

Bobrova I.A.

Concentration of Circulatory Immune Complexes in Patients with Chronic Hepatitis C Complicated by Cytokine-Associated Thyroopathy

Summary. Concentration of circulatory immune complexes was studied by IFA-analysis at patients with chronic hepatitis C with complicated cytokine-induced thyroopathy.

Combined antiviral therapy got 294 patients, among them 39 patients

had developing thyroopathy. The levels of immune complexes patients with thyrooid pathology exceeded levels comparison group at all control therapy terms without convincing increasing in the treatment process.

Key words: circulatory immune complexes, chronic hepatitis C, cytokine-induced thyroopathy, antiviral treatment.

Надійшло 24.09.2012 року.

УДК 612.826.4:612.017.2

Булик Р.Є.

Вплив мелатоніну на активність гена «Надранняї відповіді» *c-fos* у субядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса в умовах стресу

Кафедра медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки (зап. каф. – проф. В.П.Пішак)

Буковинського державного медичного університету

Резюме. Досліджено вплив мелатоніну на стан гена ранньої функціональної активності *c-fos* у субядрах 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. Світловий стрес призводив до вираженого десинхронозу *in situ* мелатоніну на фоні постійного освітлення нормалізували добовий ритм показника площі матеріалу, імунореактивного до *c-Fos* у субядрах ПВЯ гіпоталамуса щурів.

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

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. Вегетативним центром координації функцій є паравентрикулярні ядра (ПВЯ) гіпоталамуса, що складаються з низки нейронних популяцій – субядер, які відрізняються структурно-функціональними особливостями і характером нервових зв'язків із різними відділами нервової і нейроендокринної систем [3, 5].

Для вивчення стресових реакцій і дії стрес-лімітувальних чинників (зокрема, мелатоніну) постає важливим дослідження вказаних субпопуляцій нейронів ПВЯ гіпоталамуса, що синтезують стрес-рилизинг гормони, які ініціюють стресорні реакції організму [4, 10]. Серед пептидів, що проявляють сумісний ефект у регуляції секреції АКТГ, є кортикотропін-рилизинг фактор (КРФ). КРФ-імунореактивна мітка виявлена, здебільшого, в медіальному дрібноклітинному субядрі паравентрикулярних ядер (мПВЯ) гіпоталамуса. Викликає зацікавленість з'ясування впливу світлового стресу на стан вказаних субядер ПВЯ. При цьому важливо вивчити зміни морфофункціональної активності і рівень експресії гена надранняї відповіді *c-fos* у структурах, а також проаналізувати можливість підвищення адаптатії нейросекреторних клітин до пошкоджувальної дії стресового чинника шляхом уведення екзогенного мелатоніну.

Найнадійливішим і найстабільнішим синхронізуювальним чинником для гомейотермічних тварин, включаючи людину, є фотоперіод [2, 8]. Порушення світлового режиму (тривале освітлення) притічує синтез ендогенного мелатоніну та 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 ланки активності зовнішніх циклічними впливами, зокрема циркадіанними, пов'язаними з чергуванням світла і темряви [1, 4].

Водночас відомості щодо впливу хронобіотика мелатоніну на діяльність вказаних субпопуляцій нейронів ПВЯ гіпоталамуса, залучених у формування механізмів циркадіанних ритмів, за модифікації фотоперіоду у доступній

літературі відсутні.

Метою роботи було з'ясування впливу мелатоніну на активність гена «надранняї відповіді» *c-fos* у субядрах паравентрикулярного ядра гіпоталамуса за тривалого освітлення.

Матеріал і методи дослідження

Експерименти проведені на 36 статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 150–180 г. Тварин утримували в стандартних умовах виварію 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 клітках із тваринами 500 лк). Щури другої групи перебували протягом семи діб в умовах постійного освітлення аналогічної інтенсивності (LL, індукція епіфізарної гіпофункції). Тварини третьої групи знаходилися за умов експерименту, як і щури другої групи, імцоденою у 19.00 год внутрішньоочеревно вводили мелатонін (Sigma, США, ступінь очищення – 99,5%) у дозі 0,5 мг/кг, у 1,0 мл розчинника (0,9% розчин етаполу на фізіологічному розчині).

Після закінчення семиденного періоду наступного дня о 14.00 і 02.00 тварин виводили із експерименту, здійснюючи одномоментну деканітацію під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг, внутрішньоочеревно). Мозок тварин негайно вилучали і вмішували в 10 % розчин формаліну на фосфатному буфері (0,1 М, рН 7,2) на 20 год при кімнатній температурі. Після стандартної процедури зневоднення і просочення хлороформом і парафіном зразки заливали в парафин. Усі етапи експерименту проводили 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. Як первинні антитіла застосовували кроличі антитіла (імуноглобулін – IGG) до *c-Fos* ("Sigma-Aldrich", США). Як вторинні антитіла застосовували козячий гаммаглобулін, котрий є антитілом щодо глобулінів кролика, кон'югований із флуоресцеїнізотіоціанатом (FITC, "Sigma-Aldrich", США).

Ідентифікацію *c-Fos* у нейронах гіпоталамуса і визначення вмісту цього протеїну здійснювали із застосуванням комп'ютерної системи цифрового аналізу зображення VIDAS-386 ("Kontron Elektronik", Німеччина) в ультрафіолетовому спектрі. Для отримання флуоресцентного зображення використовували високоемісійний фільтр із діапазоном збудження та емісії 370–390 та 420–450 нм відповідно та спеціалізований об'єктив із широкою апертурою. Зображення за допомогою 8-бітової CCD-камери COHU-4922 ("COHU Inc.", США) вводили 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 опромінення. Увадене імунофлуоресцентне зображення оцифровували за денситометричною шкалою з 256 градацийми