

Наукові повідомлення

УДК 612.017.2:616.831

Р.Є. Булик, І.В. Геруш, В.П. Пішак, Ю.Є. Роговий

ЧАСОВА ОРГАНІЗАЦІЯ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ У ССАВЦІВ. УЧАСТЬ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. Викладено результати п'ятирічного наукового пошуку щодо механізмів забезпечення циркадіанних ритмів фізіологічних функцій органів, зокрема нирок. Світлооптичними, електронномікроскопічними, біохімічними, імуногістохімічними методами доведено, що структури досліджуваних органів та їх функції чітко підпорядковані тривалості фотоперіоду. Пригнічення активності шишкоподібної залози (цілодобове освітлення) спричиняє десинхроноз структури нейронів супрахіазматичного ядра (СХЯ) та синтезу білка c-Fos.

Порушення добового ритму пейсмейкера (СХЯ) і синтезу мелатоніну зумовлено зміною ритму активності секретуювальних клітин шишкоподібної залози. Фотоперіодична дезінтеграція супроводжується поширенням процесу, крім СХЯ та шишкоподібної залози, і на нейрони гіпокампа.

Ключові слова: шишкоподібна залоза, фотоперіод, нирки, мелатонін, епіталон.

Фотоперіод – основний часозадавач, який бере участь у синхронізації ритмів соматичних і вісцеральних функцій, а також координації і модуляції механізмів адаптації організму до впливу різних чинників [2, 14]. Осцилятором, який контролює у ссавців більшість ритмів, зокрема, циркадіанні (білядобові) ритми, локалізований у пейсмейкерних нейронах вентролатерального відділу супрахіазматичного ядра (СХЯ) гіпоталамуса [10, 13]. Світлова інформація сприймається сітківкою, по ретиногіпоталамічному тракту передається в СХЯ гіпоталамуса і, в подальшому через структури-посередники, надходить до шишкоподібної залози (епіфіза мозку) [1, 4, 6]. Секреторними клітинами залози – пінеалцитами синтезується основний нейрогормон мелатонін [3, 12]. Серед широкого кола ефектів гормону визначальним є хроноритморегулювальний [1, 2, 15]. Фізіологічний контроль функції шишкоподібної залози ссавців здійснюється значною мірою світловим режимом [16-18]. На світлі продукція мелатоніну залозою пригнічується. Постійна темрява стимулює секрецію епіфізарного гормону, і, таким чином, спричиняє зміни діяльності циркадіанного пейсмейкера, що віддзеркалюється на ультраструктурному рівні [9, 12].

На основі експериментального дослідження нами розкрито закономірності хроноритмічної організації компонентів фотоперіодичної системи залежно від функціональної активності шишкоподібної залози, що є необхідним для пізнання центральних механізмів циркадіанних ритмів головного мозку ссавців. Обґрунтовано рецепцію фотозалежної хроноорганізації циркадіанних ритмів, згідно з якою порушення тривалості фотоперіоду викликає дисбаланс синтезу мелатоніну, що є ключовою ланкою дезорганізації механізмів добової періодичності в щурів.

Загальні добові закономірності ритмічних перебудов морфологічної та ультрамікроскопіч-

ної структури вентролатерального відділу супрахіазматичних ядер переднього гіпоталамуса, шишкоподібної залози, гіпокампа, надниркових залоз полягають в адаптивних змінах до тривалості циклу світло-темрява. Головні процеси хрононейроендокринної інтеграції у формуванні циркадіанних ритмів у щурів спрямовані на збереження співвідношення регуляторних гормонопродукувальних клітин та морфофізіологічних ознак з боку ефекторних клітинних ланок.

Експериментальне моделювання гіпопінеалізму (тривале освітлення) та гіперпінеалізму (постійна темрява) призвело до структурних і функціональних порушень досліджуваних компонентів циркадіанного блоку на світлооптичному та електронномікроскопічному рівнях. Це віддзеркалилося істотним кількісним перерозподілом типів нейросекреторних клітин у структурах головного мозку (зменшення вмісту активних і зникнення нейрокитів у фазі накопичення, поява інтенсивно світлих і функціонально виснажених, збільшення числа пікноморфних клітин), що свідчить про порушення фазного характеру нейросекреції. Десинхроноз архітектоники досліджуваних утворень більш виражений в умовах гіпофункції шишкоподібної залози, ніж при її гіперфункції, що вказує на інтегральний вплив нейроендокринного трансдуктора в пейсмейкерній системі організму щурів.

Щільність рецепторів мелатоніну 1A у пейсмейкерних нейронах супрахіазматичних ядер гіпоталамуса тісно корелює з концентрацією мелатоніну в плазмі крові щурів, досягаючи максимуму о 02.00 год. За умов пригнічення активності шишкоподібної залози максимальна кількість мелатонінових рецепторів у нейронах супрахіазматичних ядер гіпоталамуса зміщується з 02.00 год на 14.00 год і становить $0,35 \pm 0,012$ відносних одиниць оптичної щільності (в.од.опт. щільності), а при акти-

вації мелатонінутворювальної функції залози – найбільший показник відзначається о 20.00 год, складаючи $0,43 \pm 0,015$ в.о.опт. щільності.

Моделювання гіперфункції шишкоподібної залози супроводжується стабільно високою імуністохімічною щільністю мелатонінових рецепторів ($0,37 \pm 0,010$ в.о.опт. щільності) у нейронах гіпокампа в нічний період, а в денний період вона вірогідно знижується ($0,29 \pm 0,009$ в.о.опт. щільності). При епіфізарній гіпофункції кількість позитивно забарвлених на мелатонінові рецептори нейронів гіпокампа вірогідно менша щодо контролю в усі періоди спостереження. Найвищих значень вона сягала о 14.00 год, коли показник перебував у межах $0,29 \pm 0,008$ в.о. опт. щільності, вірогідно відрізняючись від такої о 02.00 год – $0,25 \pm 0,007$ в.о.опт. щільності. При зруйнуванні супрахіазматичних ядер відбувається десинхронізація циркадіанних ритмів щільності мелатонінових рецепторів нейронів гіпокампа з припиненням добових коливань у середніх тенденціях, а також з підсиленням варіації індивідуальної реакції тварин на зруйнування основного координатора добових ритмів.

Найбільш виражене порушення добового ритму морфометричних показників пейсмерних нейронів супрахіазматичних ядер гіпоталамуса при гіпофункції шишкоподібної залози спостерігається о 02.00 год. Так, площа поперечного перерізу нейрона становила $31,04 \pm 0,319$ мкм² і була меншою за аналогічну в інтактних тварин і щурів з гіперфункцією шишкоподібної залози. Вказані зміни супроводжувалися зменшенням площі перерізу ядра до $20,54 \pm 0,255$ мкм² ($r=0,78$) та цитоплазми – до $10,51 \pm 0,189$ мкм² ($r=0,84$). Ядерно-цитоплазматичне співвідношення сягало $1,95 \pm 0,024$ і перевищувало таке в інтактних тварин на $14,04 \pm 1,017$ % внаслідок зростання питомого об'єму ядра, який становив $66,17 \pm 0,821$ % та зменшення питомого об'єму цитоплазми нейрона.

В основі змін морфометричних показників пейсмерних нейронів супрахіазматичних ядер гіпоталамуса при гіпофункції шишкоподібної залози лежить виснаження їх функціональної активності, що підтверджується значним гальмуванням біосинтетичних процесів. Зокрема, о 14.00 год концентрація РНК в ядрі перебувала в межах $0,276 \pm 0,0045$ од.опт.щільності, в ядерці – $0,382 \pm 0,0062$ од.опт.щільності, у цитоплазмі – $0,147 \pm 0,0024$ од.опт. щільності і вірогідно нижча щодо аналогічних показників інтактних тварин.

Аналіз площ перерізів компонентів нейронів, концентрації в них РНК, ядерно-цитоплазматичного співвідношення, питомих об'ємів ядер і цитоплазми медіальних дрібноклітинних та латеральних великоклітинних суб'ядер паравентрикулярних ядер гіпоталамуса в циркадіанному аспекті показав інверсію (зростання величин у нічні години замість звичайного їх зниження в цей добовий період) циркадіанної ритміки при гіперпінеалізмі та широкий діапазон пластичності структур при гіпопінеалізмі.

Експресія продукту активності гена „надранньої відповіді” *c-fos* – білка c-Fos – у пейсмерних нейронах супрахіазматичних і кортикотропін-релізінг-гормонпродукувальних та вазопресин-синтезувальних суб'ядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів, утримуваних в умовах фотоперіодики (12 год світло/12 год темрява), зазнає чітких циркадіанних коливань із максимальним значенням індексу концентрації білка c-Fos $0,250 \pm 0,0095$ од. імунофлуоресценції о 14.00 год. Експериментально обґрунтовано, що індикатором раннього десинхронозу механізмів циркадіанних ритмів у щурів є порушення експресії гена *c-fos* і детермінованого ним імуноспецифічного білка c-Fos у нейронах досліджуваних ядер переднього гіпоталамуса при зміні фотоперіоду.

Встановлено тісні кореляційні зв'язки між морфофункціональними перебудовами досліджуваних параметрів супрахіазматичних ядер переднього гіпоталамуса та нонапептидергічних нейросекреторних популяцій суб'ядер паравентрикулярних ядер переднього гіпоталамуса на тлі зміненої тривалості циклу світло-темрява в різні періоди доби.

Нами застосований синтетичний біорегулятор – епіталон (у дозі 0,5 мг/кг), який підвищує резистентність ультраструктур компонентів циркадіанної системи до світлового стресора та істотно покращує показники площі перерізів компонентів нейронів СХЯ, а мелатонін (у дозі 0,5 мг/кг) – концентрацію в них РНК. Мелатонін не корегує стрес-індукованого порушення ритму активності нейронів СХЯ, а застосування епіталону нормалізує зазначений ритм.

Іншою серією досліджень біохімічних показників крові та нирок щурів при сулемовій нефропатії та нефропатії, викликаній інтоксикацією тетрахлорметаном, встановлено кореляційні зв'язки між показниками вільнорадикального окиснення й антиоксидантної системи та розроблено спосіб діагностики антиоксидантного стану крові за активністю каталази та глутатіонпероксидази [5].

Розроблено спосіб профілактики в експерименті вторинної олігурії в ранню поліурічну стадію гострої ниркової недостатності шляхом використання стандартних методів лікування, який відрізняється тим, що додатково застосовують препарат тіотріазолін виробництва АТ «Галичфарм» (Україна), який вводять у шлунок за допомогою зонда щоденно у дозі 100 мг/кг в об'ємі 5 мл/кг упродовж всього періоду розвитку гострої ниркової недостатності.

Дослідження біохімічних показників крові при сулемовій нефропатії дозволили розробити спосіб діагностики антиоксидантного стану крові за активністю каталази та глутатіонпероксидази.

Експериментально встановлено, що при введенні мелатоніну із розрахунку 10 мг/кг маси у тварин з явним та латентним цукровим діабетом відбулася нормалізація показників морфометричних параметрів острівців Лангерганса підшлун-

кової залози: питомої ваги, середньої кількості клітин на зрізі одного острівця, відсотка бета-клітин. На основі отриманих результатів запропоновано спосіб корекції стану острівців Лангерганса мелатоніном у щурів з алоксановим діабетом.

Співробітниками кафедри патологічної фізіології вперше показано, що патогенез розвитку вторинної олігурії в ранню поліуричну стадію сулемової нефропатії зумовлений реперфузійним ушкодженням проксимального відділу нефрону, зокрема S₃ – сегментів із зниженням ферментативної фібринолітичної активності сечі з розвитком уротромбозу просвіту каналців нефрону [7, 8].

Вірогідні кореляційні зв'язки між відносною реабсорбцією води та клубочковою фільтрацією і абсолютною реабсорбцією іонів натрію свідчать про реалізацію механізму клубочково-каналцевого балансу в ранню стадію поліуричного періоду сулемової нефропатії за рахунок реалізації пасивних процесів реабсорбції в ниркових каналцях [11].

Вторинні ушкодження проксимальних і дистальних каналців за рахунок реалізації реперфузійного синдрому “no-reflow” викликають встановлення нових позитивних кореляційних зв'язків відносно реабсорбції води з проксимальною та дистальною реабсорбціями іонів натрію.

Вперше описані гістологічні зміни семи ділянок нирки щура: CortexI, CortexII – субкапсулярної та юкстамедулярної ділянок кіркової речовини нирок; OSOM, ISOM – зовнішньої та внутрішньої ділянок мозкової речовини нирок; ІМІ, ІМІІ, ІМІІІ-ділянок сосочка нирок у ранній період поліуричної стадії сулемової нефропатії, які характеризуються розвитком набряку всіх зазначених ділянок, ушкодженням каналців нефрону з наявністю дистрофії нефроцитів, розривів базальних мембран, детриту та гіалінових циліндрів у просвіті каналців.

Література

1. Анисимов В. Н. Эпифиз, биоритмы и старение организма / В.Н. Анисимов // Успехи физиол.аук. – 2008. – Т. 39, № 4. – С. 40-65.
2. Анисимов В.Н. Мелатонин, роль в организме, применение в клинике/ В.Н. Анисимов. – СПб.: Издательство "Система", 2007. – 40 с.
3. Булик Р.С. Вплив світлової депривації на стан гена *c-fos* суб'ядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса / Р.С. Булик // Клін. та експерим. патол. – 2012. – Т. XI, № 3 (41), Ч. 1. – С. 15-18.

4. Булик Р.С. Эффекты эпителиона на экспрессию гена „надранньої відповіді” *c-fos* суб'ядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса за умов постійного освітлення / Р.С.Булик // Бук. мед. вісник. – 2012. – Т. 16, № 3. – С. 21-25.
5. Геруш І.В. Стан глутатіонової системи крові за умов токсичного гепатиту та дії настоянки ехінацеї пурпурової / І.В. Геруш // Укр. біохім. ж. – 2002. – Т. 74, № 4а (додаток 1). – С. 121.
6. Губина-Вакулик Г.И. Морфологический ответ пинеальной железы старых животных на курсовое введение мелатонина / Г.И. Губина-Вакулик, А.Р. Геворкян, Л.А. Бондаренко / Успехи геронтол. – 2009. – № 4. – С. 626-630.
7. Злотар О.В. Взаємозв'язки відносно реабсорбції води з транспортом іонів натрію в ранній період поліуричної стадії сулемової інтоксикації / О.В. Злотар // Бук. мед. вісник. – 2010. – Т. 14, № 3 (55). – С. 110-114.
8. Злотар О.В. Морфологічна характеристика нирок та печінки в ранньому періоді поліуричної стадії сулемової нефропатії / О.В.Злотар, Ю.С.Роговий, М.В. Дікал // Клін. анатом. Та операт. хірургія. – 2010. – № 1. – С. 23-26.
9. Пішак В.П. Молекулярно-генетичні маркери циркадіанних ритмів за фізіологічних умов / В.П. Пішак, Р.С. Булик // Бук. мед. вісник. – 2010. – Т. 14, № 2. – С. 12-19.
10. Пішак В.П. Супрахіазматичні ядра гіпоталамуса – провідні ендогенні осцилятори / В.П. Пішак, Р.С. Булик // Патологія. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 7-14.
11. Роговий Ю.Є. Патолофізіологічний аналіз поліуричної стадії гострої ниркової недостатності при сулемовій інтоксикації / Ю.Є.Роговий, О.В. Злотар, Л.О. Філіпова // Бук. мед. вісник. – 2006. – Т. 10, № 2. – С. 108-111.
12. Шишкоподібна залоза: патоморфологія, патологічна фізіологія, фармакологія / В.П. Пішак, Р.С. Булик, І.І. Заморський, С.С. Ткачук. – Чернівці: Медуніверситет, 2012. – 264 с.
13. Bulyk R.Ye. A characteristic of the effects of melatonin and epithalonon the state of *c-fos* gene in the neurosecretory nuclei of the hypothalamus in an experiment / R.Ye. Bulyk, Yu.V. Lomakina, V.P. Pishak // Клін. анат. та операт. хірургія. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 51-56.
14. Circadian clock signals in the adrenal cortex / T. Ota, J.M. Fustin, H. Yamada [et al.] // Mol. Cell Endocrinol. – 2012. – Vol. 349, № 1. – P. 30-37.
15. Kennaway D.J. Circadian rhythms and fertility // D.J. Kennaway, M.J. Boden, T.J. Varcoe / Mol. Cell. Endocrinol. – 2012. – Vol. 349, № 1. – P. 56-61.
16. Kronfeld-Schor N. Circadian rhythms and depression: human psychopathology and animal models / N. Kronfeld-Schor, H. Einat // Neuropharmacology. – 2012. – Vol. 62, № 1. – P. 101-114.
17. Mazzocchi G. The timing clockwork of life / G. Mazzocchi // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. – 2011. – Vol. 25, № 1. – P. 137-143.
18. Stevens R.G. Light-at-night, circadian disruption and breast cancer: assessment of existing evidence / R.G. Stevens // Int. J. Epidemiol. – 2009. – Vol. 38, № 4. – P. 963-970.

ЧАСОВАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ. УЧАСТИЕ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА

Р.Е. Булык, И.В. Геруш, В.П. Пишак, Ю.Е. Роговой

Резюме. Изложены результаты пятилетнего научного поиска механизмов по обеспечению циркадианных ритмов физиологических функций органов, в частности почек. Светооптическими, электронномикроскопическими, биохимическими, иммуногистохимическими методами доказано, что структуры исследуемых органов и их функции четко подчинены продолжительности фотопериода. Угнетение активности шишковидной железы (круглосуточное освещение) вызывает десинхроноз структуры нейронов супрахиазматического ядра (СХЯ) и синтеза белка *c-Fos*. Нарушение суточного ритма пейсмекера (СХЯ) и синтеза мелатонина обусловлено изменением

ритма секретопродуцируючих клеток эпифиза. Фотопериодическая дезинтеграция сопровождается распространением процесса, кроме СХЯ и шишковидной железы, и на нейроны гиппокампа.

Ключевые слова: шишковидная железа, фотопериод, почки, мелатонин, эпипиталон.

TIME ORGANIZATION OF PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS IN MAMMALS. CEREBRAL STRUCTURES INVOLVEMENT

R.Ye. Bulyk, I.V. Herush, V.P. Pishak, Y.Y. Rohovyi

Abstract. The results of five year research concerning the mechanism providing circadian rhythms of physiological functions of organs, in particular the kidneys, are presented in the paper. It was proved by light optical, electron microscopy, biochemical and immunohistochemical methods that structures of the organs under the study as well as their functions are strongly subordinate to the duration of the photoperiod. Depression of the pineal body activity (24 hour lighting) causes desynchronization in the structure of suprachiasmatic nucleus (SCN) neurons and in protein c-Fos synthesis. Disturbance of the diurnal rhythm of the SCN pacemaker and of melatonin synthesis is conditioned by the change in the rhythm of epiphysis secretory cells. Besides the SCN and the pineal gland, the hippocampus neurons are involved in the photoperiod disintegration.

Key words: pineal gland, photoperiod, kidneys, melatonin, epitalon.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. Г.І. Ходоровський

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 1 (69). – P. 144-147

Надійшла до редакції 14.01.2014 року

© Р.Є. Булик, І.В. Геруш, В.П. Пішак, Ю.С. Роговий, 2014

УДК 616-071/.071/.079

І.А. Плеш, Г.І. Кшановська, О.Й. Хомко, Л.Д. Борейко, О.В. Макарова

СУЧАСНІ МОЖЛИВОСТІ КЛІНІЧНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. У статті висвітлено сучасні можливості клінічної лабораторної діагностики, розвиток нових розділів лабораторної медицини - протеоміки та геноміки, виявлення маркерів пухлин, високочутливих молекулярно-генетичних методик та важливість вивчення можливостей клінічної лабораторної діагностики на

старших курсах медичних університетів майбутніх лікарів різних спеціальностей.

Ключові слова: лікарський моніторинг, діагностичні тести, вища медична освіта, медичний лаборант, бакалавр.

Вступ. Демографічний стан населення України супроводжується зростанням смертності, особливо серед осіб працездатного віку, його значною інвалідизацією, що викликає все більше занепокоєння. Тому проблема здоров'я народу повинна бути пріоритетною в державі й може бути вирішена, у першу чергу, за рахунок покращання підготовки висококваліфікованих медичних фахівців у вищих навчальних закладах. Діагностика захворювань, оцінка їх перебігу, прогноз, вибір правильної тактики лікування з подальшим поліпшенням якості життя пацієнта не може обходитися без використання лабораторних методів дослідження [2, 5]. Лікар повинен бути впевненим у достовірності проведеного аналізу, тому особливу роль відіграє якість виконаних досліджень, що може бути забезпечено тільки фахівцями високого рівня.

Ступінь розвитку лабораторної служби, з точки зору компетентних спеціалістів, у тому числі й експертів ВООЗ, стає важливим рейтинговим критерієм ефективного лікування. За дани-

ми експертів ВООЗ, обсяг лабораторних обстежень становить не менше 60 % від загального числа обстежень, а їх кількість та якість за кожних п'ять років зростає у два рази [2]. Результати лабораторних обстежень отримують дійсну вартість тільки при цілеспрямованому призначенні і коректній оцінці результатів, при застосуванні сучасної апаратури і якісних діагностиків, асортимент яких щороку розширюється, а лікарі не завжди володіють інформацією про їх можливості. Для інформування медичних працівників необхідно організувати цикл лекцій про можливості сучасних клінічних лабораторій. Складність ситуації полягає ще в тому, що навчальними планами вищих медичних закладів (академій, університетів) не передбачено вивчення можливостей клінічної лабораторної діагностики на старших курсах майбутніх лікарів різних спеціальностей, на курсах удосконалення та передатестаційних циклах післядипломної освіти.

Дослідженням структури, складу і властивостей різних біологічних матеріалів займаються

© І.А. Плеш, Г.І. Кшановська, О.Й. Хомко, Л.Д. Борейко, О.В. Макарова, 2014