



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **20383** (13) **U**
(51) **МПК**
G09B 23/28 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ІНВОЛЮТИВНИХ ПРОЦЕСІВ У ПІНЕАЛЬНІЙ ЗАЛОЗІ

1

2

(21) u200608742

(22) 04.08.2006

(24) 15.01.2007

(46) 15.01.2007, Бюл. №1, 2007р.

(72) Бондаренко Людмила Олександрівна, Губіна-Вакулик Галина Іванівна, Сотник Наталія Миколаївна

(73) ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ.В.Я.ДАНИЛЕВСЬКОГО АМН УКРАЇНИ

(57) Спосіб моделювання інволютивних процесів у пінеальній залозі, який **відрізняється** тим, що статевозрілих кролів піддають впливу цілодобового освітлення протягом 5 місяців у режимі - вдень природним світлом, а вночі - електричною лампою, підтримуючи рівень освітлення 30-40 люкс.

Корисна модель відноситься до експериментальної медицини та біології і може бути використана в галузі ендокринології та геронтології для вивчення ролі факторів оточуючого середовища в механізмі прискорення інволютивних процесів у пінеальній залозі.

В нинішній час існують різні погляди на причини старіння організму в цілому, яке включає в себе також інволютивні процеси в пінеальній залозі на етапі спадного онтогенезу. Втім, в сучасній геронтології, незважаючи на існування багатьох теорій старіння, поки що, на жаль, не спостерігається значного прориву в теоретичному осмисленні проблеми механізмів старіння [1]. Особливу увагу привертає той факт, що при фізіологічному старінні вікові зміни в пінеальній залозі проявляються значно раніше, ніж в інших залозах внутрішньої секреції [2]. Це дає підставу вважати старіння пінеальної залози передумовою виникнення вікових змін морфофункціонального стану інших органів ендокринної системи і, як наслідок, - метаболічних процесів, які знаходяться під їх регулюючим впливом.

На тепер відомо декілька способів моделювання інволютивних процесів у пінеальній залозі, які характеризуються не тільки гальмуванням мелатонінутворюючої функції пінеалокитів, а навіть ознаками руйнування структури органа. До цих способів слід віднести введення протиепіфізарної цитотоксичної сироватки [3], дію високих [4, 5, 6] і навіть низьких [7] доз іонізуючої радіації, перерізу верхнього шийного ганглію [8], тривале введення β-адреноблокаторів [9, 10, 11].

Недоліком усіх вищезгаданих способів є дуже грубе втручання (непатогенетичний підхід).

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб моделювання, який полягає в застосуванні довготривалого та сильнодіючого стресорного впливу або довготривалого введення глюкокортикоїдів [12, 13]. Проте навіть цей спосіб не дозволяє цілеспрямовано впливати на пінеальну залозу. Всі вищеперелічені способи здійснюють комплексний вплив на цілісний організм, при якому неможливо віддиференціювати причини і наслідки руйнівної дії цих агентів на різні ланки життєзабезпечення організму.

Задача корисної моделі - розробка патогенетичної моделі прискореного старіння пінеальної залози.

Поставлена задача вирішується тим, що статевозрілих кролів піддають впливу цілодобового освітлення протягом 5 місяців у режимі - вдень природним світлом, а вночі електричним, підтримуючи рівень освітлення 30-40 люкс.

Технічний результат - розширення арсеналу експериментальних моделей для вивчення механізмів інволютивних процесів у пінеальній залозі.

Спосіб апробовано на 10 статевозрілих кролях масою 2-2,5кг, яких утримували в умовах цілодобового освітлення протягом 5 місяців. Контрольну групу складали 10 кролів того ж віку і статі, яких утримували в умовах звичайної зміни дня і ночі.

Результати гормональних досліджень наведені в Таблиці 1.

(13) **U**(11) **20383**(19) **UA**

Таблиця 1

Вплив тривалого цілодобового освітлення на добовий ритм мелатоніну в крові у статевозрілих кролів

Група Тварин	Умови експерименту	Стат. показн.	Концентрація мелатоніну в крові, пмоль/л	
			день	ніч
I (n=4)	Природна зміна дня й ночі	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	54,56±6,09	375,44±13,84 ²⁾
II (n=4)	Цілодобове освітлення, 1міс.	$\bar{x} \pm S\bar{x}$ P _{I-II}	28,14±5,90 P<0,05	59,36±5,99 ¹⁾ P<0,001

¹⁾ вірогідність відносно денних показників (P<0,02)

²⁾ вірогідність відносно денних показників (P<0,001)

Аналіз отриманих даних показав, що тривале утримування піддослідних тварин в умовах цілодобового освітлення протягом 1 місяця викликає значне зменшення концентрації мелатоніну як удень, так і уночі.

Гістологічне вивчення структури пінеальної залози підтвердило дані гормональних досліджень. Так, в пінеальній залозі у кролів, які утримувались в умовах тривалого цілодобового освітлення протягом 1 місяця спостерігається значне зменшення кількості пінеалоцитів та утворення на місці загиблих клітин пустот, а також значне зменшення кількості запасних клітин (Фіг.1, 2). Функціонуючі пінеалоцити неправильної форми, з більш округлим та крупним ядром, в якому спостерігається дрібнодисперсний хроматин; цитоплазма має сітчастий вид, що можна трактувати як інтенсивну продукцію індоламінів з одночасним їх виведенням. Разом з цим, спостерігаються також пінеалоцити, в ядрах яких відмічається маргіналія хроматину, що свідчить про початкову стадію форозованого апоптозу. Більш того, на препаратах з фарбуванням по Ейнарсону добре помітна наявність апоптозних тіл, що утворилися із загиблих пінеалоцитів внаслідок їх надмірного й тривалого навантаження. Наведені дані свідчать про те, що у піддослідних тварин уже через 1 місяць цілодобової світлової експозиції в пінеальній залозі відбуваються виражені зміни її морфофункціонального стану, що вказує на стимуляцію продукції індоламінів, що, однак, не тільки не пов'язано з посиленням біосинтезу мелатоніну, а навпаки, відмічається на тлі різкого зниження концентрації цього гормону в крові. Одночасно в частині клітин на тлі морфофункціонального виснаження з'являються ознаки апоптозу і зменшення паренхіми органа.

При вивченні морфоструктури пінеальної залози кролів, що утримувалися протягом 3 місяців в умовах цілодобового освітлення, показано прогресуюче зменшення об'єму паренхіми на тлі формування гліозів і колагенізованих сполучних септ на периферії залози. Товсті септи розділяють залозу на часточки, в яких багато величезних порожнеч і зменшена кількість пінеалоцитів (щодо попереднього строку), що вказує на значну втрату пінеалоцитів уже після формування цих часток (Фіг.3). Більш того, більшість із пінеалоцитів, що залишились, вже не виявляють запасів індоламінів.

При вивченні мікроструктури пінеальної залози у кролів через 5 місяців після початку світлової експозиції показано прогресуюче в часі зменшення паренхіми й утворення порожнеч, а також розширення гліозів на місці загибелі пінеалоцитів внаслідок їхньої зношеності (Фіг.4). Невелика кількість пінеалоцитів, що залишилися і спеціалізуються на біосинтезі речовин індоламінової природи, виявляє морфофункціональні ознаки відсутності нагромадження й запасів індоламінів і гіперхромність ядер. Саме в ділянках розташування таких пінеалоцитів виявляються численні апоптозні тілця (фарбування по Ейнарсону). Одночасно в полі зору мікроскопа іноді спостерігаються поодинокі пінеалоцити з дуже великими й світлими ядрами, з дрібнодисперсним хроматином, що відповідає високому рівню продукції в них речовин індоламінової природи.

Результати вивчення динаміки каріометрії пінеалоцитів у кроликів у різний термін перебування в умовах цілодобового освітлення наведені в Таблиці 2.

Таблиця 2

Морфометричні показники ядер пінеалоцитів кролів у різний термін після утримування в умовах цілодобового освітлення

Група тварин	Умови експерименту	Стат. показ.	Площа ядер пінеалоцитів, мкм
I (n=30)	Природна зміна дня й ночі	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	23,2±0,8
II (n=30)	Цілодобове освітлення, 1 міс.	$\bar{x} \pm S\bar{x}$ P _{I-II}	30,5±1,1 P<0,001

Продовження таблиці 2

III (n=30)	Цілодобове освітлення, 3 міс.	$\bar{x} \pm S\bar{x}$ P _{I-III}	32,6±1,3 P<0,001
V (n=30)	Цілодобове освітлення, 5 міс.	$\bar{x} \pm S\bar{x}$ P _{I-V}	25,3±0,9

З таблиці видно, що протягом перших 3-х місяців після початку світлової експозиції відбувається робоча гіпертрофія ядер пінеалоцитів, до кінця експерименту розміри ядер зменшуються у зв'язку з пікнозом багатьох з них.

Таким чином, тривале утримування кролів в умовах цілодобового освітлення викликає в пінеальній залозі суттєве зменшення загальної кількості пінеалоцитів, «перепрофілювання» клітин, що залишилися, на переважну продукцію індоламінів на тлі масової загибелі шляхом апоптозу функціонуючих з перенапругою пінеалоцитів. Ці кінцеві зміни можна розглядати як експериментальну модель прискорення розвитку інволютивних процесів у пінеальній залозі. Динаміка виявлених змін структури пінеальної залози у молодих статевозрілих кролів на тлі тривалого цілодобового освітлення аналогічна тій, котра відбувається спонтанно в міру старіння на етапі спадного онтогенезу й характеризується як віковий гіопінеалізм.

Таким чином, отримані в роботі дані дозволяють розглядати цілодобове освітлення як експериментальну патогенетичну модель прискорення інволютивних процесів у пінеальній залозі.

Використана література:

1. Анисимов В.Н. Возрастные изменения функции эпифиза // Мелатонин в норме и патологии. М.: Медпрактика - М, 2004. - С.20-33.
2. Хмельницкий О.К., Ступина А.С. Функциональная морфология эндокринной системы при атеросклерозе и старении. Ленинград: Медицина, 1989. - 248с.
3. Хелимский А.М. Эпифиз. -М: Медицина, 1989. - 184с.
4. Kassayova M. The early response of pineal NAT activity, melatonin and catecholamine levels in rats irradiated with gamma rays //M. Kassayova, E. Ahlersova, B. Pastorova, I. Ahlers // Physiol. Res. - 1995. - Vol. 44, № 5. - P. 315-320.

5. Ahlersova E. Reduced pineal melatonin biosynthesis in fractionally irradiated rats //E. Ahlersova, B. Pastorova, M. Kassayova, I. Ahlers, B. Smajda // Physiol. Res. - 1998. - Vol. 47, №2. - P. 133 - 136.

6. Kassayova M. Two-phase response of rat pineal melatonin to lethal whole-body irradiation with gamma rays //M. Kassayova, E. Ahlersova, I. Ahlers // Physiol. Res. - 1999. - Vol. 48, № 3. - P. 227 - 230.

7. Бондаренко Л.О. Вплив ікс-випромінювання в низьких дозах на шляхи біосинтезу і метаболізму індолів в пінеальній залозі //Укр. радіол. журн. - 2001. №3. С.298-302.

8. Науменко Е.В., Попова Н.К. Серотонин и мелатонин в регуляции эндокринной системы. Новосибирск: Наука, 1975. - 218с.

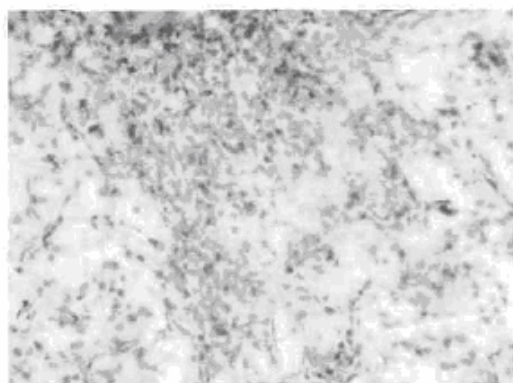
9. Radošević-stašić B. Immune response of rats after pharmacological pinealectomy / B. Radošević-stašić, S. Jonjić, L. Polić, D. Rukavina //Period. biologicum. - 1983. -Vol. 85, Suppl. № 3. -P. 119- 121.

10. Mayeda A. Effects of indirect light and propranolol on melatonin levels in normal human subjects //A. Mayeda, S. Mannon, J. Hofstetter, M. Adkins, R. Baker, K. Hu, J. Jr. Numberger //Physiol. Res. - 1998. - Vol. 81, № 1. -P. 9-17.

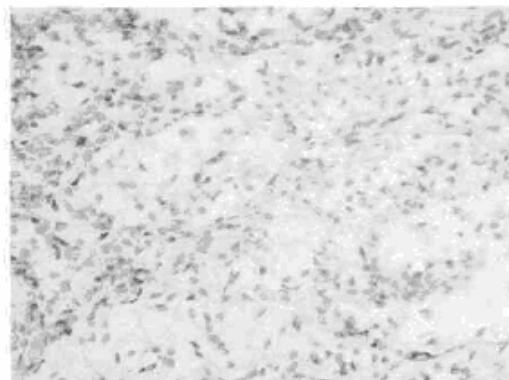
11. Stoschitzku K. Influence of P-blockers on melatonin release / K. Stoschitzku, A. Sakotnik, P. Lercher, R. Zweiker, R. Maier, P. Liebermann, W. Linder // Eur. J. Clin. Pharmacol. - 1999. - Vol. 55, №2. - P.111-115.

12. Reiter R. J. Pineal response to stress: implications for reproductive physiology //Birhythms and stress in the physiopathology of reproduction. N.Y., 1988.-P. 215-226.

13. Zawilska I. B. Prolonged treatment with glucocorticoid dexamethasone suppresses melatonin production by the chick pineal gland and retina / I. B. Zawilska, M. Sadowska // Pol. J Pharmacol. - 2002. - Vol. 54, №1. - P.61-66.



Фиг.1



Фиг.2

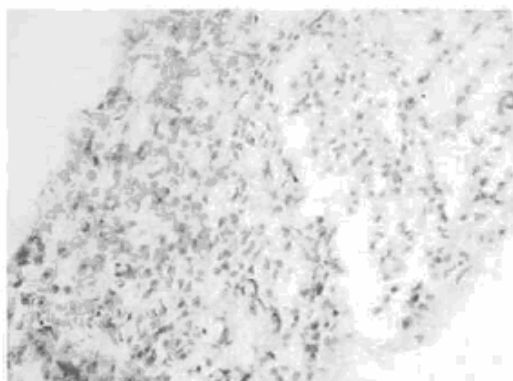


Fig.3

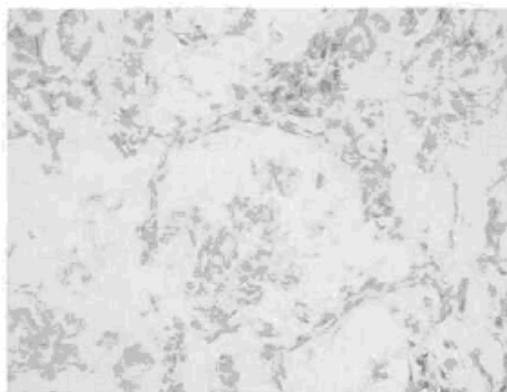


Fig.4