

В.П.Пішак, Р.Є.Булик

МЕХАНІЗМИ УЧАСТІ ШИШКОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ В ЗАБЕЗПЕЧЕННІ ЦИРКАДІАННОЇ РИТМІЧНОСТІ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ

Кафедра медичної біології, генетики та гістології (зав. – чл.-кор. АПН України, проф. В.П.Пішак)
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. У роботі наведено відомості літератури та власні дослідження щодо центральних механізмів формування циркадіанних ритмів та участь у них шишкоподібною залозою. Проаналізовано результати регуляції

фізіологічних функцій організму за умов розвитку десинхронозу.

Ключові слова: біологічні ритми, шишкоподібна залоза, мелатонін, десинхроноз.

Вступ. Ритмічні коливання – невід’ємна і фундаментальна властивість живої матерії. Характеризуючи окремі білкові молекули чи високоорганізовані істоти, цілісне розуміння їх діяльності неможливе без врахування фактора часу [13]. Велика різноманітність відомих біологічних ритмів визначається широким діапазоном часових зсувів функцій біологічних систем. У людини вивчено понад 900 фізіологічних функцій клітин, органів і систем організму, яким властива добова активність. У природних умовах особливо важливим є білядобовий, чи циркадіанний, ритм (ЦР) з періодом, близьким 24-ом годинам, що сформувався внаслідок добових коливань впливу зовнішніх геофізичних чинників. Експериментально доведено, що з широкого комплексу періодичних коливань реальний вплив на власні ритми хроноперіодичної системи здійснюють зміни освітленості, температури, геомагнітного поля та вологості.

Поміж інших параметрів середовища фотоперіод – найнадійніший і найстабільніший синхронізуювальний чинник для гомойотермних тварин, у т.ч. для людини. Нейрофункціональна система, сприймаюча фотоперіод – фотоперіодична ланка головного мозку – як частина хроноперіодичної системи організму залучена в сприйняття і передачу ззовні до периферичних тканин інформації про основний часозадавач – фотоперіод. Така роль фотоперіодичної системи дозволяє їй не тільки синхронізувати хроноритми соматичних і вісцеральних функцій, але й, ймовірно, здійснювати координацію і модуляцію механізмів адаптації організму до впливу різних чинників.

Відомо, що інформація про освітленість надходить в організм через сітківку. Донедавна єдиними світлосприймаючими рецепторами в ссавців вважали зорові фоторецептори сітківки – палички й колбочки. Однак за останні роки з’явилися дані, що вказують на участь гангліозних клітин і клітин внутрішнього ядерного шару сітківки (біполярних клітин) у безпосередньому сприйнятті фотоперіоду. У цих клітинах при дії світлових хвиль синього спектра виникає індукція генів *cry*, які продукують пігментні білки криптохромів із групи флавоноїдів. Нагромадження таких білків забезпечує первинне сприйняття фотоперіоду

дичної інформації живими організмами. Молекулярні механізми фотоперіодичної дії криптохромів залишаються невідомими, і тому не виключений гуморальний шлях передачі фотоперіодичної інформації за допомогою цих білків до структур головного мозку й периферичних тканин.

Встановлено щонайменше 6 ключових генів, які відіграють роль у системі циркадіанного годинника мишей (*Clock*, *Bmal1*, *mPer1*, *mPer2*, *mCry1*, *mCry2*) (Nagai K. et al., 2006). *Clock* і *Bmal1* належать до позитивних елементів, що діють на ділянки *mPer* і *mCry* генів та ініціюють їх транскрипцію. Коли рівні *PER* і *CRY* досягають достатньої кількості, гени взаємодіють між собою й інгібують в ядрі дію *Clock/Bmal1* на етапі їх транскрипції. У кінцеву результаті за принципом зворотнього зв’язку пригнічується *mPer* і *mCry* транскрипція, а комплекс *Clock/Bmal1*, у свою чергу, повертається до нового циклу транскрипції.

Запуск ЦР і динамічний взаємозв’язок окремих компонентів циркадіанної системи між собою – ключові питання сучасної хроноритмології. І цілком закономірно, що перш за все вони зіштовхуються з проблемою пошуку центральних ланок, здатних в якості пейсмейкера генерувати і (чи) координувати циркадіанні коливання функцій організму

Використовуючи високоефективний N-етил-N-нітрозойний мутагенез, Kume K. (2006) ізолював мутацію одного з генів, яка впливає на циркадіанні ритми мишей. Мутації “часового” гена подовжували циркадіанний період до чотирьох годин у гомозиготних мутантів, що супроводжувалося повною втратою циркадіанної ритмічності в звичайних умовах. Використовуючи комбінований підхід позиційного клонування і трансгенного зберігання мутації часового гена в мишей, виявлено, що часовий ген кодує новий елемент моделі транскрипції, який діє як гетеродимерний транскрипційний фактор. Комплекс “часовий” ген-*BMAL1* активує низку генів, у т.ч. гени криптохрому (*mCry1*, *mCry2*).

Дослідження показали, що криптохроми відіграють важливу роль в управлінні циркадіанними ритмами ссавців. Мутації *mCry1* чи *mCry2*

спричинюють вкорочення і подовження циркадіанного періоду в мишей, в той час як *mCry1/mCry2* подвійні мутації повністю нівелюють циркадіанний ритм як і молекулярні коливання *mPer1* і *mPer2* експресії гена в СХЯ. Більш того, *Cry* протеїни є потужними інгібіторами *CLOCK-BMAL1*-спричиненої транскрипції, ймовірно криптохромні відіграють важливу роль як елементи зворотнього зв'язку водія ритму.

Прикладом можуть слугувати кроти підвиду *Spalax ehrenbergi*, адаптовані до підземного життя. Хоч ці гірзуни абсолютно сліпі, володіють лише нерозвиненими підшкірними рудиментами очей, їх щоденний ритм активності підпорядковується циклу світло-темрява. Дослідженнями, проведеними Avivi A. et al. (2001) щодо молекулярного аналізу комплексу *CLOCK/MOP3*, доведено надходження "світлової" інформації до біологічного годинника за участі криптохромних генів. Ці гени діють і як фоторецептори, і як вагомні елементи механізму зворотнього зв'язку в біологічному годиннику. Експерименти, проведені на клонуваних *Cry1* і *Cry2* генах дали змогу виявити, що *Cry1*-ген є значно ближчий до людського гомолога, ніж до мишачого. Знайдено дві ізоформи *Cry2*-гена, які відрізняються 5'-кінцем і визначають власну експресію в популяціях *Spalax*. *Cry1* і *Cry2* іРНК ідентифіковано в СХЯ гіпоталамуса, очач, гарднеровій залозі тварин, а також значна кількість міститься в периферичних тканинах. Незважаючи на сліпоту та життя кротів у темряві, *Cry* гени у популяціях *Spalax* функціонують подібно, хоча й не ідентично, до таких у зрячих тварин.

Abraham D. та співавт. (2000) спостерігали за поведінкою та фізіологією мишей з подвійною мутацією в *Per2/Cry1* в умовах трьох різних світлових режимів. За умов циклу світло-темрява, активність цих мишей пригнічувалась світлом, тоді як за умов постійної темряви, мутанти втрачали циркадіанну ритмічність, однак проявляли чіткі ультрадіанні ритми. За умов постійного освітлення високої інтенсивності, циркадіанні ритми відновлювалися на поведінковому рівні з різко вкороченим ендogenous періодом.

Згідно з сучасними уявленнями, на роль провідного водія ритму (пейскекера) добового періодизму в головному мозку ссавців претендують супрахіазматичні ядра гіпоталамуса (СХЯ). Ці структури мають близько 20 аферентних і стільки ж еферентних зв'язків з кірковими й підкірковими структурами мозку. Три основних аферентних входи – ретиногіпоталамічний, генікулогіпоталамічний і серотонінергічний – забезпечують основний приплив інформації в СХЯ із зовнішнього й внутрішнього середовища.

Через ретиногіпоталамічний тракт СХЯ одержують інформацію про зовнішню освітленість, відповідно до якої модулюється пейскекерна активність. Навіть ультрафіолет викликає у фоторецепторних пейскекерах СХЯ специфічні зміни, пов'язані зі сприйняттям фотосигналу в цих клі-

тинах. Частина з ретиногіпоталамічних проєкцій є глутаматергічними, а інша частина – ГАМК-ергічними. Припускають, що первинним хімічним аналогом світла є, ймовірно, не ГАМК чи глутамат, а дофамін.

Через NMDA-рецептори (N-метил-D-аспартат-рецептори) і вторинний посередник – окис азоту – глутамат доносить інформацію про фотосигнал на ВІП-пейскекери вентролатерального відділу СХЯ, а можливо, і 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 фосфорилування ферментних білків. У кінцевому результаті зазначені фотоефекти супроводжуються зростанням вмісту ВІП-, гастрин-релізін- і Y-пептидів у вентролатеральному відділі СХЯ, але не дорсомедіальному. Встановлено, що описаний каскад молекулярних процесів у СХЯ спостерігається вже на 11-ій годині після розкриття очних щілин у триденних хом'ячків. У суб'єктивну ніч навіть одиничний імпульс світла супроводжується в дорослих шурів і хом'ячків негайною експресією іншого специфічного гена – *jun-B* – і синтезом відповідного йому білка AP-1. Обидва імуноспецифічних білка мають, ймовірно, відношення до модуляції пейскекерної активності СХЯ, а також до механізму синхронізації зовнішніми циклами, в т. ч. й світло-темновими, ЦР активності пейскекерних клітин. Крім того, ці білки є маркерами пейскекерних нейронів дорсомедіального й вентролатерального відділів СХЯ. Доведено дві моделі циркадіанної організації і пейскекерної активності нейронів СХЯ: для нічних і денних тварин.

ГАМК-ергічні ретиногіпоталамічні волокна також закінчуються на ВІП-вмісних клітинах СХЯ, де ідентифіковані ГАМК-А-рецептори. У суб'єктивний день ГАМК-А-активація пригнічує імпульсну активність і відповіді ВІП-клітин на стимуляцію оптичного тракту, а в суб'єктивну ніч – навпаки, підсилює останній ефект, не впливаючи на перший. З іншого боку, показано, що ГАМК-ергічна стимуляція збільшує метаболічну активність серотоніна в СХЯ, що опосередковується через ГАМК-В-рецептори.

Таким чином, глутамат- і ГАМК-ергічні ретиногіпоталамічні проєкції здійснюють реципрокний контроль у СХЯ зовнішнього світло-темнового циклу. Певний внесок у цей контроль роблять, ймовірно, Y-пептидергічні волокна генікулогіпоталамічного тракту, що проєктується з інтергенікулятного листка на ті ж ВІП-пейскекери вентролатеральної ділянки СХЯ. Переконаливо продемонстроване виникнення істотних поломків у пристосуванні циркадіанної системи до мінливого світлового режиму, при ушкодженні цілісності інтергенікулятного листка чи його волокон. Однак стосовно генікулогіпоталамічного тракту залишається ще багато нез'ясованих

питань, щодо його взаємодії з ретиногіпоталамічними й серотонінергічними проєкціями на СХЯ.

Отримуючи інформацію про стан зовнішнього освітлення від фоторецепторів сітківки, вони за участі широких аферентних проєкцій направляють трансформовані сигнали до центрів гіпоталамуса, що контролює діяльність ендокринних залоз, а також до лімбічних і екстрапірамідних структур, які беруть участь в організації поведінки.

Незважаючи на те, що СХЯ здійснюють контроль над багатьма функціями організму, проєкції нейронів цих ядер здебільшого не виходять за межі гіпоталамуса. Через контакти з гіпоталамічними нейроендокринними нейронами, що містять рилізінг-гормони, СХЯ регулюють добові ритми секреції гормонів гіпофіза. За допомогою контактів з автономними нейронами гіпоталамуса ці ядра надсилають свої сигнали до розташованих на периферії ендокринних залоз (надниркові, щитоподібна, підшлункова та статеві залози), викликаючи ритмічні зміни рівня синтезованих ними гормонів. Таким чином, в якості передавача ЦР від СХЯ до органів до органів і тканин на даний час може розглядатися весь комплекс гормонів, добові ритми яких контролюються циркадним осцилятором.

Для того, щоб виявити властивості осцилятора недостатньо визначити його фізіологічні показники впродовж доби. Необхідні спеціальні дослідження, які викликають штучне збурення системи. Цього досягають зміною режиму освітлення. У серіях експериментів, виконаних у нашій лабораторії, ми утримували тварин впродовж 7, 15, 30 діб в умовах постійного освітлення або постійної темряви, змінювали режим освітлення на 180° та ін. Циркадний осцилятор досить чутливий до зміни фотоперіоду. Цю функцію виконують близько 10 тис. спеціалізованих нейронів, які підтримують ендogenousний ЦР і залучають інші функції організму до циркадної ритмічності. Проте СХЯ не єдиний осцилятор.

Експериментами на земноводних, птахів, ссавців нами встановлено місце і роль шишкоподібної залози як циркадного осцилятора. Побавлена власних ритмозадавальних властивостей у ссавців, залоза забезпечує поєднання, координацію різних за періодом біологічних ритмів. Полісинаптичним шляхом до епіфіза мозку надходить інформація про зміну світлової й темної фаз доби. Симпатичні впливи через β -адренорецептори клітин залози регулюють захоплення пінеалоцитами з крові амінокислоти триптофану з подальшим синтезом основного епіфізарного гормону мелатоніну з підпорядкуванням чіткому циркадному ритму. Мінімум утворення вказаного індолу припадає на світлову, а максимум – на темнову фазу доби. З цього ж приводу на стані шишкоподібної залози віддзеркалюється фактор сезонності – зростання продукції гормону з вкороченням фотоперіоду [7].

За рахунок мелатонінових рецепторів, виявлених у різних мозкових структурах і периферич-

них органах, гормон контролює стан гіпоталамо-гіпофізарної системи й активність ендокринних залоз. Крім того, за механізмом зворотного зв'язку він втручається в діяльність самих СХЯ. Унікальним положенням на стику нервової й ендокринної систем обумовлена своєрідна модуляторна роль епіфіза мозку, здатного інтегрувати різні екзогенні й ендogenousні сигнали, трансформуючи їх у гормональну відповідь. Володіючи широким спектром ефектів, мелатонін може відігравати також роль ендogenousного синхронізатора ритмічних процесів, запускати ЦР деяких фізіологічних показників. Показано, що синхронізуюча дія мелатоніну визначається тільки при введенні його в певні періоди доби, відповідно до пізніх вечірніх і ранніх нічних годин. Встановлено, що такі ефекти зумовлені як функціональною активністю шишкоподібної залози впродовж доби, так і різною щільністю рецепторів мелатоніну в СХЯ, через які гормон здійснює підстроювання ритмів циркадного осцилятора.

Дефекти епіфізарної діяльності неминуче спричиняють поломку біоритмів, визначаючи їхню фазову неузгодженість, що особливо виражено в процесі старіння [1,2,8]. Також активно вивчаються механізми дії пептидних біорегуляторів (епіталаміну, епіталону) в якості їх подальшого застосування з метою профілактики прискороного старіння і вікової патології [1,8].

Проведені в нашій лабораторії епіфізектомія, моделювання гіпер- та гіпофункції епіфіза мозку, введення мелатоніну і серотоніну дозволили визначити участь шишкоподібної залози в синхронізації ЦР (В.П. Пішак, 1985-2006) [9-12]. Роботами І.І.Заморського [4,5] розвиваються й обґрунтовуються нові спрямування функціонування фотоперіодичної системи головного мозку. Встановлено, що властивості циркадної ритмічності зазнають вікових змін. У процесі старіння спостерігається неухильне зниження амплітуди, середнього рівня коливань різних показників імунної системи [6]. Такі дефекти торкаються і вікових порушень функції нирок [14]. Досліджено, що блокада синтезу простагландинів за умов гіпофункції шишкоподібної залози призводить до більш істотних змін інтегральних характеристик хроноритмів функцій нирок порівняно з блокадою синтезу простагландинів на тлі гіперфункції органа [3].

Нами обґрунтовано ефекти впливу стресу на хроноритми ренальних функцій і залежність десинхронізації від тривалості фотоперіоду. Серією досліджень показано порушення хроноритмічності впорядкованості функцій нирок під впливом солей важких металів. Ведуться наукові розробки щодо діяльності щитоподібної, надниркових залоз у циркадній залежності від шишкоподібної залози.

Однак ціла низка питань часової організації біосистем залишаються нез'ясованими. Вищенаведені відомості підкреслюють необхідність проведення подальших досліджень місця і ролі окре-

мих структур хроно- та фотоперіодичної систем головного мозку в біоритмічній організації. Перспективними напрямками хронобіології залишаються перенесення експериментальних критеріїв у площину хрономедицини, розробка методів профілактики десинхронозів та ін.

Література

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. – СПб: Наука, 2003. – 467 с.
2. Бондаренко Л.А. Значение взаимодействия факторов внутренней и внешней среды в регуляции функциональной активности пинеальной железы: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук: 14.01.14 (Институт эндокринологии и обмена веществ АМН Украины). К., 2003.- 36 с.
3. Булик Р.С. Роль простагландинів у регуляції хроноритмів функцій нирок. Автореф. дис. ... к.мед.н. – Вінниця, 2004. – 21 с.
4. Заморський І.І. Фотоперіодичний компонент механізмів адаптації до гострої гіпоксії. Автореф. дис... д.мед.н. – Київ, 2000. – 35 с.
5. Заморский И.И., Пишак В.П. Функциональная организация фотопериодической системы мозга // Усп. физиол. наук.-2003.-Т.34, №4.- С.37-53.
6. Захарчук О.І. Участь шишковидного тіла в сезонних змінах циркадіанного ритму неспецифічної адаптації у старих щурів. Автореф. дис. ... к.мед.н. – Львів, 1993. – 22 с.
7. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И., Малиновская Н.К., Анисимов В.Н. Мелатонин в норме и патологии. – М.: Медпрактика, 2004.- 308 с.
8. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б. и др. Суточные ритмы мелатонинообразующей функции эпифиза у людей пожилого возраста // Успехи геронтологии.- 2004.- Вып. 15.- С.70–75.
9. Кривич Н.В. Хроноритми функцій щитовидної залози, екскреторної функції нирок у хворих на дифузний токсичний зоб та гіпотиреоз. Автореф. дис. ... к.мед.н. – Київ, 1998. – 18 с.
10. Пишак В.П. Функциональные связи эпифиза и почек у позвоночных. Автореф. дисс. ... д.мед.н. – Киев, 1985. – 33 с.
11. Пішак В.П., Мещишен І.Ф., Заморський І.І. Мелатонін: обмін та механізм дії // Бук. мед. вісник.– 2001.- Т.5, №1-2.– С. 3-15.
12. Ткачук С.С. Нейроендокринні та біохімічні механізми порушень стрес-лімітуючої та стрес-реалізуючої системи мозку у щурів з синдромом пренатального стресу. Автореф. дис. ... д.мед.н. – Київ, 2000. – 41 с.
13. Хронобиология и хрономедицина / Под ред. Комарова Ф.И., Рапопорта С.И. - М.: Триада-Х, 2000. – 488 с.
14. Черновская Н.В. Функциональное состояние почек эпифизэктомированных крыс в постнатальном периоде. Автореф. дисс. ... к.биол.н. – Львов, 1987. – 18 с.

MECHANISM OF PINEAL PARTICIPATION IN THE PROVISION OF CIRCADIAN RHYTHMICITY OF PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS

V.P.Pishak, R.Ye.Bulyk

Abstract. The paper deals with bibliographical information and the authors' own studies pertaining to the central mechanisms of the forming of circadian rhythms and the participation in them of pineal gland. The results of regulation of the body's physiological functions under conditions of the development of desynchronosis have been analyzed.

Key words: biological rhythms, pineal gland, melatonin, desynchronosis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2006. – Vol.10, №4.- P.4-7

Надійшла до редакції 30.06.2006 року