

БІОРИТМОЛОГІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ПОКАЗНИКІВ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ВІКОВИХ ЗМІНАХ ШИШКОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

О.І. Захарчук, Ю.М. Вепрюк

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Ключові слова:
адаптація,
шишкоподібна
залоза, старіння,
хроноритми,
епіфізектомія,
неспецифічний
імунітет,
мелатонін, ссавці.

Клінічна та
експериментальна
патологія Т.17, №3
(65), Ч.2.-С.50-57.

DOI:10.24061/1727-
4338.XVII.3.65.2018.157

E-mail: biology@
bsmu.edu.ua

Мета роботи - дослідити стан динаміки циркадіанних і сезонних ритмів показників неспецифічної адаптації організму при епіфізектомії та виявити характер впливу шишкоподібної залози (ШЗ) на ритмостаз показників природного неспецифічного імунітету при старінні організму. **Матеріали та методи.** Дослідження проведені на 60 білих лабораторних щурах-самцях двох вікових груп: статевозрілих і старих. Тваринам вводили внутрішньоочередово синтетичний мелатонін у дозі 100 мкг на 100 г маси тіла. Вивчали показники неспецифічного імунітету: активність сироваткового комплементу, яку визначали фотометричним методом за 50% гемолізом (од/мл), концентрацію сироваткового лізоциму (мкг/мл) визначали турбодиметричним методом за Перрі в модифікації Грант, загальну кількість лейкоцитів (10^9 /л) периферичної крові визначали за А.Я.Альтгаузенном, НСТ-тест (%) визначали за С.У.Пастером, мієлопероксидазну активність нейтрофілів (од) досліджували за методом Т.Попова і Л.Нейковської, рівень глікогену (од) в лейкоцитах визначали за І.Тодоровим (1966), фагоцитарну активність (%) і фагоцитарний індекс (од) поліморфноядерних лейкоцитів вивчали в присутності об'єкта фагоцитозу (жива добова культура стафілококу).

Результати. Сезонна і циркадіанна хроноструктура активності сироваткового комплементу залежить не тільки від віку та наявності ШЗ, але й від пори року, особливо навесні та влітку. Вміст сироваткового лізоциму у дорослих щурів після епіфізектомії зменшувався, а у старих щурів спостерігалось нівелювання циркадіанного ритму. Сезонний ритм унаслідок видалення ШЗ змінювався: у старих щурів мініфаза зміщувалася на осінь. Уведення мелатоніну супроводжувалося зростанням вмісту лізоциму у контрольних групах дорослих і старих щурів, а у епіфізектованих дорослих тварин - зменшенням рівня показника. Слід вказати на суттєву роль лізоциму, вміст якого зростає при старінні, що є компенсаторним механізмом, спрямованим на активацію ферментативної активності фагоцитів, і, насамперед, лізосомальних ферментів, зокрема муромідази, яка руйнує стінки бактерій. Після епіфізектомії спостерігалась лейкопенія, як у дорослих, так і у старих щурів. Зменшувалася фазність циркадіанного ритму, зміщувалися акрофаза та мініфаза. Після видалення ШЗ змінюються показники активності сироваткового комплементу, вмісту лізоциму, глікогену, рівня НСТ-тесту і мієлопероксидазної активності, що є прямим свідченням зміни фагоцитарної активності сегментоядерних нейтрофільних лейкоцитів. Фагоцитарна активність у старих тварин достовірно знижувалася, а епіфізектомія призводила до порушення фазності добової кривої, до змін акрофази і батифази, рівні показників достовірно знижувалися в усі годинні проміжки доби. Уведення екзогенного мелатоніну нормалізувало знижені показники фагоцитарної активності, як у дорослих, так і у старих щурів, а при наявності залози гормон не впливав на цей показник при звичайному фотоперіоді. При пригніченні ШЗ тривалим освітленням введення мелатоніну стимулювало активність фагоцитозу як у дорослих, так і у старих тварин контрольної групи. Отже, за відсутності ШЗ ефекти мелатоніну не залежать від фотоперіоду. Біоритмологічні зміни гуморальних і клітинних показників неспецифічної резистентності проявляють різноспрямованість, що забезпечує найбільш повноцінне пристосування організму до циклічних змін зовнішнього середовища. ШЗ має пряме відношення до регуляції циркадіанних ритмів системи неспецифічної імунологічної резистентності організму. Є певні вікові особливості, а вплив шишкоподібної залози зберігається до глибокої старості. Регулююча дія ШЗ на імуноструктурний гомеостаз здійснюється мелатоніном і, можливо, іншими біологічно активними речовинами, які продукуються цим органом. Дослідження зі змінним освітленням свідчать про існування принципової можливості стимуляції мелатонінотворюючої функції ШЗ шляхом збільшення довжини темного періоду, і, як наслідок, посилення роботи системи неспецифічної імунологічної резистентності організму, що є особливо актуальним при корекції вікових змін та з метою продовження тривалості життя. **Висновки.** 1. Гуморальні та клітинні

складові системи неспецифічної адаптації організму підпорядковані чітким циркадіанним та сезонним коливанням, які мають вікові особливості. 2. Шишкоподібна залоза бере безпосередню участь у формуванні хроноритмів системи неспецифічного імунного захисту, що чітко підтверджується відповідними змінами після еліфізектомії та уведення мелатоніну. 3. Циркадіанна архітектоніка імуноструктурного гомеостазу має пряму залежність від довжини фотоперіоду: за умов подовженої темряви спостерігається активація системи неспецифічного імунного захисту, а при постійному освітленні - відбувається пригнічення. 4. Можлива часткова корекція змінених показників системи неспецифічного імунітету під час розвитку процесів старіння організму шляхом штучної регуляції світлового режиму та уведенням екзогенного мелатоніну.

БИОРИТМОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.И. Захарчук, Ю.М. Венрюк

Цель работы - исследовать состояние динамики циркадианных и сезонных ритмов показателей неспецифической адаптации организма при эпифизэктомии и выявить характер влияния шишковидной железы (ШЖ) на ритмостаз показателей естественного неспецифического иммунитета при старении организма. **Материалы и методы.** Исследования проведены на 60 белых лабораторных крысах-самцах двух возрастных групп: половозрелых и старых. Световой режим был соответственно: 12 ч свет - 12 ч темнота. Экспериментальные исследования проводились в разные часы суток и в разные времена года. Световой период суток продолжался с 08.00 ч утра до 20.00 вечера, а темновой - с 20.00 вечера до 06.00 ч утра. Кровь забирали через 6-часовые интервалы времени: соответственно в 09.00, 15.00, 21.00 и 03.00 часов. Для изучения характеристики сезонного ритма опыты проводили в течение двух лет весной, летом, осенью и зимой. Животным вводили внутривенно синтетический мелатонин в дозе 100 мкг на 100 г массы тела. Влияние измененного освещения изучали путем содержания животных в условиях регулируемого светового режима: 72 ч - темнота и 72 ч - свет. Изучали показатели неспецифического иммунитета: активность сывороточного компонента, которую определяли фотометрическим методом 50% гемолизом (ед/мл), концентрацию сывороточного лизоцима (мкг/мл) определяли турбидиметрические методом с Перри в модификации Грант, общее количество лейкоцитов ($10^9/л$) периферической крови определяли по А.Я.Альтгаузену, НСТ-тест (%) определяли по С.У.Пастеру, миелопероксидазную активность нейтрофилов (ед) исследовали методом Т.Поповой и Л.Нейковской, уровень гликогена (ед) в лейкоцитах определяли по И.Тодорову (1966), фагоцитарную активность (%) и фагоцитарный индекс (ед) полиморфноядерных лейкоцитов изучали в присутствии объекта фагоцитоза (живая суточная культура стафилококка). **Результаты.** Сезонная и циркадианная хроноструктура активности сывороточного компонента зависит не только от возраста и наличия ШЖ, но и от времени года, особенно весной и летом. Содержание сывороточного лизоцима у взрослых крыс после эпифизэктомии уменьшалось, а у старых крыс наблюдалось нивелирование циркадианного ритма. Сезонный ритм вследствие удаления ШЖ менялся: в старых крыс минифаза смещалась на осень. Введение мелатонина сопровождалось увеличением 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 возрастает при старении, что является компенсаторным механизмом, направленным на активацию ферментативной активности фагоцитов, и, прежде всего, лизосомальных ферментов, в частности мурамидазы, которая разрушает стенки бактерий. После эпифизэктомии наблюдалась лейкопения, как у взрослых, так и у старых крыс. Уменьшалась фазность циркадианного ритма, смещались акрофаза и минифаза. После удаления ШЖ меняются показатели активности сывороточного компонента, содержания лизоцима, гликогена, уровня НСТ-теста и миелопероксидазной активности, что является прямым свидетельством изменения фагоцитарной активности сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов. Фагоцитарная активность у старых животных достоверно снижалась, а эпифизэктомия приводила к нарушению фазности суточной кривой, к изменениям акрофазы и батифазы, уровни показателей достоверно снижались во все часовые промежутки

Ключевые слова:
адаптация,
шишковидная
железа,
старение,
хроноритмы,
эпифизэктомия,
неспецифичный
иммунитет,
мелатонин,
млекопитающие.

Клиническая и
экспериментальная
патология Т.17, №3
(65), Ч.2.-С.50-57.

времени. Введение экзогенного мелатонина нормализует сниженные показатели фагоцитарной активности, как у взрослых, так и у старых крыс, а при наличии железы гормон не влияет на этот показатель при обычном фотопериоде. При угнетении ШЖ длительным освещением введение мелатонина стимулировало активность фагоцитоза как у взрослых, так и у старых животных контрольной группы. Следовательно, при отсутствии ШЖ эффекты мелатонина не зависят от фотопериода. Биоритмологические изменения гуморальных и клеточных показателей неспецифической резистентности проявляют разнонаправленность, что обеспечивает наиболее полноценное приспособление организма к циклическим изменениям внешней среды. ШЖ имеет прямое отношение к регуляции циркадианных ритмов системы неспецифической иммунологической резистентности организма. Есть определенные возрастные особенности, а влияние ШЖ сохраняется до глубокой старости. Регулирующее действие ШЖ на иммуноструктурный гомеостаз осуществляется мелатонином и, возможно, другими биологически активными веществами, которые продуцируются этим органом. Исследования с измененным освещением свидетельствуют о существовании принципиальной возможности стимуляции мелатонинобразующей функции ШЖ путем увеличения длины темного периода, и, как следствие, усиления работы системы неспецифической иммунологической резистентности организма, что особенно актуально при коррекции возрастных изменений и с целью продления жизни. **Выводы.** 1. Гуморальные и клеточные составляющие системы неспецифической адаптации организма подчинены четким циркадианным и сезонным колебаниям, которые имеют возрастные особенности. 2. Шишковидная железа принимает непосредственное участие в формировании хроноритмов системы неспецифической иммунной защиты, четко подтверждается соответствующими изменениями после эпифизэктомии и введения мелатонина. 3. Циркадианная архитектура иммуноструктурного гомеостаза имеет прямую зависимость от длины фотопериода: при удлиненной темноте наблюдается активация системы неспецифической иммунной защиты, а при постоянном освещении - происходит ее угнетение. 4. Возможна частичная коррекция измененных показателей системы неспецифического иммунитета при развитии процессов старения организма путем искусственной регуляции светового режима и введением экзогенного мелатонина.

Key words:

adaptation,
epiphysectomy,
chronorhythm,
pineal gland,
nonspecific
immunodefence,
melatonin, aging,
mammals.

Clinical and
experimental
pathology. Vol.17,
№3 (65), P.2- P.50-
57.

BIORHYTHMIC PROFILE OF INDICATORS OF NONSPECIFIC IMMUNITY IN AGE-RELATED CHANGES OF THE PINEAL GLAND

O.I. Zakharchuk, Yu.M. Vepriuk

Objective. To investigate the state of dynamics of circadian and seasonal rhythms of indicators of organism nonspecific adaptation in epiphysectomy and to reveal the nature of the impact of the pineal gland on the rhythmostasis of indicators of natural non-specific immunity during the aging. **Material and methods.** Studies were conducted on 60 white laboratory male rats of two age groups: old and sexually mature. The light regime was the following: 12 hours of light - 12 hours of darkness. Experimental studies were carried out at different hours of the day and during different seasons. The light period of the day lasted from 8:00 am to 8:00 pm, and the dark one - from 8:00 pm to 6:00 am. Blood was taken at 6-hour intervals: at 9:00 am, 3:00 pm, 9:00 pm and 3:00 am. The experiments were conducted during two years in spring, summer, autumn and winter to characterize the seasonal rhythm. Synthetic melatonin was given to the animals in a dose of 100 µg per 100 g of body weight intraperitoneally. The effects of altered lighting were studied by holding animals under controlled light conditions: 72 hours of darkness and 72 hours of light. The parameters of non-specific immunity were studied: the activity of serum complement, which was determined by photometric method in 50% hemolysis (units / ml), serum lysozyme concentration (µg / ml) was determined by Perret turbidimetric method in Grant modification, the total amount of peripheral blood leukocytes was determined by A. I. A. Althausen method ($10^9/l$), NST-test (%) was determined by S.U.Paster method, myeloperoxidase activity of neutrophils was investigated by T.Popov and L.Naikovskaya method; the level of glycogen in leukocytes was determined by I.Todorov (1966), phagocytic activity (%) and phagocytic index (od) of polymorphonuclear leukocytes were studied in the presence of the object of phagocytosis (a living culture of staphylococci). **Results.** Seasonal and circadian chronost-

ructures of serum complement activity depend not only on age and the presence of pineal gland, but also on the season, especially in the spring and summer. The serum lysozyme content in adult rats decreased after epiphysectomy, and in the old rats the level of the circadian rhythm was observed. The seasonal rhythm varied due to the pineal gland removal: the miniphase was displaced in the autumn in the old rats. The introduction of melatonin was accompanied by an increase in the content of lysozyme in the control groups of adults and old rats, and in adult animals without epiphysis - a decrease in the level of the indicator. It should be pointed out the important role of lysozyme, which content increased during aging, being a compensatory mechanism, aimed at activating the enzymatic activity of phagocytes, and, first of all, lysosomal enzymes, in particular, muromidase, which destroys the walls of bacteria. After epiphysectomy, leukopenia was observed, both in adults and old rats. The power phase of circadian rhythm was decreased, acrophase and miniphase shifted. After the PG removal, the parameters of serum complement activity, the content of lysozyme, glycogen, the level of the NST test and myeloperoxidase activity, which are the direct evidence of the phagocytic activity change of segmental neutrophilic leukocytes. Phagocytic activity in old animals reliably lowered, and epiphysectomy led to a violation of the daily curve phase density, to changes in the acrophase and the bathephase, and the levels of the indicators significantly lowered at all time intervals. The introduction of exogenous melatonin normalized the decreased levels the of phagocytic activity, both in adults and in older rats, and the hormone did not affect this index in the normal photoperiod in the presence of the gland. With suppression of the pineal gland with prolonged illumination, the administration of melatonin stimulated the activity of phagocytosis in adults as well as in older animals in the control group. Consequently, in the absence of PG, the effects of melatonin do not depend on the photoperiod. Biorhythmological changes of humoral and cellular indicators of nonspecific resistance show a divergence, which provides the most complete adaptation of the organism to cyclic changes in the environment. PG has a direct relation to the regulation of circadian rhythms of the system of non-specific immunological resistance of an organism. There are certain age characteristics, but the impact of the pineal gland remains intact. The regulatory effect of PG on immune homeostasis is carried out by melatonin and possibly by other biologically active substances produced by this organ. Investigations with altered lighting indicate that there is a principal possibility of stimulation of the PG melatonin-forming function by increasing the length of the dark period, and, as a consequence, strengthening the work of the system of non-specific immunological resistance of the organism, which is especially relevant in the correction of age changes and in order to prolong life expectancy. **Conclusions.** 1. Humoral and cellular components of the system of nonspecific adaptation of the organism are subjected to clear circadian and seasonal variations that have age-related features. 2. The pineal gland carries a direct part in the formation of the chronological rhythms of the nonspecific immune defense system, which is clearly confirmed by the corresponding changes after epiphysectomy and the administration of melatonin. 3. Circadian architectonics of immune homeostasis has a direct dependence on the length of the photoperiod: under conditions of prolonged darkness, activation of the system of nonspecific immune protection is observed, and under constant lighting - there is a depression. 4. Partial correction of the changed indices of the system of non-specific immunity during the development of aging processes is possible through artificial regulation of the light regime and the introduction of exogenous melatonin.

Вступ

Шишкоподібна залоза у людини та ссавців відіграє важливу роль в синхронізації хроноритмів ендокринної активності. Дослідження останніх років досить чітко вказують на роль шишкоподібної залози в нейроендокринній регуляції функцій організму [1,2] та участь епіфіза в розвитку загального адаптаційного синдрому [2]. Проводяться поглиблені дослідження щодо вивчення ролі пінеальної залози, як одного з основних осциляторів [1,2], в регуляції хронобіологічних процесів організму [3,4]. При старінні циркадіанні та сезонні коливання показників життєдіяльності організму поступово згасають [5,6], акрофази стають менш стабільними. З

віком знижується продукція та секреція епіфізом мелатоніну, зменшуються добові коливання рівня мелатоніну у плазмі крові [7,8,9], що призводить до розвитку різноманітних патологічних станів [10,11,12], особливо унаслідок підвищення реактивності симпато-адреналової, гіпофізарно-адреналової та серцево-судинної систем. Відновлення ж концентрації мелатоніну суттєво підвищує стійкість серцево-судинної та інших систем організму до впливу стрес-агентів [1,5].

Мелатонін позитивно впливає на нейроендокринну регуляцію та виявляє антиоксидантну дію [5,8]. Поступово знижуючи активність гіпоталамо-гіпофізарної та симпато-адреналової систем, мелатонін зменшує по-

чаткову стадію розвитку стресу - стадію тривоги або неспокою, чим запобігає прогресуванню загального адаптаційного синдрому.

Літературні дані вказують на роль шишкоподібної залози як центрального біологічного годинника при старінні [13], а застосування мелатоніну в фармакологічних дозах може попередити розвиток симптомів старіння [1,5]. Існує чіткий стимулюючий вплив мелатоніну на імуноструктурний гомеостаз [14]. Досліджені сезонні коливання деяких показників неспецифічного імунітету. Однак, у літературі відсутні дані щодо ролі шишкоподібної залози в регуляції сезонних змін циркадіанних ритмів показників неспецифічної імунітету організму. Варто більш досконало вивчити геронтологічні аспекти циркадіанних та сезонних ритмів показників імуноструктурного гомеостазу, інтенсивно проводяться дослідження механізмів впливу зміненого освітлення на стан показників неспецифічного імунітету організму.

Мета роботи

Дослідити вплив епіфізектомії на стан динаміки циркадіанних і сезонних ритмів показників неспецифічної адаптації організму та виявити характер впливу шишкоподібної залози на ритмостаз показників природного неспецифічного імунітету при старінні організму.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проведені на 60 білих лабораторних щурах-самцях двох вікових груп: статевозрілих (дорослих) - віком 12-15 міс масою 140-200 г та старих - віком 24 міс і старших масою 250 г і більше.

Тварини утримувалися у віварії при сталій температурі та штучному освітленні. Світловий режим був відповідно: 12 год світло - 12 год темрява. У всі періоди дослідження щури знаходилися на постійному кормовому режимі з вільним доступом до води. Експериментальні дослідження проводилися в різні години доби та в різні пори року.

При проведенні досліджень використовували псевдооперованих щурів, які поряд з інтактними, склали контрольну групу та епіфізектомованих тварин на 15-20 добу після видалення пінеальної залози. Епіфізектомію у щурів проводили по Y.Kitay і M.Altshule (1954) в модифікації В.П. Пішака (1974).

Світлий період доби тривав з 08.00 год ранку до 20.00 год вечора, а темновий - з 20.00 год вечора до 06.00 год ранку. Кров забирали через 6-годинні інтервали доби: відповідно о 09.00, 15.00, 21.00 та 03.00 годині. Для характеристики сезонного ритму досліди проводили впродовж двох років навесні (квітень, травень), влітку (липень, серпень), восени (жовтень, листопад) та взимку (січень, лютий).

З метою вивчення ефекту впливу на функцію системи неспецифічного імунітету організму гормону шишкоподібної залози мелатоніну епіфізектомованим та контрольним щурам вводили внутрішньоочеревинно синтетичний мелатонін у дозі 100 мкг на 100 г маси тіла, розведений 0,2 мл ізотонічного розчину хлориду

натрію.

Вплив зміненого освітлення вивчали шляхом утримування тварин за умов регульованого світлового режиму: 72 год - темрява та 72 год - світло. Визначали показники функціонування системи неспецифічного імунітету. Вводили внутрішньоочеревинно мелатонін і через 1-1,5 год, враховуючи період напіврозпаду (G.Uaughan et al., 1986), повторно проводили забір крові.

Вивчали показники неспецифічного імунітету: активність сироваткового комплементу, яку визначали фотометричним методом за 50% гемолізом (од/мл), концентрацію сироваткового лізоциму (мкг/мл) визначали турбодиметричним методом за Перрі в модифікації Грант (1983), загальну кількість лейкоцитів (10⁹/л) периферичної крові визначали за А.Я.Альтгаузенем (1964), НСТ-тест (%) визначали за Е.У.Пастером (1989), мієлопероксидазну активність нейтрофілів (од) досліджували за методом Т.Попова і Л.Нейковської (1971), рівень глікогену (од) в лейкоцитах визначали за І.Тодоровим (1966), фагоцитарну активність (%) і фагоцитарний індекс (од) поліморфноядерних лейкоцитів вивчали в присутності об'єкта фагоцитозу (жива добова культура стафілококу) (Э.У.Пастер і соавт., 1989).

Отримані в ході експериментальних досліджень результати, математично проаналізовані, визначені середні значення, стандартне відхилення від середнього значення, вірогідності різниць між середніми величинами за критерієм Стьюдента. Вся обробка цифрового матеріалу проведена за допомогою програми "Statistica-6.0".

Результати та їх обговорення

Відповідно до результатів проведених досліджень всі показники, що мали характерні сезонні зміни циркадіанного ритму, мали залежність від наявності шишкоподібної залози. Спостерігалися характерні вікові відмінності.

Навколдобовий ритм сироваткового комплементу найбільш характерних змін зазнавав навесні. Рівень показника унаслідок епіфізектомії знижувався, особливо вночі, як у дорослих, так і у старих щурів. В останніх зменшувалася амплітуда коливань. Після видалення епіфіза сезонний ритм мав низьку амплітуду, зменшувався мезор. Знижувався рівень показника у старих щурів. Після уведення мелатоніну комплементарна активність зростала у всіх групах тварин. Постійне світло призводило до зниження активності сироваткового комплементу, а уведення екзогенного мелатоніну нормалізувало цей показник. За умов постійної темряви мелатонін викликав зростання активності комплементу у епіфізектомованих дорослих та старих щурів.

Наші дослідження вказують на наявність ритміки системи комплементу та зниження його унаслідок епіфізектомії. Нами показано, що циркадіанний ритм активності сироваткового комплементу залежить не тільки від віку тварин та цілісності шишкоподібної залози, але й від сезону, що особливо характерно навесні і влітку. Система комплементу, як один із показників неспецифічної адаптації, що тісно пов'язана з функціонуванням імунної системи, має вагому залежність від

пінеальної регуляції, про що свідчать середньодобові та середньорічні показники.

Уміст сироваткового лізоциму у дорослих шурів після пінеалектомії зменшувався, у старих - зростав. Спостерігалось нівелювання циркадіанного ритму. Сезонний ритм унаслідок видалення пінеальної залози змінювався: у старих шурів мініфаза зміщувалася на осінь. Уведення мелатоніну супроводжувалося зростанням вмісту лізоциму в контрольних групах дорослих і старих шурів, а у епіфізектомованих дорослих - зменшенням рівня показника. Не виявлено істотних змін вмісту сироваткового лізоциму за умов тривалого освітлення або темряви. Слід вказати на суттєву роль лізоциму, вміст якого зростав при старінні, що є компенсаторним механізмом, направленим на активацію ферментативної активності фагоцитів, і, насамперед, лізосомального ферменту - муромідази, яка руйнує стінки бактерій.

Певною мірою стан неспецифічної адаптації організму характеризує загальна кількість лейкоцитів периферичної крові. Після пінеалектомії спостерігалась лейкопенія, як у дорослих, так і у старих шурів. Зменшувалась фазність циркадіанного ритму, зміщувались акрофаза і мініфаза. Сезонний ритм лейкоцитів у старих тварин виявлявся слабо, унаслідок видалення шишкоподібної залози спостерігалось зміщення акрофази ритму на осінь, а фаза мінімуму зсувалася на весну. Не виявлено істотних відмінностей у загальній кількості лейкоцитів після введення мелатоніну та при порушенні фотоперіоду. Отже, показник кількості лейкоцитів не є достеменно інформативним щодо дії мелатоніну та змінного освітлення, однак динаміка та ритмостаз змінювалися, що співпадає з літературними даними [2].

Циркадіанний ритм НСТ-тесту у дорослих епіфізектомованих шурів не відрізнявся від контрольних груп. Суттєвим було зниження рівня показника, як у контролі так і, особливо, у старих епіфізектомованих тварин. Причому, у них зменшувалась амплітуда циркадіанного ритму, змінювалася акрофаза з 21.00 год у контролі на 03.00 год у досліді. Уведення мелатоніну дорослим тваринам викликало зниження даних показника НСТ-тесту в контролі та нормалізувало у пінеалектомованих. У старих шурів мелатонін викликав збільшення рівня НСТ-тесту у всіх групах. НСТ-тест у тварин, що перебували при тривалому освітленні, зазнавав істотних змін тільки у старих шурів. Після введення мелатоніну мала місце тенденція до зростання рівня НСТ-тесту у статевозрілих, та статистично вірогідно збільшувався показник у старих епіфізектомованих шурів. Як і кількість лейкоцитів, НСТ-тест залишався істотно не зміненим при перебуванні тварин за умов тривалої темряви. За даних умов не спостерігалось впливу мелатоніну. Загальновідомо, що НСТ-тест характеризує активацію метаболізму нейтрофілів і, насамперед, функцію гексозомонофосфатного шунта та пов'язаний з ним синтез вільних радикалів, необхідних для успішного здійснення фагоцитозу. У наших дослідях мала місце тенденція до зміни цього показника з віком та порушення циркадіанної ритміки. Це дало змогу передбачити можливу залежність ритмостазу та динаміки показ-

ників фагоцитозу від пінеальних чинників.

Циркадіанний ритм вмісту глікогену в нейтрофілах у статевозрілих шурів після епіфізектомії суттєвих відмінностей не мав, а у старих - вірогідно знижувався та згладжувалася амплітуда коливань у тварин з видаленою шишкоподібною залозою. Уведення мелатоніну супроводжувалося зростанням вмісту глікогену в пінеалектомованих дорослих і старих шурів. У статевозрілих тварин при тривалому ос-вітленні рівень глікогену в нейтрофілах складав 53 од, а за умов звичайного фотоперіоду дорівнював 63 од. У всіх трьох групах старих шурів при постійному освітленні, як і при звичайному світловому режимі, кількість глікогену була значно нижчою ($P < 0,05$), ніж у дорослих. Уведення мелатоніну нормалізувало рівень показника як у контрольних, так і у пінеалектомованих шурів. Аналогічна направленість мала місце і у старих тварин, як до, так і після введення мелатоніну. Разом з тим, з віком цей показник складав тільки 70% рівня у дорослих тварин. Знижений під дією постійної темряви вміст глікогену у епіфізектомованих дорослих і старих шурів нормалізувався після ін'єкцій екзогенного мелатоніну.

Зниження вмісту глікогену в піддослідних тварин свідчить про недостатню енергозабезпеченість нейтрофілів, як основного ланцюга у функціонуванні системи неспецифічної адаптації, і про можливі відхилення в роботі системи неспецифічного імунологічного захисту, що є особливо характерним при старінні організму.

Мієлопероксидазна активність нейтрофілів периферичної крові забезпечує її бактерицидні властивості та руйнування пероксиду водню. Циркадіанний ритм активності мієлопероксидази характеризувався мініфазою в ранковий час у всіх трьох групах старих шурів. Поряд з цим, акрофаза показника зміщувалася з 03.00 год у дорослих на 21.00 год у старих тварин у контролі та досліді. Особливо низькою залишалася активність ферменту у всі добові періоди у старих пінеалектомованих шурів. Суттєвих вікових змін зазнавав цей показник і залежно від пори року. Це стосується в першу чергу епіфізектомованих тварин, у яких мієлопероксидазна активність знижувалася, а характер кривої зазнавав змін у бік зменшення мезора. Зазначена низька активність мієлопероксидази нормалізувалася під впливом мелатоніну за умов звичайного фотоперіоду, тривалої темряви та постійного освітлення.

Наведені експериментальні дані вказують, що в результаті пінеалектомії зазнають змін показники вмісту глікогену, рівня НСТ-тесту та мієлопероксидазної активності, що є прямим свідченням зміни за цих умов фагоцитарної активності сегментоядерних нейтрофілівних лейкоцитів крові.

Циркадіанний ритм фагоцитарної активності нейтрофілів навесні у дорослих епіфізектомованих шурів характеризувався зміщенням фаз максимуму і мінімуму, дещо знижувався рівень показника. У старих тварин вірогідно знижувалася фагоцитарна активність, а видалення шишкоподібною залози призводило до порушення фазності добової кривої, показники вірогідно знижувалися і у всі часові проміжки доби. Зазнавала

певних змін фагоцитарна активність залежно від сезону. Мініфаза припадала на весну, акрофаза реєструвалася взимку. Унаслідок пінеалектомії характер сезонного ритму не мав відмінностей, рівень показника знижувався. Уведення мелатоніну нормалізувало знижені показники фагоцитарної активності, як у дорослих, так і у старих щурів, а при наявності залози - гормон не впливав на цей показник при звичайному фотоперіоді.

За умов пригнічення функції шишкоподібної залози при тривалому освітленні введення мелатоніну стимулювало активність фагоцитозу як у дорослих, так і у старих тварин контрольних груп. Така ж направленість змін спостерігалася в обох групах епіфізектомованих щурів. Отже, при відсутності пінеальної залози ефекти мелатоніну не залежать від фотоперіодичних змін.

Унаслідок тривалої темряви введення мелатоніну призводило до певного зниження рівня фагоцитозу у контрольних дорослих і старих щурів, а у пінеалектомованих мала місце тенденція до стимуляції фагоцитарної активності, особливо у старих тварин.

Фагоцитарний індекс у дорослих щурів після видалення шишкоподібної залози характеризувався порушенням фазності циркадіанного ритму, змищенням акрофази на ранковий час. Зареєстровано зниження ритмічних коливань та вірогідне зменшення показника у старих епіфізектомованих тварин. У дорослих щурів без ШЗ акрофаза сезонного ритму зміщувалася на осінь, мініфаза - на зиму. Середньорічний показник знижувався як у дорослих, так і у старих пінеалектомованих щурів, в яких, поряд з цим, мініфаза реєструвалася навесні.

Екзогенний мелатонін нормалізував рівень фагоцитарного індексу, котрий був знижений унаслідок видалення пінеальної залози та після дії постійного освітлення. Поряд з відсутністю ефекту дії постійної темряви та мелатоніну на динаміку та ритмостаз фагоцитарного індексу у всіх групах дорослих щурів, для старих тварин характерним було зростання показника в контролі. Мелатонін, однак, викликав зменшення показника в контролі та збільшення до нормальних величин у групі піддослідних тварин.

Фагоцитарна реакція, як центральний ланцюг системи неспецифічної імунологічної адаптації організму, є інтегративним показником і належить до найбільш функціонально активних механізмів захисту. Очевидно, що при порушенні певних ланок системи неспецифічної адаптації організму, компенсація здійснюється механізмом фагоцитозу.

Таким чином, виявлена різнонаправленість біоритмологічних змін гуморальних і клітинних показників, забезпечує найбільш повноцінне пристосування організму до циклічних змін зовнішнього середовища. Шишкоподібна залоза у ссавців причетна до регуляції циркадіанних ритмів системи неспецифічної адаптації організму, цей вплив має вікові особливості і зберігається до глибокої старості. Регулююча дія пінеальної залози на імуноструктурний гомеостаз здійснюється мелатоніном і, очевидно, іншими біологічно-активними речовинами, що продукуються цим органом. Результати дослідів зі змінним освітленням свідчать, що існує

принципова можливість стимуляції мелатонінутворючої функції шишкоподібної залози шляхом збільшення довжини темпового періоду, і, як наслідок, посилення роботи системи неспецифічної адаптації організму, що є особливо актуальним у практиці лікаря-геронтолога.

Урахування подібності та різниці біологічних ритмів дозволить з'ясувати особливості становлення механізмів адаптації до навколишнього середовища, формування захисних реакцій, динаміку процесів компенсації і відновлення порушених функцій. Крім цього, є можливість підійти до обґрунтування вибору об'єкту при моделюванні патологічних процесів. Це дасть змогу значно підвищити вірогідність отриманих результатів та знизити ступінь ризику при екстраполяції цих даних на людину, розробити найбільш оптимальні схеми корекції десинхронозів, які є наслідком невідворотних процесів старіння.

Висновки

1. Гуморальні та клітинні складові системи неспецифічної адаптації організму підпорядковані чітким циркадіанним та сезонним коливанням, які мають вікові особливості.

2. Шишкоподібна залоза бере безпосередню участь у формуванні хроноритмів системи неспецифічного імунного захисту, що чітко підтверджується відповідними змінами після епіфізектомії та введення мелатоніну.

3. Циркадіанна архітектоніка імуноструктурного гомеостазу має пряму залежність від довжини фотоперіоду: за умов подовженої темряви спостерігається активація системи неспецифічного імунного захисту, а при постійному освітленні - відбувається пригнічення.

4. Можлива часткова корекція змінених показників системи неспецифічного імунітету під час розвитку процесів старіння організму шляхом штучної регуляції світлового режиму та введенням екзогенного мелатоніну.

Список літератури

1. Хавинсон ВХ, Малинин ВВ, Ванюшин БФ. Роль пептидов в эпигенетической регуляции активности генов в онтогенезе. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011; 152(10):452-7.
2. Пішак ВП, Булик РС, Заморський ІІ, Ткачук СС. Шишкоподібна залоза: патоморфологія, патологічна фізіологія, фармакологія. Чернівці: Медуніверситет; 2012. 264 с.
3. Zakharchuk OI, Kryvchanska MI. Chronoregulating and rhythm-stabilizing role of melatonin in seasonal structure of circadian rhythms of non-specific immunity indices with aging. *Duetscher Wissenschaftsherold German Science Herald*. 2017;2:38-40. doi: 10.19221/2017210
4. Zhu L, Zee PC. Circadian Rhythm Sleep Disorders. *Neurol Clin*. 2012;30(4):1167-91. doi: 10.1016/j.ncl.2012.08.011
5. Zhao ZY, Xie Y, Fu YR, Bogdan A, Toutou Y. Aging and the circadian rhythm of melatonin: a cross-sectional study of Chinese subjects 30-110 yr of age. *Chronobiol Int*. 2002;19(6):1171-82.
6. Захарчук АІ. Влияние мелатонина на возрастные изменения биоритмологического профиля показателей неспецифической иммунологической адаптации. *Південноукраїнський медичний науковий журнал*. 2016;13:82-4.
7. Захарчук АІ, Кадельник ЛА. Мелатонин и геронтологические аспекты сезонной структуры циркадианных ритмов неспецифического иммунитета. *Журнал научных статей "Здоровье и образование в XXI веке"*. 2013;15(1-4):259-62.

8. Touitou Y. Human aging and melatonin. Clinical relevance. *Exp Gerontol.* 2001;36(7):1083-100.

9. Захарчук ОІ, Пішак ВП, Кривчанська МІ, Хоменко ВГ, винахідники; Буковинський державний медичний університет, патентовласник. Спосіб корекції хроноритмів імуноструктурного гомеостазу. Патент України № 81330. 2013 Чер 26.

10. Devitt T, Medaris SV, Simis M, Tenenbaum DJ, Toburen A. Light at night: Mixed blessing! [Internet]. 2012 [updated Aug 16; 2012 cited 2018 Aug 17]. Available from: <https://whyfiles.org/2012/light-at-night-mixed-blessing/index.html>

11. Захарчук ОІ. Взаємозв'язок розладів хроноструктури циркадіанних ритмів та порушень циклу "сон-неспанья". Молодий вчений. 2014;10:94-7.

12. Захарчук ОІ, Пішак ОВ. Вікова залежність зв'язків шишкоподібної залози з хроноритмічними змінами імуноструктурного гомеостазу. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2013;6:162-4.

13. Комаров ФІ, Рапопорт СІ. Хронобіологія і хрономедицина. Москва: Триада-Х; 2000. 488 с.

14. Захарчук ОІ. Вплив епіфізектомії на біоритмологічний профіль показників неспецифічного імунітету у старих шурів. В: Матеріали підсумкової ЛІХ наук.-практ. конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2016 Чер 15; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2016, с. 91.

References

1. Havinson VH, Malinin VV, Vanjushin BF. Rol' peptidov v jepigeneticheskoy reguljacii aktivnosti genov v ontogeneze [Role of peptides in epigenetic regulation of gene activity in ontogenesis]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2011;152 (10): 452-7. (in Russian).

2. Pishak VP, Bulyk RYe, Zamorskyi II, Tkachuk SS. Shyshkopodibna zaloza: patomorfologiya, patolohichna fiziologiya, farmakologiya [Shiny gland: pathomorphology, pathological physiology, pharmacology]. *Chernivtsi: Meduniversytet;* 2012. 264 p. (in Ukrainian).

3. Zakharchuk OI, Kryvchanska MI. Chronoregulating and rhythm-stabilizing role of melatonin in seasonal structure of circadian rhythms of non-specific immunity indices with aging. *Deutscher Wissenschaftsberod German Science Herald.* 2017; 2:38-40. doi: 10.19221/2017210

4. Zhu L, Zee PC. Circadian Rhythm Sleep Disorders. *Neurol Clin.* 2012;30(4):1167-91. doi: 10.1016/j.ncl.2012.08.011

5. Zhao ZY, Xie Y, Fu YR, Bogdan A, Touitou Y. Aging and the circadian rhythm of melatonin: a cross-sectional study of Chinese subjects 30-110 yr of age. *Chronobiol Int.* 2002;19(6):1171-82.

Відомості про авторів:

Захарчук О.І. - д. мед.н., професор, завідувач кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці;
Вепрюк Ю.М., к. мед. н., доцент кафедри медичної біології та генетики ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Сведения об авторах:

Захарчук А.И. - д. мед. н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической ботаники и фармакогнозии ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы
Вепрюк Ю.М., к. мед. н., доцент кафедры медицинской биологии и генетики ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

Information about authors:

Zakharchuk OI - Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Botany and Pharmacognosy HSEE of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi
Vepriuk Yu.M., Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Medical Biology and Genetics of the HSEE of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

6. Zakharchuk AI. Vliyanie melatonina na vozrastnye izmeneniya bioritmologicheskogo profilja pokazatelej nespecificheskoj immunologicheskoy adaptacii [Influence of melatonin on age-related changes in the biorhythmologic profile of indices of nonspecific immunological adaptation]. *Pivdennoukrains'kyi medychnyi naukovi zhurnal.* 2016;13:82-4. (in Russian).

7. Zakharchuk AI, Kadel'nik LA. Melatonin i gerontologicheskie aspekty sezonnoj struktury cirkadiannyh ritmov nespecificheskogo immuniteta [Melatonin and gerontological aspects of the seasonal structure of circadian rhythms of nonspecific immunity]. *The journal of scientific articles "Health & education millennium".* 2013;15(1-4):259-62. (in Russian).

8. Touitou Y. Human aging and melatonin. Clinical relevance. *Exp Gerontol.* 2001;36(7):1083-100.

9. Zakharchuk OI, Pishak VP, Kryvchanska MI, Khomenko VH, vynakhidnyky; Bukovyn'skyi derzhavnyi medychnyi universytet, patentovlasnyk. Sposib korektsii khronorytmiv imunostруктурного гомеостазу [Method of correction of chronorhythms of immunostuctive homeostasis]. Патент України № 81330. 2013 Чер 26. (in Ukrainian).

10. Devitt T, Medaris SV, Simis M, Tenenbaum DJ, Toburen A. Light at night: Mixed blessing! [Internet]. 2012 [updated Aug 16; 2012 cited 2018 Aug 17]. Available from: <https://whyfiles.org/2012/light-at-night-mixed-blessing/index.html>

11. Zakharchuk OI. Vzaïmozv'язok rozladiv khronostruktury tsyrkadiannykh rytmyv ta porushen' tsyklu "son-nespannia" [The relationship of circadian rhythms chronostructure disorders and violations of sleep-wake cycle]. *Young Scientist.* 2014;10:94-7. (in Ukrainian).

12. Zakharchuk OI, Pishak OV. Vikova zalezhnist' zv'iazkiv shyshkopodibnoi zalozy z khronorytmichnymy zminamy imunostруктурного гомеостазу [Age dependence of connective tissue glands with chronorigmic changes in immunostucture homeostasis]. *International journal of endocrinology.* 2013;6:162-4. (in Ukrainian).

13. Komarov FI, Rapoport SI. Hronobiologiya i hronomedicina [Chronobiology and chronomedicine]. Moscow: Triada-H; 2000. 488 p. (in Russian).

14. Zakharchuk OI. Vplyv epifizektomii na bioritmologichnyi profil' pokaznykiv nespetsyficchnoho imunitetu u starykh schuriv [Influence of epiphysectomy on the biorhythmological profile of indices of non-specific immunity in old rats]. V: Materialy pidsumkovoï LIX nauk.-prakt. konf. Zdobutky klinichnoi ta eksperymental'noi medytsyny; 2016 Чер 15; Ternopil'. Ternopil': Ukrmedknyha; 2016, p. 91. (in Ukrainian).

Стаття надійшла до редакції 3.08.2018

Рецензент – проф. І.І. Загорський

© О.І. Захарчук, Ю.М. Вепрюк, 2018