

Р.Є. Булик, В.П. Пішак

Супрахіазматичні ядра гіпоталамуса – провідні ендogenousні осцилятори

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Ключові слова: супрахіазматичні ядра, морфологія, циркадіанний ритм, епіталон.

Подано відомості спеціальної літератури щодо участі супрахіазматичних ядер гіпоталамуса, як провідних ендogenousних осциляторів, у забезпеченні хроноритмічної впорядкованості фізіологічних функцій організму ссавців, а також результати власних досліджень щодо особливостей мікроскопічних змін пейсмеркерних нейронів досліджуваних ядер гіпоталамуса щурів, які перебували в умовах модифікації світлового режиму та введення синтетичного тетрапептиду – епіталону.

Супрахіазматические ядра гипоталамуса – ведущие эндогенные осцилляторы

Р.Е. Булик, В.П. Пишак

Изложены данные специальной литературы об участии супрахіазматических ядер гипоталамуса, как ведущих эндогенных осциляторов, в обеспечении хроноритмической упорядоченности физиологических функций организма млекопитающих, а также результаты собственных исследований, касающиеся особенностей микроскопических изменений пейсмеркерных нейронов исследуемых ядер гипоталамуса крыс, находящихся в условиях модификации светового режима и введения синтетического тетрапептида – эпиталона.

Ключевые слова: супрахіазматические ядра, морфология, циркадианный ритм, эпиталон.**Патология.** – 2011. – Т.8, №2. – С. 7–14**Hypothalamic suprachiasmatic nuclei – the leading endogenous oscillators**

R. Ye. Bulyk, V. P. Pishak

The paper presents a bibliographical information concerning the participation of the hypothalamic suprachiasmatic nuclei as the leading endogenous oscillators in providing a chronorhythmic degree of order of the mammal body's physiological functions, as well as the results of the authors' own investigations, touching upon the specific characteristics of microscopic changes of pacemaker neurons of the rat nuclei under study that were under a modification of the photoperiod and the introduction of synthetic tetrapeptide – epithalon.

Key words: suprachiasmatic nuclei, morphology, circadian rhythm, epithalon.**Pathologia.** 2011; 8(2): 7–14

З сучасними уявленнями, на роль провідного водія ритму (пейсмеркера) добового періодизму в головному мозку ссавців претендують супрахіазматичні ядра (СХЯ) гіпоталамуса. Вони розташовані в передньому гіпоталамусі центральніше III шлуночка у вигляді невеликих парних утворень, що лежать над зоровою хіазмою.

Нейроархітектоніка і нейрональні зв'язки СХЯ мають складну будову. Вони поділяються на два відділи – вентролатеральний, що отримує світлові імпульси, і дорсо-медіальний, до якого надходять не світлові імпульси. А.В. Арутюнян та співавт. (2001) провели серію досліджень, що підтвердили реалізацію механізмів відповіді гіпоталамічних ядер на не світлові імпульси за участі дофамінергічної і серотонінергічної систем [7].

Кожне СХЯ має зв'язок з контрлатеральним ядром за допомогою топографічно чітко організованих волоконних систем [34]. Електронномікроскопічними дослідженнями виявлено в синапсах СХЯ різноманітні типи везикул, що опосередковано вказують на наявність нейромедіаторів і нейропептидів [3]. Методами імуногістохімії та ін'єкцій холерного токсину вивчено внутрішню організацію аферентних та еферентних зв'язків СХЯ миші. Нейрони СХЯ оболонки містять ГАМК, кальбіндин, АВП, ангіотензин II та метенкефалін і отримують сигнали від імунореактивних волокон галаганіну і вазоінтестинального пептиду (ВП). Нейрони СХЯ тіла синтезують ГАМК, кальбіндин, ВІП, нейропептид Y

(NPY) і 5-гідрокситриптамін. Волокна, що проєктують від СХЯ нейронів, імунореактивних для аргінін вазо-пресину (АВП) і ВІП, виявляють характерну морфологію і направляються до латеральної перегородки, серії медіальних гіпоталамічних ділянок, від преоптичної до задньої гіпоталамічної ділянки, та в подальшому до ПВЯ таламуса [18]. Припускають, що організація СХЯ миші, їх зв'язки, подібні до таких у інших видів ссавців [10].

Форма і розміри ядер у різних видів коливаються [29]. У щурів ці параметри слабо залежать від статі й віку [55]. Іншими дослідженнями визначено вплив вікових і статевих відмінностей на об'єм, розмір нейрональних ядер і кількість нейрональних клітин СХЯ в юних (1,6–1,9 міс.), дорослих (11,7–16,3 міс.) і старих (29,2–34,0 міс.) щурів лінії F344/N. Отримані результати наводять на думку, що морфологічні зміни нейрональних і астрогліальних клітин СХЯ залежать від віку та статі [11]. У людини, навпаки, форма і розміри СХЯ значною мірою визначаються як віковим, так і статевим чинниками [50].

У старих хом'яків імпульсна активність нейронів СХЯ слабше виражена, ніж у молодих, особливо в денний час. А. Jagota et al. дійшли висновку, що тканина СХЯ функціонально організована як біологічний годинник з двома осцилюючими компонентами [32]. Припускають існування щонайменше двох циркадіанних осциляторів також у плазунів [31] і птахів [56].

Існуючі в СХЯ гризунів дві осциляторні системи конт-

ролюють, зокрема, ритми рухливості, що знаходяться одна з одною у реципропних морфофункціональних зв'язках [62]. Одна з систем містить ВІП- і ССТ-ергічні нейрони, а інша вмикає ССТ- і ВІП-ергічні клітини. Автори припускають, що внутрішнім пейсмейкером СХЯ є ССТ- і ВІП-вмісні нейрони, причому його функціонування не залежить від світло-темнового циклу [17]. ВІП-вмісні клітини є рецепторами світлових сигналів і внутрішнього середовища організму [41,63]. Отриману інформацію вони передають ВІП-вмісним нейронам, СХЯ й у інші відділи мозку. Діяльність іншої осциляторної системи значною мірою визначається циклом світло-темрява [37]. Серотонінергічні проєкції від ядер шва, ймовірно, надходять до обох осциляторних систем. Припускають, що через постсинаптичні рецептори серотонінергічна система знижує чутливість ВІП-вмісних нейронів до світла і через той самий тип рецепторів, розташованих на клітинах-пейсмейкерах дорсомедіального відділу, полегшує перехід ритмів рухливості на режим ендogenous осцилятора з формуванням коротких чи довгих циркадіанних гармонік, що визначається фазою. Серотонінові рецептори локалізуються тут пресинаптично, вони забезпечують зворотний зв'язок синапса з сомою серотонінергічного нейрона, контролюючи вивільнення медіатора з пресинапса і рівень синтетичних процесів у клітині [53].

Припускають, що у випадку ритмічного надходження в СХЯ сигналів про зміну освітленості серотонінергічні аференти значення не мають, ритміка підтримується ретиногіпоталамічними каналами. За даними Т.А. Замощиної [5], у періоди рівнодення зазначені структури в процесах синхронізації ритмів циклом світло-темрява істотної ролі не відігравали. Однак, значущість цих утворень підвищується при крайніх світлових режимах і за постійних умов (24.00Т, 24.00С). За відсутності світлового сигналу підтримання ритміки здійснюється серотонінергічною аферентацією [51]. Таке припущення цілком імовірно, оскільки ядра шва мають клітини, що за своїми електрофізіологічними властивостями повністю відповідають пейсмейкерним нейронам [14]. Вважають правомірним віднесення серотонінергічних нейронів ядер шва до «розподільної системи циркадіанного таймера» [53].

Отже, викладені дані свідчать про модулюючу роль висхідної серотонінергічної системи в організації циркадіанних ритмів ссавців на різних рівнях їх формування.

Введення в ІІІ шлуночок мозку трансплантатів, що містять тканину СХЯ, або пересадка зародкового СХЯ, сприяє відновленню порушених циркадіанних ритмів рухливості ссавців з ушкодженими СХЯ [23,60]. Чим швидше відновлювалися еферентні зв'язки донорського СХЯ з ПВЯ таламуса реципієнта, тим повніше й ефективніше нормалізувався циркадіанний ритм локомоції [44,60].

Т.А. Замощина та співавт. (2004) вивчили вплив електролітичного зруйнування правого СХЯ на циркадіанні ритми температури тіла і локомоторної актив-

ності щурів у тесті «відкрите поле» за умов природного режиму освітлення в різні періоди сонцестояння. У період літнього сонцестояння деструкція правого СХЯ супроводжувалася аритмією локомоторної активності, полегшенням світлозахоплення температурного ритму, ослабленням або втратою внутрішньої синхронізації між досліджуваними ритмами. За умов зимового сонцестояння електролітичне ушкодження правого СХЯ викликало полегшення перебудови поведінкового ритму у вільнопереміщуючий стан, покращення світлозахоплення температурного ритму і формування протифазних взаємин між ритмами локомоторної активності й температури [5].

СХЯ мають близько 20 аферентних і стільки ж еферентних зв'язків з кірковими й підкірковими структурами мозку [1,15]. Три основних аферентних входи – ретиногіпоталамічний, генікулологіпоталамічний і серотонінергічний – забезпечують основне надходження інформації в СХЯ із зовнішнього й внутрішнього середовищ [64].

Серед аферентних проєкцій СХЯ перше місце за функціональною значущістю відводиться ретиногіпоталамічному тракту. Цей шлях представлений колатераліями гангліозних клітин сітківки, що на рівні перехрестя (хіазми) відходять від зорового тракту й спрямовуються переважно до вентролатеральної зони СХЯ. Ушкодження його, як жодного іншого аферентного входу в СХЯ, позначається на динаміці циркадіанних ритмів [38]. Через зазначений тракт СХЯ отримують інформацію про зовнішню освітленість, відповідно до якої модулюється пейсмейкерна активність. Навіть ультрафіолет викликає у фоторецепторних пейсмейкерах СХЯ специфічні зміни, пов'язані зі сприйняттям фотосигналу в цих клітинах [30]. Частина з ретиногіпоталамічних проєкцій є глутаматергічними [48], а інша частина – ГАМК-ергічними [19].

Існувала думка, що передача зорових стимулів від сітківки в СХЯ мала холінергічну природу. Однак зараз більшість дослідників визнає збуджувальні амінокислоти (глутамат і аспарат) у якості важливіших нейротрансмітерів ретиногіпоталамічних проєкцій.

Це положення обґрунтоване за допомогою антагоністів NMDA (N-метил-D-аспаратат) рецепторів, що пригнічують реакцію нейронів СХЯ на світлові спалахи або електричне подразнення зорового нерва [58].

Через NMDA-рецептори і вторинний посередник – оксид азоту – глутамат доносить інформацію про фотосигнал на ВІП-пейсмейкери вентролатерального відділу СХЯ [20], а можливо, й в інші клітини, що містять NO-синтазу. У підсумку світлові імпульси в суб'єктивний день викликають у ВІП-вмісних нейронах негайну експресію гена c-Fos, що запускає синтез відповідного імуноспецифічного білка мРНК і цАМФ-залежне фосфорилювання ферментних білків [36]. У кінцевому результаті, зазначені фотоефекти супроводжуються зростанням вмісту ВІП-, гастрин-релізинг- і Y-пептидів у вентролатеральній ділянці СХЯ, але не в дорсомедіаль-

ній [45]. Встановлено, що описаний каскад молекулярних процесів у СХЯ спостерігається вже на 11 годині після розкриття очних щілин у триденних хом'ячків [35]. У суб'єктивну ніч навіть одиничний імпульс світла у дорослих щурів і хом'яків супроводжується негайною експресією іншого специфічного гена – *jun-B*, а також синтезом відповідного йому білка AP-1. Обидва імуноспецифічних білки мають, імовірно, відношення до модуляції пейсмеркерної активності СХЯ, а також до механізму синхронізації зовнішніми циклами, у т. ч. й світло-темновими, ЦР активності пейсмеркерних клітин. Крім того, ці білки є маркерами пейсмеркерних нейронів дорсомедіального й вентролатерального відділів СХЯ. Доведено існування різної циркадіанної організації і пейсмеркерної активності нейронів СХЯ для нічних і денних тварин [52].

ГАМК-ергічні ретиногіпоталамічні волокна також закінчуються на ВПП-вмісних клітинах СХЯ, де ідентифіковані ГАМК-А-рецептори [27]. У суб'єктивний день ГАМК-А-активація пригнічує імпульсну активність і відповіді ВПП-клітин на стимуляцію оптичного тракту. У суб'єктивну ніч, навпаки, підсилює останній ефект, без впливу на перший. З іншого боку, показано, що ГАМК-ергічна стимуляція збільшує метаболічну активність серотоніну в СХЯ, що опосередковується через ГАМК-В-рецептори [26].

Отже, глутамат- та ГАМК-ергічні ретиногіпоталамічні проєкції здійснюють реципрокний контроль у СХЯ зовнішнього світло-темнового циклу.

Генікулогіпоталамічний шлях містить NPY-ергічні волокна і, так само як і ретиногіпоталамічний шлях, збуджує нейрони СХЯ при дії світла на сітківку. Залишається недостатньо з'ясованою необхідність двох паралельних шляхів проведення фотоперіодичної інформації до СХЯ – ретино- і генікулогіпоталамічного трактів. Припускають, що за допомогою генікулогіпоталамічного тракту СХЯ можуть отримувати модулюючі сигнали від інших сенсорних і моторних систем організму. Таке припущення підтверджують експериментальні дані про можливість заміни фотоперіодичного часозадавача на інший, здатний своїм періодичним характером модулювати активність ендogenousних осциляторів. При повній ізоляції від дії світла в енуклеюваних мишей через 5 міс. відновлюється нормальна синхронізація ритмів (можливо, внаслідок добових шумів, запахів) [33]. Крім того, можна припустити, що наявністю цих двох шляхів забезпечується універсальний біологічний принцип перекриття [61], за допомогою якого СХЯ «підстраховуються» при отриманні зовнішньої інформації. Однак стосовно генікулогіпоталамічного тракту залишається ще багато нез'ясованих питань щодо його взаємодії з ретиногіпоталамічними й серотонінергічними проєкціями на СХЯ [21].

Іншим важливим аферентним входом для СХЯ є висхідні аксони нейронів ядер шва, що сюди проєктуються. Існуванням рафогіпоталамічних проєкцій пояснюють високий вміст у СХЯ серотоніну. Вміст серотоніну і

його метаболіту – 5-ОІОК в тканині ядер шва щурів підпорядковується циркадіанним змінам з акрофазою на початку світлого проміжку доби і мінімумом на початку темного [54]. Експерименти свідчать, що ці флуктуації контролюються як циркадіанним пейсмеркером – СХЯ, так і світло-темновим циклом, тим більше, що у деяких видів ссавців виявлено прямі проєкції серотонінівмісних клітин ядер шва до сітківки [43]. З іншого боку, показано, що дорсальне ядро спрямовує свої еференти до інтергенікулятного листка [24] й, імовірно, у вентролатеральну частину СХЯ, а медіальні ядра – до вентролатеральної і дорсомедіальної ділянок СХЯ [59]. Серотонінові рецептори другого і першого типів А і В підтипів серед інших мозкових структур виявлені в достатньо високій щільності в передньому гіпоталамусі й, імовірно, СХЯ. Крім того, передбачається існування серотонінових рецепторів на нейронах СХЯ [57]. Продемонстровано виникнення істотних порушень у пристосуванні циркадіанної системи ссавців до мінливого світлового режиму при ушкодженні цілісності ядер шва чи пригніченні їх серотонінергічної функції [40]. Виявлено подовження термінів становлення циркадіанних ритмів рухливості щурів у постнатальному онтогенезі [46], у дорослих особин – зменшення їх амплітуди, затримка фази, сповільнення переходу у вільно перебігаючий стан при утриманні за умов цілодобового освітлення [8].

Специфічні агоністи серотонінових рецепторів першого і другого типу А підтипу здатні гальмувати експресію гена *c-Fos* у дорсомедіальній, але не у вентролатеральній частині СХЯ [13]. Імовірно, у зв'язку з цим агоністи S_{1A} -рецепторів прискорюють ритми рухливості і спонтанну імпульсну активність справжніх пейсмеркерних нейронів СХЯ при введенні препаратів у денний проміжок доби [28]. Уповільнення циркадіанного ритму рухливості і вживання їжі спостерігали при призначенні препаратів цієї групи й інгібіторів MAO в нічні години [47]. Хоча фазові особливості дії агоністів серотонінових S_{1A} -рецепторів на циркадіні ритми підтвердили тільки окремі дослідники, усі вони дотримуються думки про наявність у препаратів цієї групи фазоприскорюючих властивостей при їх призначенні у світловий проміжок доби. Можливо, зазначена властивість серотонінергічних речовин певним чином пов'язана з тим, що через серотонінові S_{1A} -рецептори серотонінергічна система ядер шва контролює фоточутливість нейронів СХЯ [49] й інтергенікулятного листка [42]. Останній, у свою чергу, модулює діяльність циркадіанного осцилятора через прямий аферентний вхід [22]. Зниження фоточутливості клітин СХЯ агоністами S_{1A} -рецепторів реалізується за участі амінокислотергічного ретиногіпоталамічного тракту. Показано, що речовини цієї природи знижують концентрацію глутамату в СХЯ [39]. Послаблення серотонінергічного входу в СХЯ за допомогою ПХФА супроводжується зменшенням вмісту у фоторецепторних клітинах СХЯ ВПП-пептида і його месенджера – мРНК [25].

Поряд з перерахованими аферентними шляхами, у СХЯ описані й інші входи, хоча й документовані поки

менш переконливо. Велике функціональне значення мають їх зв'язки з різними елементами лімбічної системи і рухових центрів. Зокрема, на СХЯ проєктують деякі ядра амигдали і перегородка. Після коагуляції вентральних відділів хвостатого ядра в СХЯ виявляється значна кількість волокон, що дегенерують, і терміналей, що дозволяє стверджувати про існування каудатногіпоталамічного шляху [12].

Разом з тим СХЯ служать джерелом низки еферентних проєкцій. Усі еферентні шляхи від СХЯ до інших структур мозку поділяють на шість головних груп, що направляються в каудальному, ростральному, росто-дорсальному, ростро-каудальному, латеральному і вентральному напрямках [4]. При цьому значна частина СХЯ закінчується безпосередньо всередині самого гіпоталамуса.

Еференти з СХЯ містять різні нейромедіатори – ВП, ВІП, ГАМК, соматостатин, гастрин-релізинг пептид [16]. Нейромедіатори наявні як у різних волокнах (ВП, ВІП), так і спільно (ГАМК із нейропептидами) [6]. ВІП-ергічні волокна коротші, ніж ВП-ергічні, при цьому освітлення організму змінює продукцію деяких нейромедіаторів (ВІП і гастрин-релізинг пептиду, але не ГАМК).

Ю.М. Колесник та співавт. (2006) методом непрямой імунофлуоресценції з подальшим кількісним аналізом вивчали закономірності формування ВП-синтезувальних нейронів ПВЯ у нормальних і пренатально стресованих самців щурів, що досягли віку 1 доби, 2 тижнів, 1 та 5 місяців [6]. Доведено, що постнатальний онтогенез характеризується поступовим зростанням кількості ВП-імунопозитивних нейронів у ПВЯ у нормальних щурів. Водночас пренатальний стрес призводить до пригнічення морфогенезу і зниження активності ВП-ергічної системи ПВЯ.

За допомогою різноманітних зв'язків СХЯ можуть здійснювати керування часовою організацією гомеостатичних систем, синхронізувати їх циркадіанні ритми.

Циркадіанна регуляція активності нейроендокринної системи може здійснюватися СХЯ не тільки за допомогою трансгіпоталамо-гіпофізарних впливів. Клітини ПВЯ гіпоталамуса (дорсальної і медіальної частин його гігантоклітинної вегетативної ділянок), а також ретрохіазматичної ділянки гіпоталамуса, що отримують прямі еференти від СХЯ, посилають, у свою чергу, моносинаптичні проєкції до верхніх грудних сегментарних центрів симпатичної нервової системи – інтермедіолатеральних нейронів бічних стовпів спинного мозку, а також, імовірно, до парасимпатичних гангліїв [21]. Отже, через основну каудальну частину своїх еферентів СХЯ з'єднується з центрами вегетативної нервової системи.

Гістологічними дослідженнями СХЯ гіпоталамуса тварин, які перебували в умовах стандартного світлового режиму, виявлено, що о 14.00 год нейрони містять невеликі ядра, їх каріоплазма помірно базофільна, а ядерця малі й інтенсивно базофільно забарвлені (рис. 1).

Такий стан пейсмеркерних клітин СХЯ відповідає їх

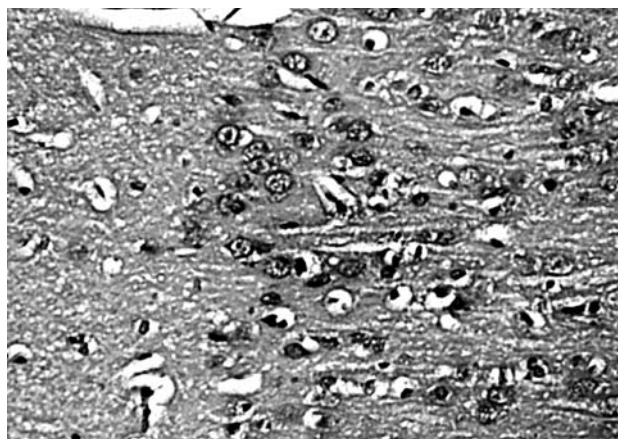


Рис. 1. Структурна організація СХЯ щурів о 14.00 год при стандартному фотоперіоді. Нейрони з невеликою площею цитоплазми, нечіткі ядерця в помірно базофільній каріоплазмі. Забарвлення гематоксилином-еозином. х 400.

пригніченій функціональній активності.

При нічному етапі дослідження мікроскопічної будови СХЯ щурів о 02.00 год за стандартного світлового режиму встановлено, що нейрони зберігають групове розташування. Переважають клітини з помірно базофільною цитоплазмою, яка вузьким обідком оточує ядра. Останні мають чіткі контури, займають більший об'єм цитоплазми. Каріоплазма більшості ядер оптично прозора, що надає їм пухирчастого вигляду. На фоні світлої каріоплазми добре виявляються великого розміру ядерця, інтенсивно базофільно забарвлені (рис. 2).

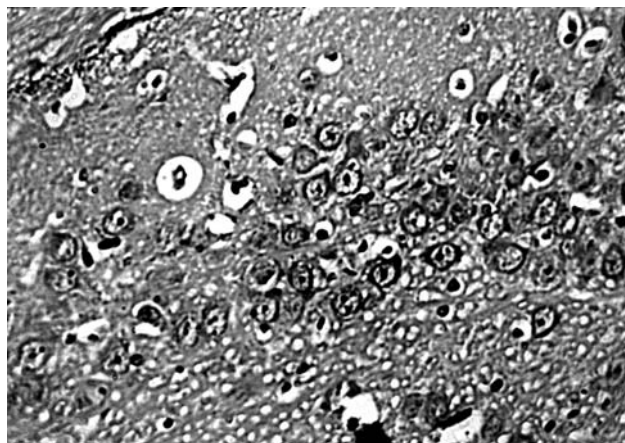


Рис. 2. Мікроскопічна будова СХЯ тварин о 02.00 год в умовах стандартного режиму освітлення. Скупчення нейронів, світлі ядра, великі базофільні ядерця. Забарвлення гематоксилином-еозином. х 400.

Наведена картина свідчить про активний стан пейсмеркерних клітин СХЯ гіпоталамуса щурів у нічний період.

Наші дані узгоджуються з дослідженнями А.В. Герасимова (2003) [2], який проаналізував зміни нейронів супрахіазматичних ядер переднього гіпоталамуса залежно від тривалості освітлення і довів функціонально активний стан пейсмеркерних нейронів у темний період доби.

Вивчення гістологічних препаратів СХЯ тварин, які перебували впродовж семи діб в умовах світлової депривації, показало, що о 14.00 год у складі скупчень нейронів переважають клітини, що мають збільшені ядра зі світлою каріоплазмою та великими інтенсивно забарвленими ядерцями. Нейроплазма таких клітин помірно базофільна і вузьким обідком оточує ядра (рис. 3). Темні нейрони поодинокі. Подана мікроскопічна картина подібна до такої у тварин, які перебували за стандартного фотоперіоду в аналогічний часовий проміжок.

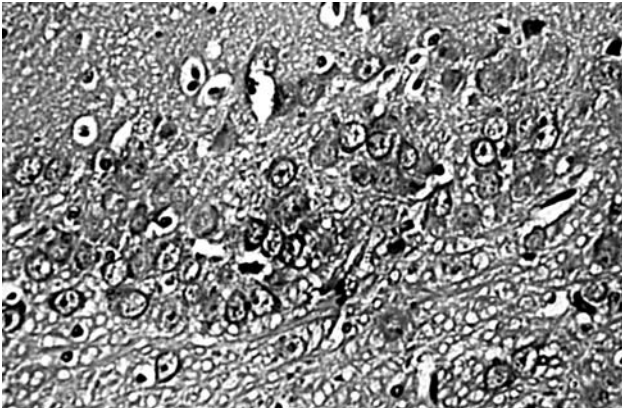


Рис. 3. Гістологічні зміни СХЯ тварин о 14.00 год, які перебували в умовах семидобової світлової депривації. Нейрони зі світлими ядрами і великими ядерцями, вузьким обідком та помірно базофільною нейроплазмою клітини. Окремі «темні» пікноморфні нейрони. Забарвлення гематоксилином-еозином. x 400.

Утримування щурів в умовах гіперфункції шишкоподібної залози призвело на гістологічному рівні до більш виражених змін досліджуваних структур СХЯ о 02.00 год. Спостерігається збільшення «темних» пікноморфних нейронів з інтенсивним фарбуванням нейроплазми і ядра. Зменшені тіла таких клітин оточені світлою ділянкою, що характеризує перичелюлярний набряк. Більшість нейронів мають базофільну нейроплазму та помірно базофільну каріоплазму, в якій ядерця невеликі й слабо контуруються (рис. 4).

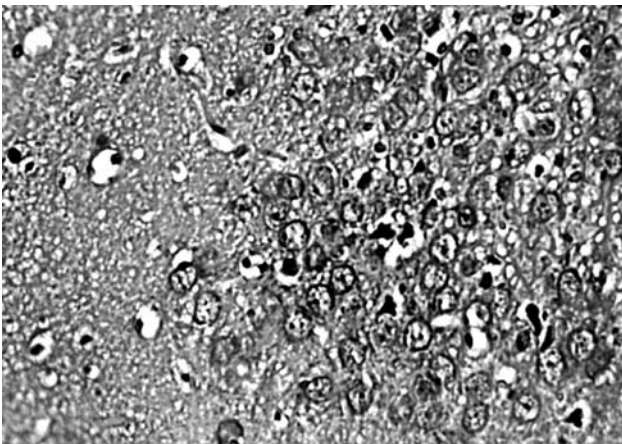


Рис. 4. Мікроскопічний стан СХЯ тварин о 02.00 год, яких утримували за постійної темряви. Поліморфізм у складі нейронів. Округлі й овальні з базофільною нейроплазмою клітини, «темні» пікноморфні нейрони, перичелюлярний набряк. Забарвлення гематоксилином-еозином. x 400.

Світлова стимуляція призвела до поліморфізму нейронного складу СХЯ щурів при гістологічному дослідженні о 14.00 год. Наявні нейрони зі світлими ядрами, подібні до пухирців. Усередині ядер добре виражені ядерця. Більшість нервових клітин мають базофільну каріоплазму і нейроплазму. Їх невеликі ядра містять нечіткі, дрібні ядерця.

Спостерігається також частина пікноморфних, зменшених та інтенсивно зафарбованих нейронів. Висока оптична щільність цитоплазми і ядра не дає змоги диференціювати ядра і ядерця. Навколо таких «темних», ущільнених, неправильної форми нейронів виявлено світлі порожнини, що відображають перичелюлярний набряк (рис. 5).

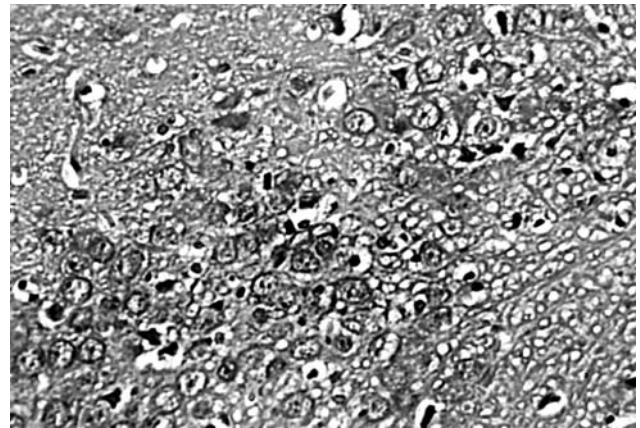


Рис. 5. Вплив гіпофункції шишкоподібної залози на гістологічні зміни пейсмерних нейронів СХЯ тварин о 14.00 год. Наявні пікноморфні, інтенсивно забарвлені нейрони. Забарвлення гематоксилином-еозином. x 400.

Зазначені зміни характеризують гіпофункцію нейронів СХЯ з елементами деструкції. О 02.00 год за умов гіпофункції шишкоподібної залози до складу нейронів, як і в попередньому часовому інтервалі, входять клітини зі світлими ядрами і великими ядерцями. Ядра зменшені в об'ємі, займають незначний об'єм нейроплазми. Спостерігаються також «темні», пікноморфні, інтенсивно зафарбовані нейрони. Навколо їх зменшених тіл наявні світлі зони (рис. 6). Стан гіпофункції, тривалий світловий стрес супроводжується частково деструкцією нейронів.

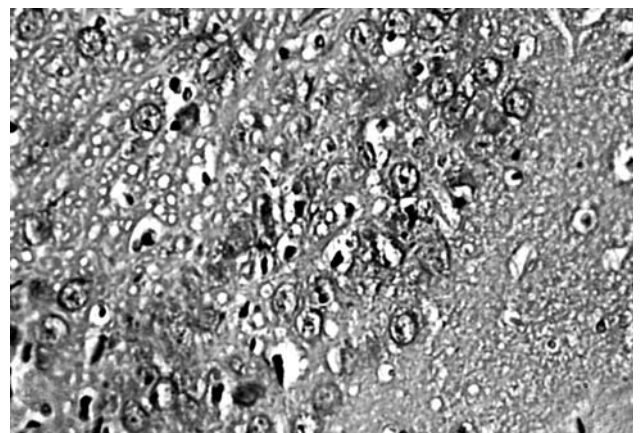


Рис. 6. Мікроскопічний стан СХЯ щурів, які зазнали тижневого світлового стресу. О 02.00 год виявлено поліморфізм у складі нейронів, клітини зі світлими ядрами і невеликими ядерцями та «темні» пікноморфні нейрони. Забарвлення гематоксилином-еозином. x 400.

Отримані дані дозволяють припустити, що за умов гіпофункції шишкоподібної залози спостерігаються більш виражені гістологічні зміни пейсмеркерних нейронів СХЯ гіпоталамуса, ніж при підвищеній активності залози. Тому з метою корекції мікроскопічних змін нейронів досліджуваних ядер при світловій стимуляції нами використано синтетичний тетрапептид – епіталон, синтезований на основі епіфізарного епіталаміну.

На основі аналізу даних про амінокислотний склад пептидів шишкоподібної залози в Санкт-Петербурзькому Інституті біорегуляції і геронтології ПЗО РАМН сконструйовано й синтезовано епіфізарний тетрапептид – епіталон. Попередні дослідження показали, що він має онкостатичну, антиоксидантну та геропротекторну дію [9]. Відомості, що віддзеркалюють ефекти епіталаону на структурні зміни в супрахіазматичних ядрах гіпоталамуса при тривалому моделюванні фотоперіоду відсутні.

При введенні епіталаону (рис. 7) тваринам, які перебували в умовах гіпофункції шишкоподібної залози, виявлено нейроцитний поліморфізм досліджуваних ядер гіпоталамуса.

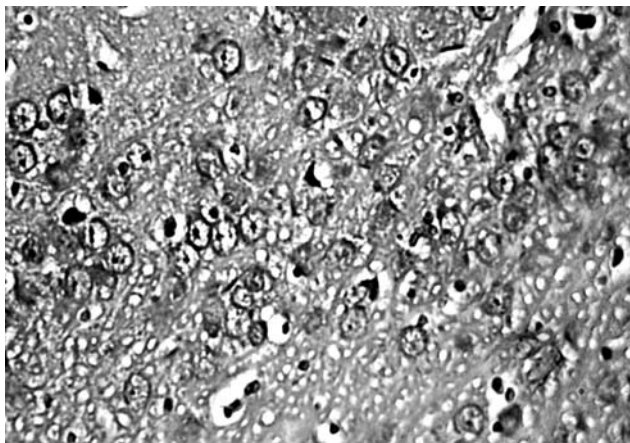


Рис. 7. Гістологічні зміни СХЯ тварин при введенні епіталаону на тлі гіпофункції шишкоподібної залози о 02.00 год. Багато нейроцитів зі світлими ядрами і великими ядерцями, наявні «темні» пікноморфні клітини. Забарвлення гематоксиліном-еозином. х 400.

Якщо о 14.00 год при спостереженні на морфологічному рівні істотних відмінностей щодо стресованих світлом тварин, яким не застосовували тетрапептид, не виявлено, то о 02.00 год чітко виражений корегульований ефект. Візуалізуються клітини зі світлими ядрами, великими ядерцями, базофільна цитоплазма вузьким обідком оточує ядра. Наявні нейроцити меншого об'єму з помірно базофільною каріоплазмою та цитоплазмою. Небагато нервових пікноморфних клітин з інтенсивно базофільною нейроплазмою і ядром, тіла яких оточені світлою зоною, що віддзеркалює перичелюлярний набряк (рис. 7).

Ін'єкції епіталаону тваринам зменшують ступінь структурних порушень СХЯ, викликаних тривалим світловим стресом.

Висновки

Наведені результати світлової мікроскопії пейсмеркерних нейронів СХЯ гіпоталамуса щурів, яким моделювали епіфізарну гіпер- чи гіпофункцію, вказують на більш

виражені порушення структури досліджуваних нейронів в умовах пригніченої функціональної активності шишкоподібної залози, ніж при її підвищеній функції. Ін'єкції синтетичного тетрапептиду епіталаону (0,5 мкг/кг маси тіла) на фоні епіфізарної гіпофункції привели до нормалізації нейронного складу нейросекреторних клітин вентралатерального відділу СХЯ гіпоталамуса, що особливо помітно проведеними дослідженнями о 02.00 год.

Література

1. Герасимов А.В. Пластичность нейроэндокринных трансдукторов при комбинированном воздействии радиации и света / А.В. Герасимов, С.В. Логвинов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2005. – Т. 140, №10. – С. 599–604.
2. Герасимов А.В. Функциональная морфология нейронов супрахиазматических ядер гипоталамуса крыс после комбинированного воздействия рентгеновского излучения и света / А.В. Герасимов // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2003. – Т. 43, №4. – С. 389–395.
3. Гончарук В.Д. Функционально-морфологический статус супрахиазматического ядра гипоталамуса при первичной гипертензии: отношение к нарушениям суточных ритмов гемодинамики / В.Д. Гончарук, Р.М. Баюс // Кардиология. – 2000. – Т. 40, №4. – С. 36–39.
4. Заморский И.И. Функциональная организация фотопериодической системы мозга / И.И. Заморский, В.П. Пішак // Успехи физиол. наук. – 2003. – Т. 34, №4. – С. 37–53.
5. Замощина Т.А. Электролитическое повреждение правого супрахиазматического ядра и циркадианные ритмы температуры тела и горизонтальной активности крыс в тесте «открытое поле» / Т.А. Замощина, М.В. Мелешко, А.В. Матвеев // Бюлл. СО РАМН. – 2004. – №1. – С. 68–72.
6. Коррекция иммунно-эндокринных нарушений при экспериментальном сахарном диабете введением гипоталамических нейропептидов / Ю.М. Колесник, А.В. Абрамов, В.А. Жулинский [и др.] // Клин. та експерим. патол. – 2006. – Т. 3, №2. – С. 120–123.
7. Нарушение циркадианных ритмов биогенных аминов в гипоталамусе крыс при введении 1,2-диметилгидразина / А.В. Арутюнян, Г.О. Керкешко, В.Н. Анисимов [и др.] // Вопр. онкол. – 2001. – Т. 47, №5. – С. 608–615.
8. Пішак В.П. Молекулярно-генетичні маркери циркадианних ритмів за фізіологічних умов / В.П. Пішак, Р.С. Булик // Бук. мед. вісник. – 2010. – Т. 14, №2 (54). – С. 12–19.
9. Хавинсон В.Х. Механизмы адаптогенного действия пептидных биорегуляторов при старении / В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин // Бук. мед. вісник. – 2006. – Т. 10, №4. – С. 12–14.
10. Abrahamson E.E. Lesions of suprachiasmatic nucleus efferents selectively affect rest-activity rhythm / E.E. Abrahamson, R.Y. Moore // Mol. Cell. Endocrinol. – 2006. – Vol. 27, №252, Suppl. 1–2. – P. 46–56.
11. Age-related change and its sex differences in histoarchitecture of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus of F344/N rats / S. Tsukahara, S. Tanaka, K. Ishida [et al.] // Exp. Gerontol. – 2005. – Vol. 40, №3. – P. 147–155.
12. Alexiuk N.A. Melatonin: effects on dopaminergic and serotonergic neurons of the caudate nucleus of the striatum of male Syrian hamsters / N.A. Alexiuk, J. Vriend // J. Neural. Transm. – 2007. – Vol. 114, №5. – P. 549–554.
13. Angeles-Castellanos M. c-Fos expression in hypothalamic nuclei of food-entrained rats / M. Angeles-Castellanos, R. Aguilar-Roblero, C. Escobar // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2004. – Vol. 286, №1. – P. R158–165.
14. Blasiak T. Dorsal raphe nucleus modulates neuronal activity in rat intergeniculate leaflet / T. Blasiak, M.H. Lewandowski // Behav. Brain Res. – 2003. – Vol. 138, №2. – P. 179–185.

15. *Cantwell E.L.* Chicken suprachiasmatic nuclei: I. Efferent and afferent connections / E.L. Cantwell, V.M. Cassone // *J. Comp. Neurol.* – 2006. – Vol. 496, №1. – P. 97–120.
16. *Cantwell E.L.* Chicken suprachiasmatic nuclei: II. Autoradiographic and immunohistochemical analysis / E.L. Cantwell, V.M. Cassone // *J. Comp. Neurol.* – 2006. – Vol. 499, №3. – P. 442–457.
17. Circadian dynamics of vasopressin in mouse selection lines: translation and release in the SCN / D.R. Van der Veen, M.R. Castillo, E.A. Van der Zee // *Brain Res.* – 2005. – Vol. 1060, №1–2. – P. 16–25.
18. Circadian molecular clocks tick along ontogenesis / Sumová A., Bendová Z., Sládek M. [et al.] // *Physiol. Res.* – 2008. – Vol. 57, Suppl. 3. – P. S139–S148.
19. Circadian regulation of GABA-A receptor function by CKI epsilon-CKI delta in the rat suprachiasmatic nuclei / K. Ning, L. Li, M. Liao [et al.] // *Nat. Neurosci.* – 2004. – Vol. 5. – P. 489–490.
20. Circadian rhythmicity in AVP secretion and GABAergic synaptic transmission in the rat suprachiasmatic nucleus / K. Kretschmannova, I. Svobodova, A. Balik [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2005. – Vol. 1048. – P. 103–115.
21. Daily and seasonal adaptation of the circadian clock requires plasticity of the SCN neuronal network / J.H. Meijer, S. Michel, H.T. Vanderleest, J.H. Rohling // *Eur. J. Neurosci.* – 2010. – Vol. 32, №12. – P. 2143–2151.
22. Differential vulnerability of the rat retina, suprachiasmatic nucleus and intergeniculate leaflet to malnutrition induced during brain development / M. Vilela, J. Mendonca, H. Bittencourt [et al.] // *Brain Res. Bull.* – 2005. – Vol. 64, №5. – P. 395–408.
23. Establishment of cell lines derived from the rat suprachiasmatic nucleus / S. Kawaguchi, A. Shinozaki, M. Obinata [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – Vol. 355, №2. – P. 555–561.
24. *Fite K.* Photostimulation alters c-Fos expression in the dorsal raphe nucleus / K. Fite, P. Wu, A. Bellemer // *Brain Res.* – 2005. – Vol. 1031, №2. – P. 245–252.
25. *Freeman D.A.* Absence of pineal-independent mediation of seasonal differences in suprachiasmatic nucleus AVP and VIP mRNA expression in Siberian hamsters / D.A. Freeman, J.M. Herron, M.J. Duncan // *Brain Res. Mol. Brain Res.* – 2002. – Vol. 101, №1–2. – P. 33–38.
26. GABA(B) receptor activation in the suprachiasmatic nucleus of diurnal and nocturnal rodents / C.M. Novak, J.C. Ehlen, K.L. Huhman, H.E. Albers // *Brain Res. Bull.* – 2004. – Vol. 63, №6. – P. 531–535.
27. GABA-A receptor activation suppresses Period 1 mRNA and Period 2 mRNA in the suprachiasmatic nucleus during the mid-subjective day / J.C. Ehlen, C.M. Novak, M.C. Karom [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* – 2006. – Vol. 12. – P. 3328–3336.
28. *Gannon R.L.* The selective tachykinin neurokinin 1 (NK1) receptor antagonist, GR 205,171, stereospecifically inhibits light-induced phase advances of hamster circadian activity rhythms / R.L. Gannon, M.J. Millan // *Eur. J. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 527, №1–3. – P. 86–93.
29. Heterogeneity of rhythmic suprachiasmatic nucleus neurons: Implications for circadian waveform and photoperiodic encoding / J. Schaap, H. Albus, H. VanderLeest [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – Vol. 23, №100, Pt 26. – P. 15994–15999.
30. Involvement of the retinohypothalamic tract in the photic-like effects of the serotonin agonist quipazine in the rat / C. Graff, M. Kohler, P. Pevet, F. Wollnik // *Neuroscience.* – 2005. – Vol. 135, №1. – P. 273–283.
31. Isolation and characterization of melanopsin and pinopsin expression within photoreceptive sites of reptiles / E. Frigato, D. Vallone, C. Bertolucci, N. Foulkes // *Naturwissenschaften.* – 2006. – Vol. 93, №8. – P. 379–385.
32. *Jagota A.* Morning and evening circadian oscillations in the suprachiasmatic nucleus in vitro / A. Jagota, H. de la Iglesia, W. Schwartz // *Nature Neurosci.* – 2000. – Vol. 3, №4. – P. 372–376.
33. *Kaur S.* Optic enucleation eliminates circadian rhythm shifts induced by stimulating the intergeniculate leaflet in Syrian hamsters / S. Kaur, B. Rusak // *Neurosci Lett.* – 2007. – Vol. 427, №2. – P. 107–111.
34. *Kuhlman S.J.* Biological Rhythms. Workshop IB: neurophysiology of SCN pacemaker function / S.J. Kuhlman // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* – 2007. – Vol. 72. – P. 21–33.
35. *Landry G.J.* Differential effects of constant light on circadian clock resetting by photic and nonphotic stimuli in Syrian hamsters / G.J. Landry, R.E. Mistlberger // *Brain Res.* – 2005. – Vol. 1059, №1. – P. 52–58.
36. Light induces c-fos and per1 expression in the suprachiasmatic nucleus of hamsters / M.T. Barakat, B.F. O'Hara, V.H. Cao [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2005. – Vol. 289, №5. – P. R1381–1386.
37. Light-dark cycle synchronization of circadian rhythm in blind primates / M.M. Silva, A.M. Albuquerque, J.F. Araujo // *J. Circadian Rhythms.* – 2005. – Vol. 3. – P. 10.
38. McNeill D.S. Retina-clock relations dictate nocturnal to diurnal behaviors / D. S. McNeill, C. M. Altimus, S. Hattar // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105, №35. – P. 12645–12646.
39. Mechanisms of structural plasticity associated with photic synchronization of the circadian clock within the suprachiasmatic nucleus / O. Bosler, C. Girardet, D. Sage-Ciocca [et al.] // *J. Soc. Biol.* – 2009. – Vol. 203, №1. – P. 49–63.
40. Midbrain raphe modulation of nonphotic circadian clock resetting and 5-HT release in the mammalian suprachiasmatic nucleus / J.D. Glass, G.H. Grossman, L.D. Farnbauch, L.M. diNardo // *J. Neurosci.* – 2003. – Vol. 20. – P. 7451–7460.
41. Monoaminergic control of vasopressin and VIP expression in the mouse suprachiasmatic nucleus / C.M. Vacher, P. Fretier, C. Creminon [et al.] // *J. Neurosci. Res.* – 2003. – Vol. 71, №6. – P. 791–801.
42. *Muscat L.* Intergeniculate leaflet: contributions to photic and non-photic responsiveness of the hamster circadian system / L. Muscat, L.P. Morin // *Neuroscience.* – 2006. – Vol. 140, №1. – P. 305–320.
43. *Muscat L.* Functional analysis of the role of the median raphe as a regulator of hamster circadian system sensitivity to light / L. Muscat, R. Tischler, L. Morin // *Brain Res.* – 2005. – Vol. 1044, №1. – P. 59–66.
44. *Peng Z.* The thalamic paraventricular nucleus relays information from the suprachiasmatic nucleus to the amygdala: a combined anterograde and retrograde tracing study in the rat at the light and electron microscopic levels / Z. Peng, M. Bentivoglio // *J. Neurocytol.* – 2004. – Vol. 33, №11. – P. 101–116.
45. *Piggins H.D.* Gastrin-releasing peptide induces c-Fos in the hamster supra-chiasmatic nucleus / H.D. Piggins, D. Goguen, B. Rusak // *Neurosci. Lett.* – 2005. – Vol. 384, №3. – P. 205–210.
46. Postnatal ontogenesis of the circadian clock within the rat liver / M. Sladek, Z. Jindrakova, Z. Bendova, A. Sumova // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007. – Vol. 292, №3. – P. R1224–1229.
47. Postnatal regulation by monoamines of vasopressin expression in the neuroendocrine hypothalamus of MAO-A-deficient mice / C.M. Vacher, A. Calas, F. Maltonti, H. Hardin-Pouzet // *Eur. J. Neurosci.* – 2004. – Vol. 19, №4. – P. 1110–1114.
48. Prosser R.A. Acute ethanol modulates glutamatergic and serotonergic phase shifts of the mouse circadian clock in vitro / R.A. Prosser, C.A. Mangrum, J.D. Glass // *Neuroscience.* – 2008. – Vol. 152, №3. – P. 837–848.
49. Prosser R. Serotonergic pre-treatments block in vitro serotonergic phase shifts of the mouse suprachiasmatic nucleus circadian clock / R. Prosser, H.M. Lee, A. Wehner // *Neuroscience.* – 2006. – Vol. 142, №2. – P. 547–555.
50. Richardson G.S. The human circadian system in normal and disordered sleep / G.S. Richardson // *J. Clin. Psychiatry.* – 2005. – Vol. 66, Suppl. 9. – P. 3–9.
51. *Saeb-Parsy K.* Responses of cells in the rat supraoptic nucleus in vivo to stimulation of afferent pathways are different at different times of the light/dark cycle / K. Saeb-Parsy, R.E. Dyball // *J. Neuroendocrinol.* – 2004. – Vol. 16, №2. – P. 131–137.

52. Schwartz M.D. Differences in the suprachiasmatic nucleus and lower subparaventricular zone of diurnal and nocturnal rodents / M.D. Schwartz, A.A. Nunez, L.R. Smale // Neuroscience. – 2004. – Vol. 127, №1. – P. 13–23.
53. Serotonin now: Part I. Neurobiology and developmental genetics / Kriegerbaum C., Gutknecht L., Schmitt A. [et al.] // Fortschr. Neurol. Psychiatr. – 2010. – Vol. 78, №6. – P. 319–331.
54. Setting the biological time in central and peripheral clocks during ontogenesis / A. Sumova, Z. Bendova, M. Sladek [et al.] // FEBS Lett. – 2006. – Vol. 580, №12. – P. 2836–2842.
55. Sex differences in adult suprachiasmatic nucleus neurons emerging late prenatally in rats / A. Abizaid, G. Mezei, P. Sotonyi, T.L. Horvath // Eur. J. Neurosci. – 2004. Vol. 19, № 9. – P. 2488–2496.
56. Sharp P.J. Photoperiodic regulation of seasonal breeding in birds / P.J. Sharp // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2005. – Vol. 1040. – P. 189–199.
57. Short-term constant light potentiation of large-magnitude circadian phase shifts induced by 8-OH-DPAT: effects on serotonin receptors and gene expression in the hamster suprachiasmatic nucleus / M. Duncan, K. Franklin, V. Davis [et al.] // Eur. J. Neurosci. – 2005. – Vol. 22, №9. – P. 2306–2314.
58. Soscia S.J. Neuropeptide Y attenuates NMDA-induced phase shifts in the suprachiasmatic nucleus of NPY Y1 receptor knockout mice in vitro / S.J. Soscia, M.E. Harrington // Brain Res. – 2004. – Vol. 1023, №1. – P. 148–153.
59. Sumova A. Effect of photic stimuli disturbing overt circadian rhythms on the dorsomedial and ventrolateral SCN rhythmicity / A. Sumova, H. Illnerova // Brain Res. – 2005. – Vol. 1048, №1–2. – P. 161–1699.
60. Suprachiasmatic regulation of circadian rhythms of gene expression in hamster peripheral organs: effects of transplanting the pacemaker / H. Guo, J.M. Brewer, M.N. Lehman, E.L. Bittman // J. Neurosci. – 2006. – Vol. 14, № 26. – P. 6406–6412.
61. Toh K.L. Basic science review on circadian rhythm biology and circadian sleep disorders / K.L. Toh // Ann. Acad. Med. Singapore. – 2008. – Vol. 37, №8. – P. 662–668.
62. Two antiphase oscillations occur in each suprachiasmatic nucleus of behaviorally split hamsters / L. Yan, N. Foley, J.M. Bobula [et al.] // J. Neurosci. – 2005. – Vol. 25, №39. – P. 9017–9026.
63. VIP receptors control excitability of suprachiasmatic nuclei neurones / P. Pakhotin, A. Harmar, A. Verkhatsky, H. Piggins // Pflugers Arch. – 2006. – Vol. 452, №1. – P. 7–15.
64. Wiechmann A.F. Circadian rhythms in the eye: the physiological significance of melatonin receptors in ocular tissues / A.F. Wiechmann, J.A. Summers // Prog. Retin. Eye Res. – 2008. – Vol. 27, №2. – P. 137–160.

Відомості про авторів:

Булик Р.С., д. мед. н., професор каф. медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки БДМУ.
Пішак В.П., член-кор. Національної академії педагогічних наук України, д. мед. н., професор, зав. каф. медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки БДМУ.

Адреса для листування:

Булик Роман Євгенович. 58022, м. Чернівці, вул. Ю. Федьковича, 15, каф. медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки БДМУ. Тел.: (095) 041 00 43. E-mail bulyk@bsmu.edu.ua

УДК 611.637.018.72-092.9:612.017.1:615.256

Л.І. Полякова

Участь клітинного компонента імунної відповіді у деструкції епітелію передміхурової залози щурів за умов застосування антиандрогенних препаратів та ЕМАР II

Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України, м. Київ

Ключові слова: рак передміхурової залози, антиандрогенний препарат.

Основним методом лікування поширеного раку передміхурової залози (РПЗ) є максимальна андрогенна блокада, що забезпечується застосуванням різних типів антиандрогенних препаратів. Останнім часом активно досліджується можливість лікування пухлин із застосуванням антивазкулярних препаратів.

Мета роботи: дослідити стан епітелію та сполучної тканини вентральної частки передміхурової залози (ВП) у щурів, які отримували нестероїдний антиандроген флутамід, синестрол та поліпептид, що активує ендотелій та моноцити (ЕМАР II).

Досліди проведено на щурах лінії Вістар з масою тіла 200–300 г, які протягом 10 діб отримували синестрол у дозі 2 або 10 мг/кг, флутамід у дозі 10 мг/кг, дексаметазон у дозі 0,05 мг/кг; ЕМАР II в дозі 100 або 50 мг/кг окремо або разом з флутамідом. ВП зважували, фіксували, заливали в парафін. Зрізи 4–5 мкм завтовшки забарвлювали гематоксиліном та еозином. Гістологічний аналіз виявив, що введення флутаміду або синестролу в низьких дозах призводить відповідно до помірних і слаб-

ко виражених атрофічних змін епітелію, проте стабільно викликає активацію та дегрануляцію тканинних базофілів (ТБ), появу сегментоядерних лейкоцитів у стромі ВП щурів. Ці спостереження не знаходили пояснення, оскільки відомо, що флутамід і синестрол через різні механізми викликають апоптоз епітеліальних клітин ВП, що не супроводжується запаленням.

Висновки. Застосування дексаметазону разом з флутамідом спричинювало зменшення атрофічних змін епітелію, збереження нормального стану ТБ, відсутність лейкоцитів у стромі ВП, що підтвердило участь імунних механізмів в атрофії епітелію. Застосування антиандрогенів, як і кастрація, призводить до гальмування кровотоку у ВП. Активація ТБ і розвиток запальних змін при цьому зумовлені гіпоксією. Введення щурам ЕМАР II призводило до стазу крові в капілярах і зростання кількості гістiocитарних клітин у стромі ВП. При застосуванні ЕМАР II разом з флутамідом спостерігалась сумація їх ефектів стосовно атрофії ВП.