

Р.Є.Булик
В.П.Пішак
Н.В.Черновська
Ю.В.Ломакіна
В.Г.Висоцька
О.І.Сметанюк
М.І.Кривчанська
В.Л.Волошин

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Ключові слова: c-fos, паравентрикулярні ядра, стрес, мелатонін, епіталон.

Надійшла: 03.06.2011
Прийнята: 20.06.2011

УДК 612.826.4:612.017.2

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕФЕКТІВ МЕЛАТО- НІНУ Й ЕПІТАЛОНУ НА СТАН ГЕНА РАН- НЬОЇ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ *c- fos* У МЕДІАЛЬНИХ ДРІБНОКЛІТИННИХ СУБ'ЯДРАХ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА СТРЕСОВАНИХ СВІТЛОМ ЩУРІВ

Резюме. Досліджено вплив мелатоніну і синтетичного біорегулятора епіталону з метою корекції стрес-індукованих змін активності гена “надранньої відповіді” *c-fos* в медіальних дрібноклітинних суб'ядрах паравентрикулярного ядра (мдПВЯ) гіпоталамуса щурів у різні проміжки доби (удень і вночі). Експресія продукту цього гена – білка c-Fos – у тварин, яких утримували за нормальних умов чергування освітлення й темряви, демонструвала чіткий циркадіанний характер. За умов світлового стресу денний показник індексу вмісту c-Fos у мдПВЯ тварин був вище порівняно з нічним. На фоні постійного освітлення мелатонін (0,5 мг/кг маси) сприяв наближенню до норми концентрації білка c-Fos у суб'ядрах мдПВЯ гіпоталамуса в нічний проміжок. Вираженої різниці у добовому аспекті при застосуванні епіталону (0,5 мкг/кг маси тіла тварини) не реєстрували. **Морфологія.** – 2011. – Т. V, № 2. – С. 32-38.
© Р.Є.Булик, В.П.Пішак, Н.В.Черновська, Ю.В.Ломакіна, В.Г.Висоцька, О.І.Сметанюк, М.І.Кривчанська, В.Л.Волошин, 2011

Bulyk R.E., Pishak V.P., Chernyavska N.V., Lomakina U.V., Vysotskaya V.G., Smetanuk O.I., O.I. Smetanuk, M.I. Krivchanskaya M.I., Voloshin V.L. Characteristic of the effects of melatonin and epithalon on the condition of in the neurosecretory nuclei of the hypothalamus in rats stressed by light.

Summary. It has been studied the influence of melatonin and synthetic bioregulator epithalon against a background of the stress-induced changes of gene “over early answer” (*c-fos*) activity in the medial microcellular subnuclei of the hypothalamic rat's PVNs during different 24-hour period (day and night). Expression of gene product – protein C-Fos – in animals, which were hold under casual light regime, demonstrated distinct circadian rhythm. Under influence of light stress the daily index of c-Fos contain in rat's mdPVN was higher than at night. Under influence of constant light melatonin in dosage 0,5 mg/kg the concentration of c-Fos protein approached to the norm of the concentration this protein in subnuclei mdPVNs of hypothalamus at night. Manifest differences in daily aspect were not found during epithalon administration in dosage 0,5mg/kg. **Key words:** c-fos, paraventricular nuclei, stress, melatonin, epithalon.

Вступ

На даний час дослідження місця і ролі нейроендокринних структур у центральних механізмах циркадіанних ритмів є одним з актуальних питань сучасної хронофізіології (Гончарук В.Д., 2000, Заморский И.И.2003). Зміни тривалості основного часозадавача – фотоперіоду, як стресовий чинник, десинхронізують ритми соматичних і вісцеральних функцій, а також координацію і модуляцію механізмів адаптації організму до впливу різних чинників (Бондаренко Л.А., 2005, Douglas A.J., 2005).

У нейроендокринну відповідь при стресових реакціях залучені, насамперед, паравентрикулярні ядра гіпоталамуса є вегетативним центром координації функцій і складаються з низки нейронних популяцій – суб'ядер, які різняться структурно-функціональними особливостями і характером нервових зв'язків з різними відділами нер-

вової і нейроендокринної систем (Гениатулина М.С., 1996).

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 (Ginsberg A.B., 2003, Reiter R.J., 2003). Медіальні дрібноклітинні суб'ядра паравентрикулярних ядер (мдПВЯ) гіпоталамуса синтезують кортикотропін-релізінг фактор і в першу чергу залучені в нейроендокринну відповідь при різноманітних стресових реакціях організму, що і визначило їх вибір для вивчення реакції нейроендокринної системи (Peng Z., 2004). При цьому важливо вивчити зміни експресії гена надранньої відповіді *c-fos* у мдПВЯ гіпоталамуса, а також проаналізувати можливості підвищення адаптації нейросекрето-

рних клітин до пошкоджувальної дії стресового чинника.

Попередні дослідження показали, що синтезований епіфізарний тетрапептид – епіталон володіє онкостатичною, антиоксидантною та геропротекторною дією (Хавинсон В.Х., 2006). Відомості, що віддзеркалюють ефекти епіталону експресії гена *c-fos* при тривалій експозиції світлом відсутні.

Мета. З'ясувати вплив постійного освітлення на стан гена ранньої функціональної активності *c-fos* у мдПВЯ гіпоталамуса щурів у різні проміжки доби, визначаючи інтенсивність експресії відповідного протеїну (*c-Fos*) з використанням імунофлуоресцентної методики. Проаналізувати зміни активності вказаного гена при застосуванні мелатоніна та синтетичного біорегулятора епіталона на фоні дії світлового стресора.

Матеріали та методи. Експерименти проведені на 60 статевозрілих самцях безпорідних білих щурів масою 0,15–0,18 кг. Тварин утримували в стандартних умовах виварію при сталих температурі і вологості повітря та вільному доступі до води і їжі. Експериментальні щури розподілені на п'ять груп, 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, 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. Тварини серії №3 (контроль) знаходилися за тих же умов експерименту, як і щури серії №1, проте щоденно о 19.00 год внутрішньоочеревинно отримували ін'єкцію 1,0 мл розчинника (0,9% розчин етанолу на фізіологічному розчині). Тварини серії №4 знаходилися за умов експерименту, як і щури серії №2. Їм щоденно о 19.00 год внутрішньоочеревинно вводили мелатонін (Sigma, США, ступінь очищення – 99,5%) у дозі 0,5 мг/кг, у 1,0 мл розчинника (0,9% розчин етанолу на фізіологічному розчині). Тварини серії №5 знаходилися за умов експерименту, як і щури серії №2, які щоденно о 19.00 год підшкірно отримували ін'єкцію епіталона (Санкт-Петербурзький інститут біорегуляції і геронтології ПЗВ РАМН, Росія) у дозі 0,5 мкг/кг, у 0,5 мл фізіологічного розчину.

На восьму добу о 14.00 і 02.00 тварин виводили з експерименту, здійснюючи одномоментну декапітацію під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг, в/о). Мозок тварин негайно вилучали і вміщували в 10 % розчин формаліну на фосфатному буфері (0,1 М, рН 7,2) на 20 год при кімнатній температурі. Після стандартної процедури зневоднення й просочення хлороформом і парафіном зразки заливали в парафін. Усі етапи експери-

менту проведено з дотриманням основних вимог Європейської конвенції щодо гуманного ставлення до тварин.

Для ідентифікації *c-Fos* у гістологічних зрізах гіпоталамуса застосовували непрямий імунофлуоресцентний метод. Зрізи завтовшки 14 мкм спочатку депарафінували в ксилолі, потім проводили регідратацію в розчинах етанолу шести низхідних концентрацій (100-40 %) і тричі по 10 хв відмивали у фосфатному буфері (0.1 М, рН 7.2).

Ідентифікацію *c-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 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 опромінування. 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 суб'ядер нейронів ПВЯ, котрі вміщували імунопозитивний матеріал (S_i та S_d відповідно, мкм^2). З урахуванням інтенсивності флуоресценції в імунопозитивних ділянках та інтенсивності флуоресценції фону (D_i та D_0) обчислювали показники, які характеризують концентрацію *c-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 *c-Fos* в імунопозитивних клітинах.

Топографічну приналежність імунопозитивних нейронів до окремих структур гіпоталамуса картували згідно зі стереотаксичним атласом мозку щура (Paxinos G.D., Watson C.C., 1985).

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 зна-

чення середнього арифметичного, середньоквадратичного відхилення та похибки середнього. Вибірки імунопозитивних клітин лВПВЯ, у котрих 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 c-Fos-імунопозитивних нейронів у межах досліджених зрізів даного ядра. Для цього попередньо визначали кількість таких клітин у декількох (чотирих–семи для кожної тварини) випадково вибраних полях зору і розраховували середню кількість подібних нейронів на 1 мм² площі зрізу. Вірогідність відмінностей значень у дослідних і контрольних групах тварин визначали за критерієм Стьюдента (t). Вірогідними вва-

жали значення, для яких $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. За стандартного режиму освітлення у медіальних дрібноклітинних суб'ядрах паравентрикулярного ядра (мдПВЯ) гіпоталамуса інтенсивність флуоресценції матеріалу, імунореактивного до c-Fos, вдень менша, ніж вночі. Зокрема, о 14.00 год вона дорівнювала $26,46 \pm 1,506$ мкм², а о 02.00 год – $27,67 \pm 1,420$ мкм². Моделювання дослідним особинам епіфізарної гіпофункції спричинило о 14.00 год вірогідне зростання (на 17,0 %) площі матеріалу, імунореактивного до c-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).

Таблиця 1

Характеристика cFos-імунопозитивних нейронів у медіальному дрібноклітинному суб'ядрі паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів за різної тривалості фотоперіоду та при експериментальній терапії ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Серії експериментальних тварин	Площа матеріалу, імунореактивного до c-Fos, мкм ²	Концентрація білка c-Fos в нейроні, $O_{1\Phi}$	Вміст білка c-Fos у нейроні, $O_{1\Phi}$	Щільність c-Fos – імунопозитивних нейронів (мм ⁻²)	Сумарний вміст білка c-Fos у структурі, $O_{1\Phi}/\text{мм}^{-2}$
Інтактні, 14.00 год	$26,460 \pm 1,506$	$0,3700 \pm 0,0064$	$9,630 \pm 0,533$	227 ± 15	2185 ± 144
Інтактні, 02.00 год	$27,670 \pm 1,420$ $p=0,572$	$0,2380 \pm 0,0035$ $p<0,001$	$6,840 \pm 0,402$ $p=0,002$	236 ± 14 $p=0,670$	1614 ± 95 $p=0,008$
Постійне освітлення, 14.00 год	$30,960 \pm 1,372$ $p=0,052$	$0,2690 \pm 0,0085$ $p<0,001$	$8,430 \pm 0,537$ $p=0,144$	283 ± 20 $p=0,049$	2385 ± 169 $p=0,389$
Постійне освітлення, 02.00 год	$25,220 \pm 1,413$ $p=0,249$ $p_1=0,015$	$0,1880 \pm 0,0025$ $p<0,001$ $p_1<0,001$	$4,860 \pm 0,308$ $p=0,003$ $p_1<0,001$	260 ± 13 $p=0,238$ $p_1=0,358$	1263 ± 63 $p=0,012$ $p_1<0,001$
Постійне освітлення + мелатонін, 14.00 год	$22,430 \pm 0,971$ $P_2<0,001$	$0,5190 \pm 0,0089$ $P_2<0,001$	$11,670 \pm 0,556$ $P_2=0,002$	256 ± 22 $P_2=0,385$	2988 ± 257 $P_2=0,078$
Постійне освітлення + мелатонін, 02.00 год	$26,780 \pm 1,773$ $p_1=0,050$ $p_2=0,495$	$0,2350 \pm 0,0030$ $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	$6,400 \pm 0,450$ $p_1<0,001$ $p_2=0,018$	257 ± 21 $p_1=0,974$ $p_2=0,906$	1644 ± 134 $p_1<0,001$ $p_2=0,028$
Постійне освітлення + епіталон, 14.00 год	$32,420 \pm 1,095$ $p_2=0,425$	$0,2420 \pm 0,0021$ $p_2=0,012$	$8,170 \pm 0,312$ $p_2=0,684$	327 ± 18 $p_2=0,133$	2672 ± 147 $p_2=0,229$
Постійне освітлення + епіталон, 02.00 год	$25,510 \pm 0,921$ $p_1<0,001$ $p_2=0,867$	$0,2080 \pm 0,0029$ $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	$5,460 \pm 0,239$ $p_1<0,001$ $p_2=0,155$	232 ± 12 $p_1=0,001$ $p_2=0,145$	1267 ± 66 $p_1<0,001$ $p_2=0,966$

Примітка: p – вірогідні зміни щодо параметрів тварин, які перебували в умовах стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p_1 – щодо параметрів тварин попереднього часового інтервалу в межах серії; p_2 – щодо тварин, яких піддали дії постійного освітлення.

Вимірювання площі перерізу суб'ядер мдПВЯ гіпоталамуса показало, що в інтактних

щурів о 14.00 год вона становила $35,70 \pm 0,576$ мкм², а о 02.00 год вірогідно знижувалася

до $32,79 \pm 0,438$ мкм². У тварин, яких утримували в гіперліюмінізованих умовах, нами відмічено тенденцію до зростання розмірів мдПВЯ без вірогідних змін показників відносно значень інтактних тварин у досліджувані інтервали доби (табл. 1). Як за фізіологічної, так і за гіпофункції шишкоподібної залози відмічали міжгрупові відмінності при денному та нічному спостереженні.

В інтактних тварин нормовані площі суб'ядер становили вдень 75,1 %, а вночі – 84,4 % щодо повної площі перерізу цих структур, вірогідно відрізняючись між собою. В умовах постійного освітлення аналогічні параметри протилежні щодо інтактних тварин. Середнє значення показника о 14.00 год сягало 84,1 %, а о 02.00 год – 73,6 % відносно повної площі (табл. 1). Обидва згадані показники в стресованих світлом щурів при попарному порівнянні з аналогічними параметрами інтактних тварин вірогідно вищі.

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

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).

Охарактеризовуючи інтегральну щільність матеріалу, імунореактивного до c-Fos, ми отримали наступні дані. Якщо в інтактних щурів 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 в суб'ядрах нейронів. Показники індексу інтегральної щільнос-

ті c-Fos у 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 % відповідно.

Уведення щурам, які знаходилися за стандартного світлового режиму розчинника (1,0 мл 0,9% розчину етанолу на фізіологічному розчині натрію хлориду) впродовж семи діб суттєво не змінювали характеристику cFos-імунопозитивних нейронів у мдПВЯ гіпоталамуса.

Ін'єкції мелатоніну (у дозі 0,5 мг/кг маси тіла тварини) на фоні постійного освітлення нормалізували добовий ритм показника досліджуваної площі. А саме, більшу площу імунофлуоресценції, як і в інтактних тварин, реєстрували вночі, коли вона сягала $26,78 \pm 1,690$ мкм². О 14.00 год показник нижчий від такого в контролі ($p < 0,05$).

На відміну від мелатоніну, введення епіталону (у дозі 0,5 мкг/кг маси тіла тварини) за світлового стресу не проявляло корегувальної дії. Картина залишалася подібною до такої в щурів без ін'єкцій тетрапептиду (табл. 1). О 14.00 год площа матеріалу, імунореактивного до c-Fos у суб'ядрах мдПВЯ гіпоталамуса складала $32,42 \pm 1,095$ мкм², набуваючи вірогідної різниці о 02.00 год, коли вона становила $25,51 \pm 0,921$ мкм² (табл. 1).

Згідно з розрахунками концентрації білка c-Fos у суб'ядрах мдПВЯ у групі тварин, яким вводили хронобіотик за стандартного фотоперіоду, вдень вона становила $0,331 \pm 0,0109$ O_{іф}, а вночі вірогідно знижувалася до $0,221 \pm 0,0034$ O_{іф}. Водночас на фоні постійного освітлення мелатонін сприяв наближенню до норми концентрації білка c-Fos у суб'ядрах мдПВЯ гіпоталамуса в нічний проміжок (табл.). Удень спостерігали підйом показника до $0,519 \pm 0,0089$ O_{іф}. Такої вираженої різниці у добовому аспекті не реєстрували при застосуванні епіталону. У цій серії щурів концентрація білка о 14.00 год вірогідно нижча (на 10,0 %), а о 02.00 год вища (на 10,6 %) щодо такої в тварин, яких піддали дії світлового стресора і корекцію не проводили (рис. 1).

Вираженою була і добова динаміка такого інтегрального показника, як індекс вмісту білка c-Fos у суб'ядрах мдПВЯ у всіх експериментальних групах, особливо при ін'єкції стресованим щурам мелатоніну (табл. 1). У цій серії денні значення на 45,1 % перевищували такі в зрізах, узятих вночі. При застосуванні епіталону істотної корекції стрес-індукованих світловим чинником змін у даному випадку не спостерігали.

Як при нічному, так і при денному етапах експерименту, індекс вмісту білка у суб'ядрах мдПВЯ залишався подібним до такого в тварин з епіфізарною гіпофункцією без терапії епіталоном (табл. 1).

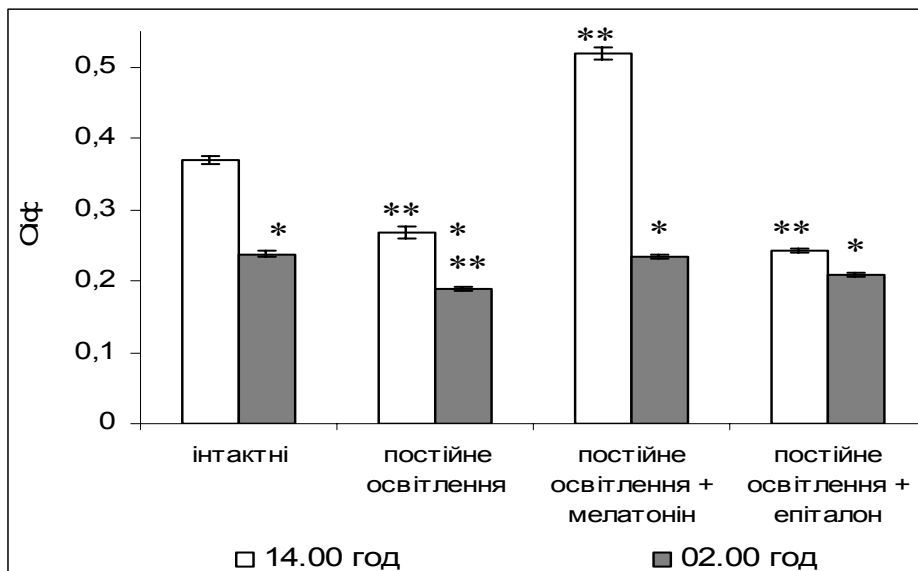


Рис. 1. Вплив препаратів (мелатоніну й епіталону) за тривалого освітлення на індекс концентрації білка *c-Fos* у нейроні мдПВЯ гіпоталамуса тварин.

Примітка: вірогідні ($p < 0,05$) зміни щодо параметрів тієї ж серії тварин попереднього часового інтервалу (*); вірогідні ($p < 0,05$) зміни щодо параметрів інтактних тварин того ж часового інтервалу (**).

Характеризуючи інтегральну щільність матеріалу, імунореактивного до *c-Fos*, у досліджуваних структурах потрібно вказати, що за звичайного світлового режиму індол призводив до вірогідного її підвищення вночі (на 30,1 %) порівняно з показниками інтактних щурів в аналогічні часові терміни. Уведення мелатоніну тваринам з гіпофункцією шишкоподібної залози нівелювало добові відмінності між показниками зразків, зокрема о 14.00 год щільність матеріалу, імунореактивного до *c-Fos*, перебувала в межах $256 \pm 22 \text{ мм}^{-2}$, а о 02.00 год – $257 \pm 21 \text{ мм}^{-2}$. Протилежну картину відмічали при корекції епіталонном. Удень щільність нейронів на 29,1 % вища, ніж вночі ($p < 0,001$), а також на 44,0 % перевищувала значення інтактних тварин в аналогічний проміжок доби ($p < 0,001$). Відповідно, міжгрупові відмінності реєстрували тільки при застосуванні тетрапептиду (табл. 1).

Ймовірно, що визначальне значення на індекс інтегральної щільності *c-Fos* у суб'ядрах мдПВЯ гіпоталамуса мали зміни концентрації даного білка та індексу вмісту *c-Fos* в структурах, що описуються. Визначення індексу показало, що індол істотно не змінював його денних значень, однак за фізіологічних умов викликає зростання індексу вночі. Так, о 02.00 год він на 41,6 % перевищував такий в інтактних особин (табл. 1).

Крім того, чітко простежується його корегувальний ефект щодо порушень, спричинених гіпофункцією епіфіза мозку. Мелатонін майже повністю відновлював індекс інтегральної щільності *c-Fos* у суб'ядрах мдПВЯ відносно норми в нічний період. У той же час вдень індекс схожий до такого в щурів, яким вводили індол на фоні

фізіологічної функції шишкоподібної залози. Інший препарат – епіталон – не проявляв тенденції до нормалізації вказаного показника. Як і на фоні постійного освітлення без застосування тетрапептиду, сумарний вміст білка *c-Fos* у структурі о 14.00 год вищий на 22,3 %, а вночі нижчий на 21,5 % ніж в інтактних тварин (рис. 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. 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* в 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 мовах постійної темряви на 62,8 % відповідно.

2. На фоні постійного освітлення мелатонін сприяв наближенню до норми концентрації білка *c-Fos* у суб'ядрах мдПВЯ гіпоталамуса в нічний проміжок. Удень спостерігали різкий підйом показника до $0,519 \pm 0,0089 O_{df}$. Такої вираженої різниці у добовому аспекті не реєстрували при застосуванні епіталону (0,5 мкг/кг маси тіла тварини), коли концентрація білка о 14.00 год вірогідно нижча (на 10,0 %), а о 02.00 год вища (на 10,6 %) щодо такої в тварин, яких піддали дії світлового стресора і корекцію не проводили.

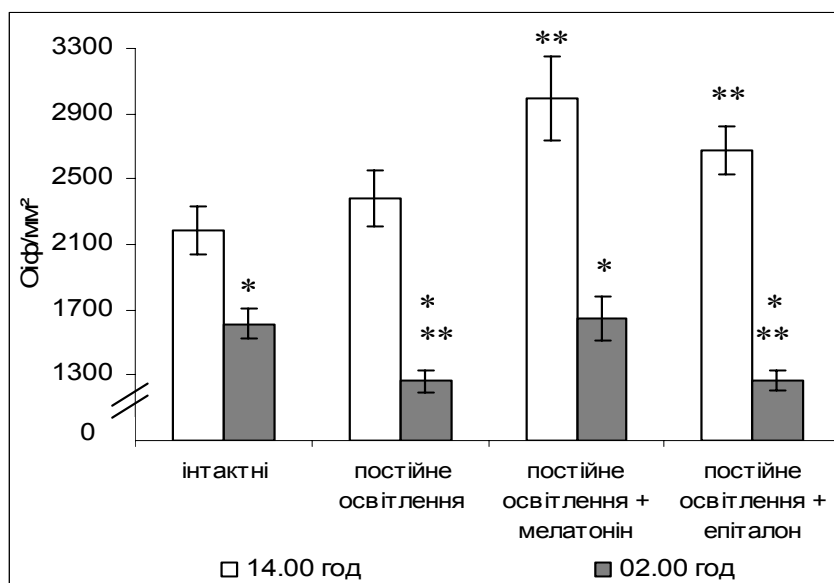


Рис. 2. Ефекти мелатоніну та епіталону на добові коливання індексу сумарного вмісту білка c-Fos у нейронах мдПВЯ гіпоталамуса щурів за тривалого світлового режиму.

Перспективи подальших розробок. У даному напрямку дозволять глибше пізнати місце і роль суб'єдер паравентрикулярних ядер гіпота-

ламуса в механізмах формування циркадіанних ритмів головного мозку ссавців.

Літературні джерела

Влияние постоянного освещения на суточный ритм мелатонина и структуру пинеальной железы у кроликов / Л. А. Бондаренко, Г. И. Губина-Вакулик, Н. Н. Сотник, А. Р. Геворкян // Пробл. эндокринной патологии. – 2005. – № 4. – С. 38-45.

Гениатулина М. С. Ультраструктура субпопуляций нейронов паравентрикулярных ядер гипоталамуса при стрессе и стресс-лимитирующем действии импульсного электрического тока / М. С. Гениатулина, Ю. Н. Королев // Морфология. – 1996. – Т. 10, № 4. – С. 37-41.

Гончарук В. Д. Функционально-морфологический статус супрахиазматического ядра гипоталамуса при первичной гипертензии / В. Д. Гончарук, Р. М. Баюс // Кардиология. – 2000. – Т. 40, № 4. – С. 36-39.

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.

Хавинсон В. Х. Механизмы адаптивного действия пептидных биорегуляторов при старении / В. Х. Хавинсон, В. В. Малинин // Бук. мед. вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 12-14.

Acute glucocorticoid pretreatment suppresses

stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormone secretion and expression of corticotrophin-releasing hormone hnRNA but does not affect c-fos mRNA or fos protein expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus / A. B. Ginsberg, S. Campeau, H. E. Day, R. L. Spencer // J. Neuroendocrinol. – 2003. – Vol. 15, № 11. – P. 1075-1083.

Paxinos G. D. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. D. Paxinos, C. C. Watson // Acad. Press: New York, 1985. – 234 p.

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.

Reduced activity of the noradrenergic system in the paraventricular nucleus at the end of pregnancy: Implications for stress hyporesponsiveness / A. J. Douglas, S. L. Meddle, N. Toshi [et al.] // J. Neuroendocrinol. – 2005. – Vol. 17, № 1. – P. 40-48.

Reiter R. J. Melatonin: clinical relevance / R. J. Reiter // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol. 17, № 2. – P. 273-285.

Булык Р.Е., Пишак В.П., Черновская Н.В., Ломакина Ю.В., Высоцкая В.Г., Сметанюк О.И., Кривчанская М.И., Волошин В.Л. Характеристика эффектов мелатонина и эпیتالона на состоя-

ние гена ранней функциональной активности c-fos в медиальных мелкоклеточных субъядрах паравентрикулярных ядер гипоталамуса стрессированных светом крыс.

Резюме. Исследовано влияние мелатонина и синтетического биорегулятора эпиталона с целью коррекции стресс-индуцированных изменений активности гена «сверхраннего ответа» c-fos в медиальных мелкоклеточных субъядрах паравентрикулярного ядра (мдПВЯ) гипоталамуса крыс в разные промежутки суток (днем и ночью). Экспрессия продукта этого гена белка c-Fos – у животных, которых содержали при нормальных условиях чередования освещения и темноты, демонстрировала четкий циркадианный характер. При условии светового стресса дневной показатель индекса содержания c-Fos в мдПВЯ животных был выше по сравнению с ночным. На фоне постоянного освещения мелатонин (0,5 мг/кг массы) приближал к норме концентрацию белка c-Fos в субъядрах мдПВЯ гипоталамуса в ночной промежуток суток. Выраженной разницы в суточном аспекте при использовании эпиталона (0,5 мкг/кг массы тела животного) не регистрировали.

Ключевые слова: c-fos, паравентрикулярные ядра, стресс, мелатонин, эпиталон.