

УДК 612.826.33.017.2:612.67.017.1

О. І. ЗахарчукБуковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ ШИШКОПОДІБНОГО
ТІЛА ТА ХРОНОСТРУКТУРИ ПОКАЗНИКІВ
НЕСПЕЦИФІЧНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ
СТАРІННІ****Ключові слова:** неспецифічна
адаптація, шишкоподібне тіло,
старіння, хроноритми, епіфізекто-
мія, ссавці, мелатонін.**Резюме.** Досліджено біоритмологічний профіль показників
неспецифічної імунологічної адаптації організму після видалення
шишкоподібного тіла в старих щурів. Отримані результати
дозволяють висловити припущення щодо прямого впливу шишко-
подібного тіла на циркадіанні та сезонні ритми показників
неспецифічного імунітету в ссавців. Уведення екзогенного
мелатоніну нівелювало порушення архітектоники хроноритмів,
що були змінені внаслідок процесів старіння.**Вступ**

Шишкоподібне тіло (епіфіз) відіграє важливу роль в синхронізації циркадіанної ендокринної активності. Наукові дослідження останніх років досить глибоко торкаються ролі шишкоподібного тіла в нейроендокринній регуляції функцій організму [1,2,3,4,12] та вивчення участі епіфіза в розвитку загального адаптаційного синдрому [1,3]. Пінеальна залоза є одним з основних осциляторів [7,12] в регуляції хронобіологічних процесів організму [1, 3, 4]. При старінні поступово згасають циркадіанні й сезонні коливання показників життєдіяльності організму [5,6], знижується продукція та секреція епіфізом мелатоніну, зменшуються добові коливання рівня мелатоніну в плазмі крові [13, 14, 15, 16], що призводить до розвитку різноманітних патологічних станів унаслідок підвищення реактивності симпатико-адреналової, гіпофізарно-адреналової та серцево-судинної систем. Відновлення ж концентрації мелатоніну підвищує стійкість систем організму до стресорного впливу [5,6].

Відомий позитивний вплив мелатоніну на нейроендокринну регуляцію та його антиоксидантна дія [11]. Знижуючи активність гіпоталамо-гіпофізарної та симпатико-адреналової систем, мелатонін гальмує розвиток стрес-реакції [10].

Останні дослідження вказують на роль шишкоподібного тіла як центрального біологічного годинника при старінні [8], а введення мелатоніну в фармакологічних дозах може сповільнити розвиток старіння [5,6,7]. Доведений стимулюючий вплив мелатоніну на імуноструктурний гомеостаз [9]. Вивчені сезонні коливання деяких показників неспецифічної імунологічної адаптації. Поряд з тим, в літературі відсутні дані щодо ролі шишкоподібного тіла в регуляції сезонних змін циркадіанних ритмів показників неспецифічної імунологічної адаптації організму. Потребують більш досконалого вивчення геронтологічні аспекти циркаді-

© О. І. Захарчук, 2012

анних та сезонних ритмів імуноструктурного гомеостазу, у стадії розробки знаходяться дослідження механізмів впливу зміненого освітлення на функції системи неспецифічного імунітету організму.

Мета дослідження

Вивчити вплив епіфізектомії на динаміку циркадіанних і сезонних ритмів показників неспецифічної імунологічної адаптації організму та виявити характер впливу шишкоподібного тіла на ритмостаз показників природного неспецифічного імунітету при старінні організму.

Матеріал і методи

Дослідження проведені на 140 білих лабораторних щурах-самцях лінії Wistar двох вікових груп: статевозрілих (дорослих) - віком 12-15 міс масою 140-200 г та старих - віком 24 міс і більше масою 250 г і більше. Щури утримувалися у віварії при сталій температурі та штучному освітленні. Світлий період продовжувався з 08.00 год ранку до 20.00 год вечора, а темновий - з 20.00 год вечора до 06.00 год ранку. Контрольну групу склали інтактні та псевдооперовані щури. В епіфізектомованих тварин дослідження проводили на 15-20 добу після видалення пінеальної залози. Епіфізектомію проводили за Y.Kitay і M.Altshule (1954) в модифікації В.П. Пішака (1974).

Кров забирали через 6-годинні інтервали: о 09.00, 15.00, 21.00 та 03.00 годині. Для вивчення сезонного ритму досліди проводили впродовж двох років навесні (квітень, травень), влітку (липень, серпень), восени (жовтень, листопад) та взимку (січень, лютий). Вплив зміненого освітлення вивчали шляхом утримування тварин за умов регульованого світлового режиму: 72 год – темрява та 72 год - світло.

Вивчали показники неспецифічної імунологічної адаптації: активність сироваткового комплекменту, яку визначали фотометричним методом за

50 % гемолізом (од/мл), концентрацію сироваткового лізоциму (мкг/мл) визначали турбодиметричним методом за Перрі в модифікації Грант (1983), загальну кількість лейкоцитів (10^9 /л) периферичної крові визначали за А.Я.Альтгаузенем (1964), НСТ-тест (%) визначали за С.У.Пастером (1989), мієлопероксидазну активність нейтрофілів (од) досліджували за методом Т.Попова і Л.Нейковської (1971), рівень глікогену (од) в лейкоцитах визначали за І.Тодоровим (1966), фагоцитарну активність (%) і фагоцитарний індекс (од) поліморфноядерних лейкоцитів вивчали в присутності об'єкта фагоцитозу (жива добова культура стафілококу) (Э.У.Пастер и соавт., 1989).

Результати, отримані в ході експериментальних досліджень, математично проаналізовані з визначенням середнього значення, стандартного відхилення від середнього значення, вірогідності різниць між середніми величинами.

Обговорення результатів дослідження

Наші дослідження вказують на наявність ритміки системи комплементу та зниження його внаслідок епіфізектомії. Циркадіанний ритм активності сироваткового комплементу залежить не тільки від віку тварин та цілісності шишкоподібного тіла, але й від пори року. Система комплементу, як один із показників неспецифічної адаптації, тісно пов'язана з функціонуванням імунної системи, має вагому залежність від пінеальної регуляції, про що свідчать середньодобові та середньорічні показники.

Уміст сироваткового лізоциму в дорослих щурів після пінеалектомії зменшувався, у старих - зростав, також спостерігалася нівелювання циркадіанного ритму. Сезонний ритм унаслідок видалення пінеальної залози змінювався: у старих щурів мініфаза зміщувалася на осінь. Уведення мелатоніну супроводжувалося зростанням вмісту лізоциму в контрольних групах дорослих і старих щурів, а у епіфізектомованих дорослих - зменшенням рівня показника. Слід вказати на суттєву роль лізоциму, вміст якого зростав при старінні, що є компенсаторним механізмом, направленим на активацію ферментативної активності фагоцитів, і, насамперед, лізосомального ферменту - муромідази, що руйнує стінки бактерій.

Після пінеалектомії спостерігалася лейкопенія, як у дорослих, так і у старих щурів. Зменшувалася фазність циркадіанного ритму, зміщувалися акрофаза і мініфаза. Показник кількості лейкоцитів не є достеменно інформативним щодо дії мелатоніну та зміненого освітлення, однак динаміка та ритмостаз змінювалися, що співпадає з літературними даними [1,4].

Як і кількість лейкоцитів, НСТ-тест залишався істотно не зміненим при перебуванні тварин за умов тривалої темряви. За даних умов не спосте-

рігалася впливу мелатоніну. НСТ-тест характеризує активацію метаболізму нейтрофілів і, насамперед, функцію гексозомонофосфатного шунта та пов'язаний з ним синтез вільних радикалів, необхідних для успішного здійснення фагоцитозу. В наших досліджах мала місце тенденція до зміни цього показника з віком та порушення циркадіанної ритміки. Це дало змогу передбачити можливість залежності ритмостазу та динаміки показників фагоцитозу від пінеальних факторів.

Циркадіанний ритм вмісту глікогену в нейтрофілах у статевозрілих щурів після епіфізектомії суттєвих відмінностей не мав, а в старих - вірогідно знижувався та згладжувалася амплітуда коливань у тварин з видаленим шишкоподібним тілом. Уведення мелатоніну супроводжувалося зростанням вмісту глікогену в пінеалектомованих дорослих і старих щурів. Низький вміст глікогену в піддослідних тварин свідчить про недостатню енергозабезпеченість нейтрофілів, як основного ланцюга у функціонуванні системи неспецифічної імунологічної адаптації організму, і про можливі відхилення в роботі системи неспецифічного захисту, що є особливо характерним при старінні.

Важливими моментами є бактерицидні властивості нейтрофілів периферичної крові та руйнування пероксиду водню, що зумовлено мієлопероксидазною активністю. Циркадіанний ритм активності мієлопероксидази характеризувався мініфазою в ранковий час у всіх трьох групах старих щурів. Низька активність мієлопероксидази нормалізувалася під впливом мелатоніну за умов звичайного фотоперіоду, тривалої темряви та постійного освітлення.

Експериментальні дані вказують, що в результаті пінеалектомії зазнають змін показники вмісту глікогену, рівня НСТ-тесту та мієлопероксидазної активності, що є прямим свідченням зміни за цих умов фагоцитарної активності сегментоядерних нейтрофільних лейкоцитів.

Фагоцитарна активність у старих тварин вірогідно знижувалася, а видалення шишкоподібного тіла призводило до порушення фазності добової кривої, показники вірогідно знижувалися і у всі часові проміжки доби. Уведення мелатоніну нормалізувало знижені показники фагоцитарної активності, як у дорослих, так і у старих щурів, а при наявності залози - гормон не впливав на цей показник при звичайному фотоперіоді.

За умов пригнічення функції шишкоподібного тіла при тривалому освітленні введення мелатоніну стимулювало активність фагоцитозу як у дорослих, так і в старих контрольних тварин. Така ж направленість змін спостерігалася в обох групах епіфізектомованих щурів. Отже, при відсут-

ності пінеальної залози ефекти мелатоніну не залежать від фотоперіоду.

Фагоцитарний індекс у дорослих щурів після видалення шишкоподібного тіла характеризувався порушенням фазності циркадіаного ритму, зміщенням акрофази на ранковий час. Зареєстровано зниження ритмічних коливань і вірогідне зменшення показника у старих епіфізектомованих тварин. Екзогенний мелатонін нормалізував рівень фагоцитарного індексу, котрий був знижений унаслідок видалення пінеальної залози та після дії постійного освітлення. Поряд з відсутністю ефекту дії постійної темряви та мелатоніну на динаміку та ритмостаз фагоцитарного індексу у всіх групах дорослих щурів, для старих тварин характерним було зростання показника в контролі.

Виявлена різнонаправленість біоритмологічних змін гуморальних і клітинних показників забезпечує найбільш повноцінне пристосування організму до циклічних змін зовнішнього середовища. Шишкоподібне тіло у ссавців причетне до регуляції циркадіанних ритмів системи неспецифічної імунологічної адаптації організму, цей вплив має вікові особливості і зберігається до глибокої старості. Регулююча дія пінеальної залози на імуноструктурний гомеостаз здійснюється мелатоніном та іншими біологічноактивними речовинами, що продукуються цим органом. Результати дослідів із зміненням освітленням свідчать, що існує принципова можливість стимуляції мелатонінутворюючої функції шишкоподібного тіла шляхом збільшення довжини темного періоду, і, як наслідок, посилення роботи системи неспецифічної імунологічної адаптації організму, що є особливо актуальним у геронтологічній практиці.

Висновки

1. Показники системи неспецифічної імунологічної адаптації організму мають чіткі циркадіанні та сезонні коливання, які відрізняються за віком.
2. Шишкоподібна залоза бере безпосередню участь у формуванні хроноритмів неспецифічного імунного захисту, що чітко підтверджується відповідними змінами після епіфізектомії або введення мелатоніну.
3. Можлива певна корекція показників системи неспецифічної адаптації у процесі розвитку старіння організму шляхом штучної регуляції світлового режиму та шляхом введення екзогенного мелатоніну.

Література. 1. Комаров Ф.И. Хронобиология и хрономедицина / Ф.И. Комаров, С.И. Рапопорт. – М.: «Триада-Х», 2000. – 488 с. 2. Пішак В.П. Клінічна анатомія шишкоподібного тіла / В.П. Пішак – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 160 с. 3. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / В.П. Пішак. – Чернівці: Медакадемія, 2003. – 152 с. 4. Пішак

В.П. Шишкоподібне тіло і хроноритми імунної системи / В.П. Пішак, О.І. Захарчук, О.В. Пішак. – Чернівці: Прут, 1997. – 270 с. 5. Хавинсон В.Х. Роль пептидов в эпигенетической регуляции активности генов в онтогенезе / В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин, Б.Ф. Ванюшин // Бюл. экперим. биол. и мед. – 2011. – Т.152, №10. – С.452-457. 6. Шишкоподібна залоза: патоморфологія, патологічна фізіологія, фармакологія / В.П. Пішак, Р.С. Булик, І.І. Заморський, С.С. Ткачук – Чернівці, 2012. – 264 с. 7. Aging and the circadian rhythm of melatonin: a cross-sectional study of Chinese subjects 30-110 yr of age / [Z. Y. Zhao, Y. Xie, Y. R. Fu et al.] // Chronobiol. Int. - 2002. - Vol. 19, № 6. - P. 1171-1182. 8. Arendt J. Melatonin and mammalian pineal gland / J. Arendt– Chapman & Hall. – 1995. – 321 p. 9. Does a centralized clock for ageing exist? / P.E. Kloeden, R. Rossler, O.E. Rossler // Gerontology (Schweiz.). – 1999. – Vol.36, №5-6. – P. 314-322. 10. Normative melatonin excretion: a multinational study / [L. Wetterberg, J.D. Bergiannaki, T. Paparrigopoulos et al.] // Psychoneuroendocrinology. - 1999. - Vol. 24, № 2. - P. 209-226. 11. Pineal gland buffers initial stress-induced ACTH burst / J. Milin, M. Demajo, R. Milin // Acta boil. lugosl. - 1998. - Vol. 24, № 2. -P. 171-176. 12. Reiter R.J. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant / R.J. Reiter // J. Pineal. Res. - 1995. - Vol. 18. - P. 2-11. 13. Role of the pineal gland in immunity / G.I.M. Maestroni, A. Cinti, W. Pierpaoli // Second Intern. Workshop on NIM. Scientific Programme and Abstracts. – Dubrovnik, 1986. - №13. – P. 6-10. 14. The Pineal gland: Its physiological and pharmacological role / V. Srinivasan // Indian. J. Physiol. And Pharmacol. – 1989. – Vol.33, №4. – P.263-272. 15. Tjuitou Y. Human aging and melatonin. Clinical relevance / Y. Tjuitou // Gerontol. - 2001. - V. 36, № 7. - P.1083 - 1100. 16. Welsh D.K. Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties / D.K. Welsh, J.S. Takahashi, S.A. Ray // Ann. Rev. Physiol. - 2010. – Vol.72. – P.551-577.

ВЗАИМОСВЯЗИ ШИШКОВИДНОГО ТІЛА І ХРОНОСТРУКТУРИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФІЧЕСКОГО ІМУНІТЕТА ПРИ СТАРЕННІ

А. І. Захарчук

Резюме. Исследован биоритмологический профиль показателей неспецифической иммунологической адаптации организма после удаления шишковидного тела у старых крыс. Полученные результаты позволяют высказать предположение о прямом влиянии шишковидного тела на циркадианные и сезонные ритмы показателей неспецифического иммунитета у млекопитающих. Введение экзогенного мелатонина нивелировало нарушения архитектоники хроноритмов, которые были изменены вследствие процессов старения.

Ключевые слова: неспецифическая адаптация, шишковидное тело, старение, хроноритмы, эпифизэктомия, млекопитающие, мелатонин.

RELATIONSHIP OF THE PINEAL GLAND AND CHRONOSTRUCTURE INDICES OF NON-SPECIFIC IMMUNITY IN AGING

O. I. Zakharchuk

Abstract. Biorhythmological profile of non-specific immunological adaptation parameters after epiphysisectomy in old rats the organism aging was investigated. The results obtained give an opportunity to suggest a direct influence of the pineal gland on the circadian and seasonal rhythms of the non-specific immunity parameters in mammals. Injection of exogene melatonin leveled disorders of chronorhythm architectonics which were changed do to the processes of aging.

Key words: non-specific adaptation, epiphysisectomy, chronorhythm, pineal gland, aging, mammals, melatonin.

Bukovinian State Medical Uiversity (Chernivtsy)

Clin. and experim. pathol. - 2012. - Vol.11, №3(41).-P.77-79.

Надійшла до редакції 25.08.2012

Рецензент – проф. І. І. Заморський

© О. І. Захарчук, 2012