

півдня України / Наконечний І. В. // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – 2007. – Вип. 47. – С. 49–53. 10. Наконечний І. В. Арбофауна диких ссавців та її значення в осередках трансмісивних інфекцій у Північному Причорномор'ї / Наконечний І. В. // Науковий вісник МДУ: Серія "Біологічні науки". – 2008. – Вип. 15 (2). – С. 45–51. 11. Наконечний І. В. Стан і територіальна структура паразитоценозів Північного Причорномор'я в процесі антропогенної трансформації середовища / Наконечний І. В. // Науковий вісник Черкаського національного університету ім. Б. Хмельницького – Серія "Біологічні науки". –

2008. – Вип. 128. – С. 97–103. 12. Хайтович А. Б. Природные очаги инфекций на территории Украины / Хайтович А. Б., Коваленко И. С. // Arctview – 2006. – № 4. (39) – С. 11–14. 13. Цалкин В. И. К истории животноводства и охоты в Восточной Европе / В. И. Цалкин // Матер. исслед. археологии СССР. – 1962. – № 107. – С. 5–129. 14. Черкасский Б. Л. Эпидемиология зоонозов / Б. Л. Черкасский // Руководство по зоонозам; под ред. В. И. Покровского. – Л.: Медицина, 1983. – С. 19–38.

Надійшла до редколегії 30.11.11

УДК 591.147; 612.4

Н. Нужина, канд. біол. наук, І. Варенюк, канд. біол. наук,
Н. Орлова, студ., М. Дзержинський, д-р біол. наук

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ГІПОТАЛАМО-ТИРЕОЇДНУ СИСТЕМУ ПТАХІВ: ЕФЕКТ БЛОКАДИ ДОФАМІНОВИХ D1-РЕЦЕПТОРІВ

Показано, що у птахів дофамін через D1-рецептори може опосередковувати ефекти мелатоніну на центральні гіпоталамічні структури гіпоталамо-тиреоїдного комплексу ввечері, а на саму щитоподібну залозу – вдень та вночі, і не залучений в інший час доби.

It was shown that dopamine via D1-receptors mediate the influence of melatonin on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in bird. This mediation was observed in hypothalamic nuclei in the evening and in thyroid gland at the night and in the day. These effects were not observed in other time of day.

Вступ. Щитоподібна залоза є важливою ендокринною залозою у вищих хребетних. На сьогодні відомо, що функціональна активність щитоподібної залози перебуває під контролем гіпофіза, а той, в свою чергу, регулюється гіпоталамусом. Разом вони складають гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдну систему. Досить важливою екстрагіпоталамічною структурою, що бере участь у регуляції гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи є епіфіз – орган, який за допомогою свого основного гормону мелатоніну регулює добові та сезонні біоритми. Численні дослідження свідчать про залучення мелатоніну до регуляції щитоподібної залози [1, 4, 5, 7, 8, 9]. На циркадний ритм виділення мелатоніну впливає дофамін [3, 10]. В літературі існують поодинокі дані, що частина ефектів мелатоніну на функціональну активність гіпоталамо-тиреоїдної системи може бути опосередкована його впливом на синтез та виділення дофаміну [6]. Тому метою даного дослідження було з'ясувати можливість залучення дофамінових D1-рецепторів до можливої участі дофамінергічної системи головного мозку в реалізації ефектів мелатоніну на гіпоталамо-тиреоїдну систему в різний час доби.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження було проведено на самцях японських перепелів (*Coturnix japonica*) 5-тижневого віку. Птахів утримували в умовах одного віварію на стандартному раціоні (їжа – комбікорм пташиний виробництва Київського комбікормового заводу, вода – ad libitum); температура – +22–23 °C; світловий режим: 14 годин – світло (з 7 до 21 години), 10 годин – темрява (з 21 до 7 години).

Було сформовано 16 експериментальних груп по 5 птахів у кожній групі. Їм у відповідний час доби одночасно давали: 1.) фізіологічний розчин вранці (о 7:00) (контрольна група); 2.) мелатонін вранці (о 7:00) в дозі 10 мкг (тут і далі всі дози вказані з розрахунку на 100 г маси тіла); 3.) R(+)-SCH 23390 гідрохлорид (блокатор дофамінових D1-рецепторів) вранці (о 6:00) в дозі 8 мкг; 4.) R(+)-SCH 23390 гідрохлорид вранці (о 6:00) в дозі 8 мкг, а через годину (о 7:00) мелатонін у дозі 10 мкг; 5.) фізіологічний розчин вдень (о 13:00) (контрольна група); 6.) мелатонін вдень (о 13:00) в дозі 10 мкг; 7.) R(+)-SCH 23390 гідрохлорид вдень (о 12:00) в дозі 8 мкг; 8.) R(+)-SCH 23390 гідрохлорид вдень (о 12:00) в дозі 8 мкг, а через годину (о 13:00) мелатонін в дозі 10 мкг; 9.) фізіологічний розчин ввечері (о 19:00) (контрольна група); 10.) мелатонін ввечері (о 19:00) в дозі 10 мкг; 11.) R(+)-SCH 23390 гідрохлорид ввечері (о 18:00) в дозі 8 мкг; 12.) R(+)-SCH 23390 гідрохлорид ввечері (о 18:00)

в дозі 8 мкг, а через годину (о 19:00) мелатонін у дозі 10 мкг; 13.) фізіологічний розчин вночі (о 1:00) (контрольна група); 14.) мелатонін вночі (о 1:00) в дозі 10 мкг; 15.) R(+)-SCH 23390 гідрохлорид вночі (в 0:00) в дозі 8 мкг; 16.) R(+)-SCH 23390 гідрохлорид вночі (в 0:00) в дозі 8 мкг, а через годину (о 1:00) мелатонін у дозі 10 мкг. Фізіологічний розчин вводили перитонеально в кількості 0,2 мл на птаха. R(+)-SCH 23390 гідрохлорид розчиняли у фізіологічному розчині і вводили за допомогою стереотаксичного приладу в порожнину третього шлуночка мозку. Мелатонін замішували у борошняні кульки і давали перорально.

Через 2 години після введення відповідного препарату птахів декапітували (групи 1–4 – о 9:00, групи 5–8 – о 15:00, групи 9–12 – о 21:00, групи 13–16 – о 3:00).

Для досліджень брали гіпоталамічну область мозку, епіфіз та щитоподібну залозу, які фіксували в фіксаторі Буена. Потім отриманий матеріал заливали в парафін і виготовляли парафінові зрізи товщиною 5–6 мкм. Зрізи гіпоталамуса фарбували за методикою Ніссля, зрізи епіфіза – гематоксиліном Бемера, зрізи щитоподібної залози – гематоксиліном Бемера й еозином [2].

Гістологічні препарати аналізували на світловому мікроскопі за допомогою окуляр-мікрометра МОВ-1-15х і морфометричної установки з використанням комп'ютерної програми Promorph-Paradise for Windows. На зрізах гіпоталамуса вимірювали діаметр ядер нейронів аркуатного, супрахіазматичного і паравентрикулярного ядер, на зрізах епіфіза – площу перетину ядер пінеалоцитів, на зрізах щитоподібної залози – висоту тиреоїдного епітелію та внутрішній діаметр фолікулів.

Статистичну обробку здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 5,0 for Windows. Визначали достовірність різниці між контрольною та іншими групами у той самий час доби. Крім того, додатково порівнювали групу, яка отримувала мелатонін, з групою, яка отримувала мелатонін разом з R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом. Вірогідність різниці між порівнюваними групами оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між порівнюваними показниками при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Як видно з таблиці 1, мелатонін у різний час доби чинить різний вплив на досліджені морфометричні параметри епіфіза, щитоподібної залози та гіпоталамічних ядер. Вранці введення мелатоніну веде до зниження внутрішнього діаметра фолікулів щитоподібної залози (такі морфометричні зміни є свідченням зростання активнос-

© Нужина Н., Варенюк І., Орлова Н., Дзержинський М., 2012

ті цієї залози). Також зростає діаметр ядер нейроцитів супрахізматичного ядра. Інші вимірні морфометричні параметри не змінюються. Вдень мелатонін стимулює циркадну систему перепелів (пінеалоцити епіфіза та нейрони супрахізматичного ядра), підвищує діаметр ядер нейронів паравентрикулярного ядра і знижує діаметр ядер нейронів аркуатного ядра, але не веде до достовірних змін у щитоподібній залозі (табл. 1). Ввечері також має місце зростання досліджених морфометричних параметрів у циркадній системі і відсутність подібних змін у щитоподібній залозі. Крім того, мелатонін у цей час активує нейроцити аркуатного ядра. Вночі у щитоподібній залозі під впливом мелатоніну зростає висота тироцитів і не зазнає достовірних змін внутрішній діаметр фолікулів (табл. 1). В різних гіпоталаміч-

них ядрах зміни діаметра ядер нейронів різноспрямовані – цей параметр зростає у аркуатному ядрі, знижується в паравентрикулярному ядрі і не змінюється в супрахізматичному ядрі. Крім того, зростає площа перетину ядер пінеалоцитів епіфіза (табл. 1).

Блокатор D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлорид також по-різному впливає на щитоподібну залозу залежно від часу доби: вранці та вдень він знижує висоту тироцитів та діаметр фолікулів, а ввечері й вночі підвищує висоту тироцитів і не впливає на діаметр фолікулів (табл. 1). Проте на гіпоталамічні ядра та пінеалоцити епіфіза домінує гальмівний вплив R(+)-SCH 23390 гідрохлориду (табл. 1), що свідчить про те, що через D1-рецептори передається в основному стимулюючий вплив дофаміну на ці структури.

Таблиця 1. Морфометричні показники активності епіфіза, гіпоталамічних ядер та щитоподібної залози після введення мелатоніну та блокади дофамінових D1-рецепторів R(+)-SCH-23390 гідрохлоридом в різний час доби

Умови експерименту	Площа перетину ядер пінеалоцитів епіфіза, мкм ²	Діаметр ядер нейронів супрахізматичного ядра гіпоталамуса, мкм	Діаметр ядер нейронів аркуатного ядра гіпоталамуса, мкм	Діаметр ядер нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса, мкм	Висота тироцитів щитоподібної залози, мкм	Внутрішній діаметр фолікулів щитоподібної залози, мкм
ранкове введення препаратів						
фізіологічний розчин	19,8±0,7	7,2±0,2	7,7±0,1	7,2±0,6	5,2±0,2	42,0±0,7
мелатонін	19,1±0,2	8,0±0,1*	7,9±0,2	6,5±0,4	5,0±0,1	38,0±1,0*
R(+)-SCH-23390	18,8±0,4	7,0±0,1	6,7±0,1*	8,6±0,3	4,2±0,1*	38,1±1,7*
R(+)-SCH-23390 + мелатонін	19,4±0,6	8,2±0,1*	7,2±0,1 [^]	7,6±0,3 [^]	4,6±0,1 [^]	30,2±0,9 [^]
денне введення препаратів						
фізіологічний розчин	18,8±0,3	7,7±0,1	7,9±0,1	6,7±0,5	5,3±0,2	41,2±1,0
мелатонін	20,3±0,4*	8,6±0,1*	7,4±0,1*	8,6±0,4*	4,9±0,1	39,8±1,0
R(+)-SCH-23390	17,6±0,4*	7,3±0,1*	7,1±0,1*	7,8±0,3	4,6±0,1*	22,7±0,6*
R(+)-SCH-23390 + мелатонін	21,5±0,5*	8,6±0,1*	7,4±0,1*	6,9±0,3 [^]	5,6±0,1 [^]	29,1±0,9 [^]
вечірнє введення препаратів						
фізіологічний розчин	20,3±0,4	8,7±0,1	7,8±0,1	7,9±0,4	5,1±0,2	37,3±0,9
мелатонін	23,6±0,4*	9,5±0,1*	8,8±0,1*	9,1±0,6	5,5±0,2	38,2±1,0
R(+)-SCH-23390	19,3±0,3*	7,4±0,1*	7,6±0,1	7,8±0,4	6,5±0,1*	35,3±1,1
R(+)-SCH-23390 + мелатонін	16,5±0,4 [^]	7,2±0,1 [^]	7,0±0,1 [^]	5,8±0,3 [^]	6,4±0,1 [^]	36,4±1,0
нічне введення препаратів						
фізіологічний розчин	18,7±0,4	8,5±0,1	7,2±0,1	9,1±0,5	5,7±0,1	35,3±0,7
мелатонін	23,2±0,4*	8,5±0,2	7,6±0,1*	6,3±0,4*	6,3±0,2*	34,7±0,8
R(+)-SCH-23390	18,9±0,4	7,3±0,1*	7,1±0,1	6,0±0,3*	6,7±0,1*	35,6±0,9
R(+)-SCH-23390 + мелатонін	22,1±0,6*	8,8±0,1	7,4±0,1	7,3±0,3*	6,7±0,2*	38,1±1,2 [^]

* – P<0,05 (порівняно з відповідним параметром у контрольній групі в той же час доби).

[^] – P<0,05 (порівняно з відповідним параметром у групі, якій вводили лише мелатонін в той же час доби).

Вечірнє введення мелатоніну, як вже зазначалось, підвищує діаметр ядер нейронів аркуатного ядра і є тенденція до зростання діаметра нейросекреторних клітин паравентрикулярного ядра (табл. 1). Блокада D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом змінює характер впливу мелатоніну на ці ядра у вечірній час доби. Введення мелатоніну після блокади D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом веде до зниження діаметра ядер нейронів аркуатного та паравентрикулярного ядер (табл. 1). Оскільки введення блокатора D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлориду в цей час доби не змінює двох вищезазначених морфометричних параметрів (табл. 1), то логічно припустити існування більш складної взаємодії між блокадою дофамінових D1-рецепторів та введенням екзогенного мелатоніну, ніж проста сумація ефектів. Подібною є ситуація у вечірній час доби і стосовно впливу на пінеалоцити епіфіза. Проте на щитоподібну залозу такий ефект відсутній. Тут діаметр фолікулів не зазнає достовірних змін (табл. 1). Висота ж тироцитів не змінюється після введення тільки мелатоніну і зростає після введення мелатоніну на фоні заблокованих R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом дофамінових D1-рецепторів (табл. 1), що може бути пояснено активуючим впливом самого R(+)-SCH 23390 гідрохло-

риду (бо він у цей період доби, як видно з таблиці 1, чинить стимулюючий вплив). Тобто, у вечірній час доби частина ефектів мелатоніну на циркадну систему (епіфіз та супрахізматичні ядра гіпоталамуса) та на досліджені гіпоталамічні ядра, але не на щитоподібну залозу може бути опосередкована дофаміном, який в цей час доби реалізує свій вплив через D1-рецептори.

Нічне введення мелатоніну після введення блокатора D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлориду за своїм впливом на досліджені морфометричні параметри гіпоталамуса та епіфіза достовірно не відрізняється від нічного введення самого лише мелатоніну (табл. 1). Проте діаметр фолікулів щитоподібної залози не змінюється після введення мелатоніну чи R(+)-SCH 23390 гідрохлориду поодиночі, але зростає після їх сумарного введення (табл. 1), що свідчить про можливу взаємодію між мелатоніном та дофаміном при дії мелатоніну на щитоподібну залозу.

Ранкове введення мелатоніну після блокади дофамінових D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом не веде до достовірних змін морфометричних параметрів циркадної системи порівняно з введенням мелатоніну без блокади дофамінових D1-рецепторів (табл. 1). Діаметр нейронів паравентрикулярного ядра після ран-

кового введення мелатоніну на фоні заблокованих R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом дофамінових D1-рецепторів є проміжним порівняно з вищезазначеним параметром у птахів, що отримували мелатонін і у птахів, що отримували R(+)-SCH 23390 гідрохлорид (табл. 1). Це може бути пояснено простою сумациєю ефектів від введення цих двох біологічно активних речовин. Зниження діаметра ядер нейроцитів аркуатного ядра у птахів, що отримували мелатонін після блокади дофамінових D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом порівняно з птахами, що отримували лише мелатонін (табл. 1) може бути пояснене гальмівним впливом блокади дофамінових D1-рецепторів, оскільки введення R(+)-SCH 23390 гідрохлориду в цей час доби знижує діаметр нейроцитів аркуатного ядра. Аналогічно гальмівним ефектом введення блокатора дофамінових D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлориду може бути пояснене достовірне зниження висоти тироцитів щитоподібної залози у перепелів, що отримували мелатонін після введення R(+)-SCH 23390 гідрохлориду порівняно з перепелами, що одержували тільки мелатонін. Також кумулятивним гальмівним ефектом можна пояснити і зниження внутрішнього діаметра фолікулів у щитоподібній залозі після ранкового введення мелатоніну разом з блокатором дофамінових D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом, оскільки як введення мелатоніну, так і введення R(+)-SCH 23390 гідрохлориду в цей час доби веде до зниження цього морфометричного параметра (табл. 1). Отже, вранці ефекти мелатоніну на циркадну та гіпоталамо-тиреоїдну системи мабуть не реалізуються через дофамінергічну систему головного мозку із залученням D1-рецепторів.

Вдень блокада дофамінових D1-рецепторів R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом не змінює стимулюючого впливу мелатоніну на пінеалоцити епіфіза та нейроцити супрахіазматичного й аркуатного ядер гіпоталамуса (табл. 1). Проте неоднозначними є дані стосовно впливу денного введення мелатоніну та R(+)-SCH 23390 гідрохлориду на діаметр нейронів паравентрикулярного ядра та на висоту тироцитів щитоподібної залози. Так, стимулюючий ефект мелатоніну на діаметр нейронів паравентрикулярного ядра змінюється на гальмівний при введенні мелатоніну на фоні блокуваних R(+)-SCH 23390 гідрохлоридом дофамінових D1-рецепторів, хоча саме по собі введення R(+)-SCH 23390

гідрохлориду не має достовірного ефекту (табл. 1). Висота тироцитів не змінюється після денного введення мелатоніну, знижується після денного введення R(+)-SCH 23390 гідрохлориду, проте зростає після введення мелатоніну і R(+)-SCH 23390 гідрохлориду разом (табл. 1). Отже, дофамінові D1-рецептори частково задіяні в реалізації впливу мелатоніну на деякі морфометричні параметри гіпоталамо-тиреоїдного комплексу в денний час доби.

Висновки: Таким чином, дофамінергічна система головного мозку може бути задіяна з залученням D1-рецепторів до реалізації ефектів мелатоніну на центральні структури гіпоталамо-тиреоїдного комплексу ввечері, а на саму щитоподібну залозу – вночі. Крім того, частина ефектів мелатоніну на гіпоталамо-тиреоїдну систему в денні години доби також може бути опосередкована дофамінергічною системою головного мозку із залученням D1-рецепторів. Вранці ж дофамінові D1-рецептори очевидно не залучені до впливу мелатоніну на гіпоталамо-тиреоїдну та циркадну системи птахів.

1. Арушанян Э.Б. К фармакологии мелатонина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1992. – Т. 55, № 5.т – С. 72-77.
2. Микроскопическая техника / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – М., 1996. 3. Bartell P.A., Miranda-Anaya M., McIvor W., Menaker M. Interactions between dopamine and melatonin organize circadian rhythmicity in the retina of the green iguana // J. Biol. Rhythms. – 2007. – Vol. 22, № 6. – P. 515-523. 4. Gesing A., Jagiela J., Lewinski A. Effects of melatonin on the process of apoptosis in rat thyroid follicular cells // Neuroendocrinol. Lett. – 2006. – Vol. 27, № 1-2. – P. 81-84.
5. Hanon E.A., Routledge K., Dardente H., Masson-Pevet M., Morgan P.J., Hazlerigg D.G. Effect of photoperiod on the thyroid-stimulating hormone neuroendocrine system in the European hamster (Cricetus cricetus) // J. Neuroendocrinol. – 2010. – Vol. 22, № 1. – P. 51-55. 6. Milne J.A., Loudon A.S., Sibbald A.M., Curlewis J.D., McNeilly A.S. Effects of melatonin and a dopamine agonist and antagonist on seasonal changes in voluntary intake, reproductive activity and plasma concentrations of prolactin and triiodothyronine in red deer hinds // J. Endocrinol. – 1990. – Vol. 125, № 2. – P. 241-249. 7. Kundurovic Z., Sofic E. The effects of exogenous melatonin on the morphology of thyrocytes in pinealectomized and irradiated rats // J. Neural. Transm. – 2006. – Vol. 113, № 1. – P. 49-58. 8. Mazzocchi G., Carughi S., Sperandeo M., Paziienza V., Giuliani F., Tarquini R. Neuroendocrine correlations of hypothalamic-pituitary-thyroid axis in healthy humans // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. – 2011. – Vol. 25, № 2. – P. 249-257. 9. Revel F.G., Saboureaux M., Pevet P., Mikkelsen J.D., Simonneaux V. Melatonin regulates type 2 deiodinase gene expression in the Syrian hamster // Endocrinology. – 2006. – Vol. 147, № 10. – P. 4680-4687. 10. Zisapel N. Melatonin-dopamine interactions: from basic neurochemistry to a clinical setting // Cell. Mol. Neurobiol. – 2001. – Vol. 21, № 6. – P. 605-616.

Надійшла до редколегії 10.11.11

УДК 591.47:612.6

М. Матвієнко, асп., А. Пустовалов, канд. біол. наук, М. Держинський, д-р біол. наук

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ В ТЕСТИКУЛАХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ КІССПЕПТИНА НА ФОНІ БЛОКАДИ ТА АКТИВАЦІЇ АЛЬФА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРІВ І ПРИ ВВЕДЕННІ МЕЛАТОНІНА

Встановлено, що площа поперечного перерізу ядер клітин Лейдига та діаметр тестикулярних каналців достовірно збільшилися в експериментальних групах щурів після введення кіссептина як на фоні фізіологічного розчину, так і в комбінації з празозином і мелатоніном. Натомість, в результаті введення блокатора кіссептинових рецепторів зменшилися вищезазначені морфометричні параметри. Введення блокатора рецепторів кіссептина відміняє активацію гонад мезатоном.

The significant increase of the Leydig cells cross-sectional nuclei area and the testicular tubule diameter is fixed in the groups of rats after kisspeptin introduction both comparing to physiological solution and in combination with prazosin and melatonin during the experiment. By contrast, the above morphometric parameters have decreased as a result of kisspeptin receptor blocker injection. The blocker of kisspeptin receptors introduction abolishes mezon activation of the gonads.

Вступ. Гормон кіссептин був відкритий 1999 року. Цей білок кодується геном Kiss-1, відомим як ген супресії метастазування меланоми [3, 8]. мРНК кіссептина експресується в гіпоталамусі, плаценті, гіпофізі, підшлунковій залозі, спинному мозку. Кіссептин був ідентифікований як ліганд для G-білок-спареного рецептора

(GPR54) [5,7]. Мутації гена GPR54, пов'язані з втратою функції, знайдені у пацієнтів з гіпогонадо트로пним гіпогонадизмом, і також вивчені мутації GPR54, пов'язані з передчасним статевим дозріванням. Взаємодія кіссептина і його клітинного рецептора GPR54 в мозку є визначальним фактором активації нейронів, які вивільняють