

Since 1999

ISSN 2226-7425

*The journal of scientific articles "Health & education millennium", 2013, tom 15 № [1-4]**Zakharchuk A.I., Kadelnik L.A.***MELATONIN AND GERONTOLOGY ASPECTS SEASONAL PATTERN OF CIRCADIAN RHYTHMS OF NON-SPECIFIC IMMUNITY***Bukovinian State Medical University, Department of Medical Biology, Genetics and pharmaceutical botany, Chernivtsi, Ukraine*

**Abstract.** Complex investigations epiphysectomy impact on the dynamics of circadian and seasonal rhythms of the non-specific immune parameters of adaptation and identification of the influence of the pineal gland on ritmostaz indicators of natural non-specific immunity in aging.

**Key words:** melatonin, the pineal gland, nonspecific immunity, biological rhythms, aging.

*Захарчук А.И., Кадельник Л.А., e-mail: zai\_cv@mail.ru***МЕЛАТОНИН И ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СЕЗОННОЙ СТРУКТУРЫ ЦИРКАДИАНЫХ РИТМОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА***Буковинский государственный медицинский университет, кафедра медицинской биологии, генетики и фармацевтической ботаники, г. Черновцы, Украина*

**Аннотация.** Проведены комплексные исследования влияния эпифизэктомии на динамику циркадианных и сезонных ритмов показателей неспецифической иммунологической адаптации организма и выявление характера влияния шишковидной железы на ритмостаз показателей естественного неспецифического иммунитета при старении организма.

**Ключевые слова:** мелатонин, шишковидная железа, неспецифический иммунитет, биологические ритмы, старение.

**Содержание.** У человека и млекопитающих шишковидная железа (ШЗ) (эпифиз мозга) играет важную роль в синхронизации циркадианной эндокринной активности. Известна роль ШЗ в нейроэндокринной регуляции функций организма [2] и непосредственное участие в развитии общего адаптационного синдрома [1]. Пинеальная железа явля-

ется одним из главных осцилляторов регуляции хронобиологических процессов организма [3].

В процессе старения циркадианные и сезонные колебания показателей жизнедеятельности организма постепенно угасают [4], снижается продукция и секреция эпифизом гормона мелатонина, уменьшаются суточные колебания уровня мелатонина в плазме крови [9],

что приводит к развитию различных патологических состояний вследствие повышения реактивности симпатoadrenalовой, гипофизарно-адrenalовой и сердечно-сосудистой систем. Восстановление концентрации мелатонина повышает устойчивость сердечно-сосудистой и других систем организма к воздействию стрессорных факторов [5, 10].

Описано положительное влияние гормона мелатонина на нейроэндокринную регуляцию и его антиоксидантное действие [8]. Мелатонин снижает активность гипоталамо-гипофизарной и симпатoadrenalовой систем, уменьшает начальную стадию развития стресса - стадию тревоги или беспокойства, тем самым предотвращая развитие общего адаптационного синдрома. Исследования последних лет указывают на роль ШЗ, как составляющей центральных биологических часов, при старении [7], а введение мелатонина в фармакологических дозах может предупредить развитие симптомов старения [6]. Доказано стимулирующее влияние мелатонина на иммуноструктурный гомеостаз [9]. Изучены сезонные колебания некоторых показателей неспецифического иммунитета [3].

Наши исследования проведены на 160 белых лабораторных крысах-самцах двух возрастных групп: половозрелых (взрослых) - в возрасте 12-15 мес. массой 140-180 г и старых - в возрасте 24 мес. и старше массой 200 г и более. Крысы содержались в виварии при постоянной температуре и искусственном освещении. Световой режим был соответственно: 12 ч свет - 12 ч темнота. В эксперименте также использовали псевдооперированных крыс, которые наряду с интактными, составили контрольную группу эпифизэктомированным животным на 15-20 сутки после удаления ШЗ.

С целью изучения циркадианных ритмов показателей неспецифического иммунитета организма опыты проводились на взрослых и старых крысах-самцах. Светлый период суток продолжался с 08.00 часов утра до 20.00 вечера, а темновой - с 20.00 ч вечера до 06.00 часов утра. Кровь забирали через 6-часовые интервалы времени: соответственно в 09.00, 15.00, 21.00 и 03.00 час. Для изучения сезонного ритма опыты проводили в течение двух лет весной (апрель, май), летом (июль, август), осенью (октябрь, ноябрь) и зимой (январь, февраль).

Экспериментально изучали показатели неспецифического иммунитета: активность сывороточного комплемента, концентрацию сывороточного лизоцима, общее количество лейкоцитов, НСТ-тест, миелопероксидазную активность нейтрофилов, уровень гликогена, фагоцитарную активность и фагоцитарный индекс полиморфноядерных лейкоцитов.

Результаты исследований указывают на наличие ритмики системы комплемента и снижение его уровня вследствие эпифизектомии. Циркадианный ритм активности сывороточного комплемента зависит не только от возраста и наличия ШЗ, но и от времени года, особенно весной и летом. Содержание сывороточного лизоцима у взрослых крыс после пинеалэктомии уменьшалось, а в старых крыс наблюдалось нивелирование циркадианного ритма. Сезонный ритм вследствие удаления ШЗ изменялся: в старых крыс минифаза смещалась на осень. Введение мелатонина сопровождалось ростом содержания лизоцима в контрольных группах взрослых и старых крыс, а в эпифизэктомированных взрослых животных - уменьшением уровня показателя.

Следует указать на существенную роль лизоцима, содержание которого возрастало при старении, что является компенсаторным механизмом, направленным на активацию ферментативной активности фагоцитов, и прежде всего лизосомальных ферментов, в частности - муромидазы, разрушающей стенки бактерий.

Вследствие пинеалэктомии наблюдалась лейкопения, как у взрослых, так и у старых крыс. Уменьшалась фазность циркадианного ритма, смещались акрофаза и минифаза. Показатель количества лейкоцитов не являлся информативным относительно действия мелатонина и измененного освещения, однако его динамика и ритмостаз изменялись.

НСТ-тест оставался существенно не измененным при нахождении животных в условиях длительной темноты. При данных условиях не наблюдалось влияния мелатонина. Данный показатель характеризует активацию метаболизма нейтрофилов и, прежде всего, функцию гексозомонофосфатного шунта и связанный с ним синтез свободных радикалов, необходимых для успешного осуществления фагоцитоза. В наших опытах имела место тенденция к изменению этого показателя с возрастом и наблюдались нарушения циркадианной ритмики.

Циркадианные ритмы содержания гликогена в нейтрофилах у половозрелых крыс после эпифизэктомии не имели существенных различий, а в старых - достоверно снижались и сглаживались амплитуды акрофазы и батифазы. Идентичные изменения регистрировались у животных с удаленной ШЗ. Введение мелатонина сопровождалось ростом содержания гликогена в пинеалэктомированных взрослых и старых крыс. Низкое содержание гликогена у подопытных животных свидетельствует о недостаточной

энергообеспеченности нейтрофилов, как основной цепи в функционировании системы неспецифической иммунологической адаптации организма, указывает на возможные отклонения в работе системы неспецифической защиты. Эти данные достаточно четко характеризуют процессы старения организма.

Миелопероксидазная активность нейтрофилов периферической крови обеспечивает их бактерицидные свойства и разрушения пероксида водорода. Циркадианный ритм активности миелопероксидазы характеризовался минифазой в утреннее время во всех трех группах старых крыс. Низкая активность миелопероксидазы нормализовалась под влиянием мелатонина в условиях обычного фотопериода, длительной темноты и при постоянном освещении.

Полученные результаты экспериментальных исследований указывают, что в результате пинеалэктомии изменяются показатели содержания гликогена, уровня НСТ-теста и миелопероксидазной активности, что является прямым свидетельством изменения в этих условиях фагоцитарной активности сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов. Фагоцитарная активность у старых животных достоверно снижалась, а удаление ШЗ приводило к нарушению фазности суточной кривой, уровни показателей достоверно снижались во все временные промежутки суток. Введение мелатонина нормализовало сниженные показатели фагоцитарной активности, как у взрослых, так и у старых крыс, а при наличии железы - гормон не влиял на этот показатель при обычном фотопериоде. При угнетении ШЗ тела длительным освещением введение мелатонина стимулировало активность фагоцитоза как у взрослых, так и у старых контрольных животных. Такая же направленность изменений наблюдалась и в обеих группах эпифизэктомированных крыс. Следовательно, при отсутствии ШЗ эффекты мелатонина не зависят от фотопериода.

Фагоцитарный индекс у взрослых крыс после удаления ШЗ характеризовался нарушением фазности циркадианного ритма, смещением акрофазы на утренние часы. Зарегистрировано снижение ритмических колебаний и достоверное уменьшение показателя в старых эпифизэктомированных животных. Экзогенный мелатонин нормализовал уровень фагоцитарного индекса, который был снижен вследствие удаления ШЗ и после воздействия постоянного освещения. Наряду с отсутствием эффекта действия постоянной темноты и мелатонина на динамику и ритмостаз фагоцитарного индекса во всех группах взрослых крыс, для старых животных характерным был рост показателя в контрольной группе животных.

Таким образом, обнаруженная разнонаправленность биоритмологических изменений гуморальных и клеточных показателей неспецифического иммунитета обеспечивает наиболее полноценное приспособление организма к циклическим изменениям внешней среды. ШЗ у млекопитающих имеет прямое отношение к регуляции циркадианных ритмов системы неспецифической адаптации организма. Это влияние имеет возрастные особенности и сохраняется до глубокой старости. Регулирующее действие пинеальной железы на иммуноструктурный гомеостаз осуществляется мелатонином и другими биологически активными веществами, которые продуцируются этим органом. Исследования с измененным освещением свидетельствуют о существовании принципиальной возможности стимуляции мелатонинобразующей функции ШЗ путем увеличения длины темного периода, и, как

следствие, усиления работы системы неспецифической иммунологической защиты организма, что особенно актуально в геронтологии и гериатрической практике.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Комаров Ф.И. Хронобиология и хрономедицина / Ф.И.Комаров, С.И.Рапопорт. – М.: “Триада-Х”, 2000. – 488 с.
2. Пішак В.П. Клінічна анатомія шишкоподібного тіла / В.П.Пішак.– Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 160 с.
3. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і хроноритми імунної системи / В.П.Пішак, О.І.Захарчук, О.В.Пішак. – Чернівці: Прут, 1997. – 270 с.
4. Хавинсон В.Х. Роль пептидов в эпигенетической регуляции активности генов в онтогенезе / В.Х. Хавинсон, В.В.Малинин, Б.Ф.Ванюшин // Бюл. экперим. биол. и мед. – 2011. – Т.152, №10. – С.452-457.
5. Шишкоподібна залоза: патоморфологія, патологічна фізіологія, фармакологія / В.П.Пішак, Р.Є.Булик, І.І.Замороський, С.С.Ткачук – Чернівці, 2012. – 264 с.
6. Aging and the circadian rhythm of melatonin: a cross-sectional study of Chinese subjects 30-110 yr of age / [Z.Y.Zhao, Y.Xie, Y.R.Fu et al.] // Chronobiol. Int. - 2002. - Vol. 19, № 6. - P. 1171-1182.
7. Arendt J. Melatonin and mammalian pineal gland / J. Arendt– Chapman & Hall. – 1995. – 321 p.
8. Pineal gland buffers initial stress-induced ACTH burst / J.Milin, M.Demajo, R.Milin // Acta boil. lugo-sl. - 1998. - Vol. 24, № 2. - P. 171-176.
9. The Pineal gland: Its physiological and pharmacological role / V.Srinivasan // Indian. J. Physiol. And Pharmacol. – 1989. – Vol.33, №4. – P.263-272.
10. Welsh D.K. Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties / D.K.Welsh, J.S.Tacahashi, S.A.Ray // Ann. Rev. Physiol.- 2010. – Vol.72. – P.551-577.