₂ зменшувався у 3,56 рази у порівнянні з групою 24/00 та 1,38 рази відносно щурів групи 24/00+М.

Однак, слід відмітити, застосування означеної схеми профілактики виявлених патологічних змін все ж так не призводило до повного остаточного відновлення проаналізованих показників до нормальних величин, що вказує на дуже глибокі розлади, які розвиваються внаслідок довго триваючої зміни природного режиму освітлення у більшості складових ланок репродуктивної системи.

РЕЗЮМЕ. Підсумовуючи результати гормональних досліджень, які дозволяли оцінити гормонпродукуючу активність репродуктивної системи самців і самок щурів та ефективність заходів щодо її корекції, можна зробити наступні заключення:

- Статистичне зниження рівня тестостерону у плазмі крові самців та естрадіолу у самиць, що утримувалися при зміні фотоперіоду, особливо при

цілодобовому освітленні, значною мірою пов'язано зі зменшенням рівня мелатоніну.

- Вплив продовження фотоперіоду на концентрацію тестостерону та найбільш активного природного естрогену – естрадіолу у плазмі крові самців і самок має протилежний напрямок. Так, при зміні режиму освітлення у самців спостерігається статистично значиме збільшення секреції естрадіолу на тлі зменшення тестостерону ($p \leq 0,05$). У самок навпаки – відмічається зменшення рівня естрадіолу та збільшення вмісту тестостерону в крові ($p \leq 0,05$).

- Протективна нормалізуюча дія самостійного введення мелатоніну виявлена і у самців, і у самок щурів, що знаходилися в умовах світлового десинхронозу. Курсове введення мелатоніну сприяло вірогідному підвищенню рівня тестостерону у самців, знижувало рівень естрадіолу, що призвело до відповідного зниження індексу співвідношення T/E_2 . У самок введення мелатоніну також позитивно впливало на репродуктивну функцію. У них, відповідно, спостерігалися протилежні зміни: зростав рівень естрадіолу на тлі зменшення вмісту тестостерону та, як наслідок цього – відбувалася нормалізація співвідношення T/E_2 . Тенденція до відновлення гормонального профілю статевих гормонів призводила у самок і до нормалізації складових естрального циклу.

- Сумісне введення М+С у більшій мірі впливало на нормалізацію проаналізованих показників. Так, індекс співвідношення T/E_2 , який відображає динаміку змін статевих гормонів, під синергетичною дією обох субстанцій у самок груп 12/12 та 24/00 зменшувався відповідно у 2,27 та 3,55 рази ($p \leq 0,05$) тоді, як самостійне введення мелатоніну призводило до більш помірних зсувів цього показника у бік нормалізації (у 1,71 та 2,57 рази відповідно). У самців спостерігалася така ж картина: на тлі моно введення мелатоніну відмічалася зростання індексу співвідношення T/E_2 у групі 12/12 та 24/00 у 1,25 та 1,77 рази відносно відповідного патологічного контролю, при сумісному його застосуванні зі спіруліною відмічалася більш ефективне

зростання цього показника – у 1,54 та 2,15 рази відповідно у групах 12/12 та 24/00.

Можна зробити висновок, що репродуктивна система самок є більш чутливою як до дисбалансуючого впливу тривалого освітлення, так і до дії засобів його корекції.

Узагальнюючи усі отримані дані, слід наголосити на позитивному ефекті від самостійного введення мелатоніну. Він може розглядатися як ефективний засіб профілактики та корекції розладів у адренало- кортикальній та репродуктивній системах особин обох статей. В той же час, поєднане його застосування з відомою своїми антиоксидантними та імуномодуючими властивостями біодобавкою спіруліни призводить до підсилення його позитивного ефекту, тобто спостерігається явище синергії. Відпрацьовану у роботі схему профілактичного курсового введення мелатоніну сумісно зі спіруліною, завдяки її безпечності та високому ступеню протективних ефектів, можна рекомендувати для застосування у групах ризику світлового десинхронозу.

РОЗДІЛ 4

ОБГОВОРЕННЯ ВЛАСНИХ І ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ

Відповідно до поставленої мети нами виконано експериментальне дослідження, в якому визначено ефективність як самостійного введення мелатоніну, так і його сумісного застосування в комбінації з відомою своїми імуномодулюючими та антиоксидантними властивостями біодобавкою спіруліною для профілактики обумовлених світловим навантаженням морфофункціональних порушень адренокортикальної та репродуктивної системи самців та самок щурів.

Результати проведеного дослідження показали, що при тривалому утриманні щурів в умовах зміненого фотоперіоду вже при режимі 12 годин освітлення та 12 годин темряви в період сезонного скорочення часу природної інсоляції спостерігалися ознаки мелатонінової недостатності, які значною мірою поглиблювалися на тлі цілодобового освітлення, що призводило до розвитку вираженої мелатонінової недостатності. Гіпопінеалізм, ймовірно, міг розвиватися за рахунок суттєвого зменшення загальної кількості пінеалоцитів, «перепрофілювання» клітин, що залишились, на переважну продукцію індоламінів на тлі масової загибелі функціонуючих з перенапругою пінеалоцитів. Динаміка цих змін у молодих статевозрілих щурів на тлі тривалого цілодобового освітлення аналогічна тій, яка відбувається спонтанно при старінні організму [19, 43].

Встановлено, що на тлі пропорційно з продовженням тривалості світлового періоду прогресуючого зниження функціональної активності пінеальної залози відбуваються значні зміни морфофункціональних характеристик та гормональної активності надниркових та статевих залоз.

Проведені гістологічні та морфометричні дослідження надниркових залоз самців, свідчать про те, що утримання тварин в умовах пролонгації

режиму освітлення супроводжується змінами в їхній структурі, які відповідають різним стадіям загального адаптаційного синдрому у відповідь на дію стресового фактору. Так, 12-годинне освітлення призводить до незначного зменшення абсолютної і відносної маси залози, зменшення загальної ширини кори за рахунок звуження клубочкової і пучкової зон, зменшення площі мозкової речовини при збільшенні площі ядер нейроендокриноцитів та до морфофункційної активації усіх зон, що відповідає стадії резистентності. Цілодобове освітлення призводить до статистично значимих змін у морфофункціональній організації надниркових залоз самців, а саме зменшенні: абсолютної і відносної маси залоз; загальної ширини кори за рахунок клубочкової та сітчастої зон; площі мозкової речовини та збільшенні площі ядер нейроендокриноцитів з явищем каріолізісу. Виявлена перебудова надниркових залоз у тварин групи 24/00 характерна для стадії виснаження загального адаптаційного синдрому.

Отримані результати визначення показників гормональної активності НЗ свідчать про посилення утворення стрес-гормонів адреналіну та кортикостерону. Виявлені гормональні зміни у віддалені терміни після початку світлової експозиції відбуваються на тлі зменшення абсолютної та відносної НЗ та площі мозкової речовини, що є наслідком глибоких патологічних змін гістоструктури органу.

Зміни у піддослідних щурів гормональної активності надниркових залоз, що виникли внаслідок порушення природного циклу «день-ніч», свідчать про виражену хронозалежність даного органу та поглиблення патологічних змін залежно від тривалості утримування тварин в умовах штучного освітлення.

Широко відомо, що надниркові залози є єдиними виробниками глюко- і мінералокортикоїдів та катехоламінів, а також забезпечують типову неспецифічну нейроендокринну відповідь організму на пошкодження і загрозу гомеостазу. У свою чергу, зміна фотоперіоду є типовим стресовим

фактором, який призводить до серйозних змін в ендокринній сфері, які впливають насамперед на гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову систему [208-210, 223-225].

У ході нашого дослідження отримані результати рівня адреналіну у плазмі крові, свідчать про негативний вплив зміни режиму освітлення на функціонування надниркових залоз щурів. Так, постійне освітлення, як у самців так і у самок призводить до високого підвищення рівня адреналіну у плазмі крові (відповідно на 39,2 % та 41,7 %), у порівнянні з контрольними групами. Такі зміни секреції гормону зумовлені втратою шишковидною залозою гормонального регуляторного впливу на периферичні компоненти стрес-реалізуючої системи. Внаслідок цього мозкова речовина надниркових залоз переходить у стан постійного збудження і підвищеного реагування. Таке тривале посилене функціонування хромафінної тканини, ймовірно, призводить до швидкого виснаження клітин і виникнення патологічних морфологічних та функціональних змін [226]. На тлі цих змін, підвищений рівень адреналіну при довготривалому стресі (постійне освітлення) призводить до «зношування» надниркових залоз і загрожує розвитку гострої надниркової недостатності та може спричинити швидке старіння організму [227]. Більш виразне підвищення рівня адреналіну у самок групи 24/00 на 5,6%, у порівнянні з самцями, які теж зазнали впливу постійного освітлення, свідчить про наявність у них сексуально-диморфних реакцій на стрес, пов'язаних з статевими відмінностями у структурах мозку.

Розширений діапазон значень адреналіну у бік високих величин у самців 12/12-групи, у порівнянні з самками, свідчить про розвиток у них порушення гормональної активності надниркових залоз у більш вираженій мірі та розвитку десинхронозу їх діяльності. Такий десинхроноз призводить до зміни поведінкових реакцій [228] та розвитку постійної напруги, так як саме підвищена концентрація адреналіну у крові забезпечує мобілізацію енергоресурсів організму у зв'язку з підготовкою до боротьби зі стресовим

чинником. Слід зазначити, що розширений у бік низьких значень діапазон коливань рівня адреналіну у самок 12/12-групи, як і у контрольної групи, ймовірно, вказує на незначну перебудову метаболізму надниркових залоз у тварин при 12-годинному штучному освітленні. Отримані результати підтверджують дані закордонних дослідників, у яких повідомляється, що зміна освітлення призводить до індукування генів у наднирниках та, в основному, первинних змін гормональної діяльності у корі [229].

Так, як катехоламіни у мозковій речовині надниркових залоз підвищують кортикальну стероїдогенну активність, а кора першою активується на дію світла [229], можна зробити висновок, що у самців і самок 24/00-груп при дії постійного освітлення залози знаходяться на межі виснаження.

Вміст глюкокортикоїдних гормонів у біологічних рідинах є об'єктивним критерієм рівня гострого стресу й типу реагування організму на психоемоційне напруження. Отримані результати нашого дослідження свідчать, що концентрація кортикостерону у плазмі крові після хронічного впливу зміни режиму освітлення змінюється як у самців, так і у самок. Причиною такої зміни є відсутність чітких світлових і темнових сигналів у СХЯ, яке забезпечує у подальшому вивільнення адренокортикотропного гормону гіпофізом, який власне і стимулює кору надниркових залоз до виділення кортикостерону [230].

Кортикостерон має особливе значення для хребетних, оскільки він забезпечує енергетичний баланс організму та координує реакцію як на передбачувані зміни, так і на гострі, непередбачувані проблеми. Тобто, він є медіатором індивідуальної фенотипової гнучкості при зміні умов навколишнього середовища [228]. У ході нашого дослідження з'ясовано, що рівень кортикостерону у плазмі крові, як самців, так і самок, при дії штучного освітлення, статистично значимо зростає. Ряд науковців отримували схожі результати [230]. Однак, рівень кортикостерону у плазмі

крові самиць, які підлягали дії штучного освітлення, порівняно з відповідними групами самців, за процентним відношенням до контролю, статистично значимо вищий. Ймовірно, це пов'язано з підвищеною чутливістю жіночих надниркових залоз до стимуляції адренкортикотропного гормону. Тобто, самки при зміні фотоперіоду, проявили більш гостру реакцію на стресовий чинник, порівняно з самцями.

Зміна рівня кортикостерону у плазмі крові піддослідних тварин, ймовірно, призводить до зменшення загальної товщини кори надниркових залоз та зміни функціональної активності ендокриноцитів клубочкової і спонгіоцитів пучкової зон [229]. Загалом, можна припустити що високий рівень кортикостерону у самок при порушенні фотоперіоду свідчить про виснаження синтетичної активності клітин кори НЗ, підвищений рівень у самців – про порушення мобілізації сил організму на протидію стресу і, як наслідок, дисбалансу гомеостазу та розвиток десинхронозу функцій залози.

Слід зазначити, що гостре підвищення рівня глюкокортикоїдів призводить не тільки до зміни біохімічної діяльності надниркової залози і організму в цілому, так і до зміни поведінкових патерн. Так, ймовірно саме високий рівень кортикостерону у самок 24/00-групи спровокував появу у них агресії і, загалом, агресивно-домінантної поведінки, як прояв адаптації до стресового чинника [231].

Підтвердження деструкуючого впливу світлового десинхронозу на репродуктивну систему щурів отримано нами при вивченні динаміки гормональної активності та морфофункціонального стану статевих залоз у самців та самок щурів із гіпопінеалізмом, індукованим тривалим освітленням.

У піддослідних самців, підданих тривалому (12/12) та цілодобовому (24/00) освітленню, виявлено зміни андрогенної активності гонад – зниження тестостеронемії на тлі відносної естрогенізації; ці зміни можуть відбуватися за рахунок значних деструктивних змін гормонпродукуючих клітин Лейдіга і

Сертолі, що врешті-решт призводить до повного припинення процесу гаметогенезу.

Як і у самців, у самок на тлі зміненого режиму освітлення встановлено значущі зміни з боку репродуктивних органів: маса гормон-залежного органу – яєчників зменшувалася на третину – на 26 % у групі 12/12 та на 32 % у групі 24/00 відносно контрольних тварин. Крім того, зміна режиму освітлення призвела до зміни у структурі та тривалості естрального циклу та до зростання тестостеронемії на тлі зниження рівня естрогенів. Тобто, зростання тривалості часу освітлення також дуже негативно впливало на репродуктивну систему самок.

Таким чином, результати визначення гормонального профілю статевих гормонів при тривалій (3,5 міс.) світлової експозиції вказують на розвиток у щурів обох статей гіпогонадізму нейроендокринного генезу, в основі якого лежить прогресуюче у часі гальмування функціональної активності статевих залоз першопричиною чого є мелатонінова недостатність та гіпопінеалізм, індукований тривалим освітленням [135, 232-235].

Як відомо, тестостерон впливає на сексуальну та агресивну поведінку у самців [222, 236]. Виявлене статистично значиме зниження рівня тестостерону у плазмі крові самців ($\leq 0,05$), які підлягали дії штучного освітлення, особливо тих які зазнали впливу цілодобового освітлення (24/00-група), ймовірно, вказує на зменшення у них агресивності. В той же час підвищення рівня Т у самок ($p \leq 0,05$), які зазнали впливу зміни фотоперіоду, – на збільшення у них агресивності. На користь цієї думки свідчать результати сучасних наукових досліджень закордонних фахівців [237, 238]. Слід зазначити, що отримані результати впливу зміни режиму освітлення на рівень тестостерону у плазмі крові узгоджуються з даними стосовно чіткої диференціації агресивності за статтю. Більшість дослідників вважає, що агресивність частіше, майже у 10 разів, виявляється у самців, ніж у самок [239]. За результатами наших досліджень рівень тестостерону у плазмі крові

самців К-групи на 69,9 % ($p \leq 0,05$) вищий за рівень у самок, відповідної, контрольної групи. У самців, які знаходилися під дією штучного освітлення 12 годин на добу (12/12-група) рівень тестостерону на 38,4 % ($p \leq 0,05$) вищий за рівень у самок 12/00-групи. Цікаво зазначити, що рівень тестостерону у щурів, які утримувалися при цілодобовому освітленні (24/00-групи), майже на однаковому рівні. Тобто, цілодобове освітлення призводить до зміни рівня стероїдних гормонів у плазмі крові з появою відхилень у поведінкових реакціях досліджуваних щурів. Так, при перебуванні тварин експериментальних груп у «відкритому полі», саме самки 24/00-групи проявляли активно-оборонний тип поведінки та агресивність, а самці – пасивно-оборонний тип та апатичність.

Статистичне зниження рівня тестостерону у плазмі крові самців та естрадіолу у самок, що утримувалися при зміні фотоперіоду, особливо при цілодобовому освітленні, ймовірно, пов'язано зі зменшенням рівня мелатоніну який володіє антигонадотропними властивостями [135, 234]. Зниження рівня мелатоніну при зміні режиму освітлення, сприяє активації гонадотропної функції гіпофіза, виробленню фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормону, які стимулюють функції статевих залоз. Це може бути ознакою передчасного старіння [41, 72, 97] та настання менопаузи [135, 138]. Слід зазначити, ймовірно саме така ациклічність секреції статевих гормонів, викликана штучним освітленням, лежить в основі виявлених нами порушень структури естрального циклу у самок.

Гіпотестостеронемія у самців 12/12 та 24/00-груп, що відбувається на тлі статистично значимих змін концентрації естрадіолу та відносне домінування естрогену над андрогеном можливо пов'язані з посиленням активності ароматаз під впливом глюкокортикоїдів [222]. Тобто, у групах самців, які зазнали впливу зміни режиму освітлення, перетворення С19-андрогенних стероїдів в естрогени, а саме, біосинтез естрону з андростендіону, естрадіолу з тестостерону під впливом ароматази р450

статистично значимо зростає ($p \leq 0,05$). Це в свою чергу спровокувало зниження співвідношення тестостерон/естрадіол (T/E_2) у самців які зазнали впливу 12-годинного штучного освітлення у 1,7 разів, та у групі цілодобового освітлення (24/00) у 2,7 разів, у порівнянні з самцями, які утримувалися при природному освітленні.

Гіпертестостеронемія у самок 12/12 та 24/00-груп, ймовірно вказує на статистично значиме ($p \leq 0,05$) збільшення у них рівня неароматизованого андрогену у плазмі крові. Вона розвивається на тлі пригніченням продукції ароматази під впливом посиленого виділення лютеїнізуючого гормону [240]. Виявлені зрушення співвідношення T/E_2 у самців характеризують розвиток у них фемінізації, у самок – маскулінізації.

Як відомо, естрогени мають нейропротекторний ефект блокуючи рецептори вільних радикалів та посилено утворюються при стресових ситуаціях різного генезу [241], проте гіперсекреція кортизолу може блокувати утворення естрадіолу [242]. Ймовірно, що виявлене зменшення вмісту естрадіолу у плазмі крові у самок 12/12- та 24/00-груп, у порівнянні з контрольною групою, вказує на розвиток у них стресового стану та появи вторинного гіпогонадізму, що пов'язаний зі зниженням функціональних можливостей надниркових залоз на тлі дефіциту статевих гормонів [243]. Загалом, таке різке підвищення кількості естрадіолу знижує функціональну активність тестостерону. Тобто, подовження фотоперіоду у самок, які зазнали впливу штучного освітлення, призводить до збільшення співвідношення тестостерон/естрадіол (T/E_2), що, ймовірно, знижує їхню адаптаційну можливість.

Враховуючи те, що зрушення співвідношення T/E_2 є стресовою реакцією [242] на зміну режиму освітлення, то згідно з отриманими даними, можна стверджувати, що самки 12/12-групи та 24/00 мають більший рівень стресованості у порівнянні з самцями відповідних груп.

Статистично значиме зменшення секреції естрадіолу та збільшення

тестостерону у самок, які зазнали впливу зміни режиму освітлення, може бути однією з причин формування психопатологічних відхилень у їхній поведінці [241]. Гіпертестостеронемія у самок 12/12 та 24/00-груп на тлі статистично значимої зменшенні концентрації естрадіолу, спровокувала у них відповідно збільшення співвідношення тестостерон/естрадіол (T/E_2) у 2,5 рази та у 4,8 рази, порівняно з самками, які утримувалися при природному освітленні (К-група). Таке зрушення у функціонуванні статевих гормонів, як одного з критеріїв адекватності реакції організму на зміну режиму освітлення, можливо, і є основною причиною появи у самок 12/12-та 24/00-груп агресії, як форми пристосувальної поведінки.

Зниження співвідношення T/E_2 у самців, які утримувалися при зміні фотоперіоду, ймовірно, пов'язано з пригніченням тестостеронпродукуючої активності сім'яників, що може спровокувати у них передчасне старіння статевої функції [135]. Загалом, серед ключових гормональних факторів старіння розглядається дефіцит статевих гормонів у обох статей [138]. Виявлене статистично значиме зменшення естрадіолу у самиць, які зазнали впливу зміни режиму освітлення, особливо цілодобового, призводить до зниження репродуктивного потенціалу, що неминуче прискорює процеси клітинної смерті, а разом з ними старість [244].

Отже, порушення гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної осі, викликане пристосуванням до зміни фотоперіоду у самців відбувається за рахунок збільшення рівня естрогенів, у самиць – тестостерону. Така «плата за адаптацію» в цілому спрямована на виживання, але призводить до порушення статевої функції щурів.

На підставі отриманих даних можна зробити висновок про те, що тривале освітлення однозначно порушує гормональну активність та морфофункціональний стан надниркових залоз, пінеальної та статевих залоз. Ці дані дають підставу розцінювати виявлені порушення як експериментальну патогенетичну модель поліендокринопатій.

В наступному фрагменті роботи перед нами стояла задача з'ясувати, чи можливо нормалізувати або поліпшити виявлені гормональні та структурні порушення шляхом відновлення в крові піддослідних тварин рівня мелатоніну та підсиленням його антиоксидантних та модеруючих ефектів за рахунок додаткового сумісного введення у раціон щурів біодобавки спіруліни.

Встановлено, що гормональні і структурні зміни, які вказують на дуже глибокі порушення інкреторної та генеративної функції статевих залоз у тварин із гіпопінеалізмом, викликаним тривалою цілодобовою світловою експозицією, не є незворотними.

Показано, що самотійне введення піддослідним тваринам у курсовому режимі мелатоніну суттєво поліпшує, проте не нормалізує показники гормональної активності і морфофункціонального стану залоз внутрішньої секреції та регулюючих їх нейроендокринних центрів.

Спостереження над тваринами, які на тлі знаходження в умовах пролонгованого часу освітлення отримували замісну терапію мелатоніном, дозволяють дійти висновку про виразний позитивний вплив введення гормону як на структуру, так і на функцію НЗ та органів репродуктивної системи.

Оцінюючи результати морфологічних та гормональних досліджень надниркових залоз визначено, що моновведення мелатоніну ефективно попереджало деструктивні зміни, викликані зміною режиму освітлення, що підтверджувало важливість нормальної секреторної функції епіфізу для регуляції багатьох систем організму, зокрема, НЗ. Показано, що додаткове застосування біодобавки спіруліни підсилювало протективну дію мелатоніну, тобто спостерігався синергетичний ефект. Більш висока реактивність до впливу мелатоніну та спіруліни спостерігалась у самок.

Привертає до себе увагу той факт, що застосовані заходи корекції наслідків світлового десинхронозу у випадку відхилення морфоструктурних

показників НЗ у бік зниження сприяли їх підвищенню. Навпаки, при вірогідному зростанні деяких показників (зокрема товщини сітчастої зони у самців групи 12/12 та пучкової зони у самок групи 24/00) спостерігалось нівелювання виявлених відхилень у напрямку їх помірного зменшення.

Хоча застосування мелатоніну в усіх щурів із зміненим фотоперіодом призводило до значущого зниження обох стрес-гормонів НЗ, однак більш ефективним виявилось сполучене введення щурам мелатоніну в комбінації зі спіруліною, тобто і в цьому випадку спостерігався ефект синергії.

При проведенні досліджень по вивченню морфофункціональних особливостей та гормональної активності органів статеві системи самців та самок щурів, які знаходилися в умовах зміненого фотоперіоду, встановлено, що, по-перше, тяжкі наслідки тривалого дефіциту мелатоніну в організмі для функціонування статевих залоз не є незворотними; по-друге, епіфізарний гормон мелатонін є невід'ємною складовою у досить складному механізмі нейроендокринної регуляції інкреторної і генеративної функції статевих залоз; по-третє, отримано експериментальні докази доцільності та високої ефективності застосування препаратів мелатоніну при гіпогонадізмі, в патогенезі якого основною причиною є тривала мелатонінова недостатність.

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

Слід підкреслити, що у випадках, де не виявлялося значної пошкоджуючої дії тривалого освітлення, вплив мелатоніну та спіруліни проявлявся помірно, більш виразний ефект спостерігався при значних відхиленнях від норми (наприклад, на показник відносної маси НЗ, площу мозкової речовини та ін.). У тварин груп 24/00 наслідок дії М та С був виражений значніше у порівнянні з групами 12/12. Тобто, мелатонін, компенсуючи стан гіпопінеалізму сам по собі, та в ще більш значній мірі в

комбінації зі спіруліною проявляв протективну дію на більш чутливі до змін режиму освітлення ланки адренокортикальної та репродуктивної системи щурів обох статей. В жодному випадку не спостерігалось прояв гіперстимуляції структур органу та вірогідного зростання проаналізованих показників вище контрольних значень. Таким чином, показано, що курсове комбіноване введення М+С сприяло запобіганню не тільки незначних розладів, а й більш глибоких деструктивних змін, що розвиваються на тлі цілодобового освітлення.

Визначено, що як і відносно надниркових залоз, при вивченні особливостей змін репродуктивної системи щурів обох статей виявлявся ефект, залежний від ступеня важкості патологічних відхилень: чим значніші функціональні розлади, тим виразніший результат від застосування як самого мелатоніну, так і його сумісного зі спіруліною курсового введення. Така синергія може бути обумовлена тим, що за рахунок великої кількості біологічно активних речовин, зокрема фітогормонів, спіруліна надає загальний благотворний вплив на організм і сприяє розв'язанню цілого ряду проблем, пов'язаних з порушенням метаболізму. Завдяки вмісту великого комплексу вітамінів, макро- і мікроелементів вона значно підвищує імунологічну резистентність організму, має дезінтоксикаційні властивості, а також нормалізує метаболічні процеси, концентрацію цукру і рівню холестерину.

Призначення такої схеми з одного боку, за рахунок мелатоніну нормалізує циркадний ритм гормональної активності репродуктивної системи, що запобігає виснаженню гормон-продукуючих структур. З іншого боку, за рахунок багатого спектру біологічно активних речовин, що входять до складу спіруліни, активуються різноманітні захисні системи організму, головним чином ферментна, імунобіологічна реактивність, нормалізуються та активуються гормональні функції і тим самим поліпшується стан репродуктивної функції щурів в умовах світлового десинхронозу.

Вищенаведені дані можуть розглядатися як теоретичне обґрунтування доцільності використання препаратів мелатоніну та у комплексі із спіруліною (з метою підсилення ефективності його дії) при явищах гіпогонадізму та ризику розвитку інших ендокринопатій, що виникають і прогресують на тлі тривалої мелатонінової недостатності.

Використана схема курсового введення мелатоніну сумісно зі спіруліною може роздивлятися 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.

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 з'являються ознаки вираженої мелатонінової недостатності на тлі послабленого добового ритму. Показано, що штучне освітлення впродовж 12 годин призводило до статистично значимого зниження як денної, так і нічної концентрації гормону, а амплітуда між цими 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 самок, $p \leq 0,05$). 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 самок у 12,8 рази, відносно інтактних щурів). До деструктуючого впливу цілодобового освітлення самки виявились більш чутливими.

2. Визначено, що пролонгація режиму штучного освітлення тварин призводила до зростання напруженості функціональної активності кори та мозкової речовини, з подальшими ознаками їх морфофункціональної вичерпаності. Виявлене зменшення маси надниркових залоз у самців та самок обумовлено різними факторами. У самців значуще зменшувалась

площа мозкової речовини (на 22 % супротив 3 % – у самок). В той же час у самок спостерігалось вірогідне зниження товщини кори (-32 %, $p \leq 0,05$). Рівень адреналіну та кортикостерону у плазмі крові щурів обох статей статистично значимо зростав пропорційно ступеню світлового десинхронозу. У самок виявлені патологічні зміни були більш значними.

3. Установлено, що застосування мелатоніну – як самостійно так і в комбінації зі спіруліною – корегувало негативні наслідки впливу пролонгованого режиму освітлення на адренокортикальну систему: в усіх щурів із зміненим 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 контрольна група самців та самок мала схожу динаміку основних поведінкових патерн, при цьому самки демонстрували вищі адаптаційні можливості. Зміна рухової та вегетативної поведінки на тлі активації стрес-системи надниркових залоз у тварин, які утримувалися при зміненому режимі освітлення, кардинально відрізнялися у плані статевого диморфізму. За рівнем емоційності самки 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 самок. Визначена перевага сумісного застосування мелатоніну із спіруліною у порівнянні з його моновведенням.

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 рухомості 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, $p \leq 0,05$). Показано, що гіпертестостеронемія у самок 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 самок, 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 T/E_2 у тварин обох статей (зростання на 25 % ÷ 77 % у самців та зниження на 42 % ÷ 61 % у самок), що призводило у самок до нормалізації складових естрального циклу, а у самців до покращення показників сперматогенезу. Сумісне введення мелатоніну в комплексі із спіруліною більш ефективно впливало на відновлення системи репродукції у тварин обох статей, порівняно із самотійним 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.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Chakravarty BN, Dastidar SG. Unexplained infertility. J Indian Med Assoc. 2001 Aug;99(8):414-5, 417. PMID: 11881853
2. Іркіна ТК. Проблема безпліддя в Україні. Нова медицина. К. 2002;4:20
3. Павлова ЛП, Сайдакова НО, Царенко ВЛ, Павлов МО. Про закономірності чоловічої неплідності в Україні. Сексологія и андрологія. 2002;(6):201–205.
4. Аналіз основних показників здоров'я населення України. К: МОЗ України, Центр мед. статистики. 2008; 138 с.
5. Гаврилюк АМ., Чопяк ВВ., Наконечный АИ., Курпиш М. Мужской фактор в патогенезе женского бесплодия. Медицинские аспекты здоровья мужчины. 2012;3(1):42–48.
6. Бондаренко ВО. Эндокринные аспекты мужского бесплодия. Українська школа ендокринології: матеріали 61-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 1-2 черв. 2017; 25–38 с.
7. Горпинченко ИИ., Нуриманов КР., Порошина ТВ., Савченко ВС., Дранник ГН. Проблемы идиопатического мужского бесплодия. Здоровье мужчины. 2016;(4):133–136.
8. Falchi F. Light pollution. In Urban pollution. Chichester: Wiley, 2018;147–159. <https://doi.org/10.1002/9781119260493.ch11>.
9. Helm B, Stevenson T. Circannual rhythms: history, present challenges, future directions. In: Numata H, Helm B (eds) Annual, lunar and tidal clocks: patterns and mechanisms of nature's enigmatic rhythms. Springer Japan, Tokyo, 2014;203–225.
10. Bentley GE, Perfito N, Calisi RM. Season-and context-dependent sex differences in melatonin receptor activity in a forebrain song control nucleus. Horm. Behav. 2013;(63):829–835.

11. González-Arto M, Vicente-Carrillo A, Martínez-Pastor F, et al. Melatonin receptors MT 1 and MT 2 are expressed in spermatozoa from several seasonal and nonseasonal breeder species. *Theriogenology*. 2016;(86):1958–1968.
12. Бондаренко ЛА, Сергиенко ЛЮ, Чаговец ЕМ и др. Длительное нивелирование ночного пика мелатонина как причина развития полиэндокринопатий. *Нейроэндокринология: VII Всероссийская конф., посв. 80-летию АЛ Поленова: тез. докл., Санкт-Петербург, 19-21 апр. 2005 г. СПб., 2005.34–35 с.*
13. Coelho LA, Andrade-Silva J, Motta-Teixeira LC, et al. The Absence of Pineal Melatonin Abolishes the Daily Rhythm of Tph1 (Tryptophan Hydroxylase 1), Asmt (Acetylserotonin O-Methyltransferase), and Aanat (Aralkylamine N-Acetyltransferase) mRNA Expressions in Rat Testes. *Molecular Neurobiology*. 2019;56:7800–7809. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1626-y>.
14. Nduhirabandi F, Maarman GJ. Melatonin in heart failure: A promising therapeutic strategy? *Molecules*. 2018;(23):1819–1837.
15. Бондаренко ЛА. Влияние длительного круглосуточного освещения на метаболизм серотонина в эпифизе крыс. *Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова*. 1991;77(10):30–34.
16. Семененко СБ, Артюхова ЛИ. Особенности влияния различной продолжительности фотопериода на гистоструктуру пинеалоцита крыс. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017;16(3(2)):81–81.
17. Бондаренко ЛА, Губина-Вакулик ГИ, Сотник НН и др. Влияние постоянного освещения на суточный ритм мелатонина и структуру пинеальной железы у кроликов. *Пробл. эндокрин. патології*. 2005;(4):38–45.
18. Wright ML, Cuthbert KL, Donohue MJ. Direct influence of melatonin on the thyroid and comparison with prolactin. *J. Exp. Zool*. 2000;286(6):625–631.

19. Li C, Zhou X. Melatonin and male reproduction. *Clinica Chimica Acta*. 2015;(446):175–180.
20. Pévet P. Melatonin receptors as therapeutic targets in the suprachiasmatic nucleus. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2016;20(10):1209–1218.
21. Лабунець ІФ, Магдич ЛВ, Жеребицький ВО. Епіфіз і вікові порушення ритмічних коливань функції надниркових і статевих залоз у тварин. *Ендокринологія*. 2003;8(1):85–92.
22. Лабунець ІФ, Шатилов ВБ., Магдич ЛВ. Циркадіанні взаємовідносини функцій тимуса, епіфіза та гіпофізарно-надниркової системи у молодих людей і людей похилого віку. *Ендокринологія*. 2004;9(1):70–77.
23. Li Y, et al. Higher melatonin in the follicle fluid and MT2 expression in the granulosa cells contribute to the OHSS occurrence. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2019;17(1):1–9. DOI: 10.1186/s12958-019-0479-6.
24. Nawrocka D, Śmieszek A, Marycz K. *Spirulina platensis* improves mitochondrial function impaired by elevated oxidative stress in adipose-derived mesenchymal stromal cells (ASCs) and intestinal epithelial cells (IECs), and enhances insulin sensitivity in equine metabolic syndrome (EMS) horses. *Marine drugs*. 2017;15(8): 237. DOI: 10.3390/md15080237.
25. Horman MA, Skene DJ, Swaab DF. Effect of photoperiod on the diurnal melatonin and 5-methoxytryptophol rhythms in the human pineal gland. *Brain Res*. 1995;671(2):254–260.
26. Dawson D, Van den Heuvel C. Integrating the actions of melatonin on human physiology. *Ann. Med*. 1998;30(1):95–102.
27. Заморский ИИ, Пишак ВП. Функциональная организация фотопериодической системы мозга. *Успехи физиол. наук*. 2003;34(4):37–53.
28. Шурлыгина АВ. Основы хронобиологии и хрономедицины в схемах и таблицах: методическое пособие. Новосибирск, 2001. 31 с.

29. Дроговоз СМ. Хронофармакология наглядно (Хронофармакология в таблицах и рисунках): справочник – учебное пособие. Х., «Титул», 2014. 128 с.
30. Kus I, Sarsilmaz M. Light and electron microscopic examination of pineal gland in rats exposed to constant light and constant darkness. *Neuroendocrinology Letters*. 2004;25(1):102–108.
31. Губин ДГ. Молекулярные механизмы циркадианных ритмов и принципы развития десинхроноза. *Успехи физиологических наук*. 2013;44(4):65–87.
32. Lincoln G, Messenger S, Andersson H, Hazlerigg D. Temporal expression of seven clock genes in the suprachiasmatic nucleus and parastuberalis of the sheep: evidence of internal coincidence timer. *PNAS*. 2002;99(21):13890–13895.
33. Waterhouse J, Reilly T, Atkinson G, Edwards B. Jet lag: trends and coping strategies. *The Lancet*. 2007;369(9567):1117–1129.
34. Пішак ВП, Булик РЄ, Заморський П, Ткачук СС. Шишкоподібна залоза: патоморфологія, патологічна фізіологія, фармакологія. Чернівці, 2012. 264 с.
35. Пішак ВП., Булик РЄ. Шишкоподібна залоза – головний ендокринний організатор білядобового періодизму. *Інтегративна антропологія*. 2011;2(18):32–36.
36. Пивина СГ, Ракицкая ВВ, Смоленский ИВ и др. Модификация экспрессии нейрогормонов в гипоталамусе пренатально стрессированных самцов крыс в модели посттравматического стрессового расстройства. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2014;(4):305–311.
37. Гулькова АН, Рева ИВ, Рева ГВ и др. Мозговой песок эпифиза при ишемии мозга. *Фундаментальные исследования*. 2014;(10):654–659.

38. Зуев ВА, Трифонов НИ, Линькова НС, Кветная ТВ. Мелатонин как молекулярный маркер возрастной патологии. Успехи герантологии. 2017;30(1):62–69.
39. Маликов АВ, Ковальчук АИ, Бондарем ДВ и др. Исторические и морфофункциональные аспекты изучения эпифиза. Український науково-медичний молодіжний журнал. 2014;3(82):16–19.
40. Коркушко ОВ, Шатило ВБ. Шишковидная железа: физиологическая роль в организме, функциональная недостаточность в пожилом возрасте, возможные пути коррекции. Медичний всесвіт. 2003;3(2):84–93.
41. Анисимов ВН, Виноградова ИА, Борисенков МФ и др. Световой режим, старение и рак. Вестн. Рос. ун-та Дружбы народов. 2012;(7):29–31.
42. Miyasako Y, Umezaki Y, Tomioka K. Separate sets of cerebral clock neurons are responsible for light and temperature entrainment of *Drosophila* circadian locomotor rhythms. J. Biol. Rhythms. 2007;22(2):115–126.
43. Губина-Вакулик ГИ, Бондаренко ЛА, Сотник НН. Длительное круглосуточное освещение как фактор ускоренного старения pineальной железы. Успехи геронтологии. 2007;(1):92–95.
44. Пшиченко ВВ, Волобуєв МА, Френкель ЮД. Функції епіфіза при гіпер- та гіпомелатоніемій з позиції клітинних структур. Вісник проблем біології і медицини. 2011;3,2(88):157–161.
45. Булык РЕ, Ломакина ЮВ, Тимофеев ОВ. Состояние экспрессии гена *c-fos* в медиальных мелкоклеточных субъядрах паравентрикулярного ядра гипоталамуса крыс в условиях постоянного освещения : труды II Российского съезда по хронобиологии и хрономедицине с международным участием. Вестник Российского университета дружбы народов, серия Медицина. 2012;(7):59–60.
46. Черкасов ВГ, Бобрик П, Гумінський ЮЙ, Ковальчук ОІ. Міжнародна анатомічна термінологія (латинські, українські, російські та англійські еквіваленти). Вінниця: Нова Книга, 2010. 392 с.

47. Булик РЄ. Морфофункціональне обґрунтування механізмів циркадіанних ритмів у щурів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: спец. 14.03.01; 14.03.03. Вінниця, 2009. 39 с.
48. Логвинов СВ, Герасимов АВ, Костюченко ВП. Морфологические изменения в эпифизе крыс при длительном освещении ярким светом. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010;(7):97–99.
49. Любашина ОА, Ицев ДЕ. NO-зависимые механизмы амигдалофугальной модуляции вегетативных нейронов гипоталамуса. Росс. физиол. журнал. 2006;(8):957–966.
50. Чибисов СМ, Катинас ГС, Разгульская МВ. Биоритмы и космос: мониторинг космобиосферных связей. М.: Монография, 2013. 442 с.
51. Герасимов АВ, Логвинов СВ, Костюченко ВП. Морфологические изменения в эпифизе у крыс при длительном освещении ярким светом. Бюл. эксперимент. биол. и мед. 2010;7:97–99.
52. Булик РЄ, Геруш ІВ, Пішак ВП та ін. Часова організація фізіологічних функцій у ссавців. Участь структур головного мозку. Бук. мед. вісн. 2014;18(1(69)):144–147.
53. Копылова ГВ, Лабунец ИФ. Влияние фотопериодов на ультраструктуру пинеалоцитов мышей разного возраста: выявление мелатонина. Проблемы старения и долголетия. 2004;13(4):486–493.
54. Ломакіна ЮВ. Ефективність застосування епіталону за умов зміненого фотоперіоду та іммобілізаційного стресу в старих щурів. Клін. та експеримент. патолог. 2012;11(3(41)):118–121.
55. Пшиченко ВВ, Черно ВС, Волобуєв М.А. Структурно-функціональна характеристика епіфізу щурів за умов хронічного стресу та цілодобового освітлення. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2015;14(1):90–92.
56. Ломакіна ЮВ, Пішак ВП, Булик РЄ, Кривчанська МІ. Ультрамикроскопічні зміни пінеальної залози, що викликані стресом за

- умов світлової депривації. Вісник ЛНУ імені Тараса Шевченка. 2011;18(229):115–120.
57. Мозговая ТП, Губина-Вакулик ГИ, Горбач Т.В. Гистологический анализ эпифиза и гипофиза мозга родителей при моделировании стресса. Врачеб. практика. 2007;4(58):95–98.
58. Сопова ІЮ. Стан системи протеолізу в базальних ядрах головного мозку за гіпофункції епіфізу. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(3(61)):54–56.
59. Тимофій ОВ. Патогенез порушень гіпоталамоепіфізарних взаємовідносин, індукованих змінами фотоперіоду: дис. на здобуття наук. ступ. канд. мед. наук: 14.03.01. Чернівці, 2016. 198 с.
60. Kyba Christopher CM. Artificially lit surface of Earth at night increasing in radiance and extent. Science Advances. The American Association for the Advancement of Science. 2017;3(11). URL: <https://www.unian.ua/science/2259321-na-zemli-zbilshilosya-svitlove-zabrudnennya-vcheni.html> (дата звернення: 18.08.2020).
61. Kiessling S, Sollars PJ, Pickar GE. Light stimulates the mouse adrenal through a retinohypothalamic pathway independent of an effect on the clock in the suprachiasmatic nucleus. PLoS One. 2014;9(3):929–959.
62. Perreau-Lentz S, Kalsbeek A, Garidou ML et al. Suprachiasmatic control of melatonin in rats: Inhibitory and stimulatory mechanisms. European Journal of Neuroscience. 2003;(17):221–228.
63. Арушанян ЭБ. Гормон эпифиза мелатонин – новое ноотропное средство? Эксперим. и клин. фармакология. 2005;68(3):74–79.
64. Reiter RJ, Rosales Corral S, Coto-Montes A et al. The photoperiod, circadian regulation and chronodisruption; the suprachiasmatic nuclei and the pineal and gut melatonin. Journal Physiology and Pharmacology. 2011;62(3):269–274.

65. Kitkhuandee A, Sawanyawisuth K, Johns NP et al. Pineal calcification is associated with symptomatic cerebral infarction. *Stroke Cerebrovascular Diseases*. 2014;23(2):249–253.
66. Смирнов АН. Ядерные рецепторы мелатонина. *Биохимия*. 2001;66(1):28–36.
67. Ardent J, Skene DJ. Melatonin as a chronobiotic. *Sleep Medicine Reviews*. 2005;9(1):25–39.
68. Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews*. 2005;9(1):11–24.
69. Kononenko NI, Honma S, Honma K. Fast synchronous oscillations of firing rate in cultured rat suprachiasmatic nucleus neurons: possible role in circadian synchronization in the intact nucleus. *Neurosci. Res*. 2013;75(3):218–227.
70. Сериков ВС, Ляшев ЮД, Солин АВ, Королев ВА. Влияние мелатонина на содержание продуктов перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной системы в печени крыс, подвергшихся иммобилизационному стрессу. *Росс. физиол. журнал*. 2014;(4):458–464.
71. Корневский АВ, Милютин ЮП, Букалев АВ и др. Защитное влияние мелатонина и эпиталона на гипоталамическую регуляцию репродуктивной функции самок крыс в модели ее преждевременного старения и на эстральные циклы стареющих животных при разных режимах освещения. *Успехи геронтологии*. 2013;(2):263–274.
72. Анисимов ВН. Хронометр жизни. *Природа*. 2007;(7):3–10.
73. Хавинсон ВХ, Голубев АГ. Старение эпифиза. *Успехи геронтологии*. 2002;3(9):259–269.
74. Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol*. 2004;25(3–4):177–195.
75. Pevet P. Melatonin and biological rhythms. *Biol. Signals Recept*. 2000;9(3–4):203–212.

76. Reiter RJ. Mechanisms of cancer inhibition by melatonin. *J. Pineal Res.* 2004;37(3):213–214.
77. Рапопорт СИ. Мелатонин и его роль в клинике внутренних болезней. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2011;(1):59–63.
78. Комаров ФИ, Малиновская НК, Рапопорт СИ. Мелатонин и биоритмы организма. *Хронобиология и хрономедицина: навч. посіб. М. : Триада. Х, 2000. 488 с.*
79. Acuna-Castroviejo Dario, Escames Germaine, Venega Carmen. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cellular and Molecular life Sciences.* 2014;71(16):2997–3025.
80. Лысенко АС, Редькин ЮВ. Роль эпифиза в защите организма от повреждений. *Успехи физиол. наук.* 2003;34(4):26–36.
81. Jorsa R, Olah A, Cornelissen G, et al. Circadian and extracircadian exploration during day–time hours of circulating corticosterone and other endocrine hormones. *Biomed Pharmacother.* 2005;59(11):109–116.
82. Mahaveer S, Hemant RJ. Melatonin: functions and ligands. *Drug Discovery Today.* 2014;19(9):1410–1418.
83. Ковальзон ВМ, Вейн АМ. Мелатонин в норме и патологии. М., 2004. С. 182–197.
84. Barbacka-Surowiak G, Surowiak J, Stoklosowa S. The involvement of the suprachiasmatic nuclei in the regulation of estrous cycles in rodents. *Reproduct Biol.* 2003;3:99–129.
85. Булик РС, Заморський ІІ, Пішак ВП. Участь пептидів шишкоподібної залози у забезпеченні функцій фотоперіодичності системи головного мозку та нирок (огляд літератури та власні дослідження). *Буковинський медичний вісник.* 2012;16(3(63))2:67–71.

86. Семак ИВ, Кульчицкий ВА. Физиологические и биохимические механизмы регуляции циркадианных ритмов. Труды Белорусского госуниверситета. 2007;2(1):17–37.
87. Лабунец ИФ. Половые особенности возрастных изменений цирканнуальных ритмов функций эпифиза, гипоталамо-гипофизарнонадпочечниковой системы и тимуса у здоровых людей. Успехи герантологии. 2013;26(1):97–104.
88. Kolbabova T, Pascal Malkemper E, Bartos L et al. Effect of exposure to extremely low frequency magnetic fields on melatonin levels in calves is seasonally dependent. Scientific Reports. 2015;(5). URL: <https://www.nature.com/articles/srep14206>
89. Антипенко АА, Дегтярев ЮГ, Казбанов ВВ, Кульчицкий ВА. Нарушение циркадианных механизмов контроля ноцицептивных рефлексов после экстирпации верхних шейных симпатических ганглиев у крыс. Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences). 2004;(4):30–33.
90. Hoffmann JC. Effect of photoperiods on estrous cycle length in the rat. Endocrinology. 2003;83:1355–1357.
91. Пішак ВП. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації: навч. посіб. Чернівці: Мед академія, 2003. 152 с.
92. Львова ЛВ. Ритмы жизни. Провизор. 2003;(1):34–37.
93. Арушанян ЭБ, Бейер ЭВ. Место гиппокампа в биоритмической организации поведения. Успехи физиол. наук. 2001;32(1):79–95.
94. Хоменко ВГ. Мелатонин – как продукт шишковидной железы в регуляции физиологических функций организма. Журнал научных статей. Здоровье и образование в XXI веке. 2013;15(1–4):33–36.
95. Лабунец ИФ. Возрастные особенности изменений клеточного состава костного мозга, мелатонинобразующей функции эпифиза и эндокринной

- функции тимуса у мышей разных линий. Успехи геронтологии. 2013;(3):425–431.
96. Li DP, Yang Q, Pan HM, Pan HL. Pre- and postsynaptic plasticity underlying augmented glutamatergic inputs to hypothalamic presympathetic neurons in spontaneously hypertensive rats. *J. Physiol.* 2008;586(6):1637–1647.
97. Виноградова ИА, Илюха ВА, Хижкин ЕА и др. Световое загрязнение, десинхроноз и старение: состояние проблемы и пути решения. Успехи геронтологии. 2014;(2):265–268.
98. Коцан ІЯ, Зай СЮ, Мотузюк ОП, Степанюк ЯВ. Особливості морфологічних змін ядер гіпоталамуса під впливом холодового стресу. Науковий вісник Волинського національного університету імені Лесі Українки. 2012. Розділ IV. Фізіологія. 19:84–88.
99. Sujino M, Nagano M, Fujioka A et al. Temporal profile of circadian clock gene expression in a transplanted suprachiasmatic nucleus and peripheral tissues. *Eur. J. Neurosci.* 2007;26(10):2731–2738.
100. Рапопорт СИ, Шаталова АМ. Мелатонин и регуляция деятельности сердечно-сосудистой системы. *Клин. мед.* 2001;(6):4–7.
101. Заславская РМ, Шакирова АН, Лилица ГВ, Щербань ЭА. Мелатонин в комплексном лечении больных сердечно-сосудистыми заболеваниями. М.: Медпрактика, 2005. 191 с.
102. Чеботар ЛД. Вплив світла та часткового позбавлення сну на морфофункціональний стан серця. Світ медицини та біології. Полтава, 2006;(2):53–56.
103. Harper DG, Stopa EG, Kuo-Leblanc V et al. Dorsomedial SCN neuronal subpopulations subserve different functions in human dementia. *Brain.* 2008;131(6):1609–1617.
104. Barrenetxe J, Delagrange P, Martinez JA. Physiological and metabolic functions of melatonin. *Physiol. Biochem.* 2004;60(1):61–72.

105. Анисимов ВН. Мелатонин и его место в современной медицине. Русс. мед. журн. 2006;14(4):269–273.
106. Олейникова ОМ, Карева ЕН, Богомазова МА и др. Эпилепсия и гормон эпифиза: современное состояние проблемы. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2011;3(4):22–27.
107. Беспалых АЮ, Бродский ВЯ, Бурлакова ОВ и др. Мелатонин: теория и практика / под ред. С. И. Рапопорта, В. А. Голиченкова. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2009. 99 с.
108. Арушанян ЭБ. Значение эпифизарного гормона мелатонина для педиатрии и педиатрической фармакологии. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2013;8(1):116–122.
109. Костенко ЕВ, Малевич ТМ, Разумов НА. Десинхроноз как один из важнейших факторов возникновения и развития цереброваскулярных заболеваний. Лечебное дело. 2013;(2):104–116.
110. Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. Neurochirurgie. 2015;61(2-3):77–84.
111. Brzozowska I, Strzalka M, Drozdowicz D et al. Mechanisms of Esophageal Protection, Gastroprotection and Ulcer Healing by Melatonin. Implications for the Therapeutic use of Melatonin in Gastroesophageal Reflux Disease (GERD) and Peptic Ulcer Disease. Current Pharmaceutical Design. 2014;20(30):4807–4815.
112. Rodriguez C, Sainz RM, Antolin S et al. Effect of melatonin on androgen receptor and catalase mRNA. European Journal of anatomy. 2017;3(3):127–135.
113. Литвицкий ПФ. Патофизиология: учебник с прилож. 4-е изд., испр. и доп. М.: Гэотар-медиа, 2009. 496 с.
114. Минухин АС. Роль андрогенов в обеспечении сексуальной функции у мужчин. Проблеми ендокринної патології. 2010;(1):99–106.

115. Бикалев АВ, Виноградова ИА. Влияние светового режима на заболеваемость и спонтанный онкогенез у крыс. Мед. академ. журнал. 2012;(1):36-45.
116. Анисимов ВН, Виноградова ИА, Букалев АВ и др. Световой десинхроноз и риск злокачественных новообразований у лабораторных животных: состояние проблемы. Вопросы онкологии. 2014;60(2):15–27.
117. Литвиненко ГИ, Шурлыгина АВ, Грицык ОБ и др. Взаимоотношения морфофункциональных показателей шишковидной железы и органов иммунной системы у крыс при естественном световом режиме и круглосуточном освещении. Морфология. 2014;145(2):26–30.
118. Hsieh CY, Hung CH, Chin Lee YH et al. Effects of light-dark cycle on hippocampal iNOS expression and CREB activation in rats. J. Physiol. 2015;58(1):19–26.
119. Ishii H, Tanaka N, Kobayashi M et al. Gene structures, biochemical characterization and distribution of rat melatonin receptors. J. Physiol. Sci. 2009;59(1):37–47.
120. Oosthuizen MK, Bennett NC, Cooper HM. Photic induction of Fos in the suprachiasmatic nucleus of African mole-rats: responses to increasing irradiance. Chronobiol. Int. 2010;27(8):1532–1545.
121. Reiter RJ, Tan DX, Galano A. Melatonin: exceeding expectations. Physiology (Bethesda). 2014;29(5):325–333.
122. Булик РЄ, Пішак ВП, Давиденко ІС. Хроногістологічна характеристика надниркових залоз щурів на тлі гіперфункції шишкоподібної залози. Буковинський медичний вісник. 2007;11(4):91–94.
123. Барабой ВА. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина. Укр. біохім. журн. 2000;72(3):5–11.
124. Reiter RJ. Melatonin: Lowering the High Price of Freals. *News Physiol. Sci.* 2000;15:246–250.

125. Арушанян ЭБ. Участие мелатонина в происхождении патологических процессов в костной ткани и их ограничении. Эксперим. и клин. фармакология. 2015;(2):39–44.
126. Хавинсон ВХ. Физиология старения. Начала физиологии. СПб.: Лань, 2002. С. 1015–1032.
127. Семичева ТВ, Гарибашвили АЮ. Эпифиз: современные данные о физиологии и патологии. Пробл. эндокринологии. 2000;(4):38–45.
128. Рапопорт СИ. Мелатонин: перспективы применения в клинике. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. 176 с.
129. Булик РЄ, Пішак ВП. Залежність ультраструктури пінеалоцитів у щурів від світлового режиму. Проблеми ендокринної патології. 2008;(4):62–66.
130. Пішак ВП, Ломакіна ЮВ, Давиденко ІС. Гістологічні та ультраструктурні критерії ефективності корекції мелатоніном та епіталоном пінеалоцитів старих щурів після іммобілізаційного стресу. Проблеми старіння і довголіття. 2008;17(1):3–8.
131. Ломакіна ЮВ, Черновська НВ. Корекція мелатоніном стрес-індукованих мікро- та ультрамікроскопічних змін епіфіза мозку старих щурів за умов постійного освітлення. Клін. та експеримент. патолог. 2009;8(3(29)):43–47.
132. Soares J, Masana M, Ershahin C, Dubocovich M. Functional melatonin receptors in rat ovaries at various stages of the estrous cycle. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2003;306:694–702.
133. Разыграев АВ, Керкешко ГО, Арутюнян АВ. Пути циркадианного контроля продукции гонадотропин-рилизинг-гормона. Журнал акушерства и женские болезни. 2011;60(2):88–98.
134. Martinez-Soriano F, Ruiz-Torner A, Armananzas E. Influence of light and lunar cycles on serum melatonin levels and synaptic bodies number of the pineal gland of the rat. Histol., Histopatol. 2002;17(1):213–222.

135. Гладкова АИ. Фотопериодический контроль процессов размножения. Фотобиология и фотомедицина. 2008;5(3,4):65–77.
136. Yellon SM, Tran LT. Photoperiod, reproduction, and immunity in select strains of inbred mice. J. Biol. Rhythms. 2002;17(1):65–75.
137. Пішак ВП. Участь мелатоніну в генетичній і гормональній регуляції функцій жіночої репродуктивної системи. Международный эндокринологический журнал. 2012;4(44):51–54.
138. Виноградова ИА, Чернова ИВ. Влияние светового режима на возрастную динамику эстральной функции и уровня пролактина в сыворотке крови у крыс. Успехи геронтол. 2006;19:60–65.
139. Герман СВ. Мелатонин у человека. Клинич. медицина. 1993;71(3):22–30.
140. Федорович ОК. Влияние уровня секреции мелатонина и эстрадиола на развитие аномалий родовой деятельности. Мать и дитя: Материалы XI Всероссийского научного форума. М., 2010. С. 251–252.
141. Viswanathan N, Davis FC. The fetal circadian pacemaker is not involved in the timing of birth in hamsters. Biol.Reprod. 1993;(48):530–537.
142. Diver MJ, Imtiaz KE, Ahmad AM et al. Diurnal rhythms of serum total, free and bioavailable testosterone and of SHBG in middle-aged men compared with those in young men. Clin. Endocrinol. 2003;58(6):710–717.
143. Анисимов ВН, Виноградова ИА. Световой режим, мелатонин и риск развития рака. Вопросы онкологии. 2006;52(5):491–498.
144. Бондаренко ЛО, Кузьміна ІА, Чаговець ОМ, Дунаєв ВО, Сотник НМ. Динаміка гормонально-метаболических змін на тлі тривалого гальмування світлом утворення мелатоніну пінеальною залозою. Укр. біохім. журнал. 2002;74(4):114.
145. Горпинченко ИИ. Мужской гипогонадизм: клиника и лечение. Здоровье мужчины. 2005;(1):7–9.

146. Van den Beid Annewieke, Lamberts SW. The male climacterium: Clinical signs and symptoms of a changing endocrine environment. *Prostate*. 2000;(2):2–8.
147. Milette JJ, Takahashi JS, Turer FW. Photic threshold for stimulation of testicular growth and pituitary FSH release in male Djungarian hamsters. *Brain Res*. 1990;512(2):304–308.
148. Gunduz B, Stetson MH. Effects of photoperiod, pinealectomy and melatonin implants on testicular development in juvenile Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Biol. Reprod*. 1994;51(6):1181–1187.
149. Engel L, Lorenzkowski V, Langer C, Rohleder N, Spessert R. The photoperiod entrains the molecular clock of the rat pineal. *Eur. J. Neurosci*. 2005;21(8):2297–2304.
150. Анисимов ВН, Айламазян ЭК, Батулин ДА. и др. Световой режим, ановуляция и риск злокачественных новообразований женской репродуктивной системы: механизмы связи и профилактика. *Журн. акуш. и женск. бол.* 2003;52(2):47–57.
151. Brambilla DJ, Matsumoto AM, Araujo AB, McKinlay JB. The effect of diurnal variation on clinical measurement of serum testosterone and other sex hormone levels in men. *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*. 2009;94(3):907–913.
152. Foulkes NS, Cermakian N, Whitmore D, et al.. Rhythmic transcription: the molecular basis of oscillatory melatonin synthesis. *Novartis Found Symp*. 2000;227:5–14.
153. Фаттахова ФА. Значение шишковидной железы в нейроэндокринном гомеостазе женщины. *Казанский медицинский журнал*. 1987;68(2):121–124.
154. Арушанян Э.Б, Арушанян ЛГ. Модуляторные свойства эпифизарного мелатонина. *Проблемы эндокринологии*. 1991;37(3):65–68.

155. Бондаренко ЛА, Губина-Вакулик ГИ, Геворкян АР. Пинеальная железа и гипоталамо-гипофизарнотиреоидная система: хронобиологические и возрастные аспекты : монографія / под ред. Ю. И. Караченцева, Н. А. Кравчун. Харьков: Изд-во «С.А.М.», 2013. 608 с.
156. Виноградова ИА. Влияние различных световых режимов на показатели биологического возраста и развитие возрастной патологии у крыс. Мед. акад. журн. 2005;(2):16–18.
157. Резніков ОГ. Механізми розвитку функціональної патології репродукції та адаптації в ранньому онтогенезі. Журн. АМН України. 1998;(2):216–233.
158. Чернуха ГЕ. Современные представления о синдроме поликистозных яичников. Гинекол. эндокринология. 2002;4(8):24–27.
159. Уитлоу Дж. Когда особенно не вовремя – синдром поликистоза яичников у подростков. Новая медицина тысячелетия. 2008;(6):7–9.
160. Prata Lima MF, Baracat EC, Simones MJ. Effects of melatonin on the ovarian response to pinealectomy or continuous light in female rats: similarity with polycystic ovary syndrome. Brazil. J. Med. Biol. Res. 2004;37:987–995.
161. Jaine P, Jain M, Haldar, et al. Melatonin and its correlation with testosterone in polycystic ovarial syndrome. Journal of Human Reproductive Sciences. 2013;6(4):253–258.
162. Пішак ВП. Фотоперіодизм і функціонування репродуктивної системи у ссавців і людини. Международный эндокринологический журнал. 2013;2(50):77–80.
163. Анисимов ВН. Мелатонин. Роль в организме, применение в клинике. СПб.: «Система», 2007. 40 с.
164. Chung FF, Yao CC, Wan GH. The associations between menstrual function and life style/working conditions among nurses in Taiwan. J. OccuP. Health. 2005;47:149–156.

165. Guerrero JM, Reiter RJ. Melatonin immune system relationships. *Curr Top Med Chem.* 2002;2:167–180.
166. Аржанова ОН, Кветной ИМ, Кузнецова АВ, Колобов АВ. Экспрессия биогенных аминов при плацентарной недостаточности. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2006;55(1):44–49.
167. Tamura H, Takayama H, Nakamura Y, Reiter RJ, Sugino N. Fetal placental regulation of maternal melatonin in rats. *J Pineal Res.* 2008;44(3):335–340.
168. Esroy OF, Özkan N, Özsoy Z, Kayaoglu HA, Yenidogan E, Celik A, et al. Effects of melatonin on cytokine release and healing of colonic anastomoses in an experimental sepsis model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2016;22(4):315-321.
169. Yi WJ, Kim TS. Melatonin protects mice against stressinduced inflammation through enhancement of M2 macrophage polarization. *Int Immunopharmacol.* 2017;48:146-158.
170. O'Shaughnessy PJ, Baker PJ, Johnston H, et al. The foetal Leydig cell-differentiation, function and regulation. *International Journal of Andrology.* 2006;29(1):90–95.
171. Hansen J, Lassen CF. Nested case-control study of night shift work and breast cancer risk among women in the Danish military. *Occup Environ Med.* 2012;69:551–556.
172. Stevens RG. Light-at-night, circadian disruption and breast cancer: assessment of existing evidence. *Int J Epidemiol.* 2009;38:963–970.
173. Schernhammer ES, Laden F, Speizer FE, Willett WC, Hunter DJ, Charles IK, Graham SF, Colditz A. Night-Shift work and risk of colorectal cancer in the nurses' health study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute.* 2003;95(11):825–828.
174. Savvidis C, Koutsilieris M. Circadian rhythm disruption in cancer biology. *Mol. Med.* 2012;18:1249–1260.

175. Schernhammer ES, Laden F, Speizer FE, Willett WC, Hunter DJ, Kawachi I, et al. Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the nurses' health study. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1563–1568.
176. Popovich IG, Zabezhinski MA, Panchenko AV, Piskunova TS, Semenchenko AV, Tyndyk M.L. Exposure to light at night accelerates aging and spontaneous uterine carcinogenesis in female. *Sv mice Cell Cycle.* 2013;12(11):1785–1790.
177. Виноградова ИА, Букалев АВ, Забежинский МА, Семенченко АВ, Анисимов ВН. Влияние светового режима и мелатонина на гомеостаз, продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самцов крыс. *Вопросы онкологии.* 2008;54(1):70–77.
178. Турчина СІ. Мелатонін та становлення репродуктивної системи у підлітків з нейроендокринним ожирінням. *Проблеми ендокринної патології.* 2018;(1):56–61.
179. Лакин ГФ. Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей, вузов. М.: Высш. Школа, 1990. 352 с.
180. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg, 1986. 53 p.
181. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986 р.: *Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи).* Електронний ресурс. URL : <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/main?find=1&sp=i&user=c393&text=%F2%E2%E0>
182. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» / *Відомості Верховної Ради України.* Офіц. вид. 2006. № 27. С. 990, ст. 230.

183. Second National Congress of Bioethics. Kyiv, Sept. 29, Oct. 2, 2004 : abstract. Kyiv: s.n., 2004. 303 p.
184. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах / Офіційний вісник України. Офіц. вид. (Нормативний документ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України. Наказ від 01.03.2012 № 249). 2012 р. № 24. С. 82.
185. Резніков ОГ. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики. Ендокринологія. 2003;8(1):142–145.
186. Бокуняева НИ. Выделения половых органов. Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования / под ред. ЕА Кост. М., 1975. С. 331–340.
187. Бариляк ІР, Неумержицька ЛВ, Бишовець ТФ, Даниленко ВС. Вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. ОВ Стефанова. К.: Авіцена, 2001. С. 139–152.
188. Котельников АВ, Котельникова СВ. Характеристика эстрального цикла белых крыс на разных этапах онтогенеза при введении витамина Е. Вестник Астраханского государственного технического университета. 2005;(3):215–217.
189. Долгов ВВ, Луговская СА, Фанченко НД, Миронова ИИ и др. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. М. Тверь: Триада, 2006. 145 с.
190. Гончаров НП, Добрачева АД, Корякин МВ и др. Атлас морфологических форм сперматозоидов. М. : МИА, 2006. 91 с.
191. Багрій ММ та ін. Методики морфологічних досліджень: монографія / за ред. ММ Багрія, ВА Діброви. Вінниця: Нова Книга, 2016. 328 с.

192. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. Edinbuhg-London-N.Y: Churchill Livingstone, 2002. 796 p.
193. Майоров ОЮ. Оценка индивидуально-типологических особенностей поведения и устойчивости интактных белых крыс-самцов на основе факторной модели нормального этологического спектра показателей в тесте открытое поле. Клиническая информатика и Телемедицина. 2011;7(8):21–32.
194. Кочетов АГ, Лянг ОВ, Масенко ВП и др. Методы статистической обработки медицинских данных: метод. рек. для ординаторов и аспирантов мед. учеб. заведений, науч. Работников. М.: РКНПК, 2012. 42 с.
195. Buijs RM et al. Organization of circadian functions: interaction with the body. Progress in brain research. 2006;153:341–360.
196. Miller DB, O'Callaghan JP. Neuroendocrine aspects of the response to stress. Metabolism-Clinical and Experimental. 2002;51(6):5–10.
197. Herman JP, et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. Comprehensive Physiology. 2011;6(2):603–621.
198. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. Nature reviews endocrinology. 2009;5(7):374.
199. Kinlein SA, Karatsoreos IN. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis as a substrate for stress resilience: Interactions with the circadian clock. Frontiers in neuroendocrinology. 2020;56:100819.
200. Gamble KL, et al. Circadian clock control of endocrine factors. *Nature Reviews Endocrinology*. 2014;10(8):466–475.
201. Berger I, et al. The adrenal gland in stress—Adaptation on a cellular level. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. 2019;190:198–206.
202. Redina OE, Markel AL. Stress, genes, and hypertension. Contribution of the ISIAH rat strain study. Current hypertension reports. 2018;20(8):1–10.

203. Романюк АМ, Гринцова НБ, Будко ГЮ, Карпенко ЛІ. Морфологічні перебудови гіпофізарно-наднирникової системи статевозрілих щурів в умовах реадаптації після експериментальної позаклітинної дегідратації легкого ступеня Клінічна та експериментальна патологія. 2016;15(2(56)):2:70–73.
204. Nakagawa Y, Shimano H. CREBH regulates systemic glucose and lipid metabolism. *International journal of molecular sciences*. 2018;19(5):1396.
205. Godoy LD et al. A comprehensive overview on stress neurobiology: basic concepts and clinical implications. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2018;12:127.
206. Дусик АВ, Голубовський ІА. Морфофункціональні зміни в наднирниках при хронічному стресі. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016;2(127(1)):188–191.
207. Pilorz V, Helfrich-Förster C, Oster H. The role of the circadian clock system in physiology. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2018;470(2):227–239.
208. Lin AN, Paget SA. *Principles of Corticosteroid Therapy*. Hodder Arnold Publication. New York, 2002. p. 330
209. Funder JW. Aldosterone and mineralocorticoid receptors: past, present, and future. *Endocrinology*. 2010;151:5098–5102.
210. Kamperis K et al. Excess diuresis and natriuresis during acute sleep deprivation in healthy adults. *American journal of physiology-renal physiology*. 2010;299(2):404–411.
211. Pezük P et al. Glucocorticoids as entraining signals for peripheral circadian oscillators. *Endocrinology*. 2012;153(10):4775–4783.
212. Oyola MG, Handa RJ. Hypothalamic–pituitary–adrenal and hypothalamic–pituitary–gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. *Stress*. 2017;20(5):476–494.

213. Лепехина ЛМ, Воскресенский ВО. Графическая регистрация грумминга и его параметры в онтогенезе крыс. Бюллетень экспер. Биол.и мед. 1991;112(10):340–341.
214. Valenti S, Giusti M. Melatonin participates in the control of testosterone secretion from rat testis: an over view of our experience. Ann. NY Acad. Sci. 2002;966:284–289.
215. Ajayi AF, Akhigbe RE. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. Fertility research and practice. 2020;6(1):1–15.
216. Heck AL and Handa RJ. Sex differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to stress: an important role for gonadal hormones. *Neuropsychopharmacology*. 2018;44:45–58. doi: 10.1038/s41386-018-0167-9
217. Model Z, Butler MP, Le Sauter J, Silver R. Suprachiasmatic nucleus as the site of androgen action on circadian rhythms. Horm. Behav. 2015;73:1-7. doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.05.007
218. Ikeno T, Deats SP, Soler J, Lonstein JS, Yan L. Decreased daytime illumination leads to anxiety-like behaviors and HPA axis dysregulation in the diurnal grass rat (*Arvicanthis niloticus*). Behav. Brain Res. 2016;300:77–84. doi: 10.1016 / j.bb.2015.12.004
219. Popova LD, Vasylyeva IM, Bogdanova TV. Spivvidnoshennya testosteronu ta 17 β -estradiolu u samtsiv shchuriv z dominantnym ta submisivnym typamy povedinky. Visnyk problem biologiyi ta medytsyny. 2014;4(1):65–69.
220. Yan L, Lonstein JS and Nunez AA. Light as a modulator of emotion and cognition: lessons learned from studying a diurnal rodent. Hormones and Behavior. 2019;111:78–86. doi: 10.1016/j.yhbeh.2018.09.003
221. Foecking Eileen M, McDevitt Melissa A, Acosta-Martínez Maricedes, Horton Teresa H, Levine Jon E. Neuroendocrine consequences of androgen excess in female rodents. Hormones and Behavior. 2008;53(5):673–692. doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.12.013

222. Goncalves D, Savaiva J, Teles M et al. Brain aromatase mRNA expression in two populations of peacock Blenny *Salarice pavo* with divergent mating system. *Horm. Behav.* 2010;57(2):155–61.
223. Kalsbeek Andries, Buijs Ruud M. Output pathways of the mammalian suprachiasmatic nucleus: coding circadian time by transmitter selection and specific targeting. *Cell Tissue Res.* 2002;309:109–118. DOI 10.1007/s00441-002-0577-0
224. William C, Engeland PhD, Michelle M. Arnhold. Neural circuitry in the regulation of adrenal corticosterone rhythmicity. *Endocrine.* 2005;28:325–331.
225. Buijs RM, Van Eden CG, Goncharuk VD, Kalsbeek A. The biological clock tunes the organs of the body: timing by hormones and the autonomic nervous system. *J. Endocrinol.* 2003;177:17–26.
226. Takumi Ota, Jean-Michel Fustin, Hiroyuki Yamada, Masao Doi, Hitoshi Okamura. Circadian clock signals in the adrenal cortex. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2012;349:30–37.
227. Гайдей ОС. Фізіологічні механізми стресу у тварин: наук. вісник Львівського нац. ун-ту вет. мед. та біотехнологій ім. Їжицького. 2012;14(2(2)):12–14.
228. Hau Michaela, et al. Glucocorticoid-mediated phenotypes in vertebrates: multilevel variation and evolution. *Advances in the Study of Behavior.* 2016;48:41–115.
229. Ishida Atsushi, et al. Light activates the adrenal gland: timing of gene expression and glucocorticoid release. *Cell metabolism.* 2005;2(5):297–307.
230. Bedrosian TA, Galan A, Vaughn CA, Weil ZM and Nelson RJ. Light at night alters daily patterns of cortisol and clock proteins in female siberian hamsters. *J. Endocrinol.* 2013;25:590–596. doi:10.1111/jne.12036.
231. Neumann Inga D, Alexa H, Veenema and Daniela I. Beiderbeck. Aggression and anxiety: social context and neurobiological links. *Frontiers in behavioral neuroscience.* 2010;4:12.

232. Albarran MT, et al. Endogenous rhythms of melatonin, total antioxidant status and superoxide dismutase activity in several tissues of chick and their inhibition by light. *Journal of pineal research*. 2001;30(4):227–233.
233. Бондаренко ЛА, Сергиенко ЛЮ, Сотник НН и др. Гормональные и структурные корреляты нарушения функциональной активности семенников в условиях избытка света. *Фотобиология и фотомедицина*. 2007;5(1,2):72–78.
234. Бондаренко ЛО, Губіна-Вакулік ПІ, Чаговець ОМ. та ін. Значення гіпопінеалізму для функціонування сім'яників: про- та антигонадні ефекти. *Здоровье мужчины*. 2004;4(11):26–28.
235. Сотник НМ, Бондаренко ЛО. Динаміка добових ритмів гормональної активності сім'яників при гіпогонадізмі нейроендокринного генезу, індукованому тривалим цілодобовим освітленням. *Пробл. ендокрин. патології*. 2008;(2):28–34.
236. Taziaux M, Keller M, Bakker J, Balthazart J. Sexual behavior activity tracks rapid changes in brain estrogen concentration. *J. Neurosci*. 2007;27(24):6563–72.
237. Rendon Nikki M, et al. Aggressive behaviours track transitions in seasonal phenotypes of female Siberian hamsters. *Functional ecology*. 2017;31(5):1071–1081.
238. Estumano Daniel Pantoja, et al. Alteration of testosterone levels changes brain wave activity patterns and induces aggressive behavior in rats. *Frontiers in endocrinology*. 2019;10:654.
239. Gobinath Aarthi R, Elena Choleris and Liisa AM Galea. Sex, hormones, and genotype interact to influence psychiatric disease, treatment, and behavioral research. *Journal of neuroscience research*. 2017;95(1-2):50–64.
240. Takahashi K, Hosoya T, Onoe K, et al. Association between aromatase in human brains and personality traits. *Sci Rep*. 2018;8:16841. doi.org/10.1038/s41598-018-35065-4

241. Khan MM, Dhandapani KM, Zhang QG, Brann DW. Estrogen Regulation of Spine Density and Excitatory Synapses in Rat Prefrontal and Somatosensory Cerebral Cortex. *Steroids*. 2013;78(6):614–623.
242. Pierce BN, Clarke IJ, Turner AI, Rivalland ET, Tilbrook AJ. Cortisol Disrupts the Ability of Estradiol-17 β to Induce the LH Surge in Ovariectomized Ewes. *Domestic Anim Endocrinol*. 2009;36(4):202–208.
243. Burger HG, Papalia MA. Clinical update on female androgen insufficiency-testosterone testing and treatment in women presenting with low sexual desire. *Sexual Health*. 2006;3:73–78.
244. Lonstein JS, Linning-Duffy K and Yan L. Low daytime light intensity disrupts male copulatory behavior, and upregulates medial preoptic area steroid hormone and dopamine receptor expression, in a diurnal rodent model of seasonal affective disorder. *Front. Behav. Neurosci*. 2019;13:72. doi: 10.3389/fnbeh.2019.00072

ДОДАТОК 1

Список публікацій

Статті у фахових виданнях:

1. Мамотенко АВ, Комісова ТЄ. Поведінкові реакції самців-щурів при експериментальній зміні освітлення. Біологія та валеологія. 2009;11:52–58.
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.
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.
4. Мамотенко АВ, Комісова ТЄ. Вплив світлового режиму на естральний цикл самиць щурів. Біологія та валеологія. 2018;18:57–61.
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.
6. Мамотенко АВ, Комісова ТЄ. Корекція розладів репродуктивної системи щурів за умов змін світлового режиму. Проблеми ендокринної патології. 2021;2(76):78–85.

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.

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 матеріал. 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 самок 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.