

І.Ф. Лабунець

Циркануальний ритм клітинного складу кісткового мозку у тварин при старінні: роль чинників епіфіза

Исследовано влияние введения факторов эпифиза пептидной (эпиталамин, эпиталон) и индольной (мелатонин) природы на возрастные изменения циркануального ритма числа стромальных клеток-предшественников для колоний фибробластов (КОК-Ф), клеток-предшественников для гранулоцит-макрофагальных колоний (КОК-ГМ), клеток с фенотипом $CD4^+$, $Mac-1^+$ и $CD19^+$ в костном мозгу мышей линии СВА. Установлено, что у старых мышей нарушения ритма исследованных показателей характеризовались монотонностью ($Mac-1^+$ -клетки), усилением размаха колебаний ($CD4^+$ -клетки), смещением сезонной акрофазы (КОК-Ф), инверсией (КОК-ГМ), десинхронизацией. Эпиталамин привел к появлению сезонных различий между числом $Mac-1^+$ -клеток и уменьшению их выраженности для числа $CD4^+$ -клеток, к повышению количества КОК-ГМ весной и снижению количества КОК-Ф осенью. Эпиталон повлиял на КОК-Ф и КОК-ГМ в меньшей дозе. Ритмы ряда показателей у старых мышей приближались к таковым у взрослых. Инъекция мелатонина взрослым мышам зимой вызвала повышение количества $CD4^+$ -клеток в костном мозгу, а также изменила соотношение КОК-ГМ и КОК-Ф в пользу последних; у старых мышей показатели оставались без изменений.

ВСТУП

Циркануальні ритми функціонування імунної системи мають важливе значення в адаптації організму до змін фотоперіоду і температури [7, 12, 22]. При старінні ритмічність функціонального стану імунної системи змінюється, що може сприяти розвитку деяких форм вікової патології [3, 17]. Тому дослідження механізмів і рівнів формування вікової дисфункції імунної системи є важливим напрямком сучасної імунології.

Ми встановили, що вікові зміни циркануального ритму функцій периферичної ланки імунної системи значною мірою пов'язані із порушенням ритмічності функціонального стану центрального органу цієї системи – тимуса [5, 7, 8]. Проте відомо, що інший центральний орган імунної системи – кістковий мозок – активно включається в процеси гемо- та імунопоезу [3, 19, 23]. Так, гемопоетичні клітини-попередники кісткового мозку дають початок

макрофагам, а його стромальні фібробласти виконують функцію мікрооточення. Ми встановили, що для загального числа клітин-попередників, здатних утворювати колонії фібробластів (КУК-Ф) у кістковому мозку дорослих мишей властиві два піки – взимку та влітку, тоді як для кістковомозкових клітин-попередників, що утворюють гранулоцит-макрофагальні колонії (КУК-ГМ) – весною та восени; у старих мишей порушення ритмів числа цих типів клітин характеризувалися відсутністю різниці між вмістом КУК-Ф восени та взимку, а також інверсією весняного піку КУК-ГМ [4].

За даними літератури, функція мікрооточення властива також макрофагам, Т-хелперам і В-лімфоцитам кісткового мозку [19, 23]. Разом з тим особливості ритмічності цих кістковомозкових клітин у дорослому організмі та при старінні залишаються недостатньо вивченими.

Принцип часової організації імунної системи полягає в узгодженості у часі

© І.Ф. Лабунець

біоритмів окремих складових системи, процесів, що в ній відбуваються не тільки між собою, але й із умовами навколишнього середовища [12]. Ключова роль у контролі циркадної організації багатьох функцій організму належить епіфізу [24]. Його вплив в організмі, зокрема на ритми імунної системи, здійснюється за допомогою мелатоніну [24, 25]. Так, у дорослих тварин із вилученим епіфізом біоритми функціонального стану периферичної ланки імунної системи порушуються, тоді як введення мелатоніну призводить до їх відновлення [6, 25]. Епіфіз є джерелом також пептидних чинників, які підвищують концентрацію мелатоніну в крові й епіфізах тварин різного віку [2, 13]. Раніше ми показали, що епіталамін, а також синтетичний тетрапептид епіталон поліпшили циркануальний ритм функціонування периферичної ланки імунної системи старих мишей [5, 8]. Тому викликає інтерес вивчення можливості реалізації такого впливу епіфіза на рівні кісткового мозку.

Мета нашої роботи – дослідити в експерименті дію епіфізарних чинників пептидної (епіталамін, епіталон) та індолюної (мелатонін) природи на вікові зміни клітинного складу кісткового мозку залежно від пори року.

МЕТОДИКА

Експеримент проведено на дорослих (4–4,5 міс) і старих (21–24 міс) мишах лінії СВА (розплідник Інституту геронтології АМН України).

Епіталамін вводили довготривало курсами дорослим мишам (4 міс) ($n=27$), починаючи з кожного сезону року. Курс включав 5 ранкових підшкірних ін'єкцій, двічі на тиждень з інтервалом 2–3 доби, разова доза препарату 0,5 мг/100 г [5, 8]. Інтервал між курсами 2–3 міс, усього 6 курсів. Така оптимізована нами схема базується на підвищенні з віком чутливості

імунної системи до дії чинників епіфіза. Дослідження на постарілих мишах проводили кожної пори року через 1,5–2 міс після останньої ін'єкції епіталаміну.

Крім того, весною та восени групи старих мишей ($n=15$) отримали за тією самою схемою лише один курс епіталаміну. У них дослідження виконано через 3 доби після останньої ін'єкції препарату.

Епіталон вводили старим мишам у віці 24 міс ($n=5$) восени одноразово підшкірно у дозі 5 мкг/100 г. Кістковий мозок у них забирали через 24 год після ін'єкції.

Мелатонін (50 нг/100 г) фірми ("Sigma", США) вводили о 16.00 дорослим (4,5 міс) і старим (21 міс) мишам ($n=10$) одноразово, внутрішньоочеревинно. Дослідження проводили взимку через 24 год після ін'єкції.

У кожному експерименті контрольні групи дорослих ($n=30$) і старих ($n=54$) мишей отримали 0,9%-й розчин хлориду натрію за схемами, аналогічними для чинників епіфіза.

У день дослідження для отримання біологічного матеріалу (кістковий мозок стегна) мишей декапітували під ефірним наркозом у ранкові часи доби. Всі експерименти проведено за умов природного режиму освітлення.

Кількість КУК-Ф визначали методом культивування клітин кісткового мозку у моношарових культурах [18]. Через 12 діб культивування клітин при 37°С у зволоженій атмосфері, що складалась із 10 % CO₂ та 90 % кімнатного повітря, культури фіксували у 96%-му етанолі та фарбували азур-еозином. Колонії, що склалися не менш ніж із 50 клітин, підраховували під біокулярним мікроскопом.

Число КУК-ГМ визначали в агарових культурах [14]. Як колоніестимулювальний чинник використовували середовище, отримане із культур клітин селезінки дорослих мишей через 72 год інкубації з 5 мкг Кон А. Число колоній в агарових культурах підраховували на 8-му добу культивування

клітин кісткового мозку у середовищі Mc Coy з добавками. Результати оцінки КУК-Ф і КУК-ГМ наводили у вигляді відносного (на 10^6 клітин) та загального їх числа у кістковому мозку.

Для визначення маркерів суспензію кісткового мозку ($1 \cdot 10^6$ клітин, розведених у $1 \cdot 10^{-4}$ л середовища 199) інкубували з біотинованими моноклональними антитілами (МАТ, у розведенні 1:25-1:50) до L3T4 (CD4), CD 19, CD11b (Mac-1⁺) фірми "Sigma", "Becton Dickinson" (США) впродовж 1 год при 4⁰С. Потім клітини двічі відмивали фосфатно-сольовим буфером (рН 7,4) і до них додавали по $5 \cdot 10^{-5}$ л авідин-фікоеритрину у розведенні 1:50. Після 20-хвилинної інкубації при 4⁰С клітини знову відмивали фосфатно-сольовим буфером, а потім усі групи клітин кісткового мозку фіксували 2%-м параформом у об'ємі $1,5 \cdot 10^{-4}$ л [7, 9]. Число лімфоцитів з певними маркерами (у відсотках на 300 тис. клітин) підраховували на цитофлуориметрі "FACStar Plus" ("Becton Dickinson").

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вплив пептидних чинників епіфіза на біоритми клітинного складу кісткового мозку у старих мишей. У кістковому мозку дорослих мишей восени порівняно із весною частка клітин із фенотипом CD4⁺ збільшилася, а Mac-1⁺ – зменшилась; у старих мишей частка CD4⁺-клітин весною стала меншою порівняно із дорослими мишами, а також зникла сезонна різниця між вмістом клітин з фенотипом Mac-1⁺ (табл. 1). Відсоток CD19⁺-клітин весною та восени істотно не відрізнявся у мишей обох вікових груп. У кістковому мозку старих мишей після курсового введення епіталаміну частка CD4⁺-клітин істотно збільшилася як весною, так і восени, і, крім того, з'явилася сезонна різниця між часткою Mac1⁺-клітин в органі (див. табл. 1).

Довготривале введення епіталаміну призвело до істотного збільшення відносного та загального числа КУК-ГМ у кістковому мозку старих мишей весною (табл. 2). Якщо у контрольних старих мишей відносне та загальне число КУК-Ф у

Таблиця 1. Клітинний склад (%) кісткового мозку у дорослих і старих мишей залежно від сезону року та його зміни у старих мишей після курсового введення епіталаміну

Маркери клітин	Дорослі миші	Старі миші	
		Контроль	Дослід
Весна			
CD4 ⁺	14,8±1,5 (8)	9,9±1,6** (7)	21,7±2,7**,*** (7)
CD19 ⁺	22,7±6,6 (5)	20,7±7,6 (5)	32,5±7,6 (5)
Mac-1 ⁺	25,9±3,5 (7)	21,0±1,5 (8)	32,5±2,9*** (5)
Осінь			
CD4 ⁺	21,4±1,5* (7)	23,2±0,6* (7)	31,9±1,2*,** (5) ***
CD19 ⁺	26,7±2,5 (5)	22,4±6,7 (5)	31,5±1,6 (5)
Mac-1 ⁺	16,4±3,0* (10)	18,3± 2,7 (10)	16,1±3,7* (8)

Примітка. * P<0,05 порівняно із весною. ** P<0,05 порівняно із дорослими мишами. *** P<0,05 порівняно із старими контрольними мишами. У дужках – кількість мишей.

кістковому мозку восени та взимку не відрізнялося між собою, то після довготривалого введення епіталаміну така різниця з'явилась (див. табл.2).

Ми встановили, що восени підвищене загальне число КУК-ГМ у кістковому мозку старих мишей під впливом епіталону дещо зменшилося. Так, якщо у дорослих і старих мишей контрольних груп загальне число КУК-ГМ було 2699 ± 1110 ($n=3$) і 3853 ± 1350 ($n=3$) відповідно то у старих мишей після ін'єкції – 2880 ± 376 ($n=5$). Введення епіталону восени призвело до деякого зменшення загального числа КУК-Ф у кістковому мозку старих мишей порівняно із контрольними старими мишами 970 ± 321 ($n=5$) і 1894 ± 603 ($n=3$) відповідно. У дорослих мишей контрольної групи цей показник становив 831 ± 60 ($n=3$).

Таким чином, у кістковому мозку дорослих мишей спостерігаються циркануальні коливання частки $CD4^+$ і $Mac1^+$ клітин, які при старінні набувають іншого характеру. Пептиди епіфіза поліпшили змінені із віком біоритми не тільки цих типів клітин, але й КУК-Ф та КУК-ГМ.

Вікові особливості впливу мелатоніну на клітинний склад кісткового мозку мишей. Оскільки у дорослих і старих мишей ефекти епіталаміну значною мірою пов'язані із підвищенням вмісту мелатоніну [2, 8], виникла потреба дослідити вплив останнього на клітинний склад їх кісткового мозку. Дослідження проведені взимку. У дорослих мишей після ін'єкції мелатоніну число КУК-ГМ не змінилося, частка $CD4^+$ клітин значно підвищилась, а кількість КУК-Ф мала тенденцію до збільшення (табл. 3).

Таблиця 2. Циркануальний ритм числа КУК-ГМ і КУК-Ф у кістковому мозку старих мишей контрольної групи, а також у старих мишей після довготривалого введення епіталаміну

Показник	Весна	Літо	Осінь	Зима
Контроль				
Кількість КУК-ГМ				
відносна	$120 \pm 9^{*,**}$ (7)	257 ± 29 (7)	301 ± 126 (5)	271 ± 23 (7)
загальна	3190 ± 220 (7)	4358 ± 653 (7)	5525 ± 2570 (5)	2803 ± 604 (7)
Кількість КУК-Ф				
відносна	-	-	$25,2 \pm 5,2$ (5)	$35,3 \pm 7,6$ (5)
загальна	-	-	$462 \pm 30,4$ (5)	$397 \pm 84,1$ (7)
Дослід				
Кількість КУК-ГМ				
відносна	$190 \pm 6^{*,***}$ (7)	273 ± 21 (6)	254 ± 74 (7)	230 ± 19 (7)
загальна	$5050 \pm 320^{**}$ (7) ***	4453 ± 702 (6)	5573 ± 1492 (7)	2728 ± 1002 (7)
Кількість КУК-Ф				
відносна	-	-	$4,4 \pm 0,5^{**}$ (5)***	$33,7 \pm 7,3$ (7)
загальна	-	-	$90,3 \pm 42,2^{**}$ (5)***	$365,6 \pm 70,4$ (7)

Примітка: * $P < 0,05$ порівняно із літом. ** $P < 0,05$ порівняно із зимою. *** $P < 0,05$ порівняно із контрольними мишами. В дужках – кількість мишей.

У старих мишей контрольної та дослідної груп число КУК-ГМ істотно перевищувало значення показника у дорослих мишей. Співвідношення загального числа КУК-ГМ і КУК-Ф у контрольній групі і тій, що отримала мелатонін, було у дорослих $7,1 \pm 1,7$ і $4,9 \pm 1,4$, у старих – $13,3 \pm 2,0$ і $13,8 \pm 3,1$ відповідно. У старих мишей контрольної і дослідної груп показники перевищують такі, що були у дорослих мишей ($P < 0,05$).

Таким чином, мелатонін підвищив частку $CD4^+$ -клітин і спричинив зсув співвідношення кровоутворювальних і стромальних клітин-попередників у бік останніх у кістковому мозку дорослих мишей і не вплинув істотно на ці типи клітин у старих мишей.

Відомо, що мікрооточення кісткового мозку – це сукупність різних типів клітин, які створюють локальні умови, необхідні для підтримки, проліферації та диференціювання кровоутворювальних клітин [18, 19, 23]. Ці умови формуються завдяки функціонуванню та взаємодії таких складових мікрооточення як стромальні фібробласти, макрофаги, Т-хелпери та В-лімфоцити. Клітини мікрооточення кісткового мозку синтезують спектр різних цитокінів локальної дії, які стимулюють або сповільнюють гемопоез. При цьому кількість деяких із них ритмічно змінюється впродовж року [26]. Тому для регуляції ритміч-

ності процесу гемопоезу у кістковому мозку важливе певне співвідношення різних типів клітин, що формують мікрооточення. Ми показали, що у дорослих мишей частка $CD4^+$ - і $Mac-1^+$ -клітин змінюється по-різному залежно від сезону року. Слід зазначити, що така динаміка відбувається не через сезонні зміни кількості клітин кісткового мозку, а його збагачення різними їх типами – у певні сезони [4].

З віком формується недостатність стромальної регуляції, змінюється частка $CD4^+$ -, $Mac-1^+$ -, $CD19^+$ -клітин у кістковому мозку, а також спектр цитокінів, які вони синтезують [19, 23]. За нашими результатами у старих мишей з'являються ознаки десинхронозу у співвідношенні кількості цих типів клітин. Мабуть, тому може змінитися ритмічність коливань числа кровоутворювальних клітин. Так, наприклад, зменшення весною частки $CD4^+$ -клітин у кістковому мозку старих мишей збігалось зі зменшенням загального числа КУК-ГМ.

Поліпшення ритмічності змін числа гемопоетичних клітин-попередників у кістковому мозку старих мишей під впливом пептидних чинників епіфіза свідчить про те, що одним із можливих надсистемних механізмів порушень циркануального ритму гемопоезу при старінні є дисфункція епіфіза. Встановлено, що позитивний ефект епіфізарних пептидів значною мірою пов'язаний зі збільшенням

Таблиця 3. Клітинний склад кісткового мозку у дорослих і старих мишей після однієї ін'єкції 0,9%-го розчину хлориду натрію та мелатоніну

Показник	Дорослі миші		Старі миші	
	Контроль (n=4)	Дослід (n=5)	Контроль (n=4)	Дослід (n=5)
Кількість КУК-ГМ				
відносна	210 ± 17	204 ± 72	$305 \pm 31^{**}$	363 ± 52
загальна	2757 ± 462	2474 ± 647	$4712 \pm 576^{**}$	$5741 \pm 732^{**}$
Кількість КУК-Ф				
відносна	$31,5 \pm 6,5$	$42,2 \pm 6,8$	$24,8 \pm 6,5$	$28,0 \pm 5,2$
загальна	$401,8 \pm 42,6$	$507 \pm 67,6$	385 ± 117	$449 \pm 92,1$
Частка $CD4^+$, %	$6,6 \pm 1,2$	$10,2 \pm 0,6^*$	$8,3 \pm 1,6$	$7,5 \pm 1,95$

Примітка. * $P < 0,05$ порівняно із контрольними мишами. ** $P < 0,05$ порівняно із дорослими мишами. В дужках – кількість мишей.

концентрації мелатоніну в епіфізах і крові старих тварин, а також відновленням його циркадних взаємозв'язків із супрахіазматичним ядром гіпоталамуса [2, 8]. При цьому як епіталамін, так і мелатонін захищають нейрони головного мозку від апоптозу, зменшують кількість дегенеративних нейронів у гіпоталамусі та відновлюють у ньому баланс нейромедіаторів, що супроводжується поліпшенням чутливості його ядер до дії регуляторних сигналів [1, 13, 15]. Як результат, у старих тварин під впливом пептидних чинників епіфіза циркануальний ритм функціонального стану надниркових і статевих залоз змінюється та подібний до того, що у молодих тварин [9]. Відомо, що до глюкокортикоїдів і статевих гормонів є рецептори в різних типах клітин кісткового мозку, а модуляція концентрації цих гормонів в організмі призводить до ритмічних змін функцій кісткового мозку [8, 19, 23].

Окрім опосередкованого, можливий також і безпосередній вплив епіталаміну та епіталону на клітини кісткового мозку старих мишей [9]. Збільшення частки CD4⁺-клітин у кістковому мозку старих мишей після інкубації клітин *in vitro* із пептидами епіфіза та відсутність ефекту у дорослих тварин свідчить про підвищення значення прямого шляху в реалізації їх впливу на клітини кісткового мозку при старінні.

Слід зазначити, що вже одна ін'єкція епіталону нормалізує число КУК-Ф і КУК-ГМ у кістковому мозку старих мишей, причому ефективніше ніж епіталамін. Подібну різницю у впливі цих пептидів *in vivo* ми встановили у тварин для функціонального стану тимуса, а також в експерименті при дії препаратів *in vitro* на струму тимуса і клітини кісткового мозку [8, 9]. Не виключено, що епіталон може бути більш ефективним епіфізарним препаратом у відновленні порушених ритмів імунологічних показників.

Як уже зазначалось, епіталамін підви-

щує концентрацію мелатоніну в організмі тварин незалежно від віку. При цьому мелатонін у дорослих шурів може змінити вміст гемопоетичних клітин-попередників у кістковому мозку, оскільки гормон відновлює зниклі циркадні коливання числа КУК-ГМ в організмі тварин після епіфізектомії [20]. На думку Maestroni [21], нейроендокринні чинники, зокрема мелатонін, разом із клітинами стромального мікрооточення та цитокінами утворюють три рівні регуляції гемопоезу. В цій ієрархії регуляторних чинників мелатонін найімовірніше узгоджує зміни інтенсивності гемопоезу із коливаннями умов навколишнього середовища. Проте за нашими результатами, у дорослих мишей після введення мелатоніну загальне число КУК-ГМ у кістковому мозку істотно не змінилося, хоча відносне число КУК-Ф і особливо CD4⁺-клітин, збільшилося. Розбіжність наших результатів оцінки вмісту КУК-ГМ у досліджах *in vivo* з даними літератури [20] може частково пояснюватися видом ритму, який ми досліджували. Так, в циркануальних ритмах зміни вмісту певних клітин мікрооточення кісткового мозку, а саме збагачення органа КУК-Ф і CD4⁺-клітинами взимку, можуть мати "попереджувальний" характер відносно посилення процесу гемопоезу весною [4]. Більше того, можна вважати, що підвищення концентрації мелатоніну в дорослому організмі взимку [22] підтримує зимовий пік відносного числа КУК-Ф у кістковому мозку.

Раніше ми показали, що у дорослих мишей мелатонін в досліджах *in vitro* також не змінив відносне число кістковомозкових КУК-ГМ [10]. Оскільки у кістковому мозку дорослих мишей введення мелатоніну спричинило істотне збільшення частки CD4⁺-клітин, а також змінило співвідношення КУК-ГМ і КУК-Ф на користь стромальних фібробластів, можна думати, що в дорослому організмі вплив мелатоніну на кровотворення швидше за все опосеред-

кований і реалізується саме через ці складові мікрооточення. За даними літератури, у дорослих тварин мелатонін вже у фізіологічних концентраціях може посилити гемопоез за допомогою індукції Т-хелперами кісткового мозку γ -інтерферону, ІЛ-2, а також опіоїдних цитокінів, які, в свою чергу, через рецептори в макрофагах кісткового мозку модулюють синтез останніми ІЛ-1 і колонієстимулювального фактора [16]. Стромальні фібробласти також можуть впливати на утворення та диференціювання КУК-ГМ завдяки коливанням інтенсивності синтезу ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-7 і КСФ [19, 23]. Не виключено, що до реалізації дії мелатоніну на КУК-Ф і $CD4^+$ -клітини можуть залучатися також інші чинники, зокрема гормони тимуса. Ми встановили, що тимічний сироватковий фактор змінює *in vitro* кількість КУК-Ф і $CD4^+$ -клітин у суспензії кісткового мозку дорослих мишей, в той час як після введення мелатоніну концентрація цього гормону в крові суттєво збільшується [10, 25].

Після ін'єкції мелатоніну старим мишам частка $CD4^+$ -клітин у кістковомозковій суспензії не змінилася, хоча *in vitro* стимулювальний вплив на ці клітини було встановлено [9]. Залишилося також незмінним і співвідношення стромальних і кровоутворювальних клітин-попередників. Ці результати свідчать про те, що в старому організмі можливе переключення шляхів впливу мелатоніну на деякі складові мікрооточення, а також про появу певних чинників макрооточення, які перешкоджають реалізації дії гормону на кістковий мозок. Не виключено, що ефект мелатоніну на досліджувані показники у старих мишей зможе проявитися при більш довготривалому введенні або при дослідженні в іншому сезоні року.

Таким чином, наші результати свідчать про участь епіфіза в механізмах контролю ритмічності функціонування кісткового мозку, а також її змін при старінні. Такий

вплив залоза реалізує значною мірою через складові мікрооточення органа, тобто саме через той компонент, стан якого визначає ступінь вікових змін функцій периферичної ланки імунної системи. Тому в перспективі чинники епіфіза можуть бути використані як фармакологічні засоби, які поліпшують порушені при старінні біоритми функцій центральної та периферичної ланок імунної системи.

ВИСНОВКИ

1. Вікові зміни циркануального ритму клітинного складу кісткового мозку у мишей характеризуються монотонністю, зміною амплітуди, зміщенням сезонної акрофази, інверсією, десинхронізацією.

2. Епіталамін поліпшує порушені з віком циркануальні коливання кількості КУК-Ф, КУК-ГМ, $CD4^+$ - і $Mac-1^+$ -клітин у кістковому мозку старих мишей.

3. Ін'єкція мелатоніну взимку дорослим мишам підвищує частку $CD4^+$ -клітин у кістковому мозку, а також призводить до зсуву у співвідношенні КУК-ГМ і КУК-Ф у бік збагачення органа останніми. У старих мишей показники не змінилися.

I.F. Labunets

CIRCANNUAL RHYTHMS OF BONE MARROW CELL COMPOSITION IN ANIMALS DURING AGING: THE ROLE OF PINEAL FACTORS

It was investigated the influence of pineal gland's peptides (epithalamin, epithalon) and indols (melatonin) on the aging changes of circannual rhythms of stromal cells-precursors (CFC-F), granulocyte-macrophage cells-precursors (CFC-GM), $CD4^+$, $Mac-1^+$ and $CD19^+$ -cells amount in bone marrow of mice CBA. In old animals the rhythmical disturbances of the indices were characterized by loss of fluctuations ($Mac1^+$ -cells), increase of $CD4^+$ -cells amplitude, displacement of seasonal acrophase (CFC-F), inversion of rhythm (CFC-GM), desynchronization. In old mice after epithalamin injections the season differences between the amount of $Mac-1^+$ -cells restored, $CD4^+$ -cells amplitude diminished, the amount of CFC-GM increased in spring and CFC-F diminished in autumn. The influence of epithalon on CFC-F and CFC-GM rhythm was in a smaller dose. The rhythms of some indices in

old animals showed a pattern observed in adults. After melatonin injections to adult mice in winter the amount of CD4⁺-cells increased; the ratio CFC-GM and CFC-F changed because of increase of stromal fibroblasts. In old mice the indices were without changes.

Institute of Gerontology AMS Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. – СПб.: Наука, 2003. – 468 с.
2. Бондаренко Л.А. Сезонные особенности влияния эпиталамина на формирование ночного пика мелатонина у старых крыс // Пробл. старения и долголетия. – 1993. – 3, № 2. – С.97–100.
3. Бутенко Г.М. Иммуниет и старение // Имунологія та алергологія. – 1998. – № 2. – С.26–29.
4. Бутенко Г.М., Лабунец І.Ф., Максьюк Т.В. Возрастные изменения цирканнуальных отношений количества стромальных и кроветворных клеток-предшественников в костном мозге мышей как возможный фактор риска развития остеопороза // Пробл. остеології. – 2000. – № 3–4. – С.4–10.
5. Бутенко Г.М., Лабунец І.Ф., Магдич Л.В., Терешина О.П. Нарушения цирканнуальных ритмов функционального состояния иммунной и эндокринной систем при старении и возможность их коррекции пептидным фактором эпифиза эпиталамином (экспериментальное исследование) // Журн. АМН України. – 2004. – 10, № 4. – С.737–745.
6. Захарчук О.І. Геронтологічні аспекти впливу шишкоподібного тіла на хроноритми імуноструктурного гомеостазу // Буковин. мед. вісн. – 2002. – № 3–4. – С.158–162.
7. Лабунец І.Ф. Вікові зміни циркадних і циркануальних коливань величини імунної відповіді та числа клітин у лімфоїдних органах тварин: можливий зв'язок з факторами тимуса // Фізіол. журн. – 2001. – 47, № 5. – С.54–62.
8. Лабунец І.Ф., Бутенко Г.М., Драгунова В.А. и др. Пептидные факторы эпифиза и ритмы функций тимуса и костного мозга у животных при старении // Успехи геронтології. – 2004. – Вып.13. – С.81–89.
9. Лабунец І.Ф., Бутенко Г.М., Хавинсон В.Х. Влияние биологически активных факторов эпифиза на функцию тимуса и клеточный состав костного мозга и селезенки у мышей разного возраста // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2004. – 137, № 5. – С.578–580.
10. Лабунец І.Ф., Драгунова В.О., Магдич Л.В., Копилова Г.В. Вплив модуляції функції тимуса на циркануальний ритм функціонального стану кісткового мозку у мишей лінії СВА різного віку // Пробл. старения и долголетия. – 2005. – 14, № 1. – С.22–33.
11. Пинчук В.Г., Глузман Д.Ф., Нагорная В.А. и др. / Под общ. ред. В.Г. Пинчука и Д.Ф. Глузмана. Иммуноцитохимия и моноклональные антитела в онкогематологии. – К.: Наук. думка, 1990. – 232 с.
12. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В., Дергачева Т.И. и др. Хронобиология иммунной системы. – Вест. АМН СССР. – 1999. – № 4. – С.40–43.
13. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Пептиды эпифиза и тимуса в регуляции старения. – СПб.: ИКФ “Фоллиант”, 2001. – 160 с.
14. Bradley T.R., Metcalf D. The growth of mouse bone marrow cells in vitro // Aust.J.Exp.Biol. Med.Sci. – 1966. – 44. – P.287–300.
15. Cagnoli C.M., Atabay C., Kharlamov E., Manev H. Melatonin protects neurons from singlet oxygen induced apoptosis // J. Pineal Res. – 1995. – 18. – P. 222–226.
16. Carrillo-Vico A., Guerrero J.M., Lardone P.J., Reiter R.J. A reviews of the multiple actions of melatonin on the immune system // Endocrine. – 2005. – 27, № 2. – P.189–200.
17. Casale G., de Nicola P. Circadian rhythms in the aged: a review // Arch. Gerontol. Geriatr. – 1984. – 3. – P.267–284.
18. Friedensteyn A.J., Chailakhyan N.V., Latsinic A.F. et al. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of hemopoietic tissues cloning in vitro and retransplantation in vivo // Transplantation. – 1974. – 17. – P.331–340.
19. Globerson A. Hematopoietic stem cells and aging // Exp.Gerontol. – 1999. – 34, № 2. – P.137–146.
20. Halder C., Haubler D., Gupta D. Effect of the pineal gland on circadian rhythm of colony forming units for granulocytes and macrophages (CFU-GM) from rat bone marrow // J.Pineal Res. – 1992. – 12. – P.79–83.
21. Maestroni G.J. Is hematopoiesis under the influence of neural and neuroendocrine mechanisms? // Histol. Histopathol. – 1998. – 13, № 1. – P.271–274.
22. Nelson R.J., Demas G.F. Role of melatonin in mediating seasonal energetic and immunological adaptation // Brain Res.Bull. – 1997. – 44, № 4. – P.423–430.
23. Ogawa T., Kitagawa M., Hirokawa K. Age-related changes of human bone marrow: a histometric estimation of proliferative cells, apoptotic cells, B cells and macrophages // Mech. Ageing. Develop. – 2000. – 117, № 3. – P.57–67.
24. Reiter R.J. The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data // Exp.Gerontol. – 1995. – 30, № 3–4. – P.199–212.
25. Savino W., Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology // Endocrine reviews. – 2000. – 21, № 4. – P.412–443.
26. Young M.R.I., Matthews J.P., Kanabrocki E.L. et al. Circadian rhythmometry of serum interleukin-2, interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in men // Chronobiol. Int. – 1995. – 12, № 1. – P.19–27.

Матеріал надійшов до редакції 16.05.2007

Ін-т геронтології АМН України