

kinasebin human endothelial cells // British Journal of Pharmacology. – 2007. – Vol. 150. – P. 1044 – 1054.

18. Sambrook J., Russell D. Molecular cloning: a laboratory manual. – Cold Spring Harbor Laboratory Pr.; 3rd edition, 2000. – 2344 p.

19. Shin J., Vagin O., Munson K., Munson K., Kidd M., Modlin I. M., Sachs G. Molecular mechanisms in therapy of acid-related diseases // Cell. Mol. Life Sci. – 2008. – 65, N 2. – P. 264-281.

20. Sundstrom A., Blomgren K., Alfredson L., Wiholm B. Acid-suppressing drugs and gastroesophageal reflux disease as risk factors for

acute pancreatitis – results from a Swedish Case-Control Study // Pharmacoepidemiology and drug safety. – 2006. – 15, N 3. – P. 141-149.

21. Thomson A., Sauve M., Kassam N., Kamitakahara H. Safety of long-term use of proton pump inhibitors // World J. Gastroenterol. – 2010. – 16, N 19. – P. 2323-2330.

22. Tsyriuk O.I., Beregova T.V. Effect of omeprazole-induced hypergastrinemia on the basal gastric secretion in rats // Bulletin of biological and medical issues. – 2007. – № 3. – P. 38-43.

Надійшла до редколегії 20.06.14

А. Драницина, канд. біол. наук, У. Савко, асп., Е. Дворщенко, канд. біол. наук, А. Моргаєнко, канд. біол. наук, В. Верещака, д-р біол. наук  
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

**ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА PAR2 В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛУДОЧНОЙ ГИПОАЦИДНОСТИ И ПРИ ВВЕДЕНИИ МУЛЬТИПРОБИОТИКА СИМБИТЕР**  
*Показано увеличение уровня экспрессии гена Par2 в эпителиоцитах ворсинок и крипт двенадцатиперстной кишки крыс в гипоацидных условиях. При введении мультипробиотика Симбистер в тех же условиях уровень экспрессии данного гена в эпителиоцитах ворсинок был на уровне контрольных значений, в то время как уменьшался в 1,4 раза в криптах.*  
*Ключевые слова: желудочная гипоацидность, двенадцатиперстная кишка, крысы, экспрессия гена Chga, мультипробиотик.*

A. Dranitsina, PhD., U. Savko, PhD stud., K. Dvorchshenko, PhD., O. Morgaienko, PhD., V. Vereschaka, DSc.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

**EXPRESSION OF PAR2 GENE IN RAT DUODENAL UPON LONG-TERM HYPOACIDITY AND WITH ADMINISTRATION OF MULTIPROBIOTIC SYMBITER**  
*The increasing of Par2 gene's expression in rat duodenal villus and crypt epithelial cells upon gastric hypoacidic conditions was shown. The level of Chga expression was similar to the control value in villus while it was decreased (in 1,4 times) in crypt epitheliocytes upon treatment of hypoacidic rats with multiprobiotic Symbiter.*  
*Keywords: gastric hypoacid, duodenum, rat, expression gene Chga, multiprobiotic.*

УДК 615.339:616-002.2

Д. Голишкін, асп., О. Вірченко, асп., Т. Фалалєєва, д-р біол. наук,  
Т. Галєнова, канд. біол. наук, О. Савчук, д-р біол. наук  
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

## ВМІСТ ЦИТОКІНІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІЇ СТРЕСУ ТА ВВЕДЕННЯ МЕЛАНІНУ

*Було вивчено вміст прозапальних та антизапальних цитокінів у сироватці крові щурів за умов стресу та введення меланіну. Встановлено, що меланін зменшує рівень прозапальних цитокінів інтерлейкіну (ІЛ) – 1 $\beta$ , ІЛ-12В р40, інтерферону- $\gamma$  та фактору некрозу пухлин- $\alpha$  в сироватці крові щурів за умов стресу. Меланін також посилює антизапальних ІЛ-4 та ІЛ-10. Отримані результати свідчать про зменшення запалення під впливом досліджуваної сполуки за умов стресу. Антизапальні властивості меланіну є одним з механізмів стресадаптогенної та антивиразкової дії даної сполуки.*

*Ключові слова: меланін, стресові виразки, цитокіни, антизапальний ефект.*

**Вступ.** Стресові виразки є проблемою важких хворих, які перебувають у відділеннях інтенсивної терапії і реанімації та викликають значну смертність хворих у критичному стані [1]. Особливо часто ці ускладнення виникають у хворих і потерпілих на тлі важкої серцево – судинної, дихальної, печінкової і ниркової недостатності, а також при розвитку гнійно-септичних ускладнень. Гострі ерозії та виразки шлунково-кишкового тракту нерідко ускладнюються кровотечею або перфорацією. Частота виникнення стресових виразок шлунка та дванадцятипалої кишки у пацієнтів після поранень становить 27%, у пацієнтів з механічною травмою – 67%. Загальна частота виникнення стресових виразок становить 58%. Загальна летальність при ускладнених гострих ерозіях і виразках травного тракту залишається дуже високою і, за даними різних авторів, коливається від 35 до 95% [1].

Ключовими патогенетичними механізмами стресових виразок є зниження кровотоку в слизовій оболонці шлунка (СОШ) і ацидопептична агресія [2]. Провідна роль у профілактиці і терапії стресових виразок належить лікарським засобам, що істотно знижують продукцію гідрохлоридної кислоти, а отже, і активність пепсину. З появою в арсеналі кислотосупресивних засобів інгібіторів протонної помпи (ІПП) використовували раніше з цією метою антациди і H<sub>2</sub> – блокатори в даний час визнані недостатньо ефективними [3, 4].

В результаті численних порівняльних рандомізованих досліджень встановлено перевагу ІПП в здатності блокувати продукцію гідрохлоридної кислоти, збільшувати швидкість рубцювання виразок і ерозій, знижувати частоту хірургічних втручань і рецидивів кровотеч при пептичних виразках, а також підвищувати ефективність ерадикаційної терапії при інфекції, викликаній *Helicobacter pylori* [5, 6]. Проте тривале застосування блокаторів призводить також до збільшення розміру, ваги і кількості парієтальних клітин, зменшення кількості головних клітин СОШ і зниження синтезу мРНК пепсиногену. Основним негативним ефектом застосування інгібіторів протонної помпи є розвиток онкогенних процесів у СОШ [7].

Хоча на сьогодні розроблені і широко використовуються для лікування виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки досить ефективні фармакологічні засоби, арсенал засобів для профілактики розвитку та рецидивів виразкової хвороби обмежений. Аналіз сучасної літератури та наші попередні дані дозволяють стверджувати, що можливими перспективними засобами профілактики стресових уражень СОШ і дванадцятипалої кишки будуть речовини природного походження на основі поліфенольних сполук. До таких речовин належить меланін, який є продуктом життєдіяльності чорних дріжджів *Nadsoniella nigra* штам X-1, висіяних з вертикальних скель о.Галіндез (Українська Антарктична станція акаде-

мік Вернадський). Меланін даного походження на 95% складається з поліфенолкарбонового комплексу.

В попередніх роботах нами було встановлено цитопротекторну дію меланіну та антиоксидантні його властивості [8, 9], що роблять перспективним використання меланіну для профілактики розвитку стресових уражень СОШ та для лікування пацієнтів з виразковою хворобою шлунка та дванадцятипалої кишки, які є нечутливими до традиційних схем лікування. Стрес, як фізичний, так і психологічний, здійснює значний вплив на імунну систему людини і тварин [10, 11]. Ушкодження СОШ за умов дії стресу викликає запалення та призводить до активації імунної системи організму. У першу чергу включаються регуляторні Т-лімфоцити – Т-хелпери 1 типу, які підвищують активність макрофагів. Останні продукують прозапальні цитокини – інтерферон (ІНФ) –  $\gamma$ , фактор некрозу пухлин (ФНП) –  $\alpha$ , інтерлейкіни (ІЛ) – ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6 та ін. Дані прозапальні цитокини посилюють уражувальний вплив стресу на СОШ [12]. Тому метою роботи було дослідити вплив меланіну на вміст цитокінів у сироватці крові щурів за умов дії нервово-м'язового напруження та введення меланіну.

**Матеріали і методи.** Дослідження проводилися на 30 білих нелінійних щурах, самках, масою 140-160 г з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [13]. Тварини були розділені на 3 групи по 10 тварин у кожній.

Схема експерименту була наступною:

1 група – контрольна. Тваринам за 15 хвилин перед початком досліду внутрішньошлунково (в.ш.) вводили воду об'ємом 0,5 мл на щура.

2 група – стрес контроль: щури, яких умертвляли через 2 години від закінчення 3-годинної іммобілізації. Тваринам за 15 хвилин перед початком досліду в.ш. вводили воду об'ємом 0,5 мл на щура.

3 група – стрес+меланін: щури, яких умертвляли через 2 години від закінчення 3-годинної іммобілізації. Тваринам за 15 хвилин перед початком досліду в.ш. вводили меланін в дозі 5 мг/кг, розчинений у воді об'ємом 0,5 мл на щура.

Стресові ураження викликали методом нервово-м'язового напруження за Сельє. Даний метод рекомендований Державним фармакологічним центром України при проведенні доклінічних досліджень стреспротекторної дії фармакологічних засобів [14]. За даною методикою щурів іммобілізували на операційному столику на спині, атравматично фіксуючи за кінцівки. Тривалість іммобілізації складала 3 години. Через 2 години після припинення знерухомлення тварин умертвляли за допомогою цервікальної транслокації. Збирали кров для підготовки сироватки. Кров збирали в пробірки, відстоювали впродовж 30 хв та центрифугували 10 хв за 1000 g, після чого здійснювали відбір сироватки.

Визначали в сироватці крові щурів вміст прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-12В р40, ІНФ- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$ ) та антизапальних цитокінів (ІЛ-4 та ІЛ-10) методом імуноферментного аналізу. Імуноферментний аналіз проводили у мікропланшетах із сорбційною здатністю за стандартною методикою для розчинних білків [15]. Матеріалом дослідження були солубілізовані фракції сироватки щурів,

білковий матеріал якої використовували як специфічні антигени (досліджувані цитокини) до відповідних антитіл. Для визначення ІЛ-4 та ІЛ-10 використовували мишині моноклональні антитіла (Sigma), для ІЛ-12В р40 – кролячі поліклональні антитіла (Sigma), для ІЛ-1 $\beta$  та ІНФ- $\gamma$  – козячі поліклональні антитіла (Sigma). Антигени розводили 50 мМ Трис-НСІ буфером (рН 7,4), що містив 130 мМ NaCl, до концентрації 10 мкг/мл та інкубували у комірках планшетів протягом 60 хв при 37°C та постійному перемішуванні. Для видалення антигена, що не зв'язався, комірки відмивали Трис-НСІ буфером (рН 7,4), що містив 130 мМ NaCl. Надалі інкубацію проводили у 50 мМ Трис-НСІ буфері (рН 7,4), що містив 130 мМ NaCl (робочий буфер). Для блокування неспецифічних місць зв'язування використовували 3% розчин знежиреного молока або 2% розчин БСА. Комірки відмивали робочим буфером з вмістом 0,05% Твіну-20 та інкубували з розчином первинних антитіл протягом 60 хвилин при 37°C. Надалі проводили відмивку робочим буфером з вмістом 0,05% Твіну-20 та інкубували з вторинними антитілами (антимишиними, антикролячими або антикозячими), кон'югованими з лужною фосфатазою протягом 60 хвилин при 37°C. По закінченні інкубації комірки знову відмивали робочим буфером з вмістом 0,05% Твіну-20 та інкубували з субстратом для лужної фосфатази (1 мг/мл рNPP у 10% диетаноламіні, рН 9,8) при 37°C протягом 60 хв. Вимірювали оптичну густина при довжині хвилі 405 нм (робоча хвиля) та 492 нм (похибка вимірювання) на мікропланшеточному спектрофотометрі "Synergy" (BioTek, США). Вміст антигену, специфічного до відповідних первинних антитіл, у досліджуваних зразках розраховували як різницю екстинцій при 405 нм та 492 нм і виражали в умовних одиницях (ум.од.).

Одержані результати перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тесту Шапіро-Вілка. Оскільки наші дані виявилися нормально розподілені, порівняння вибірок проводилися за допомогою t-критерію Ст'юдента для незалежних вибірок. Розраховували середнє значення (M), похибку середнього значення (m). Значущими вважали відмінності при  $p \leq 0,05$ .

**Результати та обговорення.** Встановлено, що в результаті дії стресу, викликаного нервово-м'язовим напруженням за Сельє, в сироватці крові щурів зростає вміст прозапальних цитокінів. Так, у групі стрес-контролю рівень ІЛ-1 $\beta$  становив  $0,735 \pm 0,042$  у.о., що перевищувало контрольні показники на 35% ( $P < 0,001$ ) (рис. 1а). Вміст ІЛ-12В р40 під впливом стресу зростає до  $0,460 \pm 0,021$  у.о., що більше на 28% ( $P < 0,01$ ) порівняно з інтактним контролем (рис. 1б). У сироватці крові щурів після стресу значно збільшувався вміст ІНФ- $\gamma$  (стрес контроль проти інтактного контролю  $0,521 \pm 0,044$  у.о. vs  $0,348 \pm 0,029$  у.о.,  $P < 0,01$ ) (рис. 2а). За умов дії стресу вміст ФНП- $\alpha$  також був підвищений на 50% ( $P < 0,01$ ) порівняно з інтактним контролем ( $P < 0,01$ ) (рис. 2б). Отримані дані узгоджувалися з результатами, отриманими Hsu et al., 2013, які показали зростання прозапальних ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$  в СОШ щурів після 4-годинного водно-іммобілізаційного стресу [12].

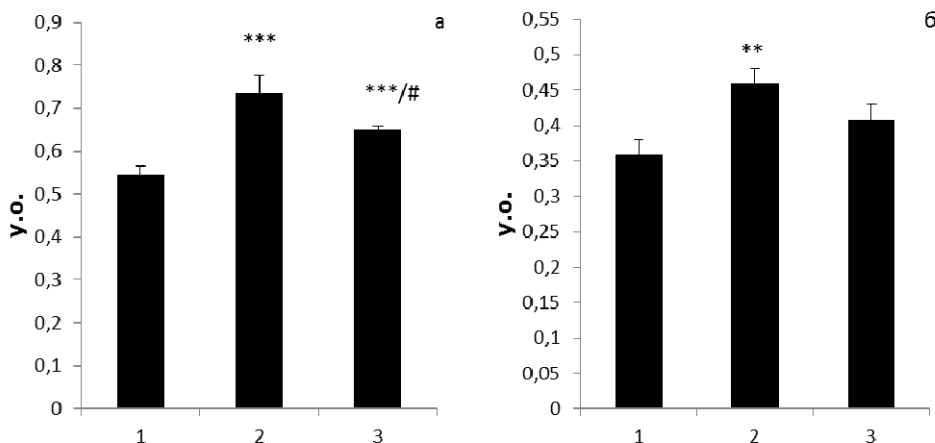


Рис. 1. Вміст інтерлейкіну 1 $\beta$  (а) та інтерлейкіну 12В р40 (б) в сироватці крові щурів за умов виразкоутворення, викликаного нервово-м'язовим напруженням за Сельє, та введення меланіну ( $M \pm m$ ,  $n=10$  в кожній групі):

1 – інтактний контроль, 2 – стрес-контроль, 3 – стрес+меланін

Примітка: \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  щодо інтактного контролю; # –  $p < 0,05$  щодо стрес-контролю

Меланін, за умов його введення за 30 хв до стресу, зменшував вміст прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів. Так, рівень ІЛ-1 $\beta$  знижувався до  $0,651 \pm 0,009$  у.о., або на 12% ( $P < 0,05$ ) щодо до групи стрес-контролю (рис. 1а), хоча вміст даного інтерлейкіну залишався більшим за відповідний показник інтактних щурів. Вміст ІЛ-12В р40 зменшувався до рівня інтактних щурів, проте значущо не відрізнявся від групи стрес-контролю (рис.

1б). Подібні результати були виявлені щодо вмісту ІНФ- $\gamma$ : даний цитокін при введенні меланіну значущо не відрізнявся як від групи інтактного контролю, так і стрес-контролю (рис. 2а). Найбільш значний вплив меланін здійснював на вміст ФНП- $\alpha$ . В групі стрес+меланін даний показник складав  $0,335 \pm 0,034$ , що значуще менше на 23% ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою стрес-контролю та не відрізняється від рівня інтактних щурів (рис. 2б).

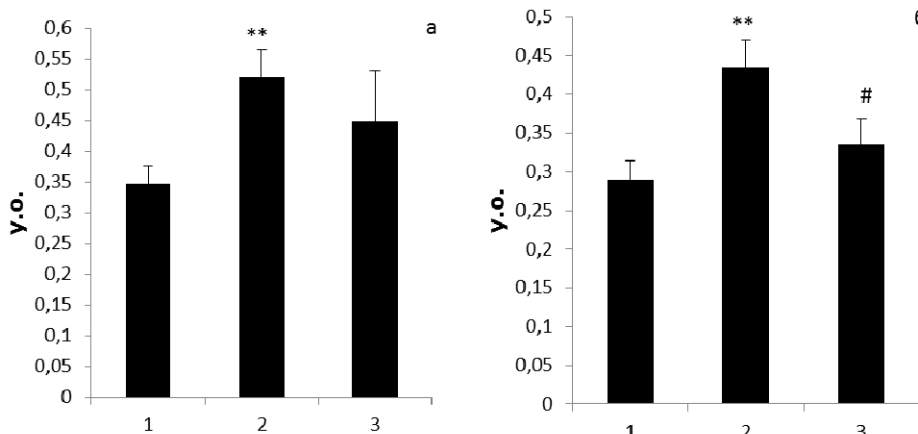


Рис. 2. Вміст інтерферону  $\gamma$  (а) та фактору некрозу пухлин- $\alpha$  (б) в сироватці крові щурів за умов виразкоутворення, викликаного нервово-м'язовим напруженням за Сельє, та введення меланіну ( $M \pm m$ ,  $n=10$  в кожній групі):

1 – інтактний контроль, 2 – стрес-контроль, 3 – стрес+меланін

Примітка: \*\* –  $p < 0,01$  щодо інтактного контролю; # –  $p < 0,05$  щодо стрес-контролю

При дослідженні рівня антизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 після нервово-м'язового напруження за Сельє встановлено, що вміст ІЛ-4 після стресу незначно підвищувався на 16% ( $P < 0,05$ ) щодо інтактного контролю (рис. 3а). Це може бути компенсаторною реакцією імунної системи у відповідь на запальну реакцію за умов стресу. Вміст ІЛ-10 в сироватці крові щурів одразу після дії стресу не змінювався (рис. 3б). За умов введення меланіну вміст ІЛ-4 в групі стрес+меланін становив  $0,194 \pm 0,015$  у.о., що більше на 22% ( $P < 0,05$ ) щодо стрес контролю та на 42% ( $P < 0,01$ ) щодо інтактного

контролю (рис. 3а). Меланін також підвищував показники вмісту ІЛ-10 на 27% ( $P < 0,05$ ) порівняно зі стрес контролем і на 21% ( $P < 0,01$ ) порівняно з інтактним контролем (рис. 3б). Отже, отримані результати свідчать про антизапальний вплив досліджуваної сполуки за умов введення її до моделювання стресу. Посилення виділення ІЛ-4 та ІЛ-10 під впливом меланіну може бути одним з механізмів зменшення вмісту прозапальних цитокінів ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-12В р40, ІНФ- $\gamma$  та ФНП- $\alpha$  в сироватці крові щурів за умов стресу.

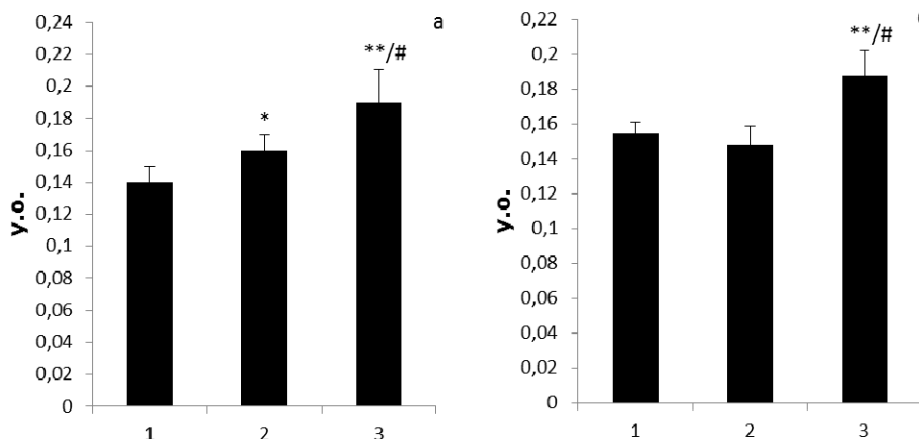


Рис. 3. Вміст інтерлейкіну 4 (а) та інтерлейкіну 10 (б) в сироватці крові щурів за умов виразкоутворення, викликаного нервово-м'язовим напруженням за Сельє, та введення меланіну (M±m, n=10 в кожній групі): 1 – інтактний контроль, 2 – стрес-контроль, 3 – стрес+меланін

Примітка: \*, \*\* –  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  щодо інтактного контролю; # –  $p < 0,05$  щодо стрес-контролю

Отримані нами дані узгоджуються з дослідженнями інших авторів. Mohagheghpour et al. (2001) в *in vitro* дослідженнях встановили, що синтетичний меланін в нетоксичних концентраціях пригнічував експресію прозапальних цитокінів ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 і ФНП- $\alpha$  моноцитами периферичної крові людини [16]. Механізмом такої дії вважають вплив на посттрансляційні процеси утворення даних цитокінів. В даній роботі нами досліджені антизапальні ефекти меланіну природного походження за умов стресу на *in vivo* моделях. Враховуючи результати наших попередніх досліджень про стресадаптогенну дію меланіну [9], можна зробити заключення, що вплив сполуки на цитокіновий профіль є одним з проявів її стресадаптогенної дії та механізмом підтримання гомеостазу СОШ за умов дії стресу. Варто відзначити, що меланін – це поліфенольна сполука, тому його ефекти на цитокіновий профіль можуть бути обумовлені впливом на експресію ядерних рецепторів PPAR [17, 18], участь яких у протизапальних процесах на сьогодні чітко встановлена [19, 20]. Дані механізми потребують подальших досліджень.

#### Висновки:

1. Меланін зменшує вміст прозапальних цитокінів ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-12 $\beta$  р40, ІНФ- $\gamma$  та ФНП- $\alpha$  та збільшує вміст антизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 в сироватці крові щурів за умов стресу.

2. Антизапальні ефекти меланіну є одним з механізмів його стресадаптогенної та антивиразкової дії.

#### Список використаних джерел

- The attributable mortality and length of intensive care unit stay of clinically important gastrointestinal bleeding in critically ill patients / D. J. Cook [et al.] // Crit Care. – 2001. – Vol.5, № 6. – P.368-375.
- Профілактика стресс-повреждений желудочно-кишечного тракта у больных в критических состояниях / Б. Р. Гельфанд [и др.] // Consilium medicum. – 2005. – Т.7, № 6. – С.464-467.
- A model for integrative study of human gastric acid secretion / I.M. Joseph [et al.] // J Appl Physiol (1985). – 2003. – Vol.94, № 4. – P.1602-1618.
- Tryba M. Sucralfate versus antacids or H2-antagonists for stress ulcer prophylaxis: a meta-analysis on efficacy and pneumonia rate / M. Tryba // Crit Care Med. – 1991. – Vol.19, № 7. – P.942-949.
- Gastrointestinal peptic ulcer and Helicobacter pylori infection in children and adolescents / P. F. Bittencourt [et al.] // J Pediatr (Rio J). – 2006. – Vol.82, № 5. – P.325-334.

6. Stress ulcer prophylaxis in critically ill patients: a randomized controlled trial / I. Kantorova [et al.] // Hepatogastroenterology. – 2004. – Vol.51, № 57. – P.757-761.

7. Eslami L. Meta-analyses: does long-term PPI use increase the risk of gastric premalignant lesions? / L. Eslami, S. Nasseri-Moghaddam // Arch Iran Med. – 2013. – Vol.16, № 8. – P.449-458.

8. Savytskyy Y. Influence of melanin on the lesion in the gastric mucosa of rats caused by neuro-muscular tension by Selye / Y. Savytskyy, D. Golyskin, T. Falalyeyeva // Annales universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Lublin-Polonia, Sectio DDD. – 2010. – Vol.XXIII, № 1. – P.251-255.

9. Голишкін Д. В. Вплив меланіну на ураження в слизовій оболонці шлунка щурів, викликані методом нервово-м'язового напруження за Сельє / Д. В. Голишкін [та ін.] // Вісник проблем біології і медицини. – 2010. – № 1. – С.47-51.

10. Chronic restraint stress promotes lymphocyte apoptosis by modulating CD95 expression / D. Yin [et al.] // J Exp Med. – 2000. – Vol.191, № 8. – P.1423-1428.

11. Chronic restraint stress promotes immune suppression through toll-like receptor 4-mediated phosphoinositide 3-kinase signaling / Y. Zhang [et al.] // J Neuroimmunol. – 2008. – Vol.204, № 1-2. – P.13-19.

12. Protective effect of 3,4-methylenedioxyphenol (sesamol) on stress-related mucosal disease in rats / D. Z. Hsu [et al.] // Biomed Res Int. – 2013. – Vol.213, № – P.481827.

13. Rozemond H. Laboratory animal protection: the European Convention and the Dutch Act / H. Rozemond // Vet Q. – 1986. – Vol.8, № 4. – P.346-349.

14. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / О. В. Стефанов – Київ: Авіцена, 2001. – 528 с.

15. Crowther J. R. The ELISA Guidebook. Second Edition / J. R. Crowther– Vienna: Humana Press, 2009. – 574 с.

16. Synthetic melanin suppresses production of proinflammatory cytokines / N. Mohagheghpour [et al.] // Cell Immunol. – 2000. – Vol.199, № 1. – P.25-36.

17. Chrysanthemum morifolium extract attenuates high-fat milk-induced fatty liver through peroxisome proliferator-activated receptor alpha-mediated mechanism in mice / Y.Cui [et al.] // Nutr Res. – 2014. – Vol.34, № 3. – P.268-275.

18. Schluessener J. K. Plant polyphenols in the treatment of age-associated diseases: revealing the pleiotropic effects of icariin by network analysis / J. K. Schluessener., H. Schluessener // Mol Nutr Food Res. – 2013. – Vol.58, № 1. – P.49-60.

19. El-Sheikh A. A. Peroxisome Proliferator Activator Receptor (PPAR)- gamma Ligand, but Not PPAR-alpha, Ameliorates Cyclophosphamide-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Rat Liver / A. A. El-Sheikh, R. A. Rifaai // PPAR Res. – 2014. – Vol.2014, № – P.626319.

20. Metabolic nuclear receptor signaling and the inflammatory acute phase response / N. Venteclef [et al.] // Trends Endocrinol Metab. – 2011. – Vol.22, № 8. – P.333-343.

Надійшла до редколегії 10.06.14

Д. Голишкин, асп., А. Вирченко, асп., Т. Фалалеева, д-р биол. наук, Т. Галенова, канд. биол. наук, А.Савчук, д-р биол. наук  
КНУ имени Тараса Шевченко, Киев

### СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ СТРЕССА И ВВЕДЕНИЯ МЕЛАНИНА

*Было изучено содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс в условиях стресса и введения меланина. Установлено, что меланин уменьшал уровень провоспалительных цитокинов интерлейкина (ИЛ) – 1 $\beta$ , ИЛ-12В p40, интерферона- $\gamma$  и фактора некроза опухоли- $\alpha$  в сыворотке крови крыс в условиях стресса. Одним из эффектов меланина на иммунную систему было также усиление выделения противовоспалительных ИЛ-4 и ИЛ-10. Полученные результаты свидетельствуют об уменьшении воспаления под влиянием исследуемого соединения в условиях стресса. Противовоспалительные свойства меланина являются одним из механизмов стрессадаптогенного и антиязвенного действия данного соединения.*

*Ключевые слова: меланин, стрессовые язвы, цитокины, противовоспалительный эффект.*

D. Golyshkin, PhD stud., O. Virchenko, PhD stud., T. Falalayeva, DSc., T. Halenova, PhD., O. Savchuk, DSc.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv

### THE CYTOKINES CONTENT IN THE RATS SERUM UNDER STRESS AND ADMINISTRATION OF MELANIN

*It was investigated proinflammatory and anti-inflammatory cytokines content in the rats serum under stress and administration of melanin. It was established that melanin reduced proinflammatory cytokines interleukin (IL) – 1 $\beta$ , IL-12B p40, interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  in the rats serum under stress. Another effect of melanin on the immune system was the increase of anti-inflammatory IL-4 and IL-10 release. The findings suggest attenuation of inflammation under the influence of a test compound in stress conditions. The anti-inflammatory properties of melanin are one of the mechanism of stress-adaptive and anti-ulcer action of the compound.*

*Keywords: melanin, stress ulcers, cytokines, anti-inflammatory effect.*

УДК 591.481.3

В. Пшиченко, преподаватель  
Николаевский национальный университет им. В.А. Сухомлинского, Николаев

### ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЭПИФИЗА КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

*Целью данного исследования анализ влияния хронического стресса на гистофизиологическое состояние эпифиза крыс. Материалом для исследования служили эпифизы 24 самцов крыс линии Вистар. Выявлено, что в ответ на экспериментальные условия происходят гистофизиологические изменения паренхимы органа, которые выражаются в компактном расположении пинеалоцитов, увеличении количества темных пинеалоцитов, занимающих преимущественно апикальную часть эпифиза, чрезмерном заполнении ядер светлых пинеалоцитов конденсированным хроматином и слабо выраженными процессами гидратации. Результаты гистологического исследования свидетельствуют о низкой функциональной активности эпифиза.*

*Ключевые слова: эпифиз, стресс, пинеалоциты.*

**Вступ.** В последние десятилетия наблюдается углубление уровней исследования функций эпифиза и его гормона – мелатонина при различных физиологических и патологических состояниях организма [3, 10, 12, 14]. Многочисленными экспериментальными исследованиями установлено, что именно эпифизу принадлежит важная роль в обеспечении процессов адаптации организма к действию стрессовых факторов, ведь эпифиз оказывает влияние почти на все системы органов организма, с помощью гормона мелатонина, который он синтезирует и который является уникальным природным адаптогеном [1, 2, 3, 5, 15].

Однако, несмотря на тот факт, что проблема исследования механизмов развития патологических изменений в результате действия стрессовых факторов приобретает все большую актуальность [13], количество научных работ посвященных изучению морфологических особенностей эпифиза при хроническом стрессе незначительно [12]. Существующие же немногочисленные литературные данные, имеют фрагментарный и противоречивый характер. Поэтому изучение гистофизиологических особенностей эпифиза при хроническом стрессе на сегодняшний день является актуальным и требует проведения дальнейших детальных исследований.

**Цель:** изучение гистофизиологического состояния паренхимы эпифиза крыс в условиях хронического стресса.

**Материалы и методы.** Экспериментальное исследование проводилось на 44 половозрелых самцах крыс линии Вистар, массой 240-280 г. Животные были разделены на две группы по 24 особи в каждой. Эксперимент продолжался 30 дней. Первая группа (контроль) содержалась в стандартных условиях вивария и при естест-

венном освещении. Вторая группа животных также содержалась в стандартных условиях вивария, при естественном освещении. Начиная с 20 дня эксперимента, крысам моделировали хронический стресс, помещая в резервуар с водой, вместимостью 10 л. на 5 часов для принудительного плавания [7, 16]. Температура воды поддерживалась в пределах 24-26° С. Животных выводили из эксперимента путем декапитации с использованием кетаминового наркоза из расчета 40 мг/кг массы тела. Эвтаназия животных осуществлялась в строгом соответствии с принципами: Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными, "Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях" (Страсбург, 1986), а также "Общих этических принципов экспериментов на животных принятых первым национальным конгрессом по биоэтике" (Киев, 2001).

После извлечения эпифиза вместе с прилегающими к нему кровеносными сосудами полученный комплекс погружали в фиксирующий раствор 10% нейтрального формалина. С помощью стандартных способов материала закладывали в парафиновые блоки, из которых изготавливали срезы толщиной 4 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные гистологические препараты изучали при различных увеличениях микроскопа "Primo Star Zeiss" с последующим фотографированием микропрепаратов цифровым зеркальным фотоаппаратом "Canon G10 Wide".

**Результаты и их обсуждение.** При гистологическом исследовании препаратов контрольной группы крыс отмечено, что шишковидная железа окружена тонкой капсулой, от которой внутрь органа отходят со-