

нях, печінці та нирках, що можна розглядати як наслідок оксидативного стресу, рівень якого мінімальний за умов зимової сплячки, знижується в серці, що може призводити до ослаблення серцевої діяльності, яка повністю нормалізується на етапі відновлення організму. Перспективним є дослідження активності хімази на більш пізніх етапах відновлення організму для встановлення терміну ризику розвитку вазоконстрикторних змін, а також вивчення вказаних ферментів при різних гіпо- і гіперметаболических станах для розширення знань щодо основних механізмів, які лежать в основі адаптації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Andrews M. T. Advances in molecular biology of hibernation in mammals / M. T. Andrews // *Bioessays*. — 2007. — Vol. 29, N 5. — P. 431–440.
2. Самохіна Л. М. Хімаза, тонін та кальпаїни за умов штучного гіпометаболического стану у хом'яків / Л. М. Самохіна, В. В. Ломако, О. В. Шило // *Проблеми криобіології*. — 2007. — Т. 17, № 4. — С. 346–355.
3. The seasonal peculiarities of force-frequency relationships in active ground squirrel *Spermophilus undulatus ventricle* / O. V. Nakipova, N. M. Zakharova, L. A. Andreeva [et al.] // *Cryobiology*. — 2007. — Vol. 55, N 3. — P. 173–181.
4. Патент № 34208, Україна МПК G01N33/48, A61B19/02 // Набір для визначення активності хімази в біологічних рідинах / Самохіна Л. М. — 2003. Бюл. № 12.

5. Contribution of calpain to cellular damage in human retinal pigment epithelial cells cultured with zinc chelator / Y. Tamada, R. D. Waikup, T. R. Shearer, M. Azuma // *Curr. Eye. Res.* — 2007. — Vol. 32, N 6. — P. 565–573.

6. Carey H. V. Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature / H. V. Carey, M. T. Andrews, S. L. Martin // *Physiol. Rev.* — 2003. — Vol. 83. — P. 1153–1181.

7. Golstein P. Cell death by necrosis: towards a molecular definition / P. Golstein, G. Kroemer // *Trends. Biochem. Sci.* — 2007. — Vol. 32, N 1. — P. 37–43.

8. Woods A. K. Cytosolic phospholipase A2 regulation in the hibernating thirteen-lined ground squirrel / A. K. Woods, K. B. Storey // *Cell. Mol. Biol. Lett.* — 2007. — Vol. 12, N 4. — P. 621–632.

UDK 577.156.5

Л. М. Самохіна, В. В. Ломако, О. В. Шило

ХІМАЗА, ТОНІН І КАЛЬПАЇНИ ЗА УМОВ ПРИРОДНОЇ ГІБЕРНАЦІЇ У ХОМ'ЯКІВ

За умов природної гібернації (ПГ) у дорослих хом'яків-самців активність хімази змінюється тканиноспецифічно, через 2 год відновлення організму зростає у більшості тканин, окрім мозочку, через 24 год — у корі мозку (КМ), гіпоталамусі, стовбурі мозку (СМ) та печінці, що може сприяти розвитку вазоконстрикції. Активність тоніну за умов ПГ зростає в сироватці крові, знижується в серці, що може сприяти зменшенню вазоконстрикції, ослабленню серцевої діяльності, через 2 год відновлення зростає в КМ, знижується в гіпоталамусі. Активність кальпаїнів за умов ПГ зростає в СМ, легенях, печінці та нирках, що розглядають як наслідок оксидативного стресу, знижується в серці, що пов'язують із ослабленням серцевої діяльності, яка повністю нормалізується на етапі відновлення організму.

Ключові слова: хімаза, тонін, кальпаїни, природна гібернація, хом'яки.

UDC 577.156.5

L. M. Samokhina, V. V. Lomako, O. V. Shilo

CHYMASE, TONIN AND CALPAINS UNDER CONDITIONS OF NATURAL HIBERNATION IN HAMSTERS

Under hibernation conditions chymase activity in adult hamsters-males changes specifically in tissues, in 2 hrs organism renewal increases in most tissues, except for the cerebellum, in 24 hrs — in the cerebral cortex (CC), hypothalamus, brain stem (BS) and liver, that can favor vasoconstriction development. The tonin activity under hibernation conditions increases in the blood serum, declines in the heart, that can cause the constriction reduction, relaxation of cardiac activity, in 2 hrs of renewal it increases in CC, declines in hypothalamus. Calpains activity to the hibernation are increased in the BS, lungs, liver and kidneys, that is considered as a result of oxidative stress, declines in the heart, that is connected with relaxation of cardiac activity which is fully normalized at the stage of organism renewal.

Key words: chymase, tonin, calpains, hibernation, hamsters.

UDK 617.7:612.13-073.178:515.357-092.9

И. Н. Михейцева

УЧАСТИЕ МЕЛАТОНИНА В ЦИРКАДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ОФТАЛЬМОТОНУСА

ГУ «Институт ГБиТТ им. В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса

Жизнедеятельность организма можно представить как четко скоординированную систему биологических ритмов, начиная с субклеточного и заканчивая организменным уровнем. Многие биологические

процессы характеризуются циркадными ритмами, осуществляющими координацию клеточных функций с изменениями окружающей среды. Циркадные ритмы — это эндогенно опосредованные приблизительно

24-часовые циклы поведенческой и физиологической активности. У высших животных и человека эти ритмы формируются нейронами супрахиазматического ядра (СХЯ) гипоталамуса, выступающего в ка-

честве физиологического пейсмейкера — водителя ритма [2]. Нейроны СХЯ передают световую информацию, воспринимаемую глазом, через верхнегрудную часть спинного мозга и верхний шейный ганглий в эпифиз. В определенном смысле, эпифиз является конечным органом зрительной системы, в котором происходит превращение информации о фотопериоде, поступающей в виде кванта света, в химический сигнал в виде изменения продукции мелатонина [4].

Передача информации о световом режиме окружающей среды во внутреннюю среду организма и поддержание ритмичности его гомеостаза — одна из основных функций эпифиза. Эта функция осуществляется через секрецию гормона мелатонина. Продукция мелатонина увеличивается в темное время суток и угнетается в течение светового дня. В темноте сигналы от СХЯ усиливают высвобождение норадреналина. Этот нейромедиатор возбуждает рецепторы пинеалоцитов, стимулируя синтез мелатонина, который осуществляется из аминокислоты триптофана, поступающего в клетки эпифиза из сосудистого русла.

Помимо эпифиза, мелатонин продуцируется и в других органах и тканях. Так, сетчатка глаза является вторым по значимости независимым местом продукции мелатонина. Вероятно, сетчатка выполняет определенную роль в поддержании уровня плазменного мелатонина в случае ослабления эпифизарной активности.

Среди функций организма, подверженных циркадной цикличности, находится и регуляция внутриглазного давления (ВГД). Впервые факт изменения ВГД у людей в течение суток отмечен еще в конце XIX в. немецким офтальмологом А. Грефе, а более подробно изучен русским ученым А. И. Масленниковым [3]. Он впер-

вые доказал, что ВГД утром выше, чем в вечерние часы. Обычный характер кривой циркадных колебаний ВГД выглядит следующим образом: утром ВГД начинает подниматься и достигает максимума к полудню, а к вечеру — падает, минимальный уровень отмечают после полуночи.

В более поздних исследованиях отмечено, что циркадному влиянию подвержена функция движения внутриглазной жидкости (ВГЖ) у людей и животных. При этом важен вывод о том, что циркадная регуляция движения ВГЖ играет ведущую роль в суточной ритмике ВГД [11].

В последних обзорах [8] суммировано, что в норме у человека в течение суток колебания ВГД варьируют от 2 до 6 мм рт. ст. и являются, вероятно, результатом несовершенной синхронизации секреции и оттока ВГЖ. Если же подобные колебания превышают 10 мм рт. ст., это может быть признаком развития глаукомы.

Вовлеченность мелатонина в регуляцию ВГД предполагается уже тем фактом, что минимальная его величина отмечается ночью — между 0 и 2 часами, когда наблюдается пик концентрации мелатонина [1]. Если у субъектов с нормальным офтальмотонусом секрецию мелатонина подавляли выдерживанием в условиях яркого освещения, то падение ВГД в ночные часы не наблюдалось [9].

Циркадные ритмы — это генетически детерминированные процессы, регулируемые так называемыми часовыми, или “clock”-генами. Свет напрямую воздействует на экспрессию некоторых “clock”-генов, обеспечивая циркадный ритм. Мелатонин является тем гормоном-посредником, который доносит руководящие сигналы до органов и тканей. Обнаружены ритмические суточные колебания экспрессии одного из “clock”-генов — *Aa-nat*

в эпифизе и сетчатке птиц. Его экспрессия совпадает по фазе с изменениями синтеза собственно мелатонина, т. е. с его максимальным уровнем в темное время суток [5].

Аналогичные суточные колебания у *Xenopus laevis* — южноафриканской водной лягушки — выявлены для другого часового гена — *Mel1c*, экспрессирующего мембранный рецептор мелатонина в непигментированном эпителии цилиарного тела, продуцирующего ВГЖ. Этот механизм, возможно, определяет ВГД в течение суток [12].

Обнаруженное снижение ВГД мелатонином у приматов [10] регулировалось, как полагают авторы, через мелатониновые рецепторы МТ3, расположенные в глазу в переднем сегменте или цилиарном теле. Эти же рецепторы были обнаружены в непигментированном эпителии цилиарного тела кролей [7], что, по мнению авторов, свидетельствует о роли мелатонина в модуляции физиологического процесса формирования ВГЖ, следовательно, и контроля над офтальмотонусом. Имеются данные о том, что недостаток эндогенного мелатонина в большей степени наблюдается у индивидуумов с повышенным ВГД [6].

Цель настоящего исследования — в условиях хронического эксперимента изучить способность экзогенного мелатонина, введенного в вечерние часы, воздействовать на утренние показатели глазной гидродинамики (движение ВГЖ) и ВГД у животных с моделью высокого офтальмотонуса.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования были 40 кроликов среднего возраста (около 2 лет). Повышение ВГД вызывали хроническим системным введением раствора адреналина. Животных рандомизировано делили на

две группы. В I группе (20 кроликов, 40 глаз) повышенное ВГД моделировали внутривенным введением раствора адреналина в течение 3 мес.

Во II группе (20 кроликов, 40 глаз) за 2 нед. до начала индукции повышенного ВГД, в период моделирования (3 мес. введения адреналина) и спустя 2 нед. после окончания моделирования получали суспензию препарата (0,3 мг мелатонина) *per os*, ежедневно. Эксперимент проводили в зимнее время года с коротким световым днем. Животные содержались в режиме естественного освещения, мелатонин получали в темное время суток.

До начала эксперимента, в динамике моделирования (3 мес.) и после окончания моделирования (5 мес.) проводили исследования гидродинамики глаза методом электронной тонографии и измерения ВГД аппланационным методом. Эти исследования всегда проводили в утренние часы в период максимального подъема ВГД — до 10 ч. Кроме того, было проведено специальное изучение уровня ВГД в утреннее (8 ч), дневное (14 ч) и вечернее (20 ч) время у здоровых животных и животных с моделированным повышением ВГД.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенное предварительное изучение уровня ВГД в разное время суток показало, что у здоровых животных не отмечено сколько-нибудь значительного колебания уровня офтальмотонуса в течение 24 ч. У животных с моделированным повышенным ВГД мы, напротив, выявили циркадные колебания этого показателя. Его максимальный уровень отмечали в утренние часы. Средний разброс суточных значений ВГД у кроликов с моделированным повышением ВГД составил 18 %.

Выявлена существенная разница динамики ВГД и движения ВГЖ при моделировании высокого офтальмотонуса в экспериментальных группах без применения и с применением мелатонина.

В I группе (без применения мелатонина) ВГД в начальные сроки наблюдения — период моделирования — увеличилось с $(13,70 \pm 0,26)$ до $(19,50 \pm 0,63)$ мм рт. ст., т. е. на 42,3 % ($p < 0,001$); в конце наблюдения оно повышалось до $(20,90 \pm 0,71)$ мм рт. ст., т. е. на 52 % ($p < 0,001$) от исходного.

Во II группе (с применением мелатонина) в начальные сроки ВГД повышалось на 13,8 % ($p < 0,005$) от исходного, в поздние же сроки оно достоверно не отличалось от исходного, превышая его на 7 % ($p > 0,05$) (рис. 1).

Отток ВГЖ (как важнейший диагностический показатель глазной гидродинамики) в I группе снижался на 47,6 % — с $(0,21 \pm 0,04)$ до $(0,11 \pm 0,04)$ мм³/(мин·мм рт. ст.) ($p < 0,001$) — в начальной стадии наблюдения и продолжал падать до $(0,09 \pm 0,05)$ мм³/(мин·мм рт. ст.) в более поздние сроки, снизившись на 57 % ($p < 0,001$). Этот показатель во II группе первоначально снижался на 23,8 % — до $(0,16 \pm 0,04)$ мм³/(мин·мм рт. ст.) ($p < 0,05$), в дальнейшем в этой группе с мелатонином он недостоверно отличался от исходного на 9,5 % ($p > 0,05$) (рис. 2).

В отношении продукции ВГЖ, которую характеризовал коэффициент минутного объема камерной влаги F, также отмечена заметная разница между двумя экспериментальными группами. В I группе продукция ВГЖ увеличивалась в динамике моделирования, первоначально повысившись с $(0,75 \pm 0,01)$ до $(1,44 \pm 0,05)$ мм³/мин — на 92 % ($p < 0,001$). В отдаленные сроки

мм рт. ст.



Рис. 1. Внутриглазное давление (мм рт. ст.) у кроликов при моделировании повышенного ВГД в группах с введением и без введения мелатонина

мм³/(мин·мм рт. ст.)



Рис. 2. Отток внутриглазной жидкости (мм³/(мин·мм рт. ст.)) у кроликов при моделировании повышенного ВГД в группах с введением и без введения мелатонина

продукция ВГЖ более чем в 2 раза превышала исходное значение. Во II группе (с мелатонином) первоначально отмеченное увеличение продукции ВГЖ (на 26,7 %, $p < 0,05$) в последующем почти полностью нормализовалось (рис. 3).

Выводы

Подводя итоги эксперимента, можно сделать выводы, что хроническое введение стресс-гормона адреналина вызвало дисрегуляцию нейроэндокринных процессов и привело, в частности, к дисбалансу функционирования системы продукции и оттока жидкости в глазу и, как результат, повышению ВГД. Мелатонин ока-

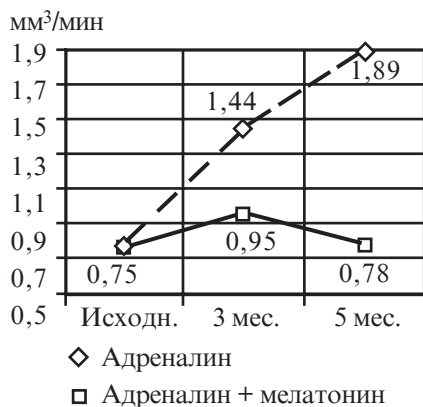


Рис. 3. Продукция внутриглазной жидкости (мм³/мин) у кроликов при моделировании повышенного ВГД в группах с введением и без введения мелатонина

зал существенное воздействие на регуляцию глазной гидродинамики у животных с моделью высокого ВГД. Примененный в превентивно-лечебном режиме, этот нейрогормон практически нормализовал функцию движения ВГЖ и офтальмотонус, предотвратив существенное нарушение изучаемых показателей. Курсовое введение мелатонина сыграло интегративную роль в поддержании гомеостаза и

стабильности нейрофизиологических процессов в глазу от сохранности биологических ритмов организма. Эти данные позволяют рассматривать мелатонин как перспективное средство для применения пациентам с нарушенной хронобиологической регуляцией глазной гидродинамики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В. Н. Мелатонин, роль в организме, применение в клинике / В. Н. Анисимов. — СПб.: Система, 2007. — 40 с.
2. Арушанян Э. Б. Антистрессорные возможности мелатонина / Э. Б. Арушанян // Мелатонин в норме и патологии. — 2004. — С. 198–222.
3. Бабкардин Ю. ТонOMETрические, тонографические и гониоскопические методы исследования / Ю. Бабкардин, Ю. Кондратенко. — 1997. — 114 с.
4. Бондаренко Л. А. Современные представления о роли эпифиза / Л. А. Бондаренко // Нейрофизиология. — 1997. — Т. 29, № 3. — С. 212–237.
5. Anisimov S. Genetic aspect of melatonin biology / S. Anisimov, N. Popovic // Rev. NeuroSci. — 2004. — Vol. 15. — P. 209–230.
6. Daily illumination exposure and melatonin: influence of ophthalmic

dysfunctions and sleep duration / G. Jean-Louis, D. Kripke, J. A. Eliot [et al.] // J. Cir. Rhythm. — 2005. — N 3. — P. 3–13.

7. Ocular hypotensive effects of melatonin receptor agonists in the rabbit: further evidence for MT3 receptor / J. Pintor, T. Pelbez, Ch. H. V. Hoyle, A. Peral // Br. J. Pharmacol. — 2003. — Vol. 138. — P. 831–836.

8. Rhee D. J. IOP fluctuation: what's the connection / D. J. Rhee // Review of Ophthalmol. — 2009. — Vol. 16, N 4. — P. 175–181.

9. Samples J. R. Effect of melatonin on intraocular pressure / J. R. Samples, G. Krause, A. J. Lewy // Curr. Eye Res. — 1988. — Vol. 7. — P. 649–653.

10. Effect of 5-MCA-NAT, a putative melatonin MT3 receptor agonist, on intraocular pressure in glaucomatous monkey eyes / J. B. Serle, R. F. Wang, W. M. Peterson [et al.] // J. Glaucoma. — 2004. — Vol. 13. — P. 385–388.

11. Smith S. D. Circadian rhythm of aqueous flow underlies the circadian rhythm of intraocular pressure in NZW rabbits / S. D. Smith, D. S. Gregory // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 1989. — Vol. 30. — P. 775–778.

12. Wiechmann A. F. Circadian rhythms in the eye: the physiological significance of melatonin receptors in ocular tissues / A. F. Wiechmann, J. A. Summers // Progress in Retinal and Eye Res. — 2008. — Vol. 27, N 2. — P. 137–160.

УДК 617.7:612.13-073.178:515.357-092.9

И. Н. Михейцева

УЧАСТИЕ МЕЛАТОНИНА В ЦИРКАДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ОФТАЛЬМОТОНУСА

В двух группах взрослых кроликов (n=40) на фоне хронического стресса, вызываемого внутривенным введением адреналина на протяжении 3 мес., воспроизвели модель высокого офтальмотонуса. В I группе мелатонин (М) не применяли, во II группе — по 0,3 мг М в виде водной суспензии *per os* применяли до, в период и после индукции модели (всего 4 мес.). Отмечены циркадные колебания глазной гидродинамики и внутриглазного давления (ВГД) с максимальными значениями в утренние часы. В I группе отмечено прогрессирующее нарушение движения жидкости в глазу и существенное повышение ВГД. Во II группе не отмечено существенных сдвигов в системе глазной гидродинамики. Намечившееся повышение ВГД на ранних этапах эксперимента в последующем нормализовалось. Таким образом, М может рассматриваться как адаптативный, стресс-протекторный агент при нарушении циркадной регуляции ВГД.

Ключевые слова: мелатонин, стресс, циркадный ритм, ВГД, адаптация.

UDC 617.7:612.13-073.178:515.357-092.9

I. N. Mikheyitseva

MELATONIN PARTICIPATION IN CIRCADIAN REGULATION OF OPHTHALMOTONUS

In two groups of adult rabbits (n=40) on background of chronic stress, induced by intravenous injections of adrenalin for 3 months, we produced a model of high intraocular pressure (IOP). In the group I melatonin (M) wasn't used; in the group II — by 0.3 mg M as a water suspension was used *per os* for 4 months before, during and after induction of the model. Circadian fluctuation of eye hydrodynamics and IOP with maximal level in the morning hours were noted. In the group I — progressive disturbances of aqueous humor (AH) dynamics and essential elevation of IOP were noted. In the group II a significant change in eye hydrodynamic system wasn't revealed. Slightly increased IOP in early period of the experiment was normalized in late period. M might be considered as an adaptive and stress-protective agent for disturbances of circadian regulation of IOP.

Key words: melatonin, stress, circadian rhythm, IOP, adaptation.