

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

МАТВІЄНКО МАРІЯ ГРИГОРІВНА

УДК 591.16+591.147+612.43+612.6

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ГІПОТАЛАМО-ГОНАДНОГО
КОМПЛЕКСУ ЩУРІВ ПРИ ВЗАЄМОДІЇ КІССПЕПТИНЕРГІЧНОЇ ТА α -
АДРЕНЕРГІЧНОЇ СИСТЕМ І МЕЛАТОНІНУ**

03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2014

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі цитології, гістології та біології розвитку
ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету
імені Тараса Шевченка МОН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Держинський Микола Едуардович,
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка,
завідувач кафедри цитології, гістології
та біології розвитку ННЦ «Інститут біології»

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Стеченко Людмила Олександрівна,
Національний медичний університет
імені О.О. Богомольця МОЗ України,
професор кафедри гістології та ембріології

доктор біологічних наук, професор
Волков Костянтин Степанович,
Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,
завідувач кафедри гістології та ембріології

Захист відбудеться « » червня 2014 року о 14-00 на засіданні спеціалізованої вченої
ради Д 26.001.38 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за
адресою: м. Київ, просп. академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології», ауд. 212.

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський
національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології»,
спеціалізована вчена рада Д.26.001.38.

З дисертацією можна ознайомитись у читальній залі наукової бібліотеки
імені М.О. Максимовича Київського національного університету імені Тараса
Шевченка МОН України за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58.

Автореферат розісланий « » травня 2014 р.

В.о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38

Н.Є. Нурищенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Відомо, що репродуктивна функція контролюється гіпоталамо-гіпофізарно-гонадною системою. Завдяки продукції гонадотропічного релізинг-гормону (ГнРГ) вплив від гіпоталамуса розповсюджується на гонади. До регуляції синтезу і вивільнення ГнРГ залучені серотонінергічна, дофамінергічна, адренергічні системи головного мозку [Держинський М.Е. та ін., 2000; Esteban S. et al., 2010; Daneri C. et al., 2013] та ряд гуморальних регуляторів, чільне місце серед яких належить мелатоніну [Tan D. et al., 2010; Avital-Cohen N. et al., 2013].

Нещодавно було відкрито сигнальну систему, яка включає G-протеїн-спряжений рецептор-54 (GPR54) і його ліганд, білок кіссептин (КП). Кіссептин, а також його агоністи і антагоністи задіяні в механізмах регуляції гонадотропної осі [d'Anglemont de Tassigny X. et al., 2007] та представляють собою нові цінні інструменти в лікуванні репродуктивних порушень [Sonigo C. et al., 2012]. Таким чином, кіссептинергічній системі належить важлива роль у регуляції гіпоталамо-гіпофізарно-гонадного комплексу [Parhar I. et al., 2004; George J. et al., 2012].

Як саме КП-система впливає на гонадотропну вісь – безпосередньо чи опосередковано через інші системи регуляції репродукції – невідомо. У зв'язку з цим існує необхідність дослідження морфофункціонального стану гіпоталамо-гонадного комплексу при блокаді та активації кіссептинергічної й α -адренергічної систем і при введенні мелатоніну. При цьому необхідно дослідити зміни не тільки в репродуктивній, але й у центральній нервовій системі. Репродуктивна функція зазнає змін з віком, тому важливо врахування онтогенетичного аспекту.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами темами. Тематика досліджень дисертаційної роботи пов'язана з комплексною науковою програмою Київського національного університету імені Тараса Шевченка «Здоров'я людини» і виконувалася на базі кафедри цитології, гістології та біології розвитку ННЦ «Інститут біології» в межах науково-дослідної теми «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій», підрозділу «Вплив катехоламінергічних та індоламінергічних систем головного мозку на механізми стимуляції репродуктивної функції специфічними пептидами головного мозку» (тема №11 БФ№036-01, держреєстрація №0111U004648).

Мета і задачі дослідження. Метою цього дослідження було вивчити морфофункціональний стан гіпоталамо-гонадного комплексу щурів різного віку за умов блокади й активації кіссептинергічної та α -адренергічної систем і під дією мелатоніну. Для досягнення поставленої мети вирішувалися такі задачі:

1. Дослідити вплив кіссептину та його антагоніста на морфофункціональний стан клітин аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса щурів у віці 1, 3, 24 місяці.

2. Оцінити вплив кіссептину та його антагоніста на морфофункціональну активність тестикул тварин у віці 1, 3, 24 місяці.

3. Вивчити вплив комбінованого введення мелатоніну з кіссептином та мелатоніну з антагоністом кіссептину на морфофункціональний стан клітин аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса щурів у віці 1, 3, 24 місяці.

4. Дослідити вплив комбінованого введення мелатоніну з кіссептином та мелатоніну з антагоністом кіссептину на морфофункціональну активність тестикул тварин у віці 1, 3 та 24 місяці.

5. Оцінити вплив комбінованого введення мезатону з блокатором рецепторів кіссептину та празозину з кіссептином на морфофункціональну активність клітин аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса щурів у віці 1, 3, 24 місяці.

6. З'ясувати характер впливу комбінованого введення мезатону з блокатором рецепторів кіссептину та празозину з кіссептином на морфофункціональну активність тестикул щурів у віці 1, 3, 24 місяці.

Об'єкт дослідження – нейроендокринна система щурів за умов стимуляції та блокади кіссептинергічної та α -адренергічної систем, а також під дією мелатоніну.

Предмет дослідження – морфофункціональна характеристика гіпоталамо-гонадного комплексу щурів різного віку за умов блокади й активації кіссептинергічної та α -адренергічної систем і при введенні мелатоніну.

Методи дослідження. Гістологічні (світлооптичні та електронномікроскопічні), морфометричні (оцінка морфологічних параметрів активності гонад і клітин гіпоталамічних ядер) та методи математичної статистики.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше досліджено, що кіссептинергічна, α -адренергічна системи і мелатонін здатні чинити вплив на гіпоталамо-гонадний комплекс не лише поодиночі, а і взаємодіючи між собою.

Встановлено, що активація та пригнічення репродуктивного комплексу опосередковуються впливом на КП-систему, і це призводить до змін, що є наслідком блокади та активації α -адренергічної системи. Водночас відносна ефективність цих двох систем як медіаторів пригнічуючих та активуючих впливів зазнає вікових змін.

При цьому показано, що в 1-місячних щурів добре виражений вплив кіссептинергічної системи на гіпоталамо-гонадний комплекс. α -адренергічна система та епіфіз опосередковують свої впливи через КП-систему, але можуть і безпосередньо діяти на гіпоталамус і гонади. Вплив епіфіза проявляється в меншій мірі. У 3 місяці кіссептин також інтенсивно модулює гонадотропну вісь тварин. Та епіфіз і α -адренергічна система діють на гіпоталамус, оминаючи кіссептинергічну ланку. У 24 місяці кардинально змінюється взаємодія досліджуваних систем. Кіссептин, як у 1- та 3-місячних тварин, діє на гіпоталамо-гонадний комплекс. α -адренергічна система опосередковує свій вплив через кіссептин, а також може самостійно впливати на гіпоталамус. У старих щурів мелатонін здійснює гальмівну дію на гіпоталамічну ланку та гонади й сильно пов'язаний з КП-системою за механізмами зворотного зв'язку.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дослідження не лише демонструють важливу роль кіссептинергічної та α -адренергічної систем у модуляції репродуктивної функції, а вперше доводять, що ці системи пов'язані між собою та впливають одна на одну. Причому характер цього впливу (активуєчий чи гальмівний) змінюється з віком. Отримані дані можуть бути використані при розробці більш ефективних, багатофакторних схем регуляції статевого дозрівання тварин. Дослідження різноманіття ефектів кіссептину та його взаємодії з іншими

нейромодуляторами, особливо в аспекті репродукції, дозволить контролювати гіпоталамо-гіпофізарно-гонадну вісь не тільки тварин, а й людей. Відкриваються перспективи лікування як жіночого, так і чоловічого безпліддя, а також продовження репродуктивного періоду людини. З іншого боку, результати роботи, зокрема дослідження ефектів антагоніста кіссептину, можуть стати підґрунтям для розробки новітніх контрацептивних препаратів для людей, у тому числі чоловічих контрацептивів короткочасної дії. Крім того, дослідження агоністів і антагоністів кіссептину важливі для застосування в онкології.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно здійснено підбір і аналіз наукової літератури, гістологічна обробка матеріалу, оцінка досліджуваних морфометричних параметрів та статистичний аналіз отриманих даних. В розробці загальних концепцій досліду, налагодженні лабораторного устаткування та інтерпретації результатів брали участь науковий керівник і співавтори публікацій.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертації представлені на наукових конференціях: 45 конференція з фізіології та патології репродукції, 37 об'єднана конференція з проблем репродуктивної медицини людини і тварин та I об'єднана німецько-польська конференція з репродуктивної медицини (Берлін, 2012); X міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Шевченківська Весна 2012 (Київ, 2012); 16-ая Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2012); III Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 2012); X Міжрегіональна наукова конференція «Актуальні питання біології та медицини» (Луганськ, 2012); 26 конференція європейської спілки ендокринологів (Цюріх, 2012); Всероссийская молодежная конференция «Актуальные проблемы химии и биологии (Пушино, 2012); II наукова конференція молодих фізіологів «Фізіологія: від молекул до організму» (Київ, 2012); VI Міжнародна наукова конференція «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (Київ, 2012); VI конгрес патофізіологів України «Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології» (Ялта, 2012); Наукова конференція молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання геронтології та геріатрії» (Київ, 2013); Міжнародний конгрес спілки біологів репродукції та II об'єднана німецько-польська конференція репродуктивної медицини, 46 конференція фізіології та патології репродукції, 38 об'єднана конференція з репродуктивної медицини тварин і людини (Гданськ, 2013); Международная открытая научно-практическая конференция «Предупреждение преждевременного старения женщины как инновационная система здоровьесбережения в условиях информационного общества» (Київ, 2013); Научная конференция студентов и молодых ученых «Неделя науки» (Иваново, 2013); I Международная научно-практическая конференция «Фармакология, фармацевтическая технология в обеспечении активного долголетия» (Київ, 2013); Международная конференция «Вейновские чтения в Украине» (Одесса, 2013); Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: от теории к практике» (Київ, 2013).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 28 наукових робіт, з них 6 статей у фахових наукових виданнях, рекомендованих ДАК України (в тому числі 2 статті в журналах, включених до міжнародних наукометричних баз) та 22 праці в інших наукових виданнях (серед них статті, тези та матеріали конгресів і конференцій, видані в нефармових українських та зарубіжних наукових виданнях).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень та їх обговорення, висновків і списку літературних джерел (324 найменування, з них кирилицею – 77, латиницею – 247). Роботу викладено на 180 сторінках, проілюстровано 44 рисунками та 4 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено на 150 самцях білих нелінійних лабораторних щурів *Rattus norvegicus*, які склали 3 експериментальні серії: 1 місяць, 3 місяці і 24 місяці (по 50 особин у кожній серії). Враховуючи поставлені задачі дослідження, кожна серія тварин була представлена 10 групами (табл. 1). В експерименті щурам вводили такі препарати: кіспептин (метастин-(45-54)-амід, Сігма, США) і антагоніст кіспептину Р-234 (кіспептин-234-трифлюороацетат, Сігма, США) – інтрацеребровентрикулярно (і.ц.в.), мелатонін (Віта-мелатонін, Київський вітамінний завод, Україна) і празозин (Празозин-ратіофарм, Меркле Гмбх, Німеччина) – перорально (п.о.), мезатон (Мезатон, ГНЦЛС, Україна) – субкутально (с.к.) і фізіологічний розчин (0,9 % ізотонічний розчин хлориду натрію, Індар, Україна) – усіма трьома вищепереліченими способами. При цьому різні способи введення викликають у тварин стрес, що може відобразитися на результатах дослідження [Dzerzhynsky M.E. et al., 2011], тому для об'єктивної оцінки щури зазнавали всі три способи введення. Дію препаратів оцінювали через 2 години після введення. Перед інтрацеребральним введенням препаратів щурам робили стереотаксичну операцію з попереднім знеболенням (9 г кетаміну та 1 г ксилазину/100 г м.т.) [Silva A.H., 2011]. Утримання тварин і виведення їх з експерименту проводилося в повній відповідності до Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21 лютого 2006 р.

Після закінчення експерименту в тварин відбирали мозок і тестикули. Для світлооптичних досліджень органи обробляли за загальноприйнятою методикою. На ротатійному мікротомі “Microm” HM325 (Germany) виготовляли зрізи гонад, які фарбували гематоксиліном та еозином. Фронтальні зрізи гіпоталамічної ділянки мозку забарвлювали крезилвіолетом за Нісслем [Меркулов Г.А. и др., 1961].

З гістологічних препаратів на мікроскопі Olympus BX51 (Japan) і системі аналізу зображень Olympus DP-Soft 3.2 (Japan) робили фотознімки, на яких вимірювали морфометричні параметри за допомогою програми Image J (USA). У нейроцитах і астроцитах вимірювали площу поперечного перерізу ядер. На препаратах тестикул щурів вимірювали площу поперечного перерізу ядер клітин Лейдіга та діаметр звивистих каналців.

Експериментальні групи тварин

Група тварин	Препарати, що вводять	Спосіб введення препаратів	Дози	Термін введення препаратів
«Контроль»	Фіз. розчин	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Антагоніст кіссептину»	Фіз. розчин Фіз. розчин Антагоніст КП	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Кіссептин»	Фіз. розчин Фіз. розчин Кіссептин	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Мелатонін»	Мелатонін Фіз. розчин Фіз. розчин	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Мелатонін+Антагоніст кіссептину»	Мелатонін Фіз. розчин Антагоніст КП	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Мелатонін+кіссептин»	Мелатонін Фіз. розчин Кіссептин	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Мезатон»	Фіз. Розчин Мезатон Фіз. розчин	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Мезатон+антагоніст кіссептину»	Фіз. Розчин Мезатон Антагоніст КП	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Празозин»	Празозин Фіз. розчин Фіз. розчин	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)
«Празозин+кіссептин»	Празозин Фіз. розчин Кіссептин	П.о. с.к. і.ц.в.	0,5 мл/100 г м.т. 0,5 мл/100 г м.т. 3 мкг/100 г м.т.	10 діб 10 діб 3 доби (з 8-ї)

Примітки: п.о. – перорально; с.к. – субкутально (підшкірно); і.ц.в. – інтрацеребровентрикулярно

Для електронномікроскопічного дослідження з мозку щурів вирізали гіпоталамічні ядра за стереотаксичним атласом [Рахінос G. et al., 1998] та обробляли їх стандартними гістологічними методами [Уикли Б. и др., 1975]. Виготовляли ультратонкі зрізи (50-70 нм), які досліджували під електронним мікроскопом ПЕМ-125К ("Selmi", Україна). Зображення фотографували та виготовляли електронні мікрофотографії, на яких вивчали ультраструктурні особливості клітин.

Отримані дані аналізувалися методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Sewws Statistica 7.0 (StatSoft, USA). Достовірність показників оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента [Лапач С.Н. и др., 2000].

Результати дослідження та їх обговорення

Морфофункціональна характеристика клітин аркуатного ядра гіпоталамуса щурів у віці 1, 3 та 24 місяці в умовах блокади й активації кіссептинергічної та α -адренергічної систем і при введенні мелатоніну. *Аркуатне ядро гіпоталамуса 1-місячних щурів.* При введенні кіссептину зростає морфофункціональна активність клітин АЯ 1-місячних щурів, а при введенні блокатора КП-рецепторів – знижується. Введення мелатоніну суттєво не впливає на клітини АЯ. Дія кіссептину та його антагоніста майже не змінилася на тлі введення мелатоніну. Можливо, це є результатом високого рівня мелатоніну в тварин цього віку, внаслідок чого додаткове введення цього гормону принципово не змінює стану досліджуваних структур. Натомість, активація та блокада α -адренергічної системи завдяки введенню мезатону й празозину призводить відповідно до посилення та послаблення функції клітин АЯ. Порівнюючи результати впливу блокади і активації кіссептинергічної та α -адренергічної систем на клітини АЯ, можна помітити, що нейрони краще активуються кіссептином, а пригнічуються празозином. При комбінованому введенні блокатора КП-рецепторів повністю знімає ефект мезатону, а комбіноване введення кіссептину й празозину дає близький до контролю результат. На основі цих даних можна припустити про домінування кіссептинергічної регуляції нейронів АЯ в цей період онтогенезу та про можливе опосередкування КП-системою впливів з боку α -адренергічної системи. В астроцитів АЯ 1-місячних щурів введення антагоніста кіссептину не здатне повністю зняти обумовлену мезатоном активацію. Так само і празозин не може в повній мірі загальмувати активуючу дію кіссептину. Отже, астроцити АЯ щурів демонструють підвищену чутливість саме до активуючого впливу обох досліджуваних систем (рис. 1 А, Б).

Аркуатне ядро гіпоталамуса 3-місячних щурів. У клітин АЯ зберігаються тенденції, притаманні більш молодим тваринам. Кіссептин грає роль активуючого, а його антагоніст – гальмівного фактора для нейроцитів та астроцитів. Мелатонін, як і в 1-місячних тварин, суттєво не змінює стану клітин АЯ та їх чутливості до дії кіссептину чи його блокатора. Ефекти останніх стають лише менш виразними. Мезатон і празозин відповідно активують і пригнічують клітини АЯ. Цікаво, що протилежні впливи на α -адренергічну та КП-систему призводять до взаємної нейтралізації цих впливів. Отже, обидві нейромедіаторні системи у тварин цього віку постають як відносно незалежні регулятори активності клітин АЯ (рис. 1 В, Г).

Аркуатне ядро гіпоталамуса 24-місячних щурів. У цьому віці змінюється реакція клітин АЯ щурів на введені препарати. Мелатонін пригнічує як астроцити, так і нейрони. Однак його поєднання з блокатором КП-рецепторів призводило до зростання розміру ядер нейронів та зняття гальмівного ефекту в астроцитів. При введенні кіссептину зростала морфофункціональна активність обох типів клітин. Вищезазначені дані вказують на взаємозалежність реакцій АЯ на кіссептин та мелатонін у щурів 24-місячного віку. Можливо, синтез мелатоніну в цей період потребує кіссептинергічної активації, і блокада цієї системи викликає не тільки зняття гальмівного впливу мелатоніну, але й активацію клітин АЯ (рис. 1 Д, Е).

Мезатон активує, а празозин пригнічує клітини АЯ. Водночас блокада КП-рецепторів повністю ліквідує спричинену мезатоном активацію нейроцитів, але не астроцитів. У свою чергу, активуючий вплив кісспептину не може цілком зникати внаслідок введення празозину. Цей ефект притаманний як нейронам, так і астроцитам. В обох випадках комбінованого впливу на кісспептинергічну та α -адренергічну систему астроцити виявляються більш чутливими до активуючих впливів, ніж нейрони (рис. 1 Д, Е).

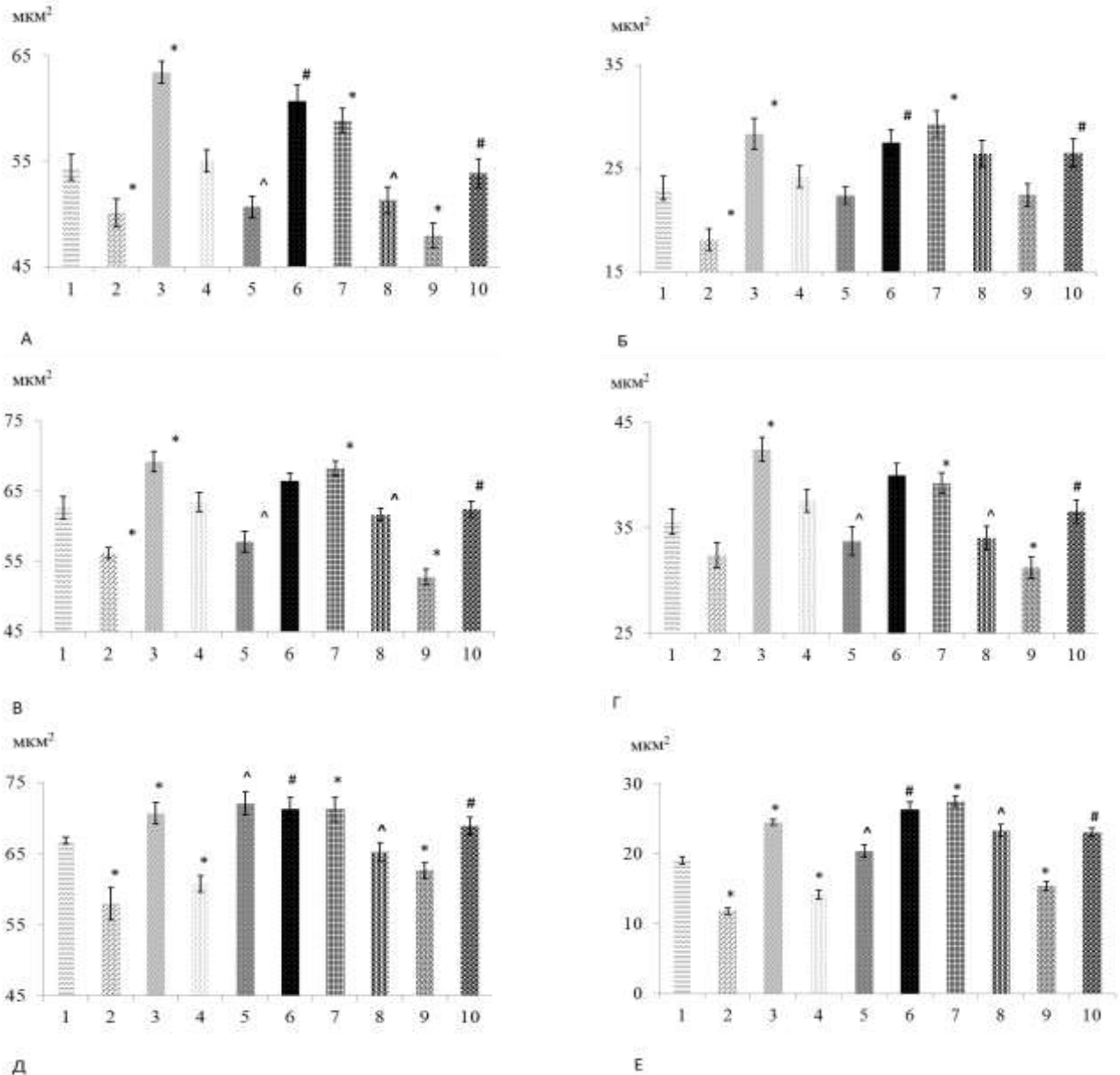


Рис. 1. Площа поперечного перерізу ядер нейроцитів шурів у віці 1 місяць (А), 3 місяці (В), 24 місяці (Д) та астроцитів шурів у віці 1 місяць (Б), 3 місяці (Г), 24 місяці (Е) аркуатного ядра гіпоталамуса.

Примітки: 1 – контроль; 2 – антагоніст кісспептину; 3 – кісспептин; 4 – мелатонін; 5 – мелатонін+антагоніст кісспептину; 6 – мелатонін+кісспептин; 7 – мезатон; 8 – мезатон+антагоніст кісспептину; 9 – празозин; 10 – празозин+кісспептин; * – $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою; # – $p < 0,05$, порівняно з відповідною групою без кісспептину; ^ – $p < 0,05$, порівняно з відповідною групою без антагоніста кісспептину.

Морфофункціональна характеристика клітин преоптичного ядра гіпоталамуса щурів у віці 1, 3 та 24 місяці в умовах блокади й активації кісспептинергічної та α -адренергічної систем і при введенні мелатоніну. *Преоптичне ядро гіпоталамуса 1-місячних щурів.* Введення кісспептину призводить до активації нейронів та астроцитів ПОЯ 1-місячних тварин. Ця ж тенденція прослідковується і при комбінованому введенні кісспептину з мелатоніном. Сам по собі мелатонін не спричиняє достовірних змін у ПОЯ в цей період. Згідно з даними літератури, зміни рівня мелатоніну в організмі супроводжуються морфологічними змінами нейронів гіпоталамуса. Доведено, що мелатонін модулює вивільнення ГнРГ з серединного підвищення та зменшує кількість ГнРГ-нейронів [Olcese J., 1995]. Інші дослідники зазначають, що антигонадна дія мелатоніну в ЦНС полягає скоріше в пригніченні секреції, ніж синтезу ГнРГ [Messenger S. et al., 1996]. Однак є дані, що мелатонін не змінює інтенсивності вивільнення ГнРГ з гіпоталамуса [Gorman S. et al., 1996]. Така ж ситуація має місце й у випадку 1-місячних тварин. Блокатор кісспептинергічних рецепторів пригнічує нейрони, але не астроцити, і зберігає подібну дію і на тлі введення мелатоніну. Мелатонін виступає потужним активатором клітин ПОЯ. Ця активація не може бути повністю знятою навіть одночасним введенням блокатора КП-рецепторів, що свідчить на користь припущення про незалежність впливів на ПОЯ з боку кісспептинергічної та α -адренергічної систем. Натомість, празозин гальмує нейрони, але не астроцити. При комбінованому введенні празозину й кісспептину ефект пригнічення нейронів суттєво послаблюється, хоча й не усувається цілком, а астроцити активуються. Відсутність суттєвих ефектів гальмування астроцитів у ПОЯ в цьому віці може свідчити про відносно низьку вихідну активність цих клітин, що робить їх мішенями для активуючих, але не гальмівних впливів (рис. 2 А, Б).

Преоптичне ядро гіпоталамуса 3-місячних щурів. Блокатор КП-рецепторів слабо пригнічує клітини ПОЯ, проте знімає активуючий вплив мелатону на нейрони. Натомість, кісспептин викликає активацію нейроцитів та астроцитів як самостійно, так і на тлі введення мелатоніну. Мелатонін не суттєво впливає на стан клітин ПОЯ. Активація β -адренергічної системи мелатоніном спричинила зростання розмірів ядер лише нейроцитів, але не астроцитів. Антагоніст кісспептину повністю ліквідує активуючий вплив мелатону. Празозин пригнічує нейрони і астроцити ПОЯ 3-місячних тварин і знімає стимулюючий ефект кісспептину. Ці дані підтверджують припущення, що для стимуляції клітин ПОЯ в цьому віці потрібен високий рівень активності обох систем: кісспептинергічної та α -адренергічної (рис. 2 В, Г).

Преоптичне ядро гіпоталамуса 24-місячних щурів. Астроцити ПОЯ 24-х місячних щурів демонструють відносно мало достовірних змін. Вони активуються лише у відповідь на введення кісспептину самостійно та в поєднанні з мелатоніном. В інших випадках мають місце лише недостовірні тенденції. Астроцити в цьому віці мають менші розміри ядер, порівняно з попереднім віком, що може бути пов'язано зі зниженням їхньої синтетичної активності. Нейроцити ПОЯ у тварин цього віку демонструють більш різноманітну динаміку змін. Кісспептин активує, а його блокатор здійснює пригнічення нейроцитів (рис. 2 Д, Е).

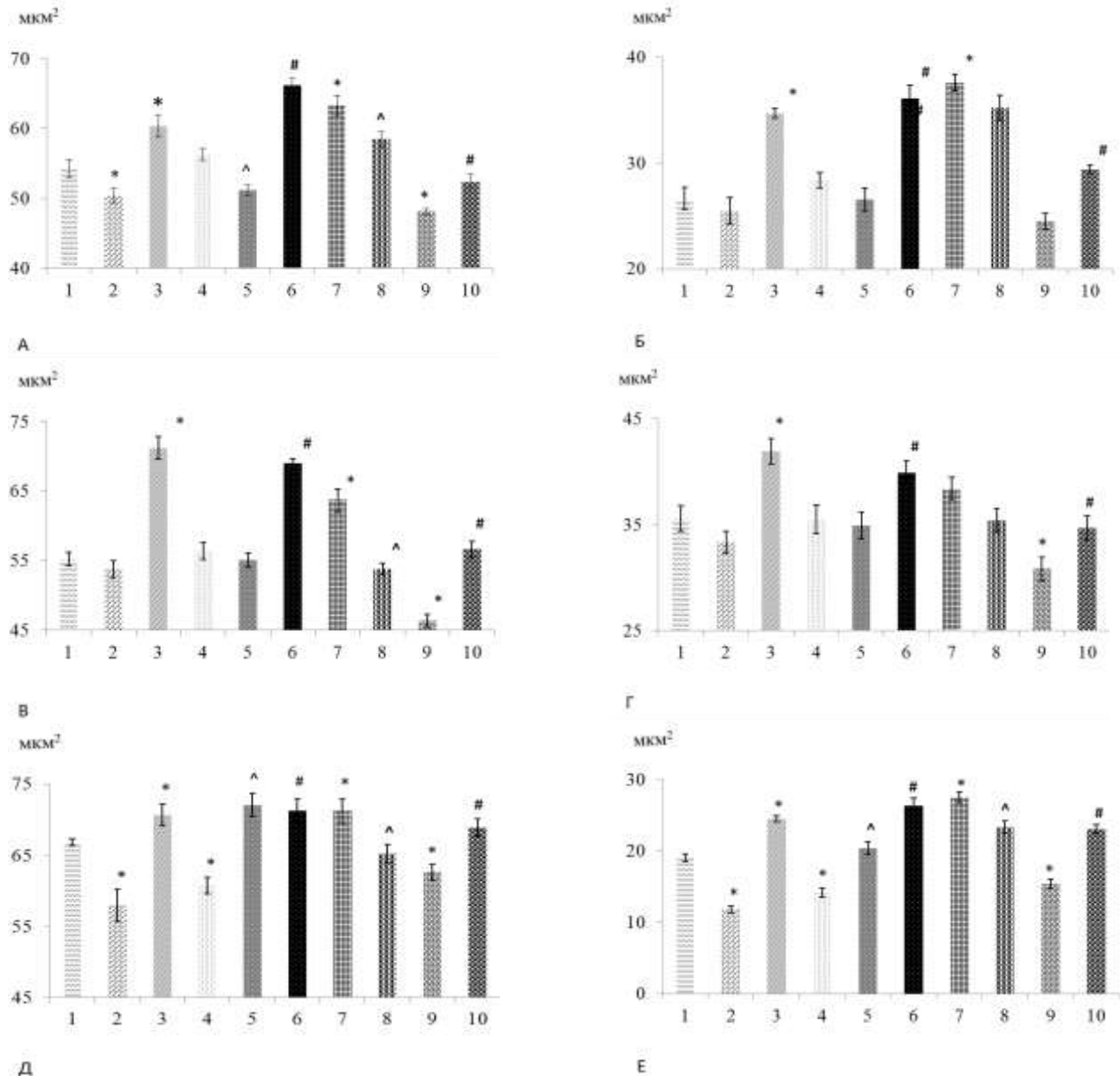


Рис. 2. Площа поперечного перерізу ядер нейроцитів шурів у віці 1 місяць (А), 3 місяці (В), 24 місяці (Д) та астроцитів шурів у віці 1 місяць (Б), 3 місяці (Г), 24 місяці (Е) преоптичного ядра гіпоталамуса.

Примітки: 1 – контроль; 2 – антагоніст кіссептину; 3 – кіссептин; 4 – мелатонін; 5 – мелатонін+антагоніст кіссептину; 6 – мелатонін+кіссептин; 7 – мезатон; 8 – мезатон+антагоніст кіссептину; 9 – празозин; 10 – празозин+кіссептин; * – $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою; # – $p < 0,05$, порівняно з відповідною групою без кіссептину; ^ – $p < 0,05$, порівняно з відповідною групою без антагоніста кіссептину.

Так само пригнічуючий вплив здійснює і введення мелатоніну. Цей вплив, скоріш за все, є безпосереднім, оскільки рецептори до мелатоніну знаходяться на клітинах ПОЯ. При цьому спостерігається статевий диморфізм: у самців густина рецепторів більша, ніж у самок [Aste N. et al., 2001]. Водночас на фоні введення мелатоніну як кіссептин, так і його блокатор, активують нейроцити ПОЯ старих тварин. Імовірним поясненням цього може бути те, що синтез мелатоніну в цей

період потребує кіссептинергічної активації, і блокада цієї системи викликає не тільки зняття гальмівного впливу мелатоніну, але й достовірну активацію клітин ПОЯ. Мезатон активує, а празозин пригнічує нейрони ПОЯ старих тварин. Водночас стимулюючий вплив мезатону може бути усунений введенням блокатора КП-рецепторів, але стимуляція кіссептином не зникає при блокаді α -адренергічної системи празозином. Поясненням цьому може бути те, що в цьому віці α -адренергічна система діє на ПОЯ не безпосередньо, а через кіссептинергічні нейрони (рис. 2 Д, Е).

Морфофункціональна характеристика тестикул шурів у віці 1, 3 та 24 місяці в умовах блокади й активації кіссептинергічної та α -адренергічної систем і при введенні мелатоніну. Гонади 1-місячних шурів. У шурів одномісячного віку введення кіссептину спричинило гонадостимулюючий ефект, який проявився в зростанні морфометричних параметрів тестикул. Натомість, введення блокатора КП-рецепторів призвело до гальмування гонад. Під дією мелатоніну тестикулярна функція активується. Але при комбінованому введенні блокатора КП-рецепторів на фоні мелатоніну досліджувані морфометричні показники тестикул достовірно зменшувалися, що пов'язується з пригніченням функції гонад. Отже, блокада КП-рецепторів знімала активацію тестикул, і це дає підставу припустити, що гонадостимулюючий ефект мелатоніну здійснюється через КП-систему. При введенні тваринам мелатоніну з кіссептином спостерігається ще більший гонадостимулюючий ефект, ніж при введенні лише мелатоніну, що не суперечить попередньому висновку про кіссептинопосередкований характер гонадостимулюючого ефекту мелатоніну в одномісячних шурів. Збільшення досліджуваних параметрів тестикул після введення шурам мезатону відбулося в результаті стимуляції α -адренорецепторів та подальшої активації гонад. А зменшення тестикулярних показників у тварин, яким вводили антагоніст КП-рецепторів на фоні мезатону пояснюється інактивациєю функції гонад. Отже, блокада КП-рецепторів перешкоджала прояву гонадостимулюючого ефекту мезатону, що також може свідчити на користь КП-опосередкованої дії α -адренергічної системи на гонадотропну вісь. Достовірне зменшення морфометричних параметрів гонад у шурів, які отримали празозин, демонструє зниження тестикулярної функції. Таким чином, блокада α -адренергічної системи призводить до гальмування функції гонад. Натомість, певний активуючий ефект кіссептину проявився незважаючи на комбінований вплив празозину. Хоча активація в цьому випадку менша, ніж після введення тваринам лише кіссептину. Тому можна припустити, що причиною цього є зменшення вивільнення власного кіссептину КП-нейронами, які не отримують стимуляції з боку α -адренергічної системи. З одержаних даних випливає, що активація гонад здійснюється за участі як α -адренергічної, так і кіссептинергічної систем одночасно. Блокада будь-якої з цих систем призводить до послаблення функції гонад 1-місячних шурів, хоча α -адренергічна система в цьому віці може регулювати тестикулярну функцію не безпосередньо, а через КП- систему (рис. 3 А, Б).

Гонади 3-місячних щурів. Гонади 3-місячних тварин активуються при введенні кіссептину. Блокада кіссептинергічних рецепторів призводить до пригнічення тестикулярної функції так само, як і в щурів 1-місячного віку. Введення мелатоніну збільшує розміри клітин Лейдіга, хоча і не призводить до достовірної зміни діаметру тестикулярних каналців, що можна інтерпретувати як помірну активацію. Водночас введення кіссептину та його блокатора призводить, відповідно, до достовірної активації та пригнічення функціональної активності гонад. Отже, дія кіссептинергічної регуляції гонад у цьому віці виявляється більш значущою, ніж вплив з боку мелатоніну. Однак, одночасне введення мелатоніну і кіссептину спричинює більшу активацію гонад, ніж одним мелатоніном чи кіссептином. Введення мезатону й празозину, відповідно, активує та пригнічує гонади 3-місячних щурів. Проте комбіновані введення мезатону і блокатора кіссептинових рецепторів, празозину і кіссептину – не призводять до суттєвих змін. Пригнічувальні та стимулюючі впливи з боку α -адренергічної та кіссептинергічної систем у цьому випадку виявляються врівноваженими. І для активації гонад необхідно виявляється висока активність обох досліджуваних систем. Блокада будь-якої з цих систем призводить до гальмування гонад (рис. 3 В, Г).

Гонади 24-місячних щурів. На відміну від щурів молодшого віку, введення кіссептину старим щурам не призводило до посилення функції гонад, натомість блокада кіссептинергічних рецепторів пригнічувала тестикули. Можна припустити, що в цей період вже відбувається активна стимуляція гонад з боку кіссептинергічної системи, що не дозволяє суттєво посилити активність тестикул введенням додаткових порцій кіссептину. Натомість, мелатонін, у дозі 100 мкг/100 г м.т. у 24-місячних щурів суттєво пригнічує статеву функцію, і вона не може бути відновленою введенням кіссептину чи його блокатора. Але ефект мелатоніну частково скасовується при введенні як кіссептину, так і його блокатора. Це може відбуватися в результаті зменшення секреції кіссептину під впливом мелатоніну, тоді як додаткове введення екзогенного пептиду частково повертає досліджувані параметри майже до контрольних значень. Часткове скасування ефекту мелатоніну під впливом блокатора рецепторів кіссептину може бути пояснене у випадку, якщо синтез ендogenous мелатоніну в 24-місячних щурів знаходиться в частковій залежності від кіссептину. В результаті блокади рецепторів кіссептину має суттєво знизитись рівень ендogenous мелатоніну, і гонадогальмівний ефект буде наслідком лише екзогенно введеної порції мелатоніну. Можна припустити, що у 24-місячних тварин вплив α -адренергічної системи на тестикули вже знаходиться в неактивному стані, що ускладнює його гальмування, гонади можуть бути активовані введенням мезатону. Блокада кіссептинергічних рецепторів скасовує обумовлену мезатоном активацію гонад, що може відбуватися в результаті принаймні частково опосередкованого впливу α -адренергічної системи через кіссептинергічну. Натомість, введення кіссептину на тлі блокади α -адренергічної системи призводить лише до невеликого за абсолютною величиною збільшення ядер клітин Лейдіга, що свідчить про високий вихідний рівень активності кіссептинергічної системи в регуляції функції гонад у цьому віці (рис. 3 Д, Е).

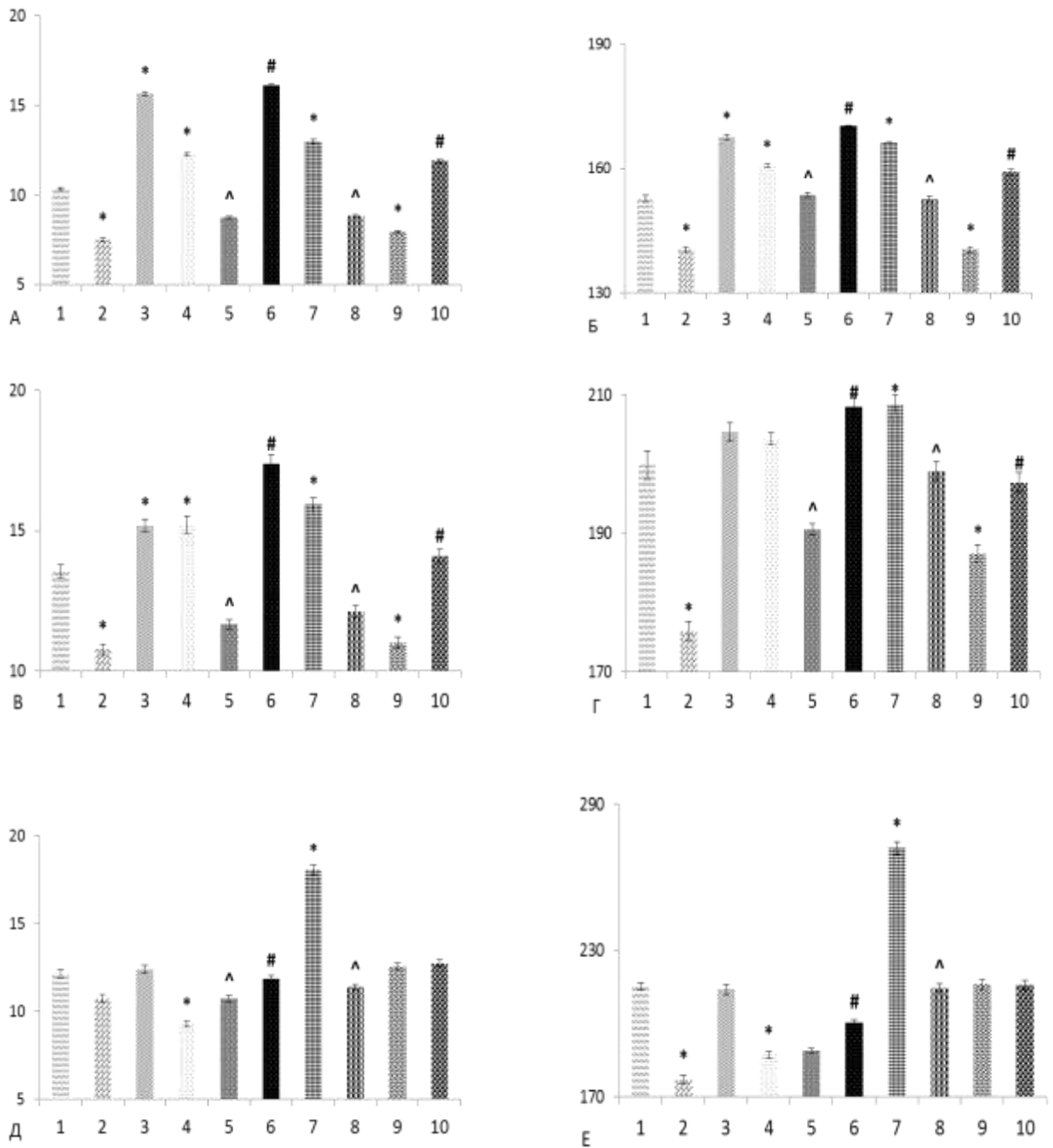


Рис. 3. Площа поперечного перерізу ядер клітин Лейдіга щурів у віці 1 місяць (А), 3 місяці (В), 24 місяці (Д) та діаметр звивистих тестикулярних каналців щурів у віці 1 місяць (Б), 3 місяці (Г), 24 місяці (Е).

Примітки: 1 – контроль; 2 – антагоніст кіссептину; 3 – кіссептин; 4 – мелатонін; 5 – мелатонін+антагоніст кіссептину; 6 – мелатонін+кіссептин; 7 – мезатон; 8 – мезатон+антагоніст кіссептину; 9 – празозин; 10 – празозин+кіссептин; * – $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою; # – $p < 0,05$, порівняно з відповідною групою без кіссептину; ^ – $p < 0,05$, порівняно з відповідною групою без антагоніста кіссептину.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання, яке полягає у встановленні морфофункціонального стану гіпоталамо-гонадного комплексу щурів за умов взаємодії кіссептинергічної та α -адренергічної систем і мелатоніну.

1. Кіссептин активує нейрони та астроцити аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса в усіх вікових групах щурів, натомість блокатор КП-рецепторів пригнічує морфофункціональний стан лише нейронів 1- і 24-місячних тварин.

2. У щурів 1- та 3-, але не 24-місячного віку введення кіссептину призводило до стимуляції гонад, а блокатора рецепторів кіссептину – до гальмування тестикулярної функції в усіх вікових групах тварин.

3. В усіх вікових групах комбіноване введення мелатоніну з кіссептином викликає активацію морфофункціонального стану клітин аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса, а блокатор КП-рецепторів на тлі введення мелатоніну не впливає суттєво на астроцити досліджуваних ядер. Морфофункціональний стан нейронів аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса 1-місячних та аркуатного ядра 3-місячних тварин пригнічується при введенні мелатоніну та блокатора рецепторів кіссептину, натомість у тварин 24 місячного віку нейрони аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса активуються при цьому впливі.

4. У тварин 1- та 3-місячного віку після впливу блокатора КП-рецепторів на фоні мелатоніну пригнічується функція гонад. А при введенні мелатоніну з кіссептином настає ще більша активація, ніж при ін'єкціях одного мелатоніну. У 24-місячних щурів частково знімається гальмівний ефект мелатоніну на тестикулярну функцію при комбінованому введенні як кіссептину, так і його блокатора.

5. Введення блокатора кіссептинергічних рецепторів на тлі мезатону призводить до часткового (астроцити 1- та 24-місячних тварин аркуатного ядра гіпоталамуса, нейрони та астроцити 1-місячних тварин преоптичного ядра) або повного (в інших досліджуваних випадках) зникнення активуючого впливу мезатону на морфофункціональний стан клітин. Натомість, комбіноване введення празозину та кіссептину повністю усуває гальмівні ефекти празозину, хоча ознаки активації, притаманні кіссептину проявляються лише в деяких випадках (астроцити аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса 1-місячних тварин, нейрони аркуатного і преоптичного ядер гіпоталамуса 24-місячних тварин, астроцити аркуатного ядра 24-місячних тварин).

При комбінованому введенні блокаторів та активаторів α -адренергічної та кіссептинергічної системи дія мезатону та празозину цілком ліквідується на рівні гонад протилежно спрямованими впливами блокатора кіссептинергічних рецепторів та кіссептину відповідно в усіх вікових групах тварин. Більше того, блокатор рецепторів кіссептину пригнічує клітини Лейдіга, незважаючи на введення мезатону, а кіссептин активує гонади навіть на тлі введення празозину.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових наукових виданнях

1. Матвієнко М. Морфофункціональні зміни в тестикулах щурів під впливом кісспетина на фоні блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніну / М. Матвієнко, А. Пустовалов, М. Держинський // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія. – 2012. – Т. 1, № 60. – С. 41-43. *(Здобувачем здійснений пошук та аналіз літератури, морфометрична і статистична обробка результатів дослідження).*

2. Матвієнко М.Г. Морфофункціональні зміни в тестикулах щурів 24-місячного віку під впливом кісспетину на фоні блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніну / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, Н.О. Бузинська, М.Е. Держинський // Вісник проблем біології та медицини. – 2012. – Т. 2, № 3. – С. 170-173. *(Здобувачем здійснений пошук та аналіз літератури, гістологічна обробка експериментального матеріалу, морфометрична і статистична обробка результатів дослідження).*

3. Матвієнко М.Г. Вплив мелатоніну на тестикулярну активність молодих, зрілих та старих щурів на фоні введення кісспетину та його антагоніста / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, Н.О. Бузинська, М.Е. Держинський // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. Збірник наукових праць. – Київ-Луганськ, 2012. – Випуск 5 (113). – С. 43-53. *(Здобувачем здійснений пошук та аналіз літератури, морфометрична і статистична обробка результатів дослідження та їх інтерпретація, а також написання статті).*

4. Матвієнко М.Г. Тестикулярна активність молодих, зрілих і старих щурів після введення празозину та мезатона при блокаді й активації кісспетинергічної системи / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, М.Е. Держинський // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. Збірник наукових праць. – Київ-Луганськ, 2012. – Випуск 6 (114). – С. 66-78. *(Здобувачем здійснений пошук та аналіз літератури, морфометрична і статистична обробка результатів дослідження та їх інтерпретація, а також написання статті).*

5. Matvienko M.G. Variety of functions and effects of kisspeptin / M.G. Matvienko, A.S. Pustovalov, N.E. Dzerzhinsky // Biopolymers and Cell. – 2013. – Vol. 29, № 1. – P. 11-20. *(IF 0,021).* *(Здобувачем здійснений аналіз літератури, інтерпретація результатів власних досліджень і оформлення статті).*

6. Матвиенко М.Г. Морфофункциональные изменения клеток преоптического ядра гипоталамуса крыс препубертатного возраста в условиях стимуляции и блокирования альфа-адренергической и kisspeptинергической систем / М.Г. Матвиенко, А.С. Пустовалов, Н.А. Бузинская, Н.Э. Держинский // Нейрофизиология. – 2013. – Т. 45, № 5. – С. 456-462. *(IF 0,384).* *(Здобувачем здійснений пошук та аналіз літератури, гістологічна обробка експериментального матеріалу, морфометричний і статистичний аналіз результатів дослідження та їх інтерпретація, а також написання статті).*

Публікації в інших наукових виданнях

7. Матвієнко М.Г. Морфофункціональні зміни в тестикулах шурів препубертатного віку під впливом кіссептину на фоні блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніну / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, Н.О. Бузинська, М.Е. Держинський // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2012. – Т. 1, № 17. – С. 101-109.

8. Matvienko M.G. Melatonin effects on cell functional activity in the arcuate hypothalamic nucleus of prepubertal rats with a special reference to stimulation and blockade of kisspeptin receptors / M.G. Matvienko, A.S. Pustovalov, N.A. Buzinskaya, L.M. Pazyuk, N.E. Dzerzhinsky // Applied Sciences in Europe: tendencies of contemporary development: 1st International Scientific Conference, Stuttgart, Germany, April 22-23, 2013: Papers of the 1st International Scientific Conference. – Stuttgart, 2013. – P. 58-60.

9. Matvienko M.G. Morphofunctional changes of cells in the arcuate hypothalamic nucleus of prepubertal rats with a special reference to activation and blockade of alpha-adrenergic and kisspeptinergic systems / M.G. Matvienko, A.S. Pustovalov, N.A. Buzinskaya, N.E. Dzerzhinsky // Science and Education: III International Conference, Munich, Germany, April 25-26, 2013: materials of the conference. – Munich, 2013. – Vol. 1. – P. 273-277.

10. Матвиенко М.Г. Морфофункціональне состояние клеток преоптического ядра гипоталамуса старых крыс в условиях стимуляции и блокады альфа-адренергических и коссептинергических рецепторов / М.Г. Матвиенко, А.С. Пустовалов, Н.Э. Держинский // Здоровье и медицина для всех возрастов: Международная научно-практическая конференция, Курск, Россия, 21-22 мая 2013: Материалы конференции. – Курск, 2013. – С. 192-197.

11. Matvienko M. Morphofunctional changes in rat testes under kisspeptin influence against blockade and activation of alpha-adrenergic receptors and melatonin administration / M. Dzerzhinsky, A. Pustovalov, M. Matvienko // Reproduction in domestic animals: 45th Annual Conference of Physiology and Pathology of Reproduction, 37th Joint Conference on Veterinary and Human Reproductive Medicine and 1st Joint German-Polish Conference on Reproductive Medicine, Berlin, Germany, 29.02-02.03.2012: materials of the conference. – Berlin, 2012. – Reproduction in domestic animals. – Vol. 47, № 2, Suppl. 2. – P. 20. (*IF 1,392*)

12. Matvienko M.G. Morphofunctional changes in rat testes under kisspeptin influence against blockade and activation of alpha-adrenergic receptors and melatonin administration / M.G. Matvienko, A.S. Pustovalov, N.O. Buzynska, M.E. Dzerzhinsky // X international interdisciplinary scientific conference of students and young scientists, Kyiv, March 19-23 2012: Abstract Book. – Kyiv, 2012. – P. 206-207.

13. Матвиенко М.Г. Изменение активности тестикул неполовозрелых крыс при введении коссептина на фоне блокады и активации альфа-адренорецепторов и после инъекций мелатонином / М.Г. Матвиенко, А.С. Пустовалов, Н.А. Бузинская, Н.Э. Держинский // Биология – наука XXI века: 16-я Международная Пуштинская

школа-конференция молодых ученых, Пущино, Россия, 16-21 апреля 2012: Сборник тезисов. – Пущино, 2012. – С. 429-430.

14. Матвієнко М.Г. Вплив кісспептину на функціональну активність тестикул нестатевозрілих щурів за умов блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніну / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, М.Е. Держинський // Сучасні проблеми біології, екології та хімії: III Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 25-річчю біологічного факультету, Запоріжжя, 11-13 травня 2012: Збірка матеріалів. – Запоріжжя, 2012. – С. 235-236.

15. Матвієнко М.Г. Зміни функціональної активності тестикул нестатевозрілих щурів при ін'єкціях кісспептина на тлі блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніну / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, Н.О. Бузинська, М.Е. Держинський // Актуальні питання біології та медицини: X Міжрегіональна наукова конференція, Луганськ, 17-18 травня 2012: Збірник наукових праць за матеріалами конференції. – Луганськ, 2012. – С. 63-64.

16. Матвиенко М.Г. Изменение активности репродуктивной системы крыс при активации альфа-адренергических рецепторов и при введении антагониста рецепторов ксипептина / А.С. Пустовалов, М.Г. Матвиенко, Н.А. Бузинская, Н.Э. Держинский // Актуальные проблемы химии и биологии: Всероссийская молодежная конференция, Пущино, Россия, 30 июля – 3 августа 2012 г.: Сборник тезисов. – Пущино, 2012. – С. 79.

17. Matvienko M. Kisspeptin influence on rat testes after administration of melatonin, prazosin, meztaton / M. Dzerzhinsky, M. Matvienko, A. Pustovalov, N. Buzynska // 26th Conference of European Comparative Endocrinologists CECE 2012, Zurich, Switzerland, 21-25 August 2012: Abstract book. – Zurich, 2012. – P. 106.

18. Матвієнко М.Г. Морфофункціональні зміни в тестикулах щурів після ін'єкцій кісспептину на фоні блокади та активації альфа-адренорецепторів і при введенні мелатоніну / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, М.Е. Держинський // Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології: 6 конгрес патофізіологів України, Місхор, 3-5 жовтня 2012: Тези конгресу. – Місхор, 2012. – С. 357.

19. Matvienko M.G. Kisspeptin influence on rat testes after administration of prazosin, meztaton and melatonin / M.G. Matvienko, A.S. Pustovalov, N.O. Buzynska, M.E. Dzerzhinsky // Physiology: from Molecules to the Body: II Scientific Conference of Young Physiologists, Kyiv, 8 – 9 October, 2012: Abstract Book. – Kyiv, 2012. – P. 47.

20. Матвієнко М.Г. Морфофункціональні зміни в тестикулах щурів препубертатного віку на фоні блокади альфа-адренорецепторів та при введенні кісспептину / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, В.Є. Калиновський, М.Е. Держинський // Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології: VI Міжнародна наукова конференція, Київ, 9-11 жовтня 2012: Збірник тез. – Київ, 2012. – С. 150.

21. Matvienko M.G. Kisspeptin influence on rat testes after administration of prazosin, meztaton and melatonin / M.G. Matvienko, A.S. Pustovalov, N.A. Buzinskaya, N.E. Dzerzhinsky // Фізіологія: від молекул до організму: II наукова конференція, Київ, 8-9 жовтня 2012. – Фізіологічний журнал. – 2012. – Т. 58, № 6. – С. 117.

22. Матвієнко М.Г. Морфофункціональні зміни клітин аркуатного ядра гіпоталамуса старих щурів за умов блокади і стимуляції кіссептинергічної системи та під впливом мелатоніну / М.Г. Матвієнко // Актуальні питання геронтології та гериатрії»: наукова конференція молодих вчених з міжнародною участю, Київ, Україна, 25 січня 2013: Збірник тез. – Київ, 2013. – С. 35-36.

23. Matvienko M. Melatonin effects on the activity of cells in the arcuate hypothalamic nucleus of old rats with a special reference to activation and blockade of kisspeptin receptors / M. Dzerzhinsky, M. Matvienko, A. Pustovalov // The International Meeting of the Society for Biology of Reproduction and 2nd Joint German-Polish Conference on Reproductive Medicine; 46th Annual Conference of Physiology and Pathology of Reproduction; 38th Joint Conference on Veterinary and Human Reproductive Medicine, Gdańsk, Poland, Feb 27 – March 1, 2013: materials of the conference. – Reproductive Biology. – 2013. – Vol. 13, Sup. 2. – P. 41. (IF 1,222).

24. Матвиенко М.Г. Кисспептин: перспективы коррекции репродуктивной функции женщин при старении / М.Г. Матвиенко, А.С. Пустовалов, Н.Э. Держинский // Попередження передчасного старіння жінки як інноваційна система здоров'єзбереження в умовах інформаційного суспільства: Міжнародна науково-практична конференція, Київ, 14 березня 2013: Збірник тез. – Київ, 2013. – С. 23.

25. Матвиенко М.Г., Пустовалов А.С., Держинский Н.Э. Влияние мелатонина на функциональную активность клеток преоптического ядра гипоталамуса старых крыс на фоне блокады и стимуляции кисспептинергических рецепторов / М.Г. Матвиенко, А.С. Пустовалов, Н.Э. Держинский // Фармакология, фармацевтическая технология в обеспечении активного долголетия: I Международная научно-практическая конференция, Киев, 4-5 апреля 2013. – Геронтологический журнал им. В.Ф. Купревича. – 2013 – Т. 4, № 1-2. – С. 30-31.

26. Матвиенко М.Г. Влияние мелатонина на клетки аркуатного ядра гипоталамуса неполовозрелых крыс при блокаде и стимуляции кисспептинергических рецепторов / М.Г. Матвиенко, А.С. Пустовалов, Н.Э. Держинский // Неделя науки: Научная конференция студентов и молодых ученых, Иваново, Россия, 15-19 апреля 2013: Сборник тезисов. – Иваново, 2013. – С. 27.

27. Матвиенко М.Г. Морфофункциональные особенности клеток аркуатного ядра гипоталамуса неполовозрелых крыс при блокаде и активации альфа-адренергических и кисспептинергических рецепторов / М.Г. Матвиенко, А.С. Пустовалов, Н.Э. Держинский // Вейновские чтения в Украине: Международная конференция, Одесса, 11-13 мая 2013. – Украинский журнал боли. – 2013. – № 3. – С. 81-82.

28. Матвієнко М.Г. Вплив кіссептина і його антагоніста на морфофункціональні зміни клітин аркуатного ядра гіпоталамуса старих щурів при блокаді та стимуляції альфа-адренергічної системи / М.Г. Матвієнко, А.С. Пустовалов, Н.О. Бузинська, М.Е. Держинський // Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: от теории к практике: Научно-практическая конференция и школа с международным участием, Киев, 16-17 мая 2013: материалы конф. – Проблемы старения и долголетия. – 2013. – Т. 22, приложение. – С. 45-46.

АНОТАЦІЯ

Матвієнко М.Г. Морфофункціональний стан гіпоталамо-гонадного комплексу щурів при взаємодії кіссептинергічної та α -адренергічної систем і мелатоніну. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України. – Київ, 2013.

В дисертації досліджено показники функціональної активності гіпоталамічних ядер і гонад у щурів різного віку (1, 3 і 24 місяці) в умовах блокади й активації β -адренергічної та кіссептинергічної систем і при введенні мелатоніну. З'ясовано, що функціональний стан елементів гіпоталамо-гонадного комплексу визначається не лише кіссептинергічною й β -адренергічною системами поодиноці, а є результатом їхньої взаємодії. При цьому β -адренергічна система займає вищий ієрархічний щабель у механізмах регуляції репродукції, ніж кіссептинергічна, та визначає рівень активності гонадотропної осі. Разом з тим встановлено, що з віком змінюється відносна ефективність цих двох систем як медіаторів пригнічуючих та активуючих впливів. Показано, що КП-система модулює гіпоталамо-гонадний комплекс щурів на всіх досліджених етапах онтогенезу. β -адренергічна система та епіфіз 1-місячних тварин опосередковують свої впливи через КП-систему, а також можуть прямо діяти на гіпоталамус і гонади. Але в 3 місяці цей вплив здійснюється оминаючи кіссептинергічну ланку. У 24 місяці α -адренергічна діє опосередковано через КП-систему, а також може безпосередньо впливати на гіпоталамус. Мелатонін чинить гальмівний ефект на гіпоталамо-гонадний комплекс старих щурів і сильно пов'язаний з КП-системою за механізмами зворотного зв'язку.

Ключові слова: гіпоталамо-гонадний комплекс, аркуатне ядро, преоптичне ядро, нейрон, астроцит, кіссептин, антагоніст кіссептину (Р-234), мелатонін, мезатон, празозин.

АННОТАЦИЯ

Матвиенко М.Г. Морфофункциональное состояние гипоталамо-гонадного комплекса крыс при взаимодействии киссептинергической и α -адренергической систем и мелатонина. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11 – цитология, клеточная биология, гистология. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины. – Киев, 2013.

В диссертации исследованы показатели функциональной активности гипоталамических ядер и гонад у крыс разного возраста (1, 3 и 24 месяца) в условиях блокады и активации α -адренергической и киссептинергической систем и при введении мелатонина. Выяснено, что функциональное состояние элементов гипоталамо-гонадного комплекса определяется не только киссептинергической и α -адренергической системами поодиночке, а является результатом их

взаимодействия между собой. При этом α -адренергическая система занимает высший иерархический уровень в механизмах регуляции репродукции, чем кисспептинергическая, и определяет уровень активности гонадотропной оси. Вместе с тем установлено, что с возрастом меняется относительная эффективность этих двух систем как медиаторов угнетающих и активирующих воздействий друг от друга. Показано, что КП-система модулирует гипоталамо-гонадный комплекс крыс на всех исследованных этапах онтогенеза. α -адренергическая система и эпифиз 1-месячных животных опосредуют свои влияния через КП-систему, а также могут непосредственно воздействовать на гипоталамус и гонады. Но в 3 месяца эпифиз и α -адренергическая система оказывают влияние на гипоталамус минуя кисспептинергическое звено. В 24 месяца α -адренергическая система воздействует на гипоталамус опосредованно через кисспептинергическую, а также способна влиять напрямую. Мелатонин оказывает угнетающий эффект на гипоталамо-гонадный комплекс старых крыс по механизмам обратной связи.

Ключевые слова: гипоталамо-гонадный комплекс, аркуатное ядро, преоптическое ядро, нейрон, астроцит, кисспептин, антагонист кисспептина (P-234), мелатонин, мезатон, празозин.

ABSTRACT

Matvienko M.G. Morphofunctional status of rat hypothalamic-gonadal complex in the interaction of kisspeptinergic and α -adrenergic systems and melatonin. – Manuscript.

Thesis for Obtaining Scientific Degree of Candidate of Biological Sciences, specialty 03.00.11 – cytology, cell biology, histology. –Taras Shevchenko National University of Kyiv, the Ministry of Education and Science of Ukraine. – Kyiv, 2013.

The present thesis deals with the indicators of cellular functional activity of the hypothalamic nuclei and gonads (the nuclear cross-sectional area of neurocytes and astrocytes of the preoptic and the arcuate hypothalamic nuclei; the nuclear cross-sectional area of Leydig cells and the testicular tubule diameter) in rats of different ages with a special reference to blockade and activation of α -adrenergic and kisspeptinergic systems and melatonin administration.

It has been found that the functional state of the elements of the hypothalamic-gonadal complex is determined not only by the kisspeptinergic and the α -adrenergic systems signly, but it's a result of their interaction. While the α -adrenergic system is the upstream one in the mechanisms of reproductive regulation than the kisspeptinergic system and it defines the activity level of the gonadotropic axis.

At once it is proved that aforementioned systems change their comparative efficiency as mediators of inhibitive and activating effects of each other with age. that The kisspeptinergic system was shown to modulate the rat hypothalamic-gonadal complex at all tested ontogenetic stages. In 1-month-old animals the α -adrenergic system and the epiphysis mediate their effects through the kisspeptinergic system and they also are able to act directly on the hypothalamus and the gonads. But the epiphysis and the α -adrenergic

system of 3-month rats influence on the hypothalamus bypassing the kisspeptinergic link. In 24-month animals the α -adrenergic system acts on the hypothalamus indirectly through the kisspeptinergic one and it also can influence directly. Melatonin has the inhibitive effect on the hypothalamic-gonadal complex of old rats by the feedback mechanisms.

It is investigated that kisspeptin activates the cells of rat hypothalamic nuclei and the testicles, and the peptide-antagonist (P-234) makes the opposite effect on the above-mentioned links of the gonadotropic axis. It's shown that in all age groups of animals the combined administration of melatonin and kisspeptin induces the cellular activation, and the blocker of the kisspeptinergic receptors (P-234) together with melatonin does not considerably effect on the cellular activity of the hypothalamic nuclei. In 1- and 3-months animals there was inhibition of gonadal function after combined administration of the kisspeptinergic receptors blocker (P-234) and melatonin. Administration of melatonin and kisspeptin leads to even greater activation of the testicular function than melatonin only. In 24-months rats the inhibitory effect of melatonin on the gonadal function is partially abolished after combined administration of both kisspeptin and its antagonist (P-234).

It is established that administration of the kisspeptinergic receptors blocker (P-234) together with mezon results in abolition of mezon activating effect. On the other hand, the combined administration of prazosin and kisspeptin completely abolishes the inactivating effect of prazosin, although the signs of activation, inherent to kisspeptin, occur only in some cases. After combined administration of the blockers and the activators of the α -adrenergic and the kisspeptinergic systems the effects of mezon and prazosin are completely eliminated in the gonads due to oppositely directed influences of the kisspeptinergic receptors blocker (P-234) and kisspeptin in all age groups of the animals respectively.

Keywords: hypothalamic-gonadal complex, arcuate nucleus, preoptic nucleus, neuron, astrocyte, kisspeptin, kisspeptin antagonist (P-234), melatonin, mezon, prazosin.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГнРГ – гонадоліберин

КП – кіспептин

і.ц.в. – інтрацеребровентрикулярно

п.о. – перорально

с.к. – субкутально (підшкірно)

м.т. – маса тіла

АЯ – аркуатне ядро

ПОЯ – преоптичне ядро