



УДК 591.147; 612.4

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГІПОТАЛАМО-АДРЕНАЛОВОЇ СИСТЕМИ ПТАХІВ ПІСЛЯ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ В РІЗНИЙ ЧАС ДОБИ ПРИ БЛОКОВАНИХ ДОФАМІНОВИХ D2-РЕЦЕПТОРАХ

Варенюк І.М., Нужи́на Н.В., Янко Р.В., Держинський М.Е.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: varenyuk@univ.kiev.ua

Надійшла до редакції 11.01.2012

Мета даного дослідження – з'ясувати можливість залучення дофамінових D2-рецепторів до можливої участі дофамінергічної системи головного мозку в реалізації ефектів мелатоніну на гіпоталамо-адреналову систему в птахів у різний час доби. Для цього японським перепелам вранці, вдень, ввечері або вночі однократно вводили фізіологічний розчин (контрольна група), мелатонін, блокатор дофамінових D2-рецепторів галоперидол, або мелатонін після блокади D2-рецепторів галоперидолом. Показано, що в ряді випадків вплив мелатоніну на морфометричні параметри епіфіза, гіпоталамічних ядер та наднирників після блокади D2-рецепторів галоперидолом відрізняється від впливу самого мелатоніну, і ця різниця не може бути пояснена простою сумацією ефектів. А тому зроблено висновок, що хоча в більшості випадків вплив мелатоніну на гіпоталамо-адреналову та циркадну системи птахів не опосередковується дофамінергічною системою головного мозку із залученням дофамінових D2-рецепторів; проте в певний час доби такий шлях впливу мелатоніну все ж таки можливий: в аркуатному ядрі – вранці та вдень, у вентромедіальному ядрі – вдень, у паравентрикулярному ядрі – ввечері та вночі, в супрахіазматичному ядрі – ввечері, в епіфізі – вночі.

Ключові слова: мелатонін, дофамінові рецептори, наднирники, гіпоталамус, епіфіз, птахи.

ВСТУП

Ендокринна система відіграє значну роль в онтогенезі тваринного організму. Одними з важливих ендокринних залоз є надниркові залози. На сьогодні відомо, що активність наднирників перебуває під контролем гіпофіза та гіпоталамуса, а вони, в свою чергу, під контролем позагіпоталамічних структур мозку [1]. До таких структур відноситься й епіфіз, гормон якого мелатонін вважають координатором добових та сезонних ритмів активності нейроендокринної системи, і не тільки [3].

Існує думка, що частина ефектів мелатоніну на гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову і в цілому на нейроендокринну систему може бути пов'язана з його впливом на синтез і виділення дофаміну, а останній вже діє безпосередньо через свої рецептори [4-7]. Для з'ясування можливості такої дії мелатоніну та дослідження ролі в цьому процесі дофамінових D2-рецепторів і проведено дане дослідження.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

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 одноразово давали: 1.) фізіологічний розчин перитонеально о 7:00 в кількості 0,2 мл на птаха; 2.) галоперидол (блокатор дофамінових D2-рецепторів) перитонеально о 6:00 в дозі 30 мкг (тут і далі всі дози вказані з розрахунку на 100 г маси тіла); 3.) мелатонін перорально о 7:00 в дозі 10 мкг; 4.) галоперидол перитонеально о 6:00 в дозі 30 мкг і мелатонін перорально о 7:00 в дозі 10 мкг; 5.) фізіологічний розчин перитонеально о 13:00 в кількості 0,2 мл на птаха; 6.) галоперидол перитонеально о 12:00 в дозі 30 мкг; 7.) мелатонін перорально о 13:00 в дозі 10 мкг; 8.) галоперидол перитонеально о 12:00 в дозі 30 мкг і мелатонін перорально о 13:00 в дозі 10 мкг; 9.) фізіологічний розчин перитонеально о 19:00 в кількості 0,2 мл на птаха; 10.) галоперидол перитонеально о 18:00 в дозі 30 мкг; 11.) мелатонін перорально о 19:00 в дозі 10 мкг; 12.) галоперидол перитонеально о 18:00 в дозі 30 мкг і мелатонін перорально о 19:00 в дозі 10 мкг; 13.) фізіологічний розчин перитонеально о 1:00 в кількості 0,2 мл на птаха; 14.) галоперидол перитонеально в 0:00 в дозі 30 мкг; 15.) мелатонін перорально о 1:00 в дозі 10 мкг; 16.) галоперидол перитонеально в 0:00 в дозі 30 мкг і мелатонін перорально о 1:00 в дозі 10 мкг. Галоперидол розчиняли у фізіологічному розчині, а мелатонін замішували у борошніні кульки.

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 наднирники, 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 наднирників – 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, паравентрикулярного, супраоптичного, вентромедіального і дорсомедіального ядер, на зрізах епіфіза – площу перетину ядер пінеалоцитів, на зрізах наднирників – ширину тяжів інтерренальної тканини.

Статистичну обробку здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 5,0 for Windows. Вірогідність різниці між контрольними і дослідними групами оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між порівнюваними показниками при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ширина тяжів інтерренальної тканини наднирників у піддослідних птахів (аналог коркової речовини наднирників ссавців) зменшується після ранкового введення мелатоніну, не змінюється – після денного та вечірнього введення мелатоніну, і зростає – після нічного введення мелатоніну (табл. 1). Тобто, характер впливу екзогенного мелатоніну на надниркові залози залежить від часу доби. Введення мелатоніну після блокади дофамінових D2-рецепторів галоперидолом в ранкові, вечірні та нічні години не відрізняється достовірно від введення лише мелатоніну (табл. 1). А достовірне зниження ширини тяжів інтерренальної тканини після денного введення мелатоніну та галоперидолу порівняно з введенням тільки мелатоніну може бути пояснене гальмівним впливом галоперидолу, оскільки введення галоперидолу в цей час доби знижує даний параметр порівняно з контрольною групою (табл. 1).

В більшості гіпоталамічних ядер, які можуть бути залучені до регуляції активності наднирників (аркуатному, вентромедіальному, дорсомедіальному, паравентрикулярному, супраоптичному) ситуація подібна до вищеописаної у наднирниках. Проте в аркуатному ядрі вранці та вдень, а у паравентрикулярному ядрі ввечері та вночі ситуація інша.

Зокрема, введення мелатоніну вдень веде до зниження діаметра ядер нейронів аркуатного ядра, а при введенні мелатоніну на фоні блокади дофамінових D2-рецепторів галоперидолом діаметр ядер нейронів цього ядра зростає, хоча введення самого галоперидолу не змінює даний параметр (табл. 1). Така різниця у впливі мелатоніну та мелатоніну з галоперидолом на нашу думку може бути пояснена взаємодією між цими двома речовинами при впливі на аркуатне ядро в цей період доби. Вранці введення мелатоніну, так само, як і введення галоперидолу не веде до достовірних змін діаметра ядер нейронів аркуатного ядра, проте при введенні мелатоніну після блокади D2-рецепторів галоперидолом діаметр ядер нейронів цього ядра зростає (табл. 1).

Так само, вечірнє введення мелатоніну і вечірнє введення галоперидолу окремо веде до зростання діаметра ядер нейросекреторних клітин паравентрикулярного ядра, а ефект від їх сукупного впливу гальмівний (табл. 1). Тобто, і в цьому випадку можливою є реалізація частини впливів мелатоніну через дофамінергічну систему головного мозку за допомогою D2-рецепторів. При нічному введенні мелатоніну і галоперидолу спостерігається зниження діаметра ядер нейронів паравентрикулярного ядра, але при сумарному їх введенні даний параметр не зазнає достовірних змін порівняно з контрольною групою і є достовірно вищим порівняно з тваринами, які в цей час доби отримували тільки мелатонін (табл. 1).

У вентромедіальному ядрі введення мелатоніну вдень не веде до достовірних змін діаметра ядер нейронів цього ядра порівняно з контрольною групою (табл. 1). Але даний параметр зростає після введення мелатоніну на фоні заблокованих галоперидолом D2-рецепторів, хоча сам галоперидол в цей період доби не веде до змін діаметра ядер нейронів вентромедіального ядра (табл. 1).

Отже, не виключено, що у птахів частина ефектів мелатоніну на аркуатне ядро вранці та вдень, на вентромедіальне ядро – вдень, а на паравентрикулярне ядро – ввечері та вночі може бути реалізована через дофамінергічну систему головного мозку із залученням D2-рецепторів.

У циркадній системі птахів (епіфіз та супрахіазматичне ядро гіпоталамуса) переважає стимулюючий вплив мелатоніну (табл. 1). Ефект введення мелатоніну після блокади дофамінових D2-рецепторів галоперидолом може відрізнятися від ефекту введення лише мелатоніну, причому таку різницю ввечері на супрахіазматичне ядро, а вночі на епіфіз (табл. 1) ми не можемо пояснити простою сумациєю ефектів мелатоніну та галоперидолу. Тобто, у двох останніх випадках можливою є реалізація частини впливу мелатоніну через дофамінергічну систему мозку із залученням D2-рецепторів.

Таблиця 1

Морфометричні показники активності епіфіза і гіпоталамо-адrenalової системи після введення мелатоніну та галоперидолу в різний час доби.

умови експерименту	площа перетину ядер пінеалоцитів епіфіза, мкм ²	діаметри ядер нейронів гіпоталамічних ядер, мкм						ширина тяжів наднирників, мкм
		супрахізматичне ядро	аркуатне ядро	вентро-медіальне ядро	дорсо-медіальне ядро	паравентрикулярне ядро	супраоптичне ядро	
ранкове введення препаратів								
фізіологічний розчин	19,8±0,7	7,2±0,2	7,7±0,1	6,5±0,1	6,7±0,1	10,7±0,1	10,0±0,1	39,6±0,5
мелатонін	19,1±0,2	8,0±0,1*	7,9±0,2	6,6±0,1	6,5±0,1	10,8±0,1	10,6±0,2*	36,6±0,6*
галоперидол	19,0±0,6	9,2±0,1*	7,8±0,1	6,7±0,1	6,6±0,1	10,8±0,1	10,4±0,1*	37,7±0,5*
галоперидол + мелатонін	19,2±0,5	8,2±0,1*	9,1±0,1* [^]	6,8±0,1	6,7±0,1	10,9±0,1	9,7±0,1	36,1±0,7*
денне введення препаратів								
фізіологічний розчин	18,8±0,3	7,7±0,1	7,9±0,1	6,8±0,1	6,7±0,1	10,9±0,2	10,7±0,1	37,5±0,8
мелатонін	20,3±0,4*	8,6±0,1*	7,4±0,1*	6,6±0,1	6,8±0,1	11,2±0,1	11,0±0,1	38,5±0,6
галоперидол	19,5±0,5	9,0±0,1*	7,7±0,1	6,6±0,1	6,5±0,1	10,7±0,2	10,6±0,1	35,2±0,4*
галоперидол + мелатонін	19,7±0,4	9,4±0,1* [^]	9,8±0,2* [^]	7,2±0,2* [^]	6,5±0,1	10,8±0,1 [^]	10,4±0,2	35,7±0,4* [^]
вечірнє введення препаратів								
фізіологічний розчин	20,3±0,4	8,7±0,1	7,8±0,1	7,0±0,1	6,9±0,1	10,2±0,1	10,7±0,2	36,1±0,5
мелатонін	23,6±0,4*	9,5±0,1*	8,8±0,1*	6,8±0,1	6,9±0,1	11,0±0,1*	10,3±0,1	36,1±0,5
галоперидол	19,1±0,5	9,6±0,1*	8,2±0,1*	7,0±0,1	7,0±0,1	11,1±0,2*	11,4±0,1*	37,2±0,8
галоперидол + мелатонін	19,1±0,5 [^]	8,3±0,1* [^]	9,1±0,2*	7,4±0,1* [^]	6,8±0,1	9,9±0,1 [^]	11,0±0,2	37,8±0,7
нічне введення препаратів								
фізіологічний розчин	18,7±0,4	8,5±0,1	7,2±0,1	6,9±0,1	6,7±0,1	11,0±0,1	11,0±0,2	35,0±0,4
мелатонін	23,2±0,4*	8,5±0,2	7,6±0,1*	6,4±0,1*	6,5±0,1	10,4±0,2*	10,2±0,1*	36,9±0,4*
галоперидол	20,3±0,4*	8,9±0,1*	8,6±0,2*	7,0±0,2	7,2±0,1*	10,5±0,2*	11,3±0,1	35,5±0,5
галоперидол + мелатонін	19,2±0,5 [^]	8,8±0,1*	9,2±0,1* [^]	6,7±0,1 [^]	6,7±0,1	11,0±0,2 [^]	10,3±0,1*	38,5±0,8*

* – 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).

ВИСНОВКИ

Таким чином, в більшості випадків мелатонін не реалізовує свій вплив на морфометричні параметри гіпоталамо-адrenalової системи через дофамінергічну систему головного мозку із залученням D2-рецепторів. Проте в окремих випадках (див. вищесказане та виділення у табл. 1) така взаємодія можлива.

Література

1. Балаболкин М.И. Эндокринология.– Москва: Универсум паблишинг, 1998.– 389 с.
2. Микроскопическая техника. / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова.– Москва: Медицина, 1996.– 544 с.
3. Угрюмов М.В. Механизмы нейроэндокринной регуляции.– Москва: Наука, 1999.– 299 с.
4. Dubocovich M.L., Markowska M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals // Endocrine.– 2005.– Vol. 27, № 2.– P. 101-110.
5. Exposito I., Mora F., Oaknin S. Dopamine-glutamic acid interaction in the anterior hypothalamus: Modulatory effect of melatonin // Neuroreport.– 1995.– Vol. 6, № 4.– P. 661–665.
6. Kang S.W., Leclerc B., Mauro L.J., El Halawani M.E. Serotonergic and catecholaminergic interactions with co-localised dopamine-melatonin neurones in the hypothalamus of the female turkey // J. Neuroendocrinol.– 2009.– Vol. 21, № 1.– P. 10-19.
7. Santanavanich C., Chetsawang B., Ebadi M., Govitrapong P. Effects of D1- and D2-dopamine receptor activation on melatonin synthesis in bovine pinealocytes // J. Pineal. Res.– 2003.– Vol. 35, № 3.– P. 169-176.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИПОТАЛАМО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПТИЦ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ МЕЛАТОНИНА В РАЗНОЕ ВРЕМЯ СУТОК ПРИ БЛОКИРОВАННЫХ ДОФАМИНОВЫХ D2-РЕЦЕПТОРАХ

Варенюк И.Н., Нужина Н.В., Янко Р.В., Дзержинский Н.Э.

Цель данного исследования – выяснить возможность привлечения дофаминовых D2-рецепторов к возможному участию дофаминэргической системы головного мозга в реализации эффектов мелатонина на гипоталамо-адrenalовую систему у птиц в разное время суток. Для этого японским перепелам утром, днем, вечером или ночью однократно вводили физиологический раствор (контрольная группа), мелатонин, блокатор дофаминовых D2-рецепторов галоперидол, или мелатонин после блокады D2-рецепторов галоперидолом. Показано, что в ряде случаев влияние мелатонина на морфометрические параметры эпифиза, гипоталамических ядер и надпочечников после блокады

D2-рецепторов галоперидолом отличается от влияния самого мелатонина, и эта разница не может быть объяснена простой суммацией эффектов. Поэтому сделан вывод, что хотя в большинстве случаев влияние мелатонина на гипоталамо-адреналовую и циркадную системы птиц не опосредовано дофаминэргической системой головного мозга с привлечением дофаминовых D2-рецепторов; тем не менее в отдельных случаях такой путь влияния мелатонина все-таки возможен: в аркуатном ядре – утром и днем, в вентромедиальном ядре – днем, в паравентрикулярном ядре – вечером и ночью, в супрахиазматическом ядре – вечером, в эпифизе – ночью.

Ключевые слова: мелатонин, дофаминовые рецепторы, надпочечники, гипоталамус, эпифиз, птицы.

MORPHOMETRICAL DESCRIPTION OF HYPOTHALAMIC-ADRENAL SYSTEM IN BIRD AFTER TREATMENT WITH A SINGLE DOSE OF MELATONIN AND BLOCKER OF DOPAMINERGIC D2-RECEPTORS HALOPERIDOL AT VARIOUS TIME OF DAY

Vareniuk I.M., Nuzhyna N.V., Yanko R.V., Dzerzhynsky M.E.

A check of possibility the brain dopaminergic system to mediate the influence of melatonin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis in bird through D2-receptors was an aim of this study. Japanese quails were treated with a single dose of physiology solution (control group), melatonin, haloperidol (blocker of dopamine D2-receptors), or melatonin after haloperidol in four times of day (in the morning, in the day, in the evening, or at the night). It was shown that morphometrical data of pinealocytes, neurones of hypothalamic nuclei, taenia of adrenal gland after injection of melatonin without haloperidol and after injection of melatonin with D2-blocker haloperidol is different. In some cases this difference doesn't explain the additive effect of melatonin and haloperidol. So in most cases the dopamine via D2-receptors does not mediate the influence of melatonin on hypothalamic-pituitary-adrenal and circadian systems in bird. But this interaction exists in arcuate nucleus in the morning and in the day, in ventromedial nucleus in the day, in paraventricular nucleus in the evening and at the night, in suprachiasmatic nucleus in the evening, in pineal gland at the night.

Key words: melatonin, dopaminergic receptors, adrenal gland, hypothalamus, pineal gland, bird.
