

УДК 57.084:615.357

І. Варенюк, канд. біол. наук, доц.,
Н. Шевчук, студ., Н. Рослова, інж.,
М. Дзержинський, д-р біол. наук, проф.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ У ТОВСТІЙ КИШЦІ ЩУРІВ ПРИ ОЖИРІННІ ТА ПРИ ЙОГО КОРЕКЦІЇ РАНКОВИМИ ТА ВЕЧІРНІМИ ВВЕДЕННЯМИ МЕЛАТОНІНУ

Вивчено вплив ранкового та вечірнього введення мелатоніну на структурно-функціональні зміни у товстій кишці щурів з ожирінням за умов весняно-осіннього фотоперіоду (12L:12D). Для цього у частини тварин викликали ожиріння висококалорійною дієтою впродовж шести тижнів, після чого нормальним тваринам і тваринам з ожирінням вранці або ввечері давали мелатонін у дозі 30 мг/кг протягом семи тижнів. Через 13 тижнів брали два зразки товстої кишки по 1 см кожен на відстані 3 см від анального отвору; фіксували їх у 10 % формаліні та у фіксаторі Карнуа; виготовляли парафінові зрізи товстої кишки; забарвлювали їх гематоксиліном-еозином, альціановим синім-карміном або толуюдиновим синім; проводили їхній мікроскопічний і морфометричний аналіз. Показано, що при ожирінні спостерігається гіперактивація слизової оболонки товстої кишки, редукція і зменшення активності колоноцитів, гіпертрофія слизових келихоподібних клітин та надмірна акумуляція гранул у тучних клітинах. Ранкове введення мелатоніну жирним щурам нормалізує стан слизової оболонки, послаблює редукцію колоноцитів, проте викликає гіпотрофію келихоподібних клітин. Вечірнє введення мелатоніну значно послаблює редукцію колоноцитів, проте не усуває інших змін, викликаних ожирінням. При цьому введення мелатоніну (і ранкове, і вечірнє) тваринам без ожиріння викликає активацію слизової оболонки товстої кишки, гіпертрофію келихоподібних клітин, зменшення активності колоноцитів і не змінює стан тучних клітин. Отже, не можна зробити однозначного висновку про можливість корекції мелатоніном всіх структурно-функціональних змін у товстій кишці, викликаних ожирінням. Хоча ранкове введення мелатоніну мало певний нормалізуючий вплив на товсту кишку і було більш ефективним, ніж вечірнє введення.

Ключові слова: мелатонін, ожиріння, товста кишка.

Вступ. За даними ВООЗ на 2017 рік у світі нараховується близько 2 млрд людей з надлишковою масою тіла і 1 млрд з ожирінням [17]. Це серйозно погіршує стан здоров'я таких людей і є великою біомедичною проблемою практично для кожної країни.

Однією з систем організму, яка зазнає відчутного впливу при розвитку ожиріння, є травна система. При ожирінні часто виникає запальна реакція в кишківнику, порушується склад мікробіоти [15, 7] і послаблюється моторика. Зміна концентрації коротколанцюгових жирних кислот, у продукції яких приймають участь мікроорганізми, впливає на процеси ожиріння [9]. На кількісний та якісний склад мікробіоти може впливати мелатонін [19]. Також показано, що посилення моторики у кишківнику після вживання їжі є коротшим в темну фазу доби, ніж у світлу фазу, і цей час подовжується у тварин, попередньо оброблених антагоністами мелатоніну. Ендогенний мелатонін може модулювати моторику кишківника для координації кишкових функцій, таких як травлення і транзит їжі, і в такий спосіб контролювати метаболізм тварини [4].

У людей з ожирінням було виявлено низький рівень мелатоніну та порушення добової динаміки його синтезу [6]. Наприклад, дієта з високим вмістом жирів викликає зміну часу експресії генів в передньому гіпофізі щурів і зменшення концентрації нічного мелатоніну [1]. Саме тому в ряді робіт шляхом введення мелатоніну або його агоністів намагалися нормалізувати різні структурні та функціональні показники, що порушуються при розвитку ожиріння [1, 2, 8, 10, 11, 12, 13]. Було показано, що мелатонін може за рахунок різних механізмів мобілізувати жирові запаси та знижувати вагу тіла [1, 2, 16]. Дослідження на тваринах продемонстрували, що мелатонін регулює внутрішній біологічний годинник і енергетичний обмін, особливо в жировій тканині [16]. Так, в жировій тканині мелатонін безпосередньо активує рецептори в адипоцитах [4, 16], регулює синтез адипонектину і лептину, а також змінює чутливість адипоцитів до інсуліну [16]. Відсутність мелатоніну скасовує щоденний шаблон експресії часових генів (Clock, Crg1 і Per2), що призводить до зниження рівнів лептину [3]. Дефіцит мелатоніну зменшує циркадну динаміку виділення ліпогенних ферментів. Високі дози мелатоніну викликають перетворення білої жирової тканини в

бежеву [18]. Згідно з даними останніх досліджень, регулярне введення мелатоніну не тільки сприяє появі бежевого жиру у діабетичних щурів з ожирінням, але і збільшує його кількість у худих тварин з контрольної групи [5]. На сьогодні відновлення нормального рівня мелатоніну та нормалізація сну стають невід'ємною частиною комплексної патогенетичної терапії таких широко поширених метаболічних порушень, як ожиріння, інсулінорезистентність, цукровий діабет 2-го типу та метаболічний синдром [1, 2, 10, 12, 13].

Проте мелатонін у вищенаведених дослідженнях вводився переважно ввечері або давався перорально протягом деякого періоду доби. Разом з тим, зважаючи на існування добового біоритму синтезу мелатоніну можна очікувати, що його ефекти при введенні в різний час доби будуть відрізнятися. Крім того, варто враховувати тривалість фотоперіоду, адже середньодобова концентрація мелатоніну відрізняється залежно від тривалості дня і ночі. Вплив фотоперіоду на процеси ожиріння був, наприклад, показаний для сибірських хом'ячків [14]. Саме тому виникає необхідність проведення досліджень для визначення характеру впливу мелатоніну на товсту кишку при ожирінні та оцінки ефективності його впливу при різних термінах введення цього гормону та при різній тривалості фотоперіоду.

Матеріали та методи: Дослідження були проведені на самцях білих нелінійних щурів вагою 100-120 г на початок експерименту. Тварин утримували в стандартних умовах. Їжа та вода ad libitum. Фотоперіод становив 12L:12D (світловий період з 7:00 до 19:00). Контрольній групі протягом 13 тижнів давали стандартний комбікорм для щурів (калорійність – 3,81 ккал/г). Другій групі викликали ожиріння висококалорійною дієтою (склад: стандартний комбікорм для щурів – 60%, свинячий жир – 10%, курячі яйця – 10%, цукор – 9%, арахіс – 5%, сухе молоко – 5%, соняшникова олія – 1%; калорійність – 5,35 ккал/г) впродовж 6 тижнів та продовжували давати цю ж дієту впродовж ще 7 тижнів. Третій групі, яка споживала стандартну їжу, починаючи з 7 тижня протягом 7 тижнів вранці о 8:00 (через 1 год. після початку світлового періоду доби) вводили перорально мелатонін у дозі 30 мг/кг. Четвертій групі викликали ожиріння висококалорійною дієтою впродовж 6 тижнів; після цього протягом 7 тижнів вранці о 8:00 вводили перорально

мелатонін у дозі 30 мг/кг, продовжуючи годування висококалорійною дієтою. П'ятій групі, яка споживала стандартну їжу, починаючи з 7 тижня протягом 7 тижнів ввечері о 18:00 (за 1 год. до закінчення світлового періоду доби) вводили перорально мелатонін у дозі 30 мг/кг. Шостій групі викликали ожиріння висококалорійною дієтою впродовж 6 тижнів; після цього протягом 7 тижнів ввечері вводили перорально мелатонін у дозі 30 мг/кг, при цьому продовжуючи годування висококалорійною дієтою.

Через 13 тижнів від початку експерименту була проведена аутопсія. Для гістологічних досліджень було взято два зразки товстої кишки по 1 см кожен на відстані 3 см від анального отвору. Зразки фіксували у 10 % формаліні та у фіксаторі Карнуа (по 1 зразку в кожен фіксатор). Далі матеріал заливали у парафін за загальноприйнятою методикою. Потім виготовляли поперечні зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи, отримані з матеріалу, фіксованого у формаліні, забарвлювали гематоксиліном Бемера та еозином. Ці зрізи аналізували під мікроскопом з метою виявлення загальних морфологічних змін. Також на цих зрізах вимірювали такі морфометричні параметри: товщина слизової оболонки, глибина крипт, висота колоноцитів крипт, площа перерізу ядер колоноцитів крипт. Зрізи, отримані з матеріалу, фіксованого у фіксаторі Карнуа, забарвлювали альціановим синім з дофарбуванням карміном. На цих зрізах вимірювали площу поперечного перерізу келихоподібних клітин у криптах. Також зрізи, отримані з матеріалу, фіксованого у фіксаторі Карнуа, забарвлювали толуїдиновим синім. На цих зрізах підраховували кількість гранул у тучних клітинах слизової оболонки та підслизової основи.

Статистичну обробку морфометричних результатів проводили методами варіаційної статистики. Підраховували середнє арифметичне та похибку середнього арифметичного. Визначали достовірність різниці між контрольною групою та кожною дослідною групою. Крім того, порівнювали групу тварин з ожирінням, що отримували курс мелатоніну; з групою щурів з ожирінням, які не отримували мелатонін; а також, – з групою щурів без ожиріння, що отримувала курс мелатоніну в той самий час доби. Достовірність різниці між порівнюваними групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення: У щурів контрольної групи товста кишка має нормальну гістологічну будову, типову для даного органу (рис. 1, табл. 1). Стовбчасті епітеліоцити (колоноцити), слизові келихоподібні клітини, тучні клітини мають нормальну цитологічну структуру (рис. 2, рис. 3). Жодних патологічних відхилень від норми не виявлено.

Ожиріння викликає гіперактивацію слизової оболонки товстої кишки, яка супроводжується зростанням товщини слизової оболонки та зростанням глибини крипт (рис. 1, табл. 1). При цьому зменшується висота колоноцитів та площа перерізів їхніх ядер, що є свідченням редукції та зменшення активності цих клітин. Також спостерігається гіпертрофія слизових келихоподібних клітин, що говорить про сильне зростання активності цих клітин, а значить і збільшення продукції ними слизу (рис. 2, табл. 1). Кількість гранул у тучних клітинах є значно вищою, ніж у контрольних тварин (тобто, спостерігається гіперакумуляція гранул) (рис. 3, табл. 1). Отже, ожиріння викликає відчутні структурно-функціональні зміни в товстому кишечнику.

Таблиця 1. Морфометричні показники товстої кишки щурів при ожирінні та після введення мелатоніну в різний час доби

Експериментальні групи	Товщина слизової оболонки, мкм	Глибина крипт, мкм	Висота колоноцитів, мкм	Площа перетину ядер колоноцитів, мкм ²	Площа перетину келихоподібних клітин, мкм ²	Кількість гранул у тучних клітинах, шт. на 1 клітину
контроль	260±5	245±5	21,9±0,3	29,0±0,8	55,6±1,4	23,2±1,2
ожиріння	297±4*	268±4*	16,8±0,2*	27,3±0,5	68,4±2,7*	38,9±2,2*
мелатонін – вранці	326±4*	298±3*	15,7±0,3*	25,4±0,6*	61,9±1,5*	21,7±1,7
мелатонін – вранці + ожиріння	270±6^#	238±4^#	14,5±0,2*^#	27,9±0,6#	40,8±1,3*^#	36,8±2,3*#
мелатонін – ввечері	305±4*	271±4*	16,4±0,2*	26,0±0,5*	62,8±1,5*	26,8±2,3
мелатонін – ввечері + ожиріння	301±5*	220±3*^#	19,0±0,3*^#	28,2±0,5#	42,0±1,4*^#	34,0±2,3*#

* – P<0,05 (порівняно з контрольною групою тварин);

^ – P<0,05 (порівняно з тваринами з ожирінням);

– P<0,05 (порівняно з тваринами, яким вводився мелатонін у той самий час доби).

Як ранкове, так і вечірнє введення мелатоніну веде до зростання товщини слизової оболонки та глибини крипт, зменшення висоти колоноцитів та площі їх ядер, зростання площі перерізу келихоподібних клітин (табл. 1). Кількість гранул у тучних клітинах достовірних відмінностей від контрольної групи не має (рис. 3, табл. 1). Отже, введення мелатоніну (і ранкове, і вечірнє) викликає активацію слизової оболонки товстої кишки та гіпертрофію келихоподібних клітин з одночасним зменшенням активності колоноцитів (рис. 1, рис. 2).

Ранкове введення мелатоніну тваринам з ожирінням запобігає зростанню товщини слизової оболонки та

глибини крипт товстої кишки, тобто, нормалізує її стан. У колоноцитів висота клітин залишається зменшеною. Проте площа перетину їхніх ядер не є зменшеною, як у жирних тварин, а достовірно від контрольних значень не відрізняється (рис. 1, табл. 1). Тобто, можна говорити про деяке послаблення атрофічних змін цих клітин, викликаних ожирінням. Але при цьому спостерігається гіпертрофія келихоподібних клітин (рис. 2). Окрім того, подібно до тварин з ожирінням спостерігається гіперакумуляція гранул у тучних клітинах (рис. 3).

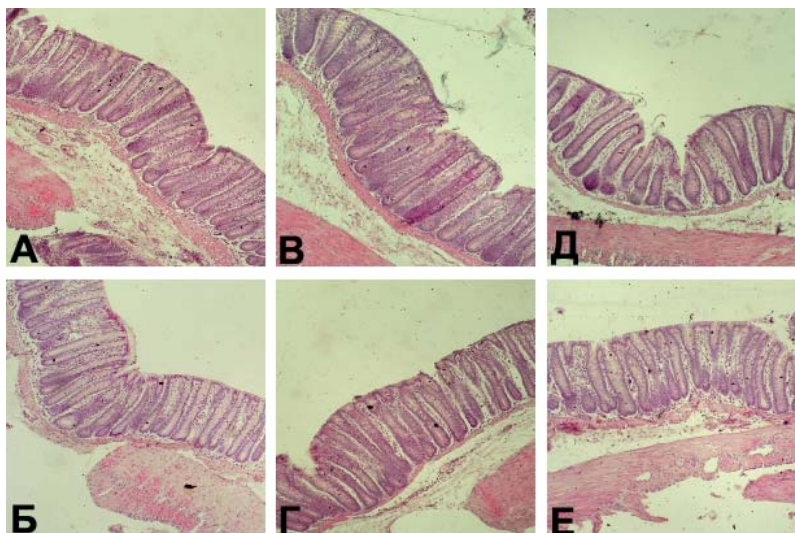


Рис. 1. Стан слизової оболонки товстої кишки в різних експериментальних групах:
 А – контроль; Б – ожиріння; В – мелатонін вранці; Г – мелатонін ввечері; Д – мелатонін вранці + ожиріння;
 Е – мелатонін ввечері + ожиріння. Забарвлення гематоксиліном Бемера та еозином. Збільшення: об. $\times 10$, ок. $\times 10$

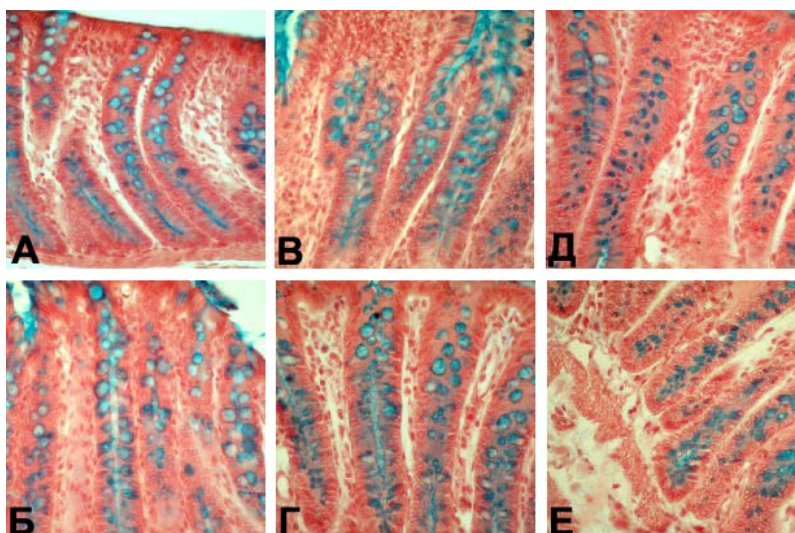


Рис. 2. Келихоподібні клітини товстої кишки в різних експериментальних групах:
 А – контроль; Б – ожиріння; В – мелатонін вранці; Г – мелатонін ввечері; Д – мелатонін вранці + ожиріння;
 Е – мелатонін ввечері + ожиріння. Забарвлення альциановим синім та карміном. Збільшення: об. $\times 40$, ок. $\times 10$

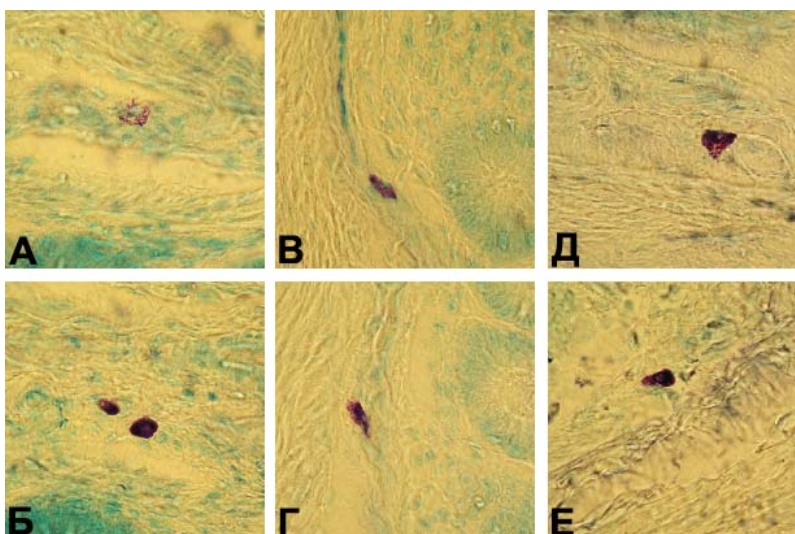


Рис. 3. Тучні клітини товстої кишки в різних експериментальних групах:
 А – контроль; Б – ожиріння; В – мелатонін вранці; Г – мелатонін ввечері; Д – мелатонін вранці + ожиріння;
 Е – мелатонін ввечері + ожиріння. Забарвлення толуїдиновим синім. Збільшення: об. $\times 90$, ок. $\times 10$

Вечірнє введення мелатоніну тваринам з ожирінням нормалізує в значній мірі стан колоноцитів: площа перерізів ядер цих клітин на рівні контрольних значень, а висота хоча і є нижчою, ніж у контрольних тварин, проте достовірно вищою, ніж у тварин з ожирінням (рис. 1, табл. 1). При цьому келихоподібні клітини гіпотрофовані (рис. 2, табл. 1). А у тучних клітинах спостерігається гіперакумуляція гранул, хоча і дещо менша, ніж у жирних тварин, яким не вводився мелатонін (рис. 3, табл. 1). Товщина слизової оболонки збільшена порівняно з контрольними тваринами і не відрізняється достовірно від тварин з ожирінням та тварин, яким вводився лише мелатонін. При цьому глибина крипт достовірно нижча порівняно з усіма групами (табл. 1).

Висновки. Таким чином, не можна зробити однозначного висновку про можливість корекції мелатоніном структурно-функціональних змін у товстій кишці, викликаних ожирінням. Разом з тим, ранкове введення мелатоніну мало певний нормалізуючий вплив на товсту кишку і було більш ефективним, ніж вечірнє введення.

Список використаних джерел:

1. Neuroendocrinol melatonin and the metabolic syndrome: physiopathologic and therapeutical implications / D. Cardinali, P. Cano, V. Jimenez-Ortega, A. Esquifino // *Neuroendocrinology*, 2011. – Vol. 93, N 3. – P. 131–142.
2. Cardinali D.P. Inflammation, metabolic syndrome and melatonin: a call for treatment studies. / D.P. Cardinali, R. Hardeland // *Neuroendocrinology*, 2017. – Vol. 104, N 4. – P. 382–397.
3. Pinelectomy interferes with the circadian clock genes expression in white adipose tissue / S. Tda. de Farias, A.C. de Oliveira, S. Andreotti et al. // *J. Pineal. Res.*, 2015. – Vol. 58, N 3. – P. 251–261.
4. Therapeutic perspectives for melatonin agonists and antagonists / P. Delagrange, J. Atkinson, J.A. Boutin et al. // *J. of neuroendocrinology*, 2003. – Vol. 15, N 4. – P. 442–448.
5. Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats / A. Jimenez-Aranda, G. Fernandez-Vazquez, D. Campos et al. // *J. Pineal. Res.*, 2013. – Vol. 55, N 4. – P. 416–423.
6. Konturek P.C. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. / P.C. Konturek, T. Brzozowski, S.J. Konturek // *J. Physiol. Pharmacol.*, 2011. – Vol. 62, N 2. – P. 139–150.
7. Lee C.J. Gut microbiome and its role in obesity and insulin resistance / C.J. Lee, C.L. Sears, N. Maruthur // *Ann NY Acad. Sci.*, 2019. – May 14. [Epub ahead of print].
8. MT1 and MT2 melatonin receptors: a therapeutic perspective / L. Liu, S.J. Clough, A.J. Hutchinson et al. // *Annual review of pharmacology and toxicology*, 2016. – Vol. 56. – P. 361–383.
9. McNabney S.M. Short chain fatty acids in the colon and peripheral tissues: a focus on butyrate, colon cancer, obesity and insulin resistance / S.M. McNabney, T.M. Henagan // *Nutrients*, 2017. – Vol. 9, N 12. – E1348.
10. Nduhirabandi F. Melatonin and the metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities / F. Nduhirabandi, E. Toit, A. Lochner // *Acta Physiol. (Oxf)*, 2012. – Vol. 205, N 2. – P. 209–223.
11. Prado N. Anti-inflammatory effects of melatonin in obesity and hypertension / N. Prado, L. Ferd, W. Manucha // *Curr. Hypertens Rep.*, 2018. – Vol. 20, N 3. – P. 1–15.
12. Cardiac hypertrophy and remodeling: pathophysiological consequences and protective effects of melatonin. / R. Reiter, L. Manchester, L. Fuentes-Broto, D. Tan // *J. Hypertens*, 2010. – Vol. 28, N 2. – P. 7–12.
13. Obesity and metabolic syndrome: association with chronodisruption, sleep deprivation, and melatonin suppression / R. Reiter, D. Tan, A. Korkmaz, S. Mac // *Ann Med.*, 2012. – Vol. 44, N 1. – P. 564–577.
14. Short photoperiod reverses obesity in Siberian hamsters via sympathetically induced lipolysis and Browning in adipose tissue / V. Ryu, E. Zarebidaki, H.E. Albers et al. // *Physiol. Behav.*, 2018. – Vol. 190. – P. 11–20.
15. Saad M.J. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance. / M.J. Saad, A. Santos, P.O. Prada // *Physiology (Bethesda)*, 2016. – Vol. 31, N 4. – P. 283–293.
16. Szewczyk-Golec K. Inter-relationships of the chronobiotic, melatonin, with leptin and adiponectin: implications for obesity / K. Szewczyk-Golec, A. Wozniak, R.J. Reiter // *J. of Pineal. Res.*, 2015. – Vol. 59, N 3. – P. 277–291.
17. The official data of the WHO Bulletin published in May 2017. Available from: <http://www.who.int>
18. Torres-Farfan C. Evidence of a role for melatonin in fetal sheep physiology: direct actions of melatonin on fetal cerebral artery, brown adipose tissue and adrenal gland / C. Torres-Farfan, F. Valenzuela, M. Mondaca // *J. Physiol.*, 2008. – Vol. 586, N 2. – P. 4017–4027.
19. Melatonin prevents obesity through modulation of gut microbiota in mice / P. Xu, J. Wang, F. Hong et al. // *J. Pineal. Res.*, 2017. – Vol. 62, N 4. – E12399.

References (Scopus):

1. Cardinali D, Cano P, Jimenez-Ortega V, Esquifino A. Neuroendocrinol melatonin and the metabolic syndrome: physiopathologic and therapeutical implications. *Neuroendocrinology*. 2011;93(3):131-142.
2. Cardinali DP, Hardeland R. Inflammation, metabolic syndrome and melatonin: a call for treatment studies. *Neuroendocrinology*. 2017;104(4):382-397.
3. de Farias Tda S, de Oliveira AC, Andreotti S, do Amaral FG, Chimin P, de Proenca AR, Leal FL, Sertie RA, Campana AB, Lopes AB, de Souza AH, Cipolla-Neto J, Lima FB. Pinelectomy interferes with the circadian clock genes expression in white adipose tissue. *J Pineal Res*. 2015;58(3):251-61.
4. Delagrange P, Atkinson J, Boutin JA, Casteilla L, Lesieur D, Misslin R, Pellissier S, Penicaud L, Renard P. Therapeutic perspectives for melatonin agonists and antagonists. *Journal of neuroendocrinology*. 2003;15(4):442-448.
5. Jimenez-Aranda A, Fernandez-Vazquez G, Campos D, Tassi M, Velasco-Perez L, Tan DX, Reiter RJ, Agil A. Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats. *J Pineal Res*. 2013;55(4):416-423.
6. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. *J Physiol Pharmacol*. 2011;62(2):139-150.
7. Lee CJ, Sears CL, Maruthur N. Gut microbiome and its role in obesity and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci*. 2019; May 14. [Epub ahead of print]
8. Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, Adamah-Biassi EB, Popovska-Gorevski M, Dubocovich M L. MT1 and MT2 melatonin receptors: a therapeutic perspective. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2016;56:361-383.
9. McNabney SM, Henagan TM. Short chain fatty acids in the colon and peripheral tissues: a focus on butyrate, colon cancer, obesity and insulin resistance. *Nutrients*. 2017;9(12):E1348.
10. Nduhirabandi F, Toit E, Lochner A. Melatonin and the metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities. *Acta Physiol (Oxf)*. 2012;205(2):209-223.
11. Prado N, Ferd L, Manucha W. Anti-inflammatory effects of melatonin in obesity and hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2018;20(3):1-15.
12. Reiter R, Manchester L, Fuentes-Broto L, Tan D. Cardiac hypertrophy and remodeling: pathophysiological consequences and protective effects of melatonin. *J Hypertens*. 2010;28(2):7-12.
13. Reiter R, Tan D, Korkmaz A, Mac S. Obesity and metabolic syndrome: association with chronodisruption, sleep deprivation, and melatonin suppression. *Ann Med*. 2012;44(1):564-577.
14. Ryu V, Zarebidaki E, Albers HE, Xue B, Bartness TJ. Short photoperiod reverses obesity in Siberian hamsters via sympathetically induced lipolysis and Browning in adipose tissue. *Physiol Behav*. 2018;190:11-20.
15. Saad MJ, Santos A, Prada PO. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance. *Physiology (Bethesda)*. 2016;31(4):283-293.
16. Szewczyk-Golec K, Wozniak A, Reiter RJ. Inter-relationships of the chronobiotic, melatonin, with leptin and adiponectin: implications for obesity. *Journal of pineal research*. 2015;59(3):277-291.
17. The official data of the WHO Bulletin published in May 2017. Available from: <http://www.who.int>
18. Torres-Farfan C, Valenzuela F, Mondaca M. Evidence of a role for melatonin in fetal sheep physiology: direct actions of melatonin on fetal cerebral artery, brown adipose tissue and adrenal gland. *J Physiol*. 2008;586(2):4017-4027.
19. Xu P, Wang J, Hong F, Wang S, Jin X, Xue T, Jia L, Zhai Y. Melatonin prevents obesity through modulation of gut microbiota in mice. *J Pineal Res*. 2017;62(4):E12399.

Надійшла до редколегії 01.10.19

Отримано виправлений варіант 01.11.19

Підписано до друку 01.11.19

Received in the editorial 01.10.19

Received a revised version on 01.11.19

Signed in the press on 01.11.19

И. Вареник, канд. биол. наук, Н. Шевчук, студ., Н. Рослова, инж., Н. Держинский, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТОЛСТОМ КИШЕЧНИКЕ КРЫС ПРИ ОЖИРЕНИИ И ПРИ ЕГО КОРРЕКЦИИ УТРЕННИМИ И ВЕЧЕРНИМИ ВВЕДЕНИЯМИ МЕЛАТОНИНА

Изучено влияние утреннего и вечернего введения мелатонина на структурно-функциональные изменения в толстой кишке крыс с ожирением в условиях весенне-осеннего фотопериода (12L:12D). Для этого у части животных вызвали ожирение высококалорийной диетой в течение шести недель, после чего нормальным животным и животным с ожирением утром или вечером давали мелатонин в дозе 30 мг/кг в течение семи недель. Через 13 недель брали два образца толстой кишки по 1 см каждый на расстоянии 3 см от анального отверстия; фиксировали их в 10 % формалине и в фиксаторе Карнуа; изготавливали парафиновые срезы толстой кишки; окрашивали их гематоксилин-эозином, альциановым синим-кармином или толуидиновым синим; проводили их микроскопический и морфометрический анализ. Показано, что при ожирении наблюдается гиперактивация слизистой оболочки толстой кишки, редукция и уменьшение активности колоноцитов, гипертрофия слизистых бокаловидных клеток и аккумуляция гранул в тучных клетках. Утреннее введение мелатонина жирным крысам нормализует состояние слизистой оболочки, ослабляет редукцию колоноцитов, однако вызывает гипотрофию бокаловидных клеток. Вечернее введение мелатонина значительно ослабляет редукцию колоноцитов, однако не устраняет других изменений, вызванных ожирением. При этом введение мелатонина (и утреннее, и вечернее) животным без ожирения вызывает активацию слизистой оболочки толстой кишки, гипертрофию бокаловидных клеток, уменьшение активности колоноцитов и не изменяет состояние тучных клеток. Следовательно, нельзя сделать однозначного вывода о возможности коррекции мелатонином всех структурно-функциональных изменений в толстой кишке, вызванных ожирением. Хотя утреннее введение мелатонина имело определенное нормализующее влияние на толстую кишку и было более эффективным, чем вечернее введение.

Ключевые слова: мелатонин, ожирение, толстый кишечник.

I. Varenuk, Ph. D., N. Shevchuk, stud., N. Roslova, ingeneer, M. Dzerzhynsky, Dr. Sci.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

STRUCTURAL CHANGES IN RATS' COLON UNDER OBESITY CONDITIONS AND ITS CORRECTION BY MORNING AND EVENING INJECTION OF MELATONIN

The effect of morning and evening administrations of melatonin on structural and functional changes in the large intestine of rats with obesity under conditions of the spring-autumn photoperiod (12L:12D) was studied in this work. The obesity was caused with a high-calorie diet for 6 weeks. After that, the morning or evening melatonin administrations were given to normal and obese animals at a dose of 30 mg/kg for 7 weeks. After 13 weeks, two specimens of the colon 1 cm each were taken at a distance of 3 cm from the anus; fixed in 10% formalin and in Carnua solution; paraffin sections of the large intestine were made; stained them with hematoxylin-eosin, alcian blue-carmin, or toluidine blue. Microscopic and morphometric analysis of these sections was performed. It has been shown, that obesity cause hyperactivation of the colonic mucosa, reduction of colonocytes, hypertrophy of goblet cells and overaccumulation of granules in mast cells. Morning administration of melatonin to obese animals normalizes the colonic mucosa, decreases the reduction of colonocytes, but causes the hypotrophy of goblet cells. Evening administration of melatonin significantly decreases the reduction of colonocytes, but does not eliminate other changes caused by obesity. The administration of melatonin (both morning and evening) to animals without obesity causes an activation of the mucosa, hypertrophy of goblet cells, reduction of colonocytes, and does not change the state of mast cells. Consequently, it cannot make a clear conclusion about the possibility of correction of all structural-functional changes in the large intestine during obesity by melatonin. Although, the morning administration of melatonin had some normalizing effects on the colon and it was more effective than evening administration.

Key words: melatonin, obesity, large intestine.

UDC 576.3.616

N. Vedenicheva, Dr. Sci., G. Al-Maali, Ph. D., N. Bisko, Dr. Sci., I. Kosakivska, Prof.
M. G. Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
L. Garmanchuk, Dr. Sci., L. Ostapchenko, Prof.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

EFFECT OF BIOACTIVE EXTRACTS WITH HIGH CYTOKININS CONTENT FROM MICELIAL BIOMASS OF HERICUM CORALLOIDES AND FOMITOPSIS OFFICINALIS ON TUMOR CELLS IN VITRO

Phytohormones cytokinins are known to promote cell division in plants. Contrary, in animal's and human's tissues they induce apoptosis and block the cell cycle of a wide spectrum of tumour cells. Therapeutic effects of cytokinins, specifically their anticancer and immunomodulatory actions are similar to those of medicinal mushrooms. We detected cytokinins in mycelial biomass of two species of medicinal mushrooms growing in vitro (*Fomitopsis officinalis* strain 5004 and *Herichium coralloides* strain 2332) using HPLC-MS. Trans-zeatin, zeatin riboside, zeatin-O-glucoside and isopentenyladenine were found. Crude extracts and purified cytokinin fractions from mycelial biomass were tested on the growth and development of cultures of tumor cells lines: Hela (MTT-assay), T24/83 (viability and level apoptotic cells) and HepG2 (consumption of glucose). The effect of cytokinin fraction from mycelial biomass of *Fomitopsis officinalis* on pathogenic cells was higher compared to *Herichium coralloides* one. The data obtained revealed a higher cytotoxic/cytostatic effect of the purified cytokinin fractions in comparison with crude methanolic extracts; also higher apoptotic index was found. Under the influence of the test agents the intensification of glucose uptake into cells was observed. This indicator was higher for crude mushroom mycelium extracts, whereas under the action of purified fractions the glucose uptake rate was lower, thus decreased glycolysis level was recorded. Also, the effect of both crude extract and purified fraction from *H. coralloides* mycelial biomass on glucose uptake in the conditioned medium was lower against *F. officinalis*. These results confirm the assumption that biologically active substances of medicinal mushrooms with high pharmacological potential include cytokinins.

Key words: medicinal mushrooms, mycelial biomass, cytokinins, HepG2, T-24/83 and Hela cells.

Introduction. Deadly side effects of artificially synthesized drugs can be avoided only by means of natural preparations or those that are as close as possible to them in composition and structure of substances. Therefore, the urgent task of today is to find alternative therapies using natural biological raw materials. Macromycetes have enormous potential in this regard. Medicinal mushrooms have a wide range of medicinal properties. They exhibit

more than 130 therapeutic effects due to the content of biologically active substances in fruiting bodies and cultured mycelium that enhance innate and acquired immune responses and demonstrate antitumor activity in animals and humans [1, 2]. Polysaccharides and terpenoids are the most studied among them. However, since the systematic study of the biochemical composition of mushrooms, the physiological and medical action of its components has