

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН
ім. В. П. КОМІСАРЕНКА НАМН УКРАЇНИ»**

МІЩЕНКО Тетяна Володимирівна

УДК 612.826.33:612.14.143+612.34+591.147.7+616-056.52

**ХРОНОБІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ
РОЗВИТКУ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ
ПРИ ГІПОПІНЕАЛІЗМІ
(експериментальне дослідження)**

14.01.14 – ендокринологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Державній установі «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»

Науковий керівник

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **Бондаренко Людмила Олександрівна**

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **Ковзун Олена Ігорівна**, Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», заступник директора з наукової роботи, завідувача лабораторією гормональної регуляції обміну речовин

доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Антонюк-Щеглова Іванна Анатоліївна**, Державна установа «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», провідний науковий співробітник відділу клінічної фізіології і патології внутрішніх органів

Захист відбудеться «31» _____ травня _____ 2016 р. о 13⁰⁰ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.558.01 з ендокринології в Державній установі «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України» (04114, м. Київ-114, вул. Вишгородська, 69).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державної установи «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України» (м. Київ-114, вул. Вишгородська, 69).

Автореферат розісланий «28» _____ квітня _____ 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор біологічних наук



Л. М. Калинська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. МС (метаболічний синдром) (синдром інсуліно-резистентності) складає одну з найважливіших медико-соціальних проблем ХХІ сторіччя в зв'язку з негативними наслідками – ранньою інвалідизацією, передчасним старінням та смертністю, оскільки є преморбідним станом ЦД 2 (цукровий діабет 2 типу) і ССЗ (серцево-судинні захворювання) [Reaven G., 2005; Тронько М. Д. та співавт., 2005; Кравчун Н. О., 2005; Кравец Е. Б. и др., 2008; Grundy S. M., 2008; Karachentsev Yu. et al., 2009; Alberti K. et al., 2009], та пандемічним масштабом поширення, адже розповсюдженість у загальній популяції досягає 20–35 % [Grundy S., 2008].

Вивчення етіології та патогенезу МС становить сучасний, пріоритетний напрямок наукових досліджень порівняно з оцінкою прогностичного значення синдрому інсулінорезистентності для ризику розвитку ЦД 2 і ССЗ у зв'язку з відсутністю консенсусу в питанні ключової ланки (інсулінорезистентність або абдомінальне ожиріння), що лежить в основі розвитку даного захворювання та невизначеністю послідовності включення складових МС до патологічного процесу [Grundy S. M. et al., 2004; Бутрова С. А., 2009; Reaven G. M., 2011]. До етіологічних чинників МС віднесено генетичну схильність, надмірне споживання висококалорійної їжі, гіподинамію і майже ніколи в якості причини розвитку даної патології не розглядається освітлення в темну пору доби [Ройтберг Г. Е., 2007]. Проте в основі сучасного погляду на механізми регуляції метаболізму лежить гіпотеза Е. Scott та Р. Grant, згідно з якою порушення еволюційно закріпленої адаптації організму до сезонних і добових (циркадних) ритмів навколишнього середовища пов'язане з розвитком ЦД 2 [Scott E. et al., 2006], що призводить до передчасного старіння [Анисимов В. Н., 2008].

Однією з умов синхронізації добових ритмів функціонування органів та систем, асоційованої з гомеостазом в організмі, є фізіологічний рівень біосинтезу та секреції пінеальною залозою (епіфізом) гормону мелатоніну [Haus E., 2007; Morris C. J. et al., 2012; Tsang A. H. et al., 2014]. В літературних джерелах існують суперечливі повідомлення стосовно зв'язку між рівнем продукції мелатоніну епіфізом та розвитком МС. Дані одних досліджень вказують на те, що в осіб із діагностованим МС та в здорових волонтерів немає різниці між концентрацією мелатоніну в крові протягом доби [Robeva R. et al., 2008]. Інші повідомлення свідчать про зменшення піка секреції мелатоніну епіфізом в нічний час у осіб із МС або більш значні порушення вуглеводно-ліпідного обміну за умови зниження мелатонінутворювальної функції пінеальної залози в літніх хворих на АГ (артеріальна гіпертензія) [Джериева И. С. и др., 2011; Коркушко О. В. та співавт., 2012; Shatilo V. B. et al., 2013; Corbalán-Tutau D. et al., 2014], що суперечить даним, згідно з якими в пацієнтів із МС різних вікових груп має місце гіперсекреція мелатоніну епіфізом [Баллюзек М. Ф. и др., 2009, 2012]. З іншого боку, як відомо, освітлення в нічний час пригнічує продукцію мелатоніну пінеальною залозою [Illnerova H. et al., 1988; McIntyre I. M. et al., 1989]. Показано, що перебування самців щура в умовах ЦО (цілодобове освітлення) високої інтенсивності (300 люкс) впродовж двох тижнів призводить до порушення циркадного ритму концентрації

мелатоніну та глюкози в крові [Dauchy R. T. et al., 2010], а утримання лабораторних тварин даного виду в умовах ЦО (інтенсивність 750 люкс) впродовж двох років провокує розвиток гіперхолестеринемії, гіперглікемії та глюкозурії, які автор розглядає як складові МС [Виноградова І. А., 2007]. Незважаючи на використання як нетривалого ЦО в першому дослідженні, так і хронічної світлової експозиції в другому, в роботах не було верифіковано в піддослідних тварин гіпопінеалізм – зниження продукції пінеальною залозою всіх біологічно активних речовин (індольної, зокрема мелатоніну, та пептидної природи) [Хелимский А. М., 1969]. Крім того, в них не представлено показники, які б давали комплексну характеристику всім основним складовим МС, не було оцінено ІР (інсулінорезистентність), абдомінальне ожиріння, АГ у піддослідних тварин, що не дозволяє зробити остаточні висновки. Більше того, в жодній з наведених робіт не було вивчено особливості змін окремих складових МС протягом доби в динаміці розвитку гіпопінеалізму. Тим паче, відсутні відомості щодо впливу екзогенного мелатоніну, як засобу замісної терапії, на добові ритми показників визначальних складових МС за умови гіпопінеалізму.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», вона є фрагментом НДР АМН 02.13 «Дослідити механізми прискореного старіння при гіпопінеалізмі: хронобіологічні аспекти» 2013-2015 рр. (№ державної реєстрації 0113U001282).

Мета дослідження. Встановити динаміку циркадних ритмів показників окремих складових метаболічного синдрому за наявності гіпопінеалізму, індукованого тривалим цілодобовим освітленням, та дослідити можливість корекції визначених проявів симптомокомплексу шляхом відновлення природного світлового режиму окремо або в поєднанні з курсовим введенням мелатоніну.

Завдання дослідження:

1. На моделі гіпопінеалізму вивчити зміни добового ритму інсулінемії та глікемії, а також чутливості периферичних тканин до інсуліну в динаміці розвитку метаболічного синдрому в кролів.

2. Визначити ступінь абдомінального ожиріння та добовий ритм концентрації лептину в крові в кролів із гіпопінеалізмом на різних етапах розвитку метаболічного синдрому.

3. Встановити значення тривалого гальмування мелатоніноутворюючої функції пінеальної залози в механізмі порушень добового ритму артеріального тиску та визначити тип артеріальної гіпертензії.

4. Визначити наслідки відновлення природного світлового режиму на різних етапах розвитку гіпопінеалізму для показників, що характеризують метаболічний синдром.

5. Вивчити вплив курсового надходження екзогенного мелатоніну на добові ритми показників окремих складових метаболічного синдрому в кролів із гіпопінеалізмом.

Об'єкт дослідження – гіпопінеалізм, хронобіологічні аспекти метаболічного синдрому.

Предмет дослідження – основні складові метаболічного синдрому та корекція

проявів симптомокомплексу за наявності гіпопінеалізму.

Методи дослідження: фізіологічні, біохімічні, імуноферментні, гістологічні, морфометричні, інструментальні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Встановлено, що гіпопінеалізм, індукований тривалим цілодобовим освітленням, викликає розвиток основних складових метаболічного синдрому: інсулінорезистентності/гіперінсулінемії, абдомінального ожиріння та артеріальної гіпертензії. Вперше доведено, що зміни показників вищевказаних компонентів метаболічного синдрому в динаміці розвитку гіпопінеалізму не відбуваються паралельно і не мають лінійної залежності; для кожного етапу розвитку патологічного процесу (диспінеалізм та гіпопінеалізм) притаманна характерна саме для нього послідовність подій.

Вперше встановлено, що на тлі тривалого гіпопінеалізму відбувається інверсія добового ритму концентрації глюкози в крові, що змінюється нівелюванням останнього, розвиваються ознаки інсулінорезистентності та гіперінсулінемії за одночасного розвитку патологічних морфофункціональних змін ендокринної частини підшлункової залози, а саме, прогресуюча в часі втрата β -клітин острівців Лангерганса при надзвичайному перенапруженні функціонально активних інсулінопродукуючих клітин. Пріоритетними є результати досліджень, які вказують на наявність гіперглікемії вночі за умови гіпопінеалізму, задовго до того, як вона проявляється вдень. Доведено, що абдомінальне ожиріння може формуватися на тлі стандартного раціону харчування, але за умови порушення природного світлового режиму; в механізмі розвитку абдомінального ожиріння важлива роль належить лептинорезистентності, яка проявляється на тлі гіперлептинемії.

Показано, що відновлення природного світлового режиму на початковому етапі розвитку патології (після двох місяців цілодобового освітлення) нормалізує глюкозний гомеостаз та не впливає на рівень артеріального тиску. Повернення експериментальних тварин до природної зміни дня і ночі надалі (через три-чотири місяці цілодобової світлової експозиції) зменшує виразність гіперглікемії під час орального тесту толерантності до глюкози та знижує рівень артеріального тиску, проте не до норми.

Доповнено наукові дані щодо застосування замісної терапії мелатоніном за умови гіпопінеалізму. Компенсація дефіциту мелатоніну в таких тварин відновлює чутливість периферичних тканин до інсуліну (знижує НОМА-IR), знижує глікемію, інсулінемію, а також нормалізує морфофункціональний стан панкреатичних β -клітин. Курсове введення мелатоніну кролям із метаболічним синдромом викликає зниження маси абдомінально-вісцерального жиру, відновлює циркадний ритм рівня лептину в крові, але за більш високих рівнів гормону. Застосування мелатоніну знижує підвищений за умови метаболічного синдрому артеріальний тиск, проте не відновлює його добовий ритм.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій. Положення та висновки ґрунтуються на достатній кількості спостережень (робота виконана на 125 кролях) з використанням сучасних методів досліджень (імуноферментний метод визначення концентрації гормонів у сироватці крові, глюкозооксидазний метод визначення глікемії, гістологічні і морфометричні

методи дослідження підшлункової залози та інструментальні методи для вимірювання рівня артеріального тиску, маси тіла і абдомінально-вісцерального жиру). Статистичний аналіз даних проведено за допомогою параметричних та непараметричних методів. Результати дослідження проаналізовано і обговорено з урахуванням даних літератури. Положення та висновки дисертації базуються на результатах проведеного дослідження.

Наукове значення роботи. Одержані дані є підґрунтям для визначення гіпопінеалізму одним із чинників розвитку метаболічного синдрому та розкривають особливості формування інсулінорезистентності, абдомінального ожиріння та артеріальної гіпертензії на тлі зниження функціональної активності пінеальної залози.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані дані підтверджують доцільність проведення добового моніторингу глікемії та артеріального тиску за наявності гіпопінеалізму з метою виявлення порушень обміну вуглеводів, асоційованих із метаболічним синдромом, та супутньої артеріальної гіпертензії на ранніх етапах їх розвитку. Наведені в роботі дані слід розглядати як теоретичне обґрунтування доцільності клінічного застосування препаратів мелатоніну в хворих на метаболічний синдром, що розвивається на тлі гіпопінеалізму.

Створений апарат для вимірювання артеріального тиску в кролів незалежно від умов освітлення (патент України на корисну модель № 83426) та розроблену експериментальну модель артеріальної гіпертензії із добовим ритмом систолічного артеріального тиску, за якого не спостерігається зниження тиску вночі (тип «non-dipper», патент України на корисну модель № 86828), впроваджено на кафедрі молекулярної та медичної біофізики Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно здійснено патентно-інформаційний пошук, аналіз та узагальнення існуючих літературних даних у визначеному напрямку досліджень, відтворено експериментальну модель гіпопінеалізму, проведено фізіологічні, біохімічні та гормональні дослідження, здійснено статистичний аналіз одержаних даних, обґрунтовані наукові положення і висновки.

Дизайн експериментального дослідження розроблено під керівництвом д.б.н., с.н.с. Л. О. Бондаренко. Дослідження стану глюкозного гомеостазу проведено на базі лабораторії патофізіології та медичної генетики ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» під керівництвом д.м.н., проф. В. В. Полторак та за участю к.м.н., с.н.с. О. І. Гладких. Гістологічні та морфометричні дослідження підшлункової залози виконано на базі лабораторії патогістології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» під керівництвом та за участю д.м.н., проф. Л. Ю. Сергієнко.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи були представлені та обговорені на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (Дванадцяті Данилевські читання) (Харків, 2013), на II Російському симпозиумі з міжнародною участю «Световой режим, старение и рак» (Петрозаводськ, Росія, 2013), на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (Тринадцяті Данилевські читання) (Харків, 2014), на VIII з'їзді Асоціації ендокринологів України (Київ, 2014), на науково-практичній конференції з міжнародною участю

«Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (Чотирнадцяті Данилевські читання) (Харків, 2015).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 16 наукових праць, з яких 5 статей в наукових фахових виданнях, затверджених Міністерством освіти та науки України, 1 стаття в іноземному виданні, 1 стаття в збірці наукових праць зарубіжного симпозиуму (з них 4 статті опубліковано у виданнях, що індексуються в наукометричних базах даних), 6 тез доповідей в збірниках матеріалів вітчизняних та міжнародних з'їздів і конференцій, отримано 2 патенти України на корисну модель.

Структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 144 сторінках друкованого тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, що налічує 230 посилань і займає 27 сторінок, 2 додатків у вигляді актів впровадження матеріалів дисертації. Роботу ілюстровано 19 таблицями та 17 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Роботу виконано на 125 самцях кролів віком чотири-п'ять місяців (молоді статевозрілі тварини) на момент початку дослідів, які були отримані з віварію ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України». Під час проведення експериментів кролів утримували в стандартних умовах віварію (за виключенням режиму освітлення, визначеного умовами досліду) та на стандартному збалансованому раціоні. Протягом досліджень усі процедури з тваринами та їх евтаназія були здійснені відповідно до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [Страсбург, 1986].

У першій серії експериментів було вивчено динаміку добових ритмів показників основних складових МС за наявності гіпопінеалізму в кролів. Для відтворення гіпопінеалізму у тварин було використано патогенетичну модель інволютивних процесів у пінеальній залозі, відповідно до якої кролів утримували протягом п'яти місяців в умовах ЦО: вдень – природне сонячне світло, вночі – електричне освітлення інтенсивністю в клітках 30–40 люкс [Пат. України № 20383]. При цьому через один місяць після початку моделювання гіпопінеалізму концентрація мелатоніну в крові опівночі в кролів знижується до низького денного рівня, а саме, до $59,36 \pm 5,99$ проти $(375,44 \pm 13,84)$ пмоль/л ($p < 0,001$) у тварин, яких утримували в умовах природної зміни дня і ночі. Одночасно в піддослідних кролів вдвічі знижується концентрація мелатоніну в крові опівдні, складаючи $(28,14 \pm 5,90)$ пмоль/л проти показника $(54,56 \pm 6,09)$ пмоль/л ($p < 0,05$) у тварин контрольної групи [Бондаренко Л. А. и др., 2005], що свідчить про тяжку мелатонінову недостатність. Оскільки протягом двох місяців ЦО структура епіфіза ще зберігається і навіть вказує на інтенсивну продукцію інших індоламінів та нейропептидів, цей стан слід розцінювати як диспінеалізм. Водночас, наявність маргінації хроматину в пінеалоцитах через два місяці ЦО свідчить про початкову стадію форсованого апоптозу цих клітин, а зменшення кількості пінеалоцитів та утворення на місці загиблих клітин пустот в структурі епіфіза вказує на

маніфестацію гіпопінеалізму, коли на тлі руйнування структури органа прогресивно знижується продукція всіх біологічно активних речовин [Губина-Вакулик Г. И. и др., 2007]. Подальше ЦО (три-п'ять місяців) викликає незворотні порушення структури пінеальної залози, а саме, прогресуюче в часі зменшення об'єму паренхіми, утворення порожнеч, формування гліозів на місці загибелі пінеалоцитів, що виключають гормональну активність органа [Губина-Вакулик Г. И. и др., 2007]. Цей стан визначається як істинний гіпопінеалізм [Хелимский А. М., 1969].

Інтенсивність освітлення вимірювали за допомогою люксометру «Ю-117». Штучним джерелом світла слугувала лампа розжарювання потужністю 100 Вт. Кролів контрольної групи утримували в умовах природної зміни дня і ночі.

У другій серії досліджень з метою визначення можливості корекції показників основних складових МС у кролів із гіпопінеалізмом був відновлений природний світловий режим на різних етапах розвитку патології, а саме, через два, три та чотири місяці ЦО. Для цього тварини були розподілені на чотири групи: 1) I – інтактні, яких протягом п'яти місяців утримували в умовах природного циклу світло/темрява; 2) II – піддослідні, яких після двох місяців ЦО утримували в умовах природного циклу світло/темрява протягом трьох місяців; 3) III – піддослідні, яких після трьох місяців ЦО утримували в умовах природного циклу світло/темрява протягом двох місяців; 4) IV – піддослідні, яких після чотирьох місяців ЦО утримували в умовах природного циклу світло/темрява протягом одного місяця.

З метою пошуку фармакологічного шляху корекції досліджуваних показників МС за умови гіпопінеалізму в третій серії експериментів піддослідним кролям був проведений 10-добовий курс внутрішньом'язових ін'єкцій мелатоніну (Sigma, США) в дозі 2,5 мг/кг м.т. (маса тіла) за одну годину до настання темряви на тлі відновлення природного циклу світло/темрява та за умови попереднього впливу ЦО впродовж трьох, чотирьох і п'яти місяців. Для цього тварини були розділені на чотири групи: 1) I – інтактні, яких протягом п'яти місяців утримували в умовах природного циклу світло/темрява; 2) II – піддослідні, яким після трьох місяців ЦО проводили курс ін'єкцій мелатоніну; 3) III – піддослідні, яким після чотирьох місяців ЦО проводили курс ін'єкцій мелатоніну; 4) IV – піддослідні, яким після п'яти місяців ЦО проводили курс ін'єкцій мелатоніну.

Кожен експеримент тривав п'ять місяців (з лютого по липень), тому під час досліджень співвідношення між тривалістю світлої та темної пори доби становило: 1) лютий – 09.40/14.20; 2) березень – 11.30/12.30; 3) квітень – 13.40/10.20; 4) травень – 15.15/08.45; 5) червень – 16.22/07.38; 6) липень – 16.10/07.50.

Хронобіологічні дослідження, проведені з метою вивчення добових ритмів досліджуваних показників МС, ґрунтувались на чотирьох визначальних точках: 1) ранок (07:00 год – 08:00 год); 2) день (13:00 год – 14:00 год); 3) вечір (19:00 год – 20:00 год); 4) ніч (01:00 год – 02:00 год). В ці години щомісяця тваринам контрольної та піддослідної груп вимірювали САТ (систоличний артеріальний тиск) на центральній артерії вуха за методом R. T. Grant та співавторів (1934) у модифікації Т. В. Міщенко та співавторів (2013), яка дозволяє визначати САТ протягом доби незалежно від освітленості навколишнього середовища, а також проводили забір крові з крайової вени іншого вуха для виконання біохімічних та гормональних досліджень.

Концентрацію інсуліну в сироватці крові визначали імуноферментним методом із використанням наборів реактивів «Insulin ELISA» (DRG Instruments GmbH, Німеччина) та імуноферментного аналізатора Stat Fax 3200 («Awareness», США). Для даного набору реактивів перехресна реакція антитіл до інсуліну людини із інсуліном кроля складає 63 %, при цьому відомо, що амінокислотна послідовність молекули інсуліну людини відрізняється від такої кроля лише варіацією в 30 положенні В-ланцюга [Шрейбер В., 1987]. НОМА-% β (індекс функції β -клітин) розраховано за D. R. Matthews et al. (1985).

Глюкозний гомеостаз оцінено на підставі визначення добового ритму рівня глюкози в сироватці крові глюкозооксидазним методом за допомогою ферментативного аналізатора «Ексан-Г» (Литва), а також під час ОТТГ (оральний тест толерантності до глюкози). У ході ОТТГ було визначено базальну глікемію та її показник через 30, 60, 120, 180 хв після навантаження глюкозою в дозі 1 г/кг м.т. Глікемічну реакцію під час проведення ОТТГ оцінено за показниками площі під глікемічними кривими. В якості показника ІР було використано гіперінсулінемію та НОМА-ІР (Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance; індекс інсулінорезистентності) [Matthews D. R. et al., 1985].

Рівень лептину в сироватці крові визначали імуноферментним методом із використанням наборів реактивів «Leptin (Sandwich) ELISA» (DRG Instruments GmbH, Німеччина), оскільки гомологічність кодуючої амінокислотної послідовності молекули лептину людини та кроля складає 82 % [Yang J. et al., 2008]. Кількісні визначення концентрації гормону проводили за допомогою імуноферментного аналізатора Stat Fax 3200 («Awareness», США). Накопичення абдомінально-вісцерального жиру в кролів оцінено за показником абсолютної маси жирової тканини даної локалізації, визначеної як сума мас епідидимального, ретроперитоніального та мезентеріального жиру, вилучених під час розтину тварин. Евтаназію тварин проводили шляхом ін'єкції тіопенату («Бровафарма», Україна) у крайову вену вуха в дозі 100 мг/кг м.т.

Гістологічні дослідження підшлункової залози в кролів були проведені за допомогою світлового мікроскопу «Primo Star-5» (Німеччина). Підшлункові залози піддавали фіксації в 10 % розчині формаліну, проводили через спирти наростаючої концентрації та заливали в парафін. Мікропрепарати виготовляли із центральної частини залоз методом серійних зрізів товщиною 5 мкм, які фарбували гематоксилін-еозином [Меркулов Г. А., 1969]. Кількість та розміри островців Лангерганса визначали за допомогою мікрометра МОВ 1-16х [Автандилов Г. Г., 1990].

Статистичний аналіз цифрового матеріалу проведено параметричними та непараметричними методами. Перевірку відповідності розподілу даних закону Гаусса було здійснено за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Порівняння груп із нормальним розподілом даних здійснено за допомогою непарного t -критерію Стьюдента. Для аналізу даних, розподіл яких не відповідав закону Гаусса, було використано U -критерій Манна-Уїтні. Для множинних порівнянь було використано однофакторний дисперсійний аналіз [Атраментова Л. О. та співавт., 2014]. Результати подано у вигляді $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ (середнє арифметичне (\bar{x}), стандартна похибка середнього арифметичного ($s_{\bar{x}}$)). Рівень значущості (p) для визначення відмінностей між групами такими, що є статистично значущими був прийнятий $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Хронобіологічні аспекти розвитку метаболічного синдрому на тлі гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням, у кролів. Протягом п'яти місяців у кролів контрольної групи поступово зростала маса тіла з $(3,0 \pm 0,1)$ кг до $(3,7 \pm 0,1)$ кг ($p < 0,001$) та маса абдомінально-вісцерального жиру, показник якої становив $(53,2 \pm 4,3)$ г на початку і $(80,7 \pm 4,6)$ г наприкінці експерименту ($p < 0,05$), проте добовий ритм концентрації інсуліну, глюкози та лептину в сироватці крові, рівня САТ, а також показники НОМА-IR та НОМА-% β залишались незмінними.

Встановлено, що молодим статевозрілим кролям за умови природної зміни дня та ночі (вихідний стан) властивий добовий ритм інсулінемії з максимумом удень і мінімумом уночі (табл. 1), що співпадає з результатами досліджень циркадного ритму рівня даного гормону в крові в здорових людей репродуктивного віку [Tasaka Y. et al., 1980; Polonsky K. S. et al., 1988].

Таблиця 1

Динаміка добового ритму концентрації інсуліну в сироватці крові в кролів із гіпопінеалізмом, (пмоль/л), $(\bar{x} \pm s_{\bar{x}})$

Термін спостереження	Пора доби	
	день	ніч
Вихідний стан ($n = 11$)	$105,37 \pm 14,46$	$62,84 \pm 7,49^*$
Через 1 місяць ЦО ($n = 10$)	$117,50 \pm 11,86$	$102,40 \pm 11,97^\#$
Через 2 місяці ЦО ($n = 7$)	$446,90 \pm 53,10^{##}$	$547,80 \pm 58,89^{##}$
Через 3 місяці ЦО ($n = 9$)	$155,20 \pm 17,19^\#$	$117,10 \pm 10,26^{##}$
Через 4 місяці ЦО ($n = 6$)	$120,30 \pm 12,86$	$125,20 \pm 8,39^{##}$
Через 5 місяців ЦО ($n = 6$)	$131,10 \pm 15,93$	$133,10 \pm 16,30^{##}$

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з показником удень; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у вихідному стані.

Утримання тварин в умовах ЦО протягом одного-п'яти місяців призвело до нівелювання циркадного ритму концентрації інсуліну в сироватці крові. Відсутність циркадних варіацій секреції гормону β -клітинами в кролів була визначена як за нормоінсулінемії (через один, три-п'ять місяців ЦО), так і гіперінсулінемії (через два місяці ЦО) (табл. 1). Звертають на себе увагу особливості підвищення рівня інсуліну в крові протягом доби в різні терміни після початку моделювання гіпопінеалізму. Через один місяць ЦО збільшення концентрації інсуліну в сироватці крові у тварин було виявлено лише вночі (на 63,0 %). Після двох місяців ЦО зареєстровано виразну гіперінсулінемію як вдень, так і вночі, яка, ймовірно, мала

компенсаторний характер внаслідок розвитку ІР в кролів у даний термін спостереження, визначеного за даними розрахунку НОМА-ІР ($10,95 \pm 0,79$ проти $(2,68 \pm 0,25)$ ум. од. (умовні одиниці) у вихідному стані; $p < 0,001$). Через три місяці ЦО рівень інсуліну в крові у тварин і вдень, і вночі перевищував відповідні показники у вихідному стані, проте був значно нижчим, ніж у попередній термін спостереження. Через чотири-п'ять місяців ЦО концентрація інсуліну в сироватці крові в кролів вдень не відрізнялась від величини у вихідному стані, а вночі перевищувала контрольний показник на 99,2 та 111,8 % (табл. 1).

Під час визначення рівня глюкози в сироватці крові цих тварин у різну пору доби виявлено, що за умови природного циклу світло/темрява кролям властивий циркадний ритм глікемії з максимумом удень та мінімумом уночі (табл. 2), що узгоджується із даними аналогічних досліджень за участю здорових волонтерів [Tasaka Y. et al., 1980; Polonsky K. S. et al., 1988].

Таблиця 2

Динаміка добового ритму концентрації глюкози в сироватці крові в кролів із гіпопінеалізмом, (ммоль/л), ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Термін спостереження	Пора доби	
	день	ніч
Вихідний стан ($n = 14$)	$5,54 \pm 0,20$	$3,92 \pm 0,31^{**}$
Через 1 місяць ЦО ($n = 10$)	$4,69 \pm 0,25^{\#}$	$4,03 \pm 0,16^*$
Через 2 місяці ЦО ($n = 11$)	$4,36 \pm 0,18^{##}$	$4,96 \pm 0,19^{*\#}$
Через 3 місяці ЦО ($n = 7$)	$5,76 \pm 0,60$	$5,18 \pm 0,20^{\#}$
Через 4 місяці ЦО ($n = 6$)	$5,64 \pm 0,28$	$5,75 \pm 0,16^{\#}$
Через 5 місяців ЦО ($n = 6$)	$5,56 \pm 0,45$	$6,50 \pm 0,24^{##}$

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ порівняно з показником удень; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у вихідному стані.

Через один місяць ЦО амплітуда циркадних коливань концентрації глюкози в сироватці крові в кролів зменшувалась із 1,62 до 0,66 ммоль/л, проте добовий ритм даного показника був збережений, ймовірно, за рахунок зростання інсулінемії вночі в даний термін спостереження. Внаслідок ЦО протягом двох місяців було зареєстровано інверсію добового ритму глікемії у тварин, оскільки нічний показник перевищив денну величину. Через три-п'ять місяців ЦО визначено нівелювання циркадного ритму концентрації глюкози в крові в кролів із гіпопінеалізмом на підставі відсутності відмінностей між денним та нічним показником (табл. 2), яке відбувалось на тлі відсутності добового ритму інсулінемії (табл. 1).

Незважаючи на те, що глікемія в кролів із гіпопінеалізмом знаходяться в межах фізіологічного коридору даного показника (за виключенням нічної величини через п'ять місяців ЦО), тільки завдяки хронобіологічним дослідженням можливо виявити такі порушення як інверсія або нівелювання добового ритму рівня глюкози в крові, які передують глибоким змінам вуглеводного обміну, асоційованим із ЦД 2.

За даними розрахунку НОМА-IR встановлено, що через один та два місяці ЦО відбувається зростання даного параметру відносно показника в кролів у вихідному стані ($(4,02 \pm 0,52)$ ум. од. ($p < 0,05$) та $(10,95 \pm 0,79)$ ум. од. ($p < 0,001$) проти $(2,68 \pm 0,25)$ ум. од.), що вказує на розвиток ІР у тварин за даних умов. Через три-чотири місяці ЦО збільшення індексу ІР у кролів було менш виразним у порівнянні з попереднім терміном спостереження; НОМА-IR складав $4,63 \pm 0,34$ і $(4,56 \pm 0,39)$ ум. од. ($p < 0,001$ у обох випадках відносно показника у вихідному стані). Проте через п'ять місяців ЦО зареєстровано посилення ІР у тварин, оскільки НОМА-IR зростав до $(5,38 \pm 0,54)$ ум. од. ($p < 0,001$ відносно величини у вихідному стані).

Під час визначення НОМА-% β в кролів із гіпопінеалізмом встановлено, що внаслідок утримання тварин в умовах ЦО протягом одного місяця відбувається виразне зростання даного показника ($238,1 \pm 32,6$ % проти величини у вихідному стані $126,4 \pm 29,8$ %; $p < 0,05$). Через два місяці цілодобової світлової експозиції функція інсулінопродукуючого апарату продовжувала підвищуватись і складала $1498,0 \pm 368,7$ % ($p < 0,05$ відносно показника у вихідному стані). Посилення функціональної активності β -клітин у кролів через один-два місяці після початку моделювання гіпопінеалізму на тлі розвитку ІР, визначеного за результатами розрахунку НОМА-IR, засвідчує компенсаторну реакцію інсулінопродукуючого апарату у відповідь на зниження чутливості периферичних тканин до метаболічного ефекту інсуліну. Через три місяці ЦО зростання досліджуваного параметру було менш виразним; НОМА-% β складав $259,6 \pm 51,6$ % ($p < 0,05$ відносно показника у вихідному стані). Через чотири та п'ять місяців ЦО індекс функції β -клітин не змінювався відносно величини у вихідному стані, складаючи $148,9 \pm 23,7$ та $138,8 \pm 27,2$ %. Останнє вказує на зниження функціональної активності β -клітин з огляду на визначене посилення ІР у кролів із гіпопінеалізмом наприкінці експерименту.

Особливості змін показників вуглеводного обміну в кролів із гіпопінеалізмом дають підставу зробити припущення про розвиток у них порушення толерантності до глюкози, в зв'язку з чим тваринам, яких утримували в різних світлових режимах протягом п'яти місяців, був проведений ОТТГ із паралельним визначенням рівня інсуліну в сироватці крові (рис. 1, 2). За результатами ОТТГ встановлено, що в кролів із гіпопінеалізмом, рівень глюкози в крові протягом тесту був вищим порівняно з показниками у контрольних тварин. Увагу привертає перевищення глікемії через 120 хв після навантаження глюкозою як базального рівня в піддослідних кролів ($7,12 \pm 0,27$ проти $(5,75 \pm 0,13)$ ммоль/л), так і глікемії у контрольних тварин у відповідний термін після навантаження ($7,12 \pm 0,27$ проти $(4,78 \pm 0,18)$ ммоль/л), оскільки неповернення глікемії під час ОТТГ до базального рівня за цей проміжок часу є класичною ознакою інтолерантності до глюкози. Останнє підтверджує збільшення площі під глікемічною кривою у тварин піддослідної групи порівняно з контрольним показником ($1289,0 \pm 28,0$ проти $(944,3 \pm 19,5)$ ммоль/л·хв⁻¹; $p < 0,001$).

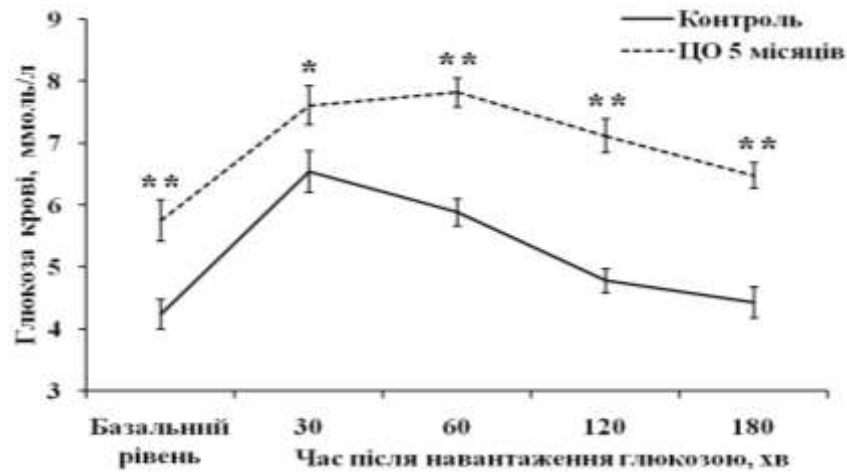


Рис. 1. Глікемія в кролів із гіпопінеалізмом, індукованим цілодобовим освітленням протягом п'яти місяців, під час орального тесту толерантності до глюкози: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

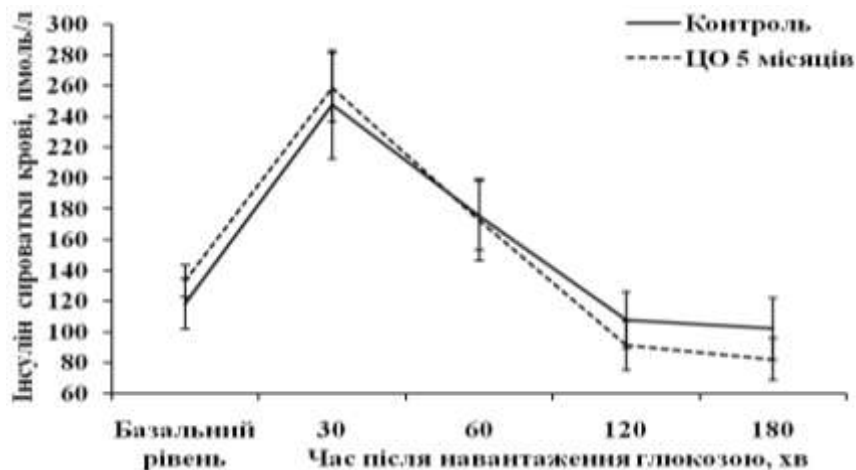


Рис. 2. Концентрація інсуліну в сироватці крові в кролів із гіпопінеалізмом, індукованим цілодобовим освітленням протягом п'яти місяців, під час орального тесту толерантності до глюкози.

За даними визначення рівня глюкозо-стимульованої секреції інсуліну під час ОТТГ у кролів із гіпопінеалізмом та тварин контрольної групи встановлено, що концентрація інсуліну в сироватці крові в групах не відрізнялась. Зростання базальної глікемії та глікемії після навантаження (ОТТГ) у піддослідних кролів порівняно з показниками у тварин контрольної групи за подібних змін інсулінемії свідчить про наявність ІР та відносної інсулінової недостатності в кролів із гіпопінеалізмом. Співставний характер змін концентрації інсуліну в сироватці крові за означених групових відмінностей в глікемії під час проведення ОТТГ вказує на відсутність компенсаторної реакції β -клітин у відповідь на індуковану навантаженням глюкозою більш виразну гіперглікемію в кролів із гіпопінеалізмом.

З огляду на різноспрямовані зміни концентрації інсуліну в крові та НОМА- $\% \beta$ у кролів із гіпопінеалізмом (див. табл. 1), було проведено гістологічні дослідження ендокринної частини підшлункової залози у тварин піддослідної групи, результати яких дозволили однозначно охарактеризувати динаміку функціональної активності β -клітин. Підрахунок загальної кількості острівців у інтактних та піддослідних кролів

показав, що кількість острівців поступово зменшується із зростанням тривалості ЦО. Через один-два місяці ЦО кількість острівців знижувалась на 49,0 та 52,7 % відносно показника контрольної групи, умовно прийнятого за 100 %. Через три-п'ять місяців ЦО кількість острівців зменшувалась на 36,5; 40,9 та 70,6 %.

Одержані дані вказують на те, що дефіцит мелатоніну в організмі першочергово віддзеркалюється на гормональній активності β -клітин. Надмірна стимуляція інсулінопродукуючого апарату на етапі диспінеалізму (через один-два місяці ЦО), ймовірно, зумовлена поєднанням перебігу двох патологічних процесів. Перший, припускається, полягає в недостатньому гальмуванні мелатоніном (у зв'язку з його дефіцитом) секреції інсуліну панкреатичними β -клітинами. Як відомо, мелатонін здійснює рецептор-опосередкований супресивний ефект на продукцію інсуліну β -клітинами, в зв'язку з чим існує припущення про наявність функціонального антагонізму між мелатоніном та інсуліном [Boden G. et al., 1996; Peschke E. et al., 2010]. Другий є пов'язаним із розвитком ІР за умови гіпопінеалізму, оскільки компенсаторна реакція на зниження чутливості периферичних тканин до інсуліну викликає гіперінсулінемію. Останнє узгоджується з даними літератури, відповідно до яких мелатонін здійснює стимулюючий рецептор-опосередкований ефект на інсулін-залежний транспорт глюкози в клітинах скелетних м'язів мишей та гіпоталамуса щурів, механізм якого пов'язаний з посиленням фосфорилування по тирозину IRS-1 (субстрат інсулінового рецептору-1) та активності PI-3-K (фосфатидинозитол-3-кіназа, IRS-1/PI-3-K каскад) [Anhe G. F. et al., 2004; Ha E. et al., 2006]. Роль індоламіну в гомеостазі глюкози також засвідчує розвиток ІР у мишей з генетично-індукованою супресією функції мембранних рецепторів мелатоніну [Contreras-Alcantara S. et al., 2010]. Формування ІР в поєднанні з компенсаторною гіперінсулінемією на етапі диспінеалізму складає підґрунтя для персистентної стимуляції та зниження потенційної спроможності β -клітин із плином часу в кролів із гіпопінеалізмом (через три-п'ять місяців ЦО). Останнє призводить до посилення ІР та розвитку інтолерантності до глюкози у експериментальних тварин.

Встановлено, що найбільше накопичення абдомінально-вісцерального жиру в кролів із гіпопінеалізмом відбувається через два-три місяці ЦО; маса жирової тканини даної локалізації у піддослідних тварин не змінювалась через один місяць ЦО та перевищувала контрольні показники через три-п'ять місяців на 458,3; 595,3; 155,3 і 215,8 %.

Під час дослідження добового ритму концентрації лептину в крові у кролів із гіпопінеалізмом визначено, що тваринам за умови природної зміни дня та ночі властивий циркадний ритм рівня лептину в крові з максимумом у темну пору доби та мінімумом у світлу (табл. 3), що співпадає з добовим ритмом концентрації даного гормону в крові в людини [Tsujiro N. et al., 2012]. Через три місяці ЦО рівень лептину в крові в кролів був підвищеним у будь-яку пору доби, однак ступінь зростання виявився різним. Якщо відповідні показники у тварин контрольної групи умовно прийняти за 100 %, то в кролів із гіпопінеалізмом рівень лептину в сироватці крові складатиме: 1) вранці – 170,8 %; 2) вдень – 201,8 %; 3) ввечері – 130,3 %; 4) вночі – 139,2 %. У даний термін спостереження у піддослідних тварин було виявлено гіперлептинемію, що є більш вираженою в світлу пору доби.

Динаміка добового ритму концентрації лептину в сироватці крові в кролів із гіпопінеалізмом, (нг/мл), ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Термін спостереження	Пора доби			
	ранок	день	вечір	ніч
Вихідний стан (n = 15)	1,37 ± 0,14**	1,09 ± 0,11**	2,11 ± 0,11	2,12 ± 0,07
Через 3 місяці ЦО (n = 8)	2,34 ± 0,27 [#]	2,20 ± 0,21* ^{##}	2,75 ± 0,25 [#]	2,95 ± 0,27 [#]
Через 5 місяців ЦО (n = 6)	2,75 ± 0,28 ^{##}	2,38 ± 0,24 ^{##}	2,90 ± 0,29 [#]	3,17 ± 0,28 [#]

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ порівняно з показником уночі; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у вихідному стані.

Через п'ять місяців ЦО стан гіперлептинемії у кролів посилювався, оскільки концентрація лептину в сироватці крові складала: 1) вранці – 200,7 %; 2) вдень – 218,3 %; 3) ввечері – 137,5 %; 4) вночі – 149,5 % порівняно з показниками у тварин контрольної групи, умовно прийнятими за 100 %. Ці дані свідчать про те, що у кролів із МС відбувається інверсія добового ритму концентрації лептину в крові в процентах відносно показників у вихідному стані.

Співставлення результатів визначення рівня лептину в сироватці крові з даними змін маси абдомінально-вісцерального жиру в різні терміни розвитку патологічного процесу в кролів вказує на пряму залежність між цими показниками тільки протягом двох-трьох місяців ЦО. Через чотири-п'ять місяців ЦО виявлено зменшення маси жирової тканини даної локалізації порівняно з попередніми термінами спостереження на тлі подальшого зростання концентрації лептину в крові, що може вказувати на розвиток лептинорезистентності. Як відомо, при ожирінні може мати місце відносна резистентність гіпоталамуса до лептину; припускається, що внаслідок цього рівень лептину в крові підвищується, проте вплив даного гормону на периферичні тканини зберігається, що свідчить про селективну лептинорезистентність за умови порушення добового ритму його секреції [Далантаева Н. С. и др., 2012]. Одержані дані узгоджуються з існуючими в літературі повідомленнями, відповідно до яких особам із МС характерне підвищення рівня лептину в плазмі/сироватці крові [Martins M. C. et al., 2012; Abu-Farha M. et al., 2014]. Крім того, вони співпадають з повідомленням [Джерієва І. С. и др., 2011], згідно з яким недостатність мелатоніну в пацієнтів із МС асоційована зі зростанням концентрації лептину в крові та даними дослідження [Rios-Lugo M. et al., 2010], які засвідчують здатність екзогенного мелатоніну послаблювати підвищення рівня лептину в крові в щурів внаслідок утримання на високожировій дієті.

Встановлено, що молодим статевозрілим кролям за умови природного циклу світло/темрява, властивий добовий ритм рівня САТ із максимумом у світлу пору доби та мінімумом у темну (табл. 4), аналогічно тому, як це встановлено в здорових людей репродуктивного віку [Millar-Craig M. W. et al., 1978; Мищенко Л. А. и др., 2002].

**Динаміка добового ритму систолічного артеріального тиску в кролів
із гіпопінеалізмом, (мм рт. ст.), ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)**

Термін спостереження	Пора доби			
	ранок	день	вечір	ніч
Вихідний стан (n = 12)	51,8 ± 0,8	52,5 ± 2,1	47,8 ± 1,0*	43,4 ± 0,7**
Через 1 місяць ЦО (n = 12)	50,7 ± 0,9	52,2 ± 0,8	47,5 ± 0,6*	44,2 ± 0,6**
Через 2 місяці ЦО (n = 12)	52,2 ± 0,9	54,5 ± 1,1	49,7 ± 1,2	47,3 ± 1,1*#
Через 3 місяці ЦО (n = 10)	51,1 ± 1,1	52,4 ± 0,5	52,9 ± 1,3#	53,2 ± 1,2##
Через 4 місяці ЦО (n = 6)	55,7 ± 0,3#	54,8 ± 0,7	56,5 ± 0,6##	53,3 ± 1,6##
Через 5 місяців ЦО (n = 6)	58,2 ± 1,2##	56,4 ± 0,8	57,2 ± 1,0##	54,8 ± 1,6##

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ порівняно з показником уранці;
– $p < 0,05$; ## – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у вихідному стані.

Через один місяць ЦО рівень САТ у кролів протягом доби не відрізнявся від норми. Через два місяці ЦО встановлено підвищення даного показника вночі відносно відповідної величини у вихідному стані. Через три місяці ЦО рівні САТ увечері та вночі перевищували показники у вихідному стані на 10,7 та 22,6 %. Чотиримісячне ЦО призводило до виразного підвищення САТ увечері, вночі та зростання САТ уранці відносно показників у вихідному стані. Через п'ять місяців ЦО рівень САТ уранці, увечері та вночі підвищувався на 12,4; 19,7 та 26,3 % відносно відповідних показників у вихідному стані. Протягом двох місяців після початку моделювання гіпопінеалізму в кролів зберігався фізіологічний добовий ритм САТ. Проте через три місяці ЦО відбувалось нівелювання циркадного ритму САТ за рахунок підвищення його показників у темну пору доби, яке спостерігалось у тварин до завершення дослідження. Одержані дані засвідчують, що за умови гіпопінеалізму, індукованого ЦО, розвивається АГ, що характеризується добовим ритмом АТ, за якого відсутнє зниження тиску вночі (тип «non-dipper»). Спонтанно даний тип АГ розвивається в людей похилого віку на тлі вікового зниження синтезу мелатоніну епіфізом [Коркушко О. В. та співавт., 2008].

Таким чином, на підставі вивчення динаміки показників складових МС за наявності гіпопінеалізму, послідовність подій є наступною: через два місяці після початку моделювання гіпопінеалізму відбувається найвище зростання інсулінемії, через три місяці – маси абдомінально-вісцерального жиру, через п'ять місяців – глікемії та рівня САТ. Персистентна напруга функціонального стану інсулінопродукуючого апарату складає підґрунтя для прогресуючої в часі загибелі β -клітин і посилення ІР. На тлі розвитку абдомінального ожиріння проявляються ознаки дисліпідемій [Кузьминова І. А. и др., 2006], наслідком чого є ССЗ: ендотеліальна

дисфункція, АГ, атеросклероз та ішемія міокарда [Караченцев Ю. И. и др., 2004; Кондаков І. К. та ін., 2004; Бондаренко Л. О. та ін., 2009].

Вплив відновлення природного світлового режиму на показники метаболічного синдрому в кролів із гіпопінеалізмом, індукованим цілодобовим освітленням. У кролів із гіпопінеалізмом, індукованим ЦО протягом одного-чотирьох місяців, глікемія протягом доби варіювала в межах фізіологічного коридору даного показника (див. табл. 2), тому тваринам було проведено ОТТГ одразу по завершенню ЦО тривалістю два, три і чотири місяці та після подальшого їх утримання за умови ПСР (природний світловий режим), відповідно, протягом трьох, двох та одного місяців. Під час проведення ОТТГ у кролів, які перебували два місяці в умовах ЦО, зареєстровано тенденцію до підвищення глікемії через 120 хв після навантаження відносно базального рівня ($4,71 \pm 0,23$ проти $4,12 \pm 0,11$ ммоль/л; $0,05 < p < 0,1$), що вказує на зміни у гомеостазі глюкози у тварин за даних умов. Після подальшого утримання кролів за ПСР протягом трьох місяців дані зміни не було виявлено ($4,38 \pm 0,12$ проти $4,08 \pm 0,06$ ммоль/л). У тварин, яких утримували в умовах ЦО три місяці та два місяці за ПСР, глікемія через 120 та 180 хв після навантаження перевищувала базальний рівень ($5,19 \pm 0,13$ та $4,78 \pm 0,11$ ммоль/л проти $3,99 \pm 0,09$ ммоль/л; $p < 0,001$), що свідчить про збереження порушення толерантності до глюкози. Аналогічні зміни глікемії (ОТТГ) були виявлені в кролів після утримання в умовах ЦО протягом чотирьох місяців та відновлення ПСР впродовж одного місяця.

Таким чином, відновлення ПСР у кролів на етапі диспінеалізму (через два місяці ЦО) усуває зміни гомеостазу глюкози, а на етапі гіпопінеалізму (через три-чотири місяці ЦО) – зменшує виразність гіперглікемії під час ОТТГ.

Вплив курсового введення мелатоніну на добові ритми показників основних складових метаболічного синдрому, індукованого гіпопінеалізмом внаслідок цілодобового освітлення, в кролів. Компенсація дефіциту мелатоніну не впливала на рівень інсуліну в сироватці крові вдень у кролів із МС та гіпопінеалізмом (табл. 5).

Таблиця 5

Вплив екзогенного мелатоніну на добовий ритм концентрації інсуліну в сироватці крові в кролів із метаболічним синдромом, індукованим гіпопінеалізмом, (пмоль/л), ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Умова досліджу	Пора доби	
	день	ніч
Контроль (n = 11)	$105,37 \pm 14,46$	$62,84 \pm 7,49^*$
ЦО 5 місяців (n = 6)	$131,10 \pm 15,93$	$133,10 \pm 16,30^\#$
ЦО 5 місяців + ін'єкції мелатоніну (n = 8)	$128,30 \pm 11,86$	$93,60 \pm 9,73^{*\#}\blacktriangledown$

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з показником удень; # – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у контролі; \blacktriangledown – $p < 0,05$ порівняно з відповідним показником у ЦО 5 місяців.

Екзогенний мелатонін викликав зниження рівня інсуліну в сироватці крові вночі в кролів із МС на 29,7 % відносно показника, визначеного у тварин одразу після завершення ЦО, проте він залишався вищим за контрольну величину на 48,9 %. Внаслідок гормональної терапії виявлено відновлення циркадного ритму інсулінемії в кролів із МС, індукованим гіпопінеалізмом, але за більш високих рівнів гормону.

Курс ін'єкцій мелатоніну не впливав на нормальний показник рівня глюкози в сироватці крові вдень у кролів із МС за умови гіпопінеалізму (табл. 6).

Таблиця 6

Вплив екзогенного мелатоніну на добовий ритм концентрації глюкози в сироватці крові в кролів із метаболічним синдромом, індукованим гіпопінеалізмом, (ммоль/л), ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Умова досліджу	Пора доби	
	день	ніч
Контроль ($n = 10$)	$5,56 \pm 0,08$	$4,16 \pm 0,17^{**}$
ЦО 5 місяців ($n = 10$)	$5,73 \pm 0,21$	$6,17 \pm 0,21^{\#}$
ЦО 5 місяців + ін'єкції мелатоніну ($n = 10$)	$5,42 \pm 0,12$	$4,80 \pm 0,13^{*\#}\blacktriangledown$

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ порівняно з показником удень; # – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у контролі; \blacktriangledown – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у ЦО 5 місяців.

Внаслідок терапії мелатоніном рівень глюкози в сироватці крові у кролів із МС вночі знижувався на 22,2 %. Одержані дані свідчать про відновлення добового ритму глікемії в кролів із МС та гіпопінеалізмом після надходження екзогенного мелатоніну.

Курс ін'єкцій мелатоніну викликав зниження НОМА-IR в кролів із МС на тлі гіпопінеалізму, індукованого ЦО протягом п'яти місяців, з ($5,4 \pm 0,5$) ум. од. до ($3,9 \pm 0,4$) ум. од. ($p < 0,05$), що вказує на покращення чутливості периферичних тканин до інсуліну.

Одержані дані узгоджуються з результатами досліджень ефекту мелатоніну на гомеостаз глюкози за умови МС [Kitagawa A. et al., 2012; Cardinali D. P. et al., 2013]. Механізм впливу індоламіну на глікемію може бути пов'язаний зі здатністю гормону посилювати експресію транспортерів глюкози та активність IRS-1/PI-3-K каскаду в клітинах скелетних м'язів та гіпоталамуса [Anhe G. F. et al., 2004; Ha E. et al., 2006; Vazwinsky-Wutschke I. et al., 2014]. Безпосередній вплив гормону на інсулін-залежний транспорт глюкози, ймовірно, є домінуючим, оскільки відомо, що мелатонін здійснює супресивний ефект на секрецію інсуліну β -клітинами [Peschke E. et al., 2010].

Таким чином, курс ін'єкцій мелатоніну на тлі відновлення природного циклу світло/темрява сприяє регенерації добового ритму глікемії та інсулінемії, знижує інсулінорезистентність в кролів із МС, індукованим гіпопінеалізмом.

Терапія мелатоніном не викликала змін маси тіла у кролів із МС, індукованим гіпопінеалізмом, але сприяла зниженню абсолютної та відносної маси абдомінально-вісцерального жиру на 24,0 та 23,5 %, відповідно, відносно показників, визначених у тварин після утримання в умовах ЦО протягом п'яти місяців (табл. 7).

Таблиця 7

Вплив екзогенного мелатоніну на загальну масу тіла, абсолютну та відносну масу абдомінально-вісцерального жиру в кролів із метаболічним синдромом, індукованим гіпопінеалізмом, ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Умова досліджу	Маса тіла, кг	Маса абдомінально-вісцерального жиру	
		абсолютна, г	відносна, г/кг
Контроль ($n = 9$)	$3,7 \pm 0,1$	$81,3 \pm 3,7$	$22,1 \pm 0,8$
ЦО 5 місяців ($n = 5$)	$4,0 \pm 0,2$	$168,0 \pm 15,0^{\#}$	$42,2 \pm 2,1^{\#}$
ЦО 5 місяців + ін'єкції мелатоніну ($n = 8$)	$4,0 \pm 0,1$	$127,7 \pm 11,6^{\#\nabla}$	$32,3 \pm 1,9^{\#\nabla}$

Примітка: # – $p < 0,001$ порівняно з контролем; ∇ – $p < 0,05$ порівняно з ЦО 5 місяців.

Екзогенний мелатонін сприяв зниженню рівня лептину в крові вранці та вдень у кролів із МС та гіпопінеалізмом на 26,5 та 24,8 % відносно показників, визначених у тварин після завершення ЦО, проте ввечері та вночі він залишався незмінним (табл. 8).

Таблиця 8

Вплив екзогенного мелатоніну на добовий ритм концентрації лептину в сироватці крові в кролів із метаболічним синдромом, індукованим гіпопінеалізмом, (нг/мл), ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Умова досліджу	Пора доби			
	ранок	день	вечір	ніч
Контроль ($n = 15$)	$1,37 \pm 0,14^{**}$	$1,09 \pm 0,11^{**}$	$2,11 \pm 0,11$	$2,12 \pm 0,07$
ЦО 5 місяців ($n = 6$)	$2,75 \pm 0,28^{\#\#}$	$2,38 \pm 0,24^{\#\#}$	$2,90 \pm 0,29^{\#}$	$3,17 \pm 0,28^{\#\#}$
ЦО 5 місяців + ін'єкції мелатоніну ($n = 8$)	$2,02 \pm 0,12^{*\#\#\nabla}$	$1,79 \pm 0,07^{*\#\#\nabla}$	$2,70 \pm 0,16^{\#}$	$2,79 \pm 0,16^{\#\#}$

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ порівняно з показником уночі; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у контролі; ∇ – $p < 0,05$ порівняно з відповідним показником у ЦО 5 місяців.

Під впливом індоламіну виявлено відновлення добового ритму рівня лептину в крові в кролів із МС за умови гіпопінеалізму, але за більш високої концентрації гормону. Одержані дані узгоджуються з результатами досліджень впливу мелатоніну на накопичення абдомінально-вісцерального жиру в щурів [Raskind M. et al., 2007; Rios-Lugo M. J. et al., 2010]. Припускається, що індоламін залучений до регуляції маси тіла за допомогою ідентифікованих у жировій тканині мембранних рецепторів MT_1 [Brydon L. et al., 2001] і здатен гальмувати диференціацію адипоцитів та гіпертрофію жирової тканини [Alonso-Vale M. I. et al., 2009].

Таким чином, введення мелатоніну кролям із МС, індукованим гіпопінеалізмом, сприяє зменшенню накопичення абдомінально-вісцеральної жиру, відновлює добовий ритм гормональної активності жирової тканини, але за більш високих рівнів гормону.

Дані вивчення впливу екзогенного мелатоніну на АГ із добовим ритмом САТ типу «non-dipper» у кролів за умови МС, індукованого гіпопінеалізмом, свідчать про зниження рівня САТ уранці, вдень, увечері та вночі відносно величин, визначених до проведення гормональної терапії, на 11,3; 14,0; 14,9 та 13,4 %, відповідно (табл. 9).

Таблиця 9

Вплив екзогенного мелатоніну на добовий ритм систолічного артеріального тиску в кролів із метаболічним синдромом, індукованим гіпопінеалізмом, (мм рт. ст.), ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Умова досліджу	Пора доби			
	ранок	день	вечір	ніч
Контроль ($n = 9$)	$50,2 \pm 0,7$	$50,6 \pm 0,9$	$45,9 \pm 0,9^*$	$44,3 \pm 0,6^{**}$
ЦО 5 місяців ($n = 10$)	$57,5 \pm 0,8^{\#}$	$60,1 \pm 1,1^{\#}$	$59,7 \pm 1,0^{\#}$	$56,7 \pm 0,5^{\#}$
ЦО 5 місяців + ін'єкції мелатоніну ($n = 10$)	$51,0 \pm 0,3^{\blacktriangledown}$	$51,7 \pm 0,5^{\blacktriangledown}$	$50,8 \pm 0,5^{\#\blacktriangledown}$	$49,1 \pm 0,8^{\#\blacktriangledown}$

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ порівняно з показником уранці; # – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у контролі; \blacktriangledown – $p < 0,001$ порівняно з відповідним показником у ЦО 5 місяців.

Визначений антигіпертензивний ефект мелатоніну в кролів із МС на тлі гіпопінеалізму узгоджується з даними, отриманими на інших моделях МС [Leibowitz A. et al., 2008; Li H. L. et al., 2009], а також із результатами досліджень за участю пацієнтів із есенціальною АГ [Cagnacci A. et al., 2005; Scheer F. A. et al., 2004]. Мелатонін віднесено до лікарських засобів, рекомендованих за наявності АГ [Коркушко О. В. та співавт., 2010]. Пріоритетними в даній роботі слід вважати хронобіологічні аспекти впливу мелатоніну на рівень САТ.

Таким чином, компенсація дефіциту мелатоніну в кролів із МС, індукованим гіпопінеалізмом, знижує САТ протягом доби, але не відновлює його циркадний ритм.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі доведено, що гіпопінеалізм, індукований цілодобовим освітленням, викликає розвиток основних складових метаболічного синдрому: інсулінорезистентності/гіперінсулінемії, абдомінального ожиріння та артеріальної гіпертензії. Визначено, що ефективним способом корекції проявів синдрому інсулінорезистентності на етапі диспінеалізму є відновлення природного світлового режиму, а на етапі гіпопінеалізму – курсове введення мелатоніну за умови поновлення природного циклу світло/темрява.

1. За наявності метаболічного синдрому, що розвивається на тлі гіпопінеалізму, відбуваються порушення циркадного ритму концентрації інсуліну та глюкози в крові, що слід розцінювати як важливу складову в патогенезі даного захворювання. Підвищення рівня глюкози в сироватці крові на різних етапах розвитку метаболічного синдрому за умови гіпопінеалізму зафіксовано саме вночі, тому нічне визначення даного показника може бути використане для раннього виявлення порушень обміну вуглеводів.

2. Тривале перебування в нічні часи в умовах освітлення навіть невеликої інтенсивності слід розглядати як фактор ризику розвитку абдомінально-вісцерального ожиріння – однієї із складових метаболічного синдрому. Концентрація лептину в сироватці крові по мірі формування та прогресування метаболічного синдрому на тлі гіпопінеалізму змінюється неоднозначно, а саме: через три місяці цілодобового освітлення в піддослідних тварин розвивається гіперлептинемія, яка надалі (через п'ять місяців цілодобової світлової експозиції) доповнюється лептинорезистентністю, коли на тлі прогресуючої втрати маси абдомінально-вісцерального жиру рівень лептину продовжує підвищуватись.

3. В процесі формування метаболічного синдрому за наявності гіпопінеалізму розвивається артеріальна гіпертензія з типом добового ритму артеріального тиску, за якого не спостерігається зниження тиску вночі (тип «non-dipper»). Проведення добового моніторингу артеріального тиску дає можливість виявити артеріальну гіпертензію на ранніх етапах її розвитку.

4. Виразність терапевтичного ефекту відновлення природного світлового режиму у тварин із метаболічним синдромом на тлі мелатонінової недостатності на глюкозний гомеостаз та рівень артеріального тиску визначається тривалістю попередньої цілодобової світлової експозиції: поновлення природного циклу світло/темрява на етапі диспінеалізму (через два місяці цілодобового освітлення) нормалізує глюкозний гомеостаз та не впливає на рівень артеріального тиску, а на етапі гіпопінеалізму – зменшує виразність гіперглікемії під час орального тесту толерантності до глюкози та знижує рівень артеріального тиску, проте не до норми.

5. Застосування замісної терапії мелатоніном у кролів із метаболічним синдромом, індукованим гіпопінеалізмом, відновлює добовий ритм концентрації глюкози та інсуліну в крові, послаблює інтолерантність до глюкози внаслідок відновлення чутливості тканин до інсуліну, усуває патологічні зміни в структурі функціонально активних панкреатичних β -клітин. Водночас, курсове введення мелатоніну сприяє зменшенню накопичення абдомінально-вісцерального жиру, зниженню рівня лептину в сироватці крові (хоча й не до норми), а також відновлює добовий ритм останнього. Мелатонін виявляє виражену антигіпертензивну дію за умови метаболічного синдрому на тлі гіпопінеалізму, проте не відновлює фізіологічний добовий ритм артеріального тиску.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Длительное круглосуточное освещение как фактор ускоренного старения и преждевременной смерти [Текст] / Л. А. Бондаренко, Л. Ю. Сергиенко, А. Р. Геворкян, Н. Н. Сотник, В. А. Козак, А. Н. Черевко, Т. В. Мищенко, Ю. И. Оксюта // «Световой режим, старение и рак»: материалы II Российского симпозиума с междунар. участием, Петрозаводск, 17–19 окт. 2013 г. – Петрозаводск, 2013. – С. 18–26.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні гормональних, біохімічних та фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

2. Бондаренко, Л. А. Влияние восстановления естественного светового режима на показатели артериального давления у кроликов с гипопинеализмом, индуцированным длительным круглосуточным освещением [Текст] / Л. А. Бондаренко, Т. В. Мищенко // Фотобіологія та фотомедицина. – 2014. – № 1, 2. – С. 54–58.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

3. Динаміка структурних змін підшлункової залози при тривалому експериментально індукованому гіпопінєалізмі [Текст] / Л. О. Бондаренко, Л. Ю. Сергієнко, Г. М. Черевко, Т. В. Міщенко // Проблеми ендокринної патології. – 2014. – № 2. – С. 57–64.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, заборі біологічного матеріалу та оформленні результатів досліджень у вигляді статті).

4. Особенности змін добового ритму циркуляторних рівнів інсуліну та глюкози за метаболічного синдрому, індукованого експериментальним гіпопінєалізмом [Текст] / Т. В. Міщенко, О. І. Гладких, В. В. Полторац, Л. О. Бондаренко // Проблеми ендокринної патології. – 2015. – № 1. – С. 73–79.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, заборі біологічного матеріалу, проводив гормональні та біохімічні дослідження, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, брав участь у обговоренні результатів досліджень, оформлював одержані дані у вигляді статті).

5. Бондаренко, Л. А. Динамика изменений суточного ритма артериального давления при гипопинеализме [Текст] / Л. А. Бондаренко, Т. В. Мищенко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2015. – Т. 59, № 1. – С. 46–49.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних та оформлював результати досліджень у вигляді статті).

6. Бондаренко, Л. О. Гіпопінєалізм, абдомінальне ожиріння та лептин: хронобіологічні аспекти [Текст] / Л. О. Бондаренко, Н. М. Сотник, Т. В. Міщенко // Проблеми ендокринної патології. – 2015. – № 2. – С. 85–93.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні гормональних та фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

7. Гіпопінеалізм як чинник розвитку метаболічного синдрому [Текст] / Т. В. Міщенко, О. І. Гладких, В. В. Полторака, Л. О. Бондаренко // Ендокринологія. – 2015. – Т. 20, № 2. – С. 494–500.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, заборі біологічного матеріалу, проводив гормональні, біохімічні та фізіологічні дослідження, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, брав участь у обговоренні результатів досліджень, оформлював одержані дані у вигляді статті).

8. Хронобіологічні аспекти впливу мелатоніну на окремі складові метаболічного синдрому при гіпопінеалізмі [Текст] / Л. О. Бондаренко, Т. В. Міщенко, В. В. Полторака, Н. М. Сотник // Проблеми ендокринної патології. – 2015. – № 3. – С. 85–93.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні гормональних, біохімічних та фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, оформлював результати досліджень у вигляді статті).

9. Пат. 83426 UA, МПК А61В 5/022, G01L 7/02 (2006.01). Пристрій для вимірювання артеріального тиску у кролів [Текст] / Т. В. Міщенко, Л. О. Бондаренко (UA) ; заявник і патентовласник ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (UA). – № u 201303285 ; заявл. 18.03.13 ; опубл. 10.09.13, Бюл. №17. – 4 с.

(Дисертант брав участь у створенні пристрою).

10. Пат. 86828 UA, МПК G09В 23/28, А61В 5/02 (2006.01). Спосіб моделювання артеріальної гіпертензії за типом «NON-DIPPER» у кролів [Текст] / Л. О. Бондаренко, Т. В. Міщенко (UA) ; заявник і патентовласник ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (UA). – № u 201309255 ; заявл. 23.07.13 ; опубл. 10.01.14, Бюл. №1. – 4 с.

(Дисертант брав участь у проведенні фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних).

11. Бондаренко, Л. О. Добові особливості змін артеріального тиску у кролів із гіпопінеалізмом, індукованим тривалим цілодобовим освітленням [Текст] / Л. О. Бондаренко, Т. В. Міщенко // «Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології» (Дванадцяті Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 14-15 берез. 2013 р. – X., 2013. – С. 23–25.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, оформлював результати досліджень у вигляді тез доповіді).

12. Гіпопінеалізм як фактор, що провокує розвиток метаболічного синдрому [Текст] / Т. В. Міщенко, О. І. Гладких, В. В. Полторака, Л. О. Бондаренко // «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (Тринадцяті Данилевські читання) : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків 13–14 берез. 2014 р. – X., 2014. – С. 107–108.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, заборі біологічного матеріалу, проводив гормональні, біохімічні та фізіологічні дослідження, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, брав участь у обговоренні результатів досліджень, оформлював одержані дані у вигляді тез доповіді).

13. Бондаренко, Л. О. Динаміка змін добових ритмів концентрації лептину в крові у кролів із гіпопінеалізмом, індукованим тривалим цілодобовим освітленням [Текст] / Л. О. Бондаренко, Н. М. Сотник, Т. В. Міщенко // «Ендокринна патологія у віковому аспекті» : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків 27–28 листоп. 2014 р. – Х., 2014. – С. 19–20.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні гормональних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, оформлював результати досліджень у вигляді тез доповіді).

14. Міщенко, Т. В. Особливості змін добового ритму артеріального тиску у кролів при гіпопінеалізмі, індукованому тривалим цілодобовим освітленням [Текст] / Т. В. Міщенко, Л. О. Бондаренко // Фізіологічний журнал. – 2014. – Т.60, № 3. – С. 141.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, оформлював результати досліджень у вигляді тез доповіді).

15. Бондаренко, Л. О. Динаміка змін ступеня абдомінального ожиріння та концентрації лептину в крові при метаболічному синдромі, що розвивається на тлі гіпопінеалізму [Текст] / Л. О. Бондаренко, Н. М. Сотник, Т. В. Міщенко // Ендокринологія. – 2014. – Т. 19, № 4. – С. 278.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, проведенні гормональних та фізіологічних досліджень, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, оформлював результати досліджень у вигляді тез доповіді).

16. Роль змін добового ритму циркуляторних рівнів інсуліну і глюкози в розвитку інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози як складових метаболічного синдрому за умови гіпопінеалізму [Текст] / Т. В. Міщенко, О. І. Гладких, В. В. Полторак, Л. О. Бондаренко // «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (Чотирнадцяті Данилевські читання) : матеріали наук. практ конф. з міжнар. участю, Харків 2-3 берез. 2015 р. – Х., 2015. – С. 114–116.

(Дисертант брав участь у постановці модельного експерименту, заборі біологічного матеріалу, проводив гормональні та біохімічні дослідження, здійснював статистичний аналіз одержаних даних, брав участь у обговоренні результатів досліджень, оформлював одержані дані у вигляді тез доповіді).

АНОТАЦІЯ

Міщенко Т. В. Хронобіологічні аспекти розвитку метаболічного синдрому при гіпопінеалізмі. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.14 – ендокринологія. – Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка Національної академії медичних наук України», Київ, 2016.

Дисертаційна робота присвячена вивченню динаміки добових (циркадних) ритмів показників основних складових метаболічного синдрому на тлі гіпопінеалізму, індукованого в кролів тривалим цілодобовим освітленням, та дослідженню можливості корекції проявів синдрому інсулінорезистентності шляхом відновлення природного

світлового режиму на різних етапах розвитку патології окремо або в поєднанні з курсовим введенням мелатоніну.

Встановлено, що розвиток метаболічного синдрому на тлі гіпопінеалізму в кролів супроводжується порушенням добового ритму глікемії (інверсія, що змінюється нівелюванням) та нівелюванням циркадного ритму інсулінемії, що відіграє важливу роль у розвитку інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози за даних умов. Формування абдомінально-вісцерального ожиріння за умови гіпопінеалізму, відбувається на тлі відсутності добового ритму рівня лептину в крові та гіперлептинемії. Визначено, що на тлі гіпопінеалізму розвивається артеріальна гіпертензія із добовим ритмом артеріального тиску типу «non-dipper». Отримані в хронобіологічному експерименті дані обґрунтовують доцільності проведення добового моніторингу показників основних складових метаболічного синдрому за умови гіпопінеалізму з метою ранньої діагностики патології. Відновлення природного світлового режиму на етапі диспінеалізму (через два місяці цілодобового освітлення) нормалізує порушення глюкозного гомеостазу та не впливає на рівень артеріального тиску. Курсове введення мелатоніну за умови метаболічного синдрому, індукованого гіпопінеалізмом, відновлює добовий ритм глікемії та інсулінемії, послаблює інсулінорезистентність, зменшує масу абдомінально-вісцерального жиру, відновлює добовий ритм рівня лептину в крові. Екзогенний мелатонін виявляє антигіпертензивну дію за умови метаболічного синдрому на тлі гіпопінеалізму, але не відновлює фізіологічний добовий ритм артеріального тиску.

Ключові слова: гіпопінеалізм, мелатонін, інсулінорезистентність, абдомінально-вісцеральне ожиріння, артеріальна гіпертензія, інсулін, глюкоза, лептин, систолічний артеріальний тиск, добовий ритм.

АННОТАЦІЯ

Мищенко Т. В. Хронобиологические аспекты развития метаболического синдрома при гипопинеализме. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.14 – эндокринология. – Государственное учреждение «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комисаренко Национальной академии медицинских наук Украины», Киев, 2016.

Диссертационная работа посвящена изучению динамики суточных (циркадных) ритмов показателей основных составляющих метаболического синдрома на фоне гипопинеализма, индуцированного у кроликов длительным круглосуточным освещением, а также исследованию возможности коррекции проявлений синдрома инсулинорезистентности путем восстановления естественного светового режима на разных этапах развития патологии отдельно или в сочетании с курсовым введением мелатонина.

При гипопинеализме, индуцированном длительной круглосуточной световой экспозицией, происходит инверсия суточного ритма концентрации глюкозы в сыворотке крови (через два месяца круглосуточного освещения), которую сменяет нивелирование циркадного ритма данного параметра (через три-пять месяцев круглосуточного освещения). Повышение концентрации глюкозы в крови на разных этапах развития метаболического синдрома при гипопинеализме зафиксировано

именно ночью. На фоне развития гипопинеализма происходит нивелирование суточного ритма инсулинемии у кроликов. Установлено, что при МС, индуцированном гипопинеализмом, постепенно развиваются патологические морфофункциональные изменения эндокринной части поджелудочной железы, которые характеризуются прогрессирующей во времени утратой β -клеток островков Лангерганса и цитологическими признаками чрезвычайного перенапряжения инсулинопродуцирующих клеток, которые являются еще морфологически неповрежденными. Предполагается, что данные изменения лежат в основе манифестации инсулинорезистентности и нарушения толерантности к глюкозе при гипопинеализме. Развитие абдоминально-висцерального ожирения в качестве составляющей метаболического синдрома при гипопинеализме характеризуется пиком накопления жировой ткани данной локализации через три месяца круглосуточного освещения. Установлено, что в формировании абдоминально-висцерального ожирения важную роль играет нивелирование суточного ритма концентрации лептина в крови, сопровождающееся гиперлептинемией в течение суток. Усиление гиперлептинемии было зарегистрировано параллельно увеличению продолжительности круглосуточной световой экспозиции. Установлено, что развитие артериальной гипертензии при гипопинеализме характеризуется нарушением циркадного ритма артериального давления, при котором не происходит снижения давления ночью (тип «non-dipper»). Выявление артериальной гипертензии на раннем этапе ее развития в качестве составляющей метаболического синдрома на фоне дефицита мелатонина в организме может быть осуществлено лишь при проведении суточного мониторинга артериального давления.

Восстановление естественной смены дня и ночи на этапе диспинеализма (через два месяца круглосуточного освещения) способствует нормализации глюкозного гомеостаза и не оказывает влияния на уровень артериального давления. Восстановление цикла свет/темнота на этапе гипопинеализма (через три-четыре месяца круглосуточного освещения) снижет выраженность гипергликемии во время орального теста толерантности к глюкозе и уровень артериального давления, но не до нормы.

Курсовое введение мелатонина на фоне восстановления естественного светового режима способствует регенерации циркадного ритма концентрации глюкозы и инсулина в сыворотке крови, снижает проявления инсулино-резистентности, улучшает толерантность к глюкозе, способствует нормализации структуры эндокринной части поджелудочной железы у кроликов с метаболическим синдромом, индуцированным гипопинеализмом. Компенсация дефицита мелатонина способствует уменьшению накопления абдоминально-висцерального жира при метаболическом синдроме, развивающемся на фоне гипопинеализма. Последнее сопровождается восстановлением суточного ритма концентрации лептина в крови, однако при более высоких показателях уровня гормона. Экзогенный мелатонин оказывает антигипертензивный эффект в течение суток, но не восстанавливает физиологический циркадный ритм систолического артериального давления при метаболическом синдроме на фоне гипопинеализма.

Ключевые слова: гипопинеализм, мелатонин, инсулинорезистентность, абдоминально-висцеральное ожирение, артериальная гипертензия, инсулин, глюкоза, лептин, систолическое артериальное давление, суточный ритм.

SUMMARY

Mishchenko T. V. Chronobiological aspects of metabolic syndrome development in hypopinealism. – Manuscript.

Thesis for the Degree of Candidate of Biological Sciences, speciality 14.01.14 – endocrinology. – State Institution «V. P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, 2016.

The dissertation is devoted to study of daily dynamics (circadian) rhythms of the parameters metabolic syndrome main components on the background of hypopinealism, induced by long day-and-night lighting, and opportunities their correction by restoring natural light regime at different stages of the pathology development alone or in combination with injection of exogenous melatonin.

It was established, that metabolic syndrome development on the background of hypopinealism accompanied by disturbances of circadian rhythm of glucose in serum (inversion, which replaced by leveling) and leveling of circadian rhythm of insulin in serum. It was assumed, that these changes underlie in the development of insulin resistance and impaired glucose tolerance under these conditions. Induced by hypopinealism formation of abdominal-visceral obesity occurs on the background of leveling of circadian rhythm of leptin in serum and hyperleptinemia. It was established, that in hypopinealism develops arterial hypertension with daily rhythm of blood pressure type «non-dipper». In the early stages of metabolic syndrome development revealed disturbances occur only at night. The obtained data in chronobiological experiment, should be seen as a theoretical foundation for conducting daily monitoring of indicators of key components metabolic syndrome for early diagnostics of the pathology. Restoration of natural light regime normalizes glucose homeostasis and doesn't change blood pressure at the hypopinealism stage (after two months day-and-night lighting). It was established, that chronic exogenous melatonin administration induces restoration of circadian rhythms of insulin and glucose in serum, decreases of insulin resistance, reduces abdominal-visceral fat weight, recovers leptin circadian rhythms in the serum. It was also revealed antihypertensive effect of exogenous melatonin, but this intervention doesn't restore physiological circadian rhythm of systolic blood pressure in metabolic syndrome induced by hypopinealism.

Key words: hypopinealism, melatonin, insulin resistance, abdominal-visceral obesity, arterial hypertension, insulin, glucose, leptin, systolic blood pressure, circadian rhythm.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АГ	– артеріальна гіпертензія
ІР	– інсулінорезистентність
МС	– метаболічний синдром
м.т.	– маса тіла
ОТТГ	– оральний тест толерантності до глюкози
ПСР	– природний світловий режим
САТ	– систолічний артеріальний тиск
ССЗ	– серцево-судинні захворювання
ум. од.	– умовні одиниці
ЦД 2	– цукровий діабет 2 типу
ЦО	– цілодобове освітлення
НОМА-ІР	– (Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance) індекс інсулінорезистентності
НОМА-% β	– індекс функції β -клітин
ІRS-1	– субстрат інсулінового рецептору-1
PI-3-K	– фосфатидилінозитол-3-кіназа