

УДК 612.826.4:612.017.2

О.В. Тимофій, Р.С. Булик

СТАН ГЕНА РАННЬОЇ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ *c-FOS* У СУБ'ЯДРАХ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ В УМОВАХ МОДИФІКАЦІЙ ФОТОПЕРІОДУ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. Досліджено вплив модифікацій нормальної фотоперіодики на стан гена ранньої функціональної активності *c-fos* у суб'ядрах паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гіпоталамуса щурів у різні проміжки доби (вдень і вночі). Експресія продукту цього гена – білка *c-Fos* – у тварин, котрі утримувалися в нормальних умовах чергування освітлення та темряви, демонструвала досить чіткий циркадіанний характер. Водночас зміна тривалості циклу світло-темрява призводить до вираженого

десинхронозу. Визначальними чинниками, які вплинули на індекс інтегральної щільності *c-Fos* у досліджуваних структурах ПВЯ гіпоталамуса щурів були зміни концентрації даного білка та індексу вмісту *c-Fos* у суб'ядрах нейронів.

Ключові слова: ген *c-fos*, імуноспецифічний білок *c-Fos*, паравентрикулярне ядро гіпоталамуса, постійне освітлення, світлова депривація.

Вступ. Паравентрикулярні ядра (ПВЯ) гіпоталамуса є вегетативним центром координації функцій і складаються з низки нейронних популяцій – суб'ядер, які різняться структурно-функціональними особливостями і характером нервових зв'язків із різними відділами нервової і нейроендокринної систем [3, 5].

При вивченні стресових реакцій і дії стреслімітувальних чинників (зокрема мелатоніну) постає важливим дослідження вказаних субпопуляцій нейронів ПВЯ гіпоталамуса, що синтезують стрес-релізінг гормони, які ініціюють стресорні реакції організму [4, 10]. Основними пептидами, що проявляють сумісний ефект у регуляції секреції АКТГ, є кортикотропін-релізінг фактор (КРФ) і вазопресин (ВП). КРФ-імунореактивна мітка виявлена, здебільшого, у медіальному дрібноклітинному суб'ядрі (мдПВЯ), а ВП-імунореактивна мітка – у латеральному великоклітинному суб'ядрі (лвПВЯ). Викликає зацікавленість з'ясування впливу світлового стресора на стан вказаних суб'ядер ПВЯ. При цьому важливо вивчити зміни морфофункціональної активності і рівень експресії гена надранньої відповіді *c-fos* у структурах, а також проаналізувати можливості підвищення адаптації нейросекреторних клітин до пошкоджувальної дії стресового чинника.

Серед широкого комплексу параметрів середовища фотоперіодизм є найнадійнішим і найстабільнішим синхронізувальним чинником для гомотермних тварин, включаючи людину [2, 8]. Порушення світлового режиму (тривале освітлення, постійна темрява) викликає в ПВЯ негайні зміни експресії гена *c-fos* [6,7,11]. Посилення його експресії інтенсифікує синтез відповідного імуноспецифічного білка *c-Fos* [5, 9]. Згаданий пептид бере участь у механізмах синхронізації даної активності зовнішніми циклічними впливами, зокрема циркадіанними, пов'язаними з чергуванням світла й темряви [1, 4].

Водночас відомості щодо впливів постійного освітлення або темряви на діяльність вказаних субпопуляцій нейронів ПВЯ гіпоталамуса, залу-

чених у формування механізмів циркадіанних ритмів, залишаються відносно обмеженими.

Мета дослідження. З'ясувати активність гена „надранньої відповіді” *c-fos* у суб'ядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса за зміненої тривалості циклу світло-темрява.

Матеріал і методи. Експерименти проведені на 36 статевозрілих самцях безпорідних білих щурів масою 150-180 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію при сталих температурі і вологості повітря та вільному доступі до води і їжі. Експериментальні щури розподілені на три групи, кожна з яких, у свою чергу, складалася з двох підгруп (по шість тварин).

Тварини першої групи (інтактні) перебували сім діб в умовах звичайного світлового режиму (світло-темрява по 12 год, LD, освітлення з 08.00 до 20.00 за допомогою люмінесцентних ламп, рівень освітленості в клітинах із тваринами 500 лк). Щури другої групи перебували протягом семи діб в умовах постійного освітлення аналогічної інтенсивності (LL, індукція гіпофункції епіфіза). Тварини третьої групи знаходилися протягом того ж самого періоду в умовах постійної темряви (світлова депривація, DD, індукція епіфізарної гіперфункції).

Після закінчення семиденного періоду наступного дня о 14.00 і 02.00 тварин виводили з експерименту, здійснюючи одномоментну декапітацію під етаміналовим наркозом (40.0 мг/кг, внутрішньоочеревинно). Мозок тварин негайно вилучали і вміщували в 10 % розчин формаліну на фосфатному буфері (0.1 M, pH 7.2) на 20 год при кімнатній температурі. Після стандартної процедури зневоднення й просочення хлороформом і парафіном зразки заливали в парафін. Усі етапи експерименту проведено з дотриманням основних вимог Європейської конвенції щодо гуманного ставлення до тварин (Страсбург, 1986).

Для ідентифікації *c-Fos* у гістологічних зрізах гіпоталамуса застосовували непрямий імунофлуоресцентний метод. Зрізи завтовшки 14 мкм спочатку депарафінували в ксилолі, потім прово-

дили регідратацію в розчинах етанолу шести низхідних концентрацій (100-40 %) і тричі по 10 хв відмивали у фосфатному буфері (0.1 М, pH 7.2).

Як первинні антитіла застосовували кролячі антитіла (імуноглобулін – IGG) до с-Fos (“Sigma-Aldrich”, США). Спочатку зрізи протягом 45 хв інкубували при 37 °С у 0.3 % розчині Triton X-100 (“Sigma-Aldrich”, США) на 0.1 М фосфатному буфері (pH 7.2) з додаванням 1 % козячої сироватки. Потім на послідовні серійні зрізи наносили первинні антитіла до с-Fos (1:1000) і протягом 24 год інкубували у вологій камері в умовах зниженої температури (4 °С). Після відмивання надлишку первинних антитіл у 0.1 М фосфатному буфері зрізи інкубували 60 хв при 37 °С із вторинними антитілами в розведенні 1:200. Як вторинні антитіла застосовували козячий гаммаглобулін, котрий є антитілом щодо глобулінів кролика, кон’югований із флуоресцеїнізотіоціанатом (FITC; “Sigma-Aldrich”, США). Після інкубації зрізи промивали фосфатним буфером (0.1 М) і вміщували в суміш гліцерину й фосфатного буфера (9:1) для подальшого дослідження за допомогою люмінесцентної мікроскопії.

Контроль специфічності зв’язування антитіл проводили аналогічним чином, виключаючи етап інкубації з первинними антитілами до с-Fos.

Ідентифікацію с-Fos у нейронах гіпоталамуса і визначення вмісту цього протеїну здійснювали із застосуванням комп’ютерної системи цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (“Kontron Elektronik”, ФРН) в ультрафіолетовому спектрі. Для отримання флуоресцентного зображення використовували високоемісійний фільтр із діапазонами збудження та емісії 370-390 та 420-450 нм відповідно й спеціалізований об’єктив із широкою апертурою. Зображення за допомогою 8-бітної CCD-камери CONU-4922 (“CONU Inc.”, США) уводили в комп’ютерну систему аналізу зображень VIDAS-386. При цьому унеможлилювали ефект “вигорання” препарату, пов’язаний із поступовим руйнуванням молекул FITC під впливом тривалого ультрафіолетового опромінювання. Уведене імунофлуоресцентне зображення оцифровували за денситометричною шкалою з 256 градаціями сірого кольору. Аналіз зображення проводився в автоматичному режимі за допомогою пакета прикладних програм VIDAS-2.5 (“Kontron Elektronik”, ФРН). Програмно ідентифікувалися ділянки препаратів, у котрих інтенсивність флуоресценції вірогідно перевищувала фонові значення (притаманні так званій неспецифічній флуоресценції). Вимірювали площу таких ділянок та повну площу перерізу ядер нейронів СХЯ, котрі вміщували імунопозитивний матеріал (S_i та S_n відповідно, мкм^2). З урахуванням інтенсивності флуоресценції в імунопозитивних ділянках та інтенсивності флуоресценції фону (D_i та D_0) обчислювали показники, які характеризують концентрацію с-Fos та вміст цього протеїну в ядрах імунопозитивних клітин, – $K_i = \left| \lg \left(\frac{D_i}{D_0} \right) \right|$ та $C_i = K_i \cdot S_i$ (умовні одиниці – у. о.) відповідно.

Оскільки дані показники є відносними, а не абсолютними величинами, далі ми іменуватимемо їх індексами концентрації та вмісту с-Fos в імунопозитивних клітинах.

Топографічну приналежність імунопозитивних нейронів до окремих структур гіпоталамуса картували згідно із стереотаксичним атласом мозку щура.

Отримані експериментальні дані обробляли з використанням пакета прикладних і статистичних програм VIDAS-2.5 (“Kontron Elektronik”, ФРН) і EXCEL-2003 (“Microsoft Corp.”, США). Для вибірок усіх показників розраховували значення середнього арифметичного, середньоквадратичного відхилення та похибки середнього. Вибіркі імунопозитивних клітин СХЯ, у яких вимірювали S_i та S_n та розраховували значення K_i та C_i у різних групах експериментальних тварин, склалися зі 120-153 одиниць.

Окрім того, ми розраховували щільність локалізації с-Fos-імунопозитивних нейронів у межах досліджених зрізів даного ядра. Для цього попередньо визначали кількість таких клітин у декількох (чотирьох-семи для кожної тварини) випадково вибраних полях зору і розраховували середню кількість подібних нейронів на 1 мм^2 площі зрізу. Вірогідність відмінностей значень у дослідних і контрольних групах тварин визначали за критерієм Стьюдента (t). Вірогідними вважали значення, для яких $P < 0.05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

За стандартного режиму освітлення у медіальних дрібноклітинних суб’ядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса (мдПВЯ) інтенсивність флуоресценції матеріалу, імунореактивного до с-Fos, вдень менша, ніж вночі. Зокрема, о 14.00 год вона дорівнювала $26,46 \pm 1,506 \text{ мкм}^2$, а о 02.00 год – $27,67 \pm 1,420 \text{ мкм}^2$. Утримання тварин за змінного фотоперіоду спонукало до зміщення інтенсивності флуоресценції досліджуваного матеріалу з нічних на денні години (табл. 1). Як і в інтактних тварин, міжгрупової різниці у щурів, які знаходилися в умовах гіперфункції шишкоподібної залози, нами не зареєстровано. Водночас моделювання дослідним особинам епіфізарної гіпофункції спричинило о 14.00 год вірогідне зростання (на 17,0 %) площі матеріалу, імунореактивного до с-Fos порівняно з контрольними величинами в аналогічний період та на 22,8 % щодо показників цієї серії тварин, мдПВЯ яких досліджували о 02.00 год (табл. 1).

У цій серії шляхом кореляційного аналізу встановлено о 14.00 год обернений ($r = -0,66$), а о 02.00 год прямий ($r = 0,64$) зв’язок між площами ядра нейрона і матеріалу, імунореактивного відносно с-Fos.

Моделювання різної функціональної активності шишкоподібної залози віддзеркалилося і на концентрації білка с-Fos у суб’ядрах мдПВЯ. Індекс концентрації білка с-Fos в умовах епіфізарної гіпофункції о 14.00 год менші на 27,3 %, а о 02.00 год – на 21,0 % щодо таких в інтактних тва-

рин. Водночас вищий індекс реєстрували вдень у зрізах щурів, які перебували в умовах гіперфункції пінеальної залози. У цій підгрупі індекс становив $0,545 \pm 0,0128 O_{\text{ф}}$, вірогідно перевищуючи на 47,3 % такий в інтактній підгрупі (табл. 1). Протилежні дані отримано нами вночі: індекс вірогідно знижувався на 60,9 % відносно підгрупи, зразки в якій відбирали о 14.00 год та на 10,5 % щодо щурів, яких утримували за фізіологічних умов (табл. 1).

Отримані зміни визначали і коливання індексу вмісту білка c-Fos у суб'ядрах мдПВЯ гіпоталамуса. В інтактних тварин цей індекс уночі вірогідно менший (на 28,9 %), ніж удень. У стресованих світлом щурів добова динаміка подібна, проте більш виражена: денний показник на 42,4 % перевищував нічний. Порівняно з контрольними величинами о 14.00 год вірогідних змін не виявлено, а о 02.00 год індекс на 28,9 % нижчий (табл. 1).

Оскільки нами встановлено різке зростання концентрації білка c-Fos у суб'ядрах мдПВЯ вдень у щурів з епіфізарною гіперфункцією, то закономірним було виявлення високих значень індексу сумарного вмісту вказаного білка – $17,57 \pm 1,239 O_{\text{ф}}$. При нічному спостереженні в особин цієї серії індекс вірогідно знижувався, суттєво не відрізняючись від такого в інтактних тварин в аналогічний добовий проміжок (табл. 1).

Охарактеризовуючи інтегральну щільність матеріалу, імунореактивного до c-Fos, ми отримали наступні дані. Якщо в інтактних щурів та тварин з епіфізарною гіперфункцією більші показники щільності розташування c-Fos-позитивних нейронів у суб'ядрах мдПВЯ реєстрували в нічний проміжок дослідження, то при гіпофункції шишкоподібної залози, навпаки, – щільність вдень вірогідно зростає відносно такої в щурів, які знаходилися за фізіологічних умов. Слід відмітити відсутність міжгрупової різниці у всіх досліджуваних серіях, що, ймовірно, зумовлено значною похибкою цього параметра у випадково відібраних зонах зрізів досліджуваних суб'ядер (табл. 1).

Отримані результати дозволяють припустити, що визначальними чинниками, які вплинули на індекс інтегральної щільності c-Fos у тканині мдПВЯ гіпоталамуса щурів були зміни концентрації даного білка та індексу вмісту c-Fos у суб'ядрах нейронів. Показники індексу інтегральної щільності c-Fos у всіх трьох серіях експерименту о 02.00 год вірогідно нижчі, ніж о 14.00 год, а саме в інтактних тварин – на 26,3 %, при світловій стимуляції – на 47,0 %, в умовах постійної темряви – на 62,8 % відповідно (табл. 1).

Шляхом ідентифікації продукту експресії гена „надранньої відповіді” *c-fos* імунофлуоресцентним методом у лВПВЯ гіпоталамуса інтактних тварин виявлено вірогідне зниження площі імунопозитивних ділянок структур уночі на 19,4 % ($p < 0,05$) порівняно з денними вимірами. Середні значення площ таких імунопозитивних ділянок суб'ядер дещо варіювали і в підгрупах

щурів, які перебували в умовах світлової стимуляції та депривації, в яких зразки лВПВЯ для дослідження відбирали о 14.00 год та о 02.00 год, однак міжгрупові різниці не досягали рівня вірогідності. Зазначимо, що в щурів в умовах постійної темряви вночі площа матеріалу, імунореактивного відносно c-Fos, вірогідно перевищувала таку в інтактних тварин в аналогічний часовий проміжок (табл. 2). Кореляційний аналіз о 14.00 год встановив тісний обернений зв'язок між площами ядра нейрона і матеріалу, імунореактивного відносно c-Fos ($r = -0,75$) у групі тварин, які зазнали світлової депривації.

Моделювання різної епіфізарної активності суттєво вплинуло на концентрацію білка c-Fos у суб'ядрах нейронів лВПВЯ. В умовах світлового стресу індекс концентрації c-Fos удень менший на 29,4 %, а вночі – на 16,5 % стосовно аналогічних величин в інтактній групі. Однак найбільші зрушення в концентрації білка, що досліджується, виявили в зразках, взятих о 14.00 год у щурів, яких утримували в постійній темряві. Індекс концентрації становив у цій підгрупі $0,573 \pm 0,0244$ у.о., перевищуючи на 73,6 % аналогічний показник в інтактних особин ($p < 0,001$). Незначне (на 8,5 %) підвищення індексу концентрації білка c-Fos у суб'ядрах нейронів лВПВЯ щодо параметра інтактних тварин відмічали при моделюванні гіперфункції епіфіза мозку і вночі. У тварин, які перебували за стандартного світлового режиму і при світловій депривації, індекс концентрації білка c-Fos вдень вірогідно вищий ($p < 0,01$), ніж аналогічне значення вночі. При гіперфункції шишкоподібної залози індекс концентрації c-Fos, виміряний вдень, перевищував нічне значення в цій групі більше, ніж удвічі. В інтактній групі нічна величина становила в середньому тільки 71,5 % денного показника. При цьому в щурів, яких піддали постійному освітленню, денні та нічні величини індексу концентрації c-Fos вірогідно не різнилися між собою (табл. 2).

За таких умов експерименту індекс вмісту білка c-Fos у суб'ядрах нейронів лВПВЯ в інтактній групі о 02.00 год вірогідно менший (на 44,5 %, $p < 0,01$), ніж удень. В особин, які перебували в умовах світлового стресу, денний показник індексу вмісту c-Fos на 33,0 % нижчий від такого в інтактній групі, а нічний – наближався до значення у вказаній групі порівняння. Подібною виявилась і добова динаміка даного параметра, однак вірогідної різниці між денним і нічним рівнями в серії стресованих світлом тварин не відмічено (табл. 2).

Виразене підвищення концентрації білка c-Fos у суб'ядрах нейронів лВПВЯ о 14.00 год у щурів в умовах постійної темряви відповідно спричинило високі значення й індексу сумарного вмісту цього білка (196 % порівняно з відповідним значенням в інтактній групі). О 02.00 год вказаний індекс в особин зазначеної групи суттєво зменшувався, наближаючись до аналогічних значень груп порівняння (інтактних щурів і тва-

Таблиця 1

Характеристика cFos-імунопозитивних нейронів у медіальному дрібноклітинному суб'яздрі паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів за зміненої тривалості циклу світло-темрява ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Площа матеріалу, імунореактивного до c-Fos, мкм ²	Концентрація білка c-Fos у нейроні, O _{1Ф}	Вміст білка c-Fos у нейроні, O _{1Ф}	Щільність c-Fos - імунопозитивних нейронів (мм ²)	Сумарний вміст білка c-Fos у структурі, O _{1Ф} / мм ²
Інтактні, 14.00 год	26,46±1,506	0,370±0,0064	9,63±0,533	227±15	2185±144
Інтактні, 02.00 год	27,67±1,420 p ₁ =0,572	0,238±0,0035 p ₁ <0,001	6,84±0,402 p ₁ =0,002	236±14 p ₁ =0,670	1614±95 p ₁ =0,008
Постійне освітлення, 14.00 год	30,96±1,372 p=0,052	0,269±0,0085 p<0,001	8,43±0,537 p=0,144	283±20 p=0,049	2385±169 p=0,389
Постійне освітлення, 02.00 год	25,22±1,413 p=0,249 p ₁ =0,015	0,188±0,0025 p<0,001 p ₁ <0,001	4,86±0,308 p=0,003 p ₁ <0,001	260±13 p=0,238 p ₁ =0,358	1263±63 p=0,012 p ₁ <0,001
Постійна темрява, 14.00 год	30,38±1,693 p=0,114	0,545±0,0128 p<0,001	17,57±1,239 p<0,001	263±19 p=0,168	4620±334 p<0,001
Постійна темрява, 02.00 год	27,82±0,811 p=0,929 p ₁ <0,203	0,213±0,0020 p<0,001 p ₁ <0,001	6,19±0,215 p=0,184 p ₁ <0,001	277±12 p=0,050 p ₁ =0,547	1716±74 p=0,417 p ₁ <0,001

Примітка. p – вірогідні зміни щодо параметрів тварин, які перебували в умовах стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p₁ – щодо параметрів тварин попереднього часового інтервалу в межах серії

Таблиця 2

Характеристика cFos-імунопозитивних нейронів у латеральному великоклітинному суб'яздрі паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів за зміненої тривалості циклу світло-темрява ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Площа матеріалу, імунореактивного до c-Fos, мкм ²	Концентрація білка c-Fos у нейроні, O _{1Ф}	Вміст білка c-Fos у нейроні, O _{1Ф}	Щільність c-Fos - імунопозитивних нейронів (мм ²)	Сумарний вміст білка c-Fos у структурі, O _{1Ф} / мм ²
Інтактні, 14.00 год	130,88±9,933	0,330±0,0229	44,40±5,132	190±39	8436±1731
Інтактні, 02.00 год	105,53±4,969 p ₁ =0,046	0,236±0,0105 p ₁ =0,004	24,65±1,599 p ₁ =0,004	204±27 p ₁ =0,774	5029±665 p ₁ =0,096
Постійне освітлення, 14.00 год	129,27±10,461 p=0,913	0,233±0,0198 p=0,009	29,73±3,474 p=0,039	127±23 p=0,194	3775±684 p=0,031
Постійне освітлення, 02.00 год	124,25±7,683 p=0,068 p ₁ =0,707	0,197±0,0128 p=0,040 p ₁ =0,158	23,43±1,359 p=0,574 p ₁ =0,122	120±25 p=0,046 p ₁ =0,841	2811±586 p=0,031 p ₁ =0,310
Постійна темрява, 14.00 год	139,58±11,868 p ₁ =0,586	0,573±0,0244 p ₁ <0,001	87,34±7,922 p ₁ =0,001	100±15 p ₁ =0,057	8734±1310 p ₁ =0,894
Постійна темрява, 02.00 год	133,81±8,992 p=0,020 p ₁ =0,706	0,256±0,0130 p=0,259 p ₁ <0,001	33,94±3,113 p=0,024 p ₁ <0,001	101±11 p=0,005 p ₁ =0,958	3427±373 p=0,062 p ₁ =0,003

Примітка. p – вірогідні зміни щодо параметрів тварин, які перебували в умовах стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p₁ – щодо параметрів тварин попереднього часового інтервалу в межах серії

рин, яким моделювали гіпофункцію епіфіза мозку (табл. 2).

Щодо інтегральної щільності матеріалу, імунореактивного до *c-Fos*, у тканині лВПВЯ цей параметр у досліджуваних підгрупах коливався від 100 до 204 нейронів на 1 мм² площі зрізу. Відмітимо, що в інтактних щурів більші значення щільності локалізації *c-Fos*-позитивних нейронів у лВПВЯ спостерігали вночі, а в групі тварин, які перебували в гіперліумінованих умовах, циркадіанна динаміка вказаного показника набувала зворотного характеру – щільність більша вдень. При моделюванні гіперфункції залози середні значення щільності нейронів із *c-Fos*-позитивними суб'ядрами, вираховані о 14.00 і 02.00 год майже однакові. Визначаючи щільність вказаних нейронів, нами не встановлено міжгрупових відмінностей в експериментальних серіях. Проте при світловій депривації як вдень, так і вночі, а при світловій стимуляції – тільки вночі щільність розташування *c-Fos*-позитивних нейронів вірогідно нижча від такої в інтактних тварин в аналогічні проміжки доби (табл. 2).

Важливий вплив на індекс інтегральної щільності *c-Fos* у тканині лВПВЯ мали зміни концентрації даного білка та індексу його вмісту в суб'ядрах нейронів. Індокси інтегральної щільності *c-Fos* у тварин, які перебували у фізіологічних умовах та при постійній темряві, схожі і вірогідно не різнилися. Водночас індекс сумарної щільності білка *c-Fos* у щурів, які знаходилися в умовах світлової стимуляції, вдень – на 55,3 %, а вночі – на 44,1 % нижчий, ніж аналогічне значення в інтактній групі (табл. 2).

Висновки

1. У медіальних дрібноклітинних суб'ядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів динаміка експресії продукту активності гена „надранньої відповіді” *c-fos* – білка *c-Fos* – має чітку циркадіанну ритмічність. Визначальними чинниками, які вплинули на індекс інтегральної щільності *c-Fos* у тканині мВПВЯ гіпоталамуса щурів були зміни концентрації даного білка та індексу вмісту *c-Fos* у суб'ядрах нейронів. Показники індексу інтегральної щільності *c-Fos* за фізіологічної, гіпер- та гіпофункції епіфіза мозку о 02.00 год вірогідно нижчі, ніж о 14.00 год, а саме: в інтактних тварин – на 26,3 %, при світловій стимуляції – на 47,0 %, в умовах постійної темряви – на 62,8 % відповідно.

2. У латеральних великоклітинних суб'ядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса експресія гена ранньої функціональної активності *c-fos* вірогідно зростала в денні години. В особин, які перебували в умовах світлового стресу, денний показник індексу вмісту *c-Fos* на 33,0 % нижчий, а в нічний – наближався до контрольних величин за збереженої добової динаміки. Виражене підвищення концентрації білка *c-Fos* у суб'ядрах ней-

ронів лВПВЯ о 14.00 год у щурів в умовах постійної темряви відповідно спричинило високі значення й індексу сумарного вмісту цього білка. О 02.00 год вказаний індекс в особин суттєво зменшувався, наближаючись до аналогічних значень інтактних щурів і тварин, яким моделювали гіпофункцію епіфіза мозку.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується провести ультрамікроскопічні, морфометричні та імуногістохімічні дослідження суб'ядер ПВЯ гіпоталамуса за зміненого фотоперіоду з метою глибшого розуміння місця їх ролі в механізмах циркадіанних ритмів головного мозку щурів.

Література

1. Анисимов В.Н. Мелатонин: перспективы применения для профилактики рака и преждевременного старения / В.Н. Анисимов // Вестн. восстановит. мед. – 2007. – № 1 (19). – С. 4-7.
2. Бондаренко Л.А. Влияние постоянного освещения на суточный ритм мелатонина и структуру пинеальной железы у кроликов / Л.А. Бондаренко, Г.И. Губина-Вакулик, Н. Н. Сотник // Пробл. эндокрин. патол. – 2005. – № 4. – С. 38-45.
3. Ганчева О.В. Линейные отличия паттернов экспрессии белка *c-Fos* в нейросекреторных ядрах гипоталамуса у крыс линии SHR и Wistar, как патогенетическое звено формирования генетически обусловленной патологии / О.В. Ганчева // Клін. та експерим. патол. – 2008. – Т. 7, № 3. – С. 1-10.
4. Заморский И.И. Функциональная организация фотопериодической системы головного мозга / И.И. Заморский, В.П. Пишак // Успехи физиол. наук. – 2003. – Т. 34, № 4. – С. 37-53.
5. Коррекция иммуно-эндокринных нарушений при экспериментальном сахарном диабете введением гипоталамических нейропептидов / Ю.М. Колесник, А.В. Абрамов, В.А. Жулинский [и др.] // Клін. та експерим. патол. – 2006. – Т. 3, № 2. – С. 120-123.
6. Arendt J. Melatonin: characteristics, concerns, and prospects / J. Arendt // J. Biol. Rhythms. – 2005. – Vol. 20. – P. 291-303.
7. Ekmekcioglu C. Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance / C. Ekmekcioglu // Biomed. Pharmacother. – 2006. – Vol. 60, № 3. – P. 97-108.
8. Expression of the *c-fos*-monomeric red fluorescent protein 1 fusion gene in the spinal cord and the hypothalamic paraventricular nucleus in transgenic rats after nociceptive stimulation / T. Ishikura, H. Suzuki, M. Yoshimura [et al.] // Brain Res. – 2012. – Vol. 15, № 1479. – P. 52-61.
9. Hannibal O. Light-dependent induction of *c-Fos* during subjective day and night in PACAP-containing ganglion cells of the retinohypothalamic tract / O. Hannibal, N. Vrang // J. Biol. Rhythms. – 2001. – Vol. 16, № 5. – P. 457-470.
10. Neurons of the Paraventricular Hypothalamic Nucleus Under Normal and Modified Illumination Conditions: Immunohistochemical and Morphometric Parallels / R.E. Bulyk, D.A. Vasilenko, V.P. Pishak [et al.] // Neurophysiology. – 2012. – Vol. 44, № 1. – P. 26-32.
11. When the circadian clock becomes a ticking time bomb / R.J. Reiter, D.X. Tan, J.A. Madrid [et al.] // Chronobiol. Int. – 2012. – Vol. 29, № 9. – P. 1286-1287.

СОСТОЯНИЕ ГЕНА РАННЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ C-FOS В СУБЪЯДРАХ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДИФИКАЦИЙ ФОТОПЕРИОДА

О.В. Тимофей, Р.Е. Булик

Резюме. Исследовано влияние модификаций нормальной фотопериодики на состояние гена ранней функциональной активности *c-fos* в нейронах субъядрах паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гипоталамуса крыс в различные промежутки суток (днем и ночью). Экспрессия продукта этого гена – белка *c-Fos* – у животных, которых содержали в нормальных условиях чередования освещения и темноты, демонстрировала довольно четкий циркадианный характер. В то же время, изменение длительности цикла свет-темнота приводит к выраженному десинхронизму. Определяющим фактором, повлиявшим на индекс интегральной плотности *c-Fos* в исследуемых структурах ПВЯ гипоталамуса крыс, были изменения концентрации белка и индекса содержания *c-Fos* в субъядрах нейронов.

Ключевые слова: ген *c-fos*, иммуноспецифический белок *c-Fos*, паравентрикулярное ядро гипоталамуса, постоянное освещение, световая депривация.

CONDITION OF THE IMMEDIATE-RESPONSE GENE C-FOS IN SUBNUCLEUS OF THE HYPOTHALAMIC PARAVENTRICULAR NUCLEI OF RATS UNDER CONDITIONS OF MODIFICATIONS OF THE PHOTOCYCLE

O.V. Timofei, R.Ye. Bulyk

Abstract. The influence of modifications of normal photoperiodicity on the state of *c-fos* (gene of immediate functional response) in neurons of the subnuclei of paraventricular nuclei (PVNs) of the rats' hypothalamus was examined; samples were taken during the day and night. In animals kept under normal conditions of alternation of light and darkness, expression of the product of this gene and marker of its activation (*c-Fos* protein) demonstrated a rather clear circadian pattern. Simultaneously, a change of the light-darkness cycle results in marked desynchronization. The decisive factors that influenced the index of the integral density of *c-Fos* in the rats' hypothalamic PVN structures under study were changes of the concentration of this particular protein and the index of the *c-Fos* content in the subnuclei of the neurons.

Key words: *c-fos* gene, immunospecific *c-Fos* protein, hypothalamic paraventricular nuclei, permanent lighting, light deprivation.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 154-159

Надійшла до редакції 11.11.2013 року

© О.В. Тимофей, Р.Е. Булик, 2013

УДК 616.37-002.2-036.12-06:616.12-008.46]:612.017

О.І. Федів, Д.О. Гонцарюк

ЦИТОКИНОВИЙ СТАТУС У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПАНКРЕАТИТ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ ЗА ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. У статті наведені результати дослідження цитокінового статусу у хворих на хронічний панкреатит з ішемічною хворобою серця за хронічної серцевої недостатності. Встановлено, що у хворих за поєданого перебігу має місце гіперпродукція прозапальних цитокінів – інтерлейкіну 1 β , фактору некрозу пухлин альфа

та С-реактивного протеїну, що вказує на прогресування хронічної запальної реакції в даних пацієнтів та потребує медикаментозної корекції.

Ключові слова: хронічний панкреатит, ішемічна хвороба серця, хронічна серцева недостатність, цитокіни.

Вступ. У механізмах розвитку запалення суттєва роль належить і порушенням з боку судинної стінки. Лабораторна діагностика цих порушень ґрунтується не тільки на виявленні змін маркерів дисліпідемії, інтенсивності хронічного запалення, але й на показниках ендотеліальної дисфункції, яка вважається основною ланкою

взаємозв'язку між запаленням і розвитком та прогресуванням проліферації, апоптозу.

Відомо, що як у процесах атеросклерозу, атеротромбозу, розвитку хронічної серцевої недостатності (ХСН), так і формуванні ангіогенезу (як стадії запального процесу) у тканині підшлункової залози (ПЗ) за хронічного панкреатиту

© О.І. Федів, Д.О. Гонцарюк, 2013