

ВПЛИВ РІЗНОГО РЕЖИМУ ОСВІТЛЕННЯ НА МОРФОМЕТРИЧНУ ХАРАКТЕРИСТИКУ НЕЙРОНІВ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ

Р.Є. Булик, О.В. Сметанюк, К.В. Власова, М.І. Кривчанська

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

Паравентрикулярні ядра (ПВЯ) гіпоталамуса є вегетативним центром координації функцій і складаються з низки нейронних популяцій – суб'ядер, які різняться структурно-функціональними особливостями і характером нервових зв'язків із різними відділами нервової і нейроендокринної систем. При вивченні стресових реакцій і дії стрес-лімітувальних чинників постає важливим дослідження субпопуляції нейронів ПВЯ гіпоталамуса, що синтезують стрес-релізінг гормони, які ініціюють стресорні реакції організму. Одним з основних чинників, що проявляють виражений ефект у регуляції секреції АКТГ, є кортикотропін-релізінг фактор (КРФ). КРФ-імунореактивна мітка виявлена, здебільшого, у медіальних дрібноклітинних суб'ядрах паравентрикулярних ядер гіпоталамуса щурів. Незважаючи на глибокі і всебічні дослідження гіпоталамуса, до сьогоднішнього часу немає єдиних уявлень про його індивідуальну реактивність і ступінь залучення вказаних структур у стресову реакцію, викликану тривалою зміною режиму освітлення.

Мета роботи – з'ясувати вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику медіальних дрібноклітинних суб'ядер паравентрикулярних ядер гіпоталамуса зрілих та старих щурів.

Матеріал та методи. Експерименти проведені на 72 нелінійних самцях білих щурів, яких розподілено на 6 серій, у кожній з яких забір біоматеріалу здійснювали о 14.00 і о 02.00 год з наступним морфометричним та статистичним дослідженням.

Результати. Морфометрична оцінка медіальних дрібноклітинних суб'ядер паравентрикулярних ядер гіпоталамуса (мдПВЯ) щурів виявила добову динаміку показників. Встановлено, що як у старих, так і в зрілих щурів при звичайному освітленні помітно знижується їх середній об'єм ($p < 0,05$) о 2.00 порівняно з 14.00. Відповідно ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС) о 02.00 зростає порівняно з 14.00.

При утримуванні тварин за умов постійного освітлення встановлено більш виражені зміни досліджуваних структур. Зокрема, зменшується об'єм нейроцитів мдПВЯ гіпоталамуса як у зрілих, так і у старих щурів порівняно з щурами при стандартному режимі освітлення і ще більше – порівняно зі щурами за умов світлової депривації. У відповідності до цього змінюється й ЯЦС. Знижується й середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу порівняно з іншими режимами освітлення. Необхідно також вказати на те, що за умов світлової стимуляції у зрілих щурів у мдПВЯ помітно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 02.00 порівняно з 14.00, тоді як об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому не змінюється. Це віддзеркалюється відповідно і на ЯЦС, яке о 02.00 зростає порівняно з 14.00. У старих щурів при світловій стимуляції у нейронах мдПВЯ достовірно не знижується середній об'єм нейронів о 02.00 порівняно з 14.00, як і об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження, відповідно до цього, ЯЦС о 02.00 залишається сталим порівняно з 14.00 і середня кількість нейроцитів у мдПВЯ на стандартній площині гістологічного зрізу не змінюється в різні періоди доби. Водночас, за різних модифікацій світлового режиму досліджувані цитометричні показники нейронів у старих щурів у середньому є значно нижчими ($p < 0,001$), ніж такі у зрілих щурів.

Висновки. 1. Тривалість фотоперіоду істотно впливає на добову активність мдПВЯ гіпоталамуса зрілих і старих щурів. Зокрема, в обох досліджуваних групах щурів при звичайному освітленні вірогідно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 2.00 порівняно з 14.00, відповідно, ЯЦС о 02.00 зростає порівняно з 14.00. Усі цитометричні показники нейронів у старих щурів у середньому є значно нижчими ($p < 0,001$), ніж у зрілих щурів.

2. Постійне освітлення викликає більш виражені зміни морфометричних параметрів мдПВЯ гіпоталамуса, ніж світлова депривація: у зрілих щурів у мдПВЯ помітно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 02.00 порівняно з 14.00, що віддзеркалюється і на зміні ЯЦС, яке о 02.00 зростає порівняно з 14.00. У старих

Ключові слова:

паравентрикулярне ядро, морфометричний стан, світлова депривація, постійне освітлення.

Клінічна та експериментальна патологія 2021. Т.20, №3 (77). С.11-18.

DOI:10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.2

E-mail: cathia143@bsmu.edu.ua

щурів при світловій стимуляції усі вивчені цитометричні показники їх нейронів у середньому є значно нижчими ($p < 0,001$), ніж такі у зрілих щурів.

Ключевые слова:
паравентрикулярное
ядро, морфометрическое
состояние, световая
депривация, постоянное
освещение.

Клиническая и экспери-
ментальная патология
2021. Т.20, №3 (77).
С. 11 - 18.

ВЛИЯНИЕ РАЗНОГО РЕЖИМА ОСВЕЩЕНИЯ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ НЕЙРОНОВ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНЫХ ЯДЕР ГИПОТАЛАМУСА КРЫС

Р.Е. Булик, О.В. Сметанюк, К.В. Власова, М.И. Кривчанська

Паравентрикулярные ядра (ПВЯ) гипоталамуса являются вегетативным центром координации функций и состоят из ряда нейронных популяций - субъядер, которые различаются структурно-функциональными особенностями и характером нервных связей с различными отделами нервной и нейроэндокринной систем. При изучении стрессовых реакций и действия стресс-лимитирующих факторов исследования субпопуляций нейронов ПВЯ гипоталамуса, синтезирующих стресс-рилизинг гормоны, инициирующих стрессовые реакции организма, становятся важными. Одним из основных факторов, проявляющих выраженный эффект в регуляции секреции АКТГ, является кортикотропин-рилизинг фактор (КРФ). КРФ-иммунореактивная метка обнаружена в основном в медиальных мелкоклеточных субъядрах паравентрикулярных ядер гипоталамуса крыс. Несмотря на глубокие и всесторонние исследования гипоталамуса, до настоящего времени нет единых представлений о его индивидуальной реактивности и степени вовлечения указанных структур в стрессовую реакцию, вызванную длительным изменением режима освещения.

Цель работы – выяснить влияние различного режима освещения на морфометрическую характеристику медиальных мелкоклеточных субъядер паравентрикулярных ядер гипоталамуса зрелых и старых крыс.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 72 нелинейных самцах белых крыс, которые были разделены на 6 серий исследований, в каждой из которых забор биоматериала осуществлялся в 14.00 и в 02.00 ч с применением морфометрического и статистического методов исследования.

Результаты. Морфометрическая оценка медиальных мелкоклеточных субъядер паравентрикулярных ядер (ммПВЯ) гипоталамуса крыс обнаружила суточную динамику показателей. Установлено, что как у старых, так и у зрелых крыс при обычном освещении заметно снижается их средний объем ($p < 0,05$) в 2.00 по сравнению с 14.00. Соответственно, ядерно-цитоплазматическое соотношение в 02.00 возрастает по сравнению с 14.00.

При содержании животных в условиях постоянного освещения установлены более выраженные изменения исследуемых структур. В частности, уменьшается объем нейронов ммПВЯ гипоталамуса как у зрелых, так и у старых крыс по сравнению с крысами при стандартном режиме освещения и еще больше по сравнению с крысами в условиях световой депривации. В соответствии с этим меняется и ЯЦС. Снижается и среднее количество нейронов на стандартной плоскости гистологического среза по сравнению с другими режимами освещения. Необходимо также указать на то, что в условиях световой стимуляции у зрелых крыс в ммПВЯ заметно снижается средний объем нейронов ($p < 0,05$) в 02.00 по сравнению с 14.00, тогда, когда объем их ядер в указанные периоды исследования в среднем не меняется. Это отражается соответственно и на изменении ЯЦС, которое в 02.00 возрастает по сравнению с 14.00. У старых крыс при световой стимуляции средний объем нейронов в нейронах ммПВЯ не снижается в 02.00 по сравнению с 14.00, как и объем их ядер в указанные периоды исследования в среднем меняется мало, согласно этому ЯЦС в 02.00 остается постоянным по сравнению с 14.00, и среднее количество нейронов в ммПВЯ на стандартной плоскости гистологического среза не меняется в разные периоды суток. В то же время, при различных модификациях светового режима исследуемые цитометрические показатели нейронов у старых крыс в среднем значительно ниже ($p < 0,001$), чем такие у зрелых крыс.

Выводы. 1. Продолжительность фотопериода существенно влияет на суточную активность ммПВЯ гипоталамуса зрелых и старых крыс. В частности, в обеих исследуемых группах крыс при обычном освещении достоверно снижается средний объем нейронов ($p < 0,05$) в 2.00 по сравнению с 14.00, и соответственно, ЯЦС в 02.00 возрастает по сравнению с 14.00. Все цитометрические показатели

нейронов у старых крыс в среднем значительно ниже ($p < 0,001$), чем у зрелых крыс. 2. Постоянное освещение вызывает более выраженные изменения морфометрических параметров мПВЯ гипоталамуса, чем световая депривация. Так, у зрелых крыс в мПВЯ заметно снижается средний объем нейронов ($p < 0,05$) в 02.00 по сравнению с 14.00, что отражается соответственно и на изменении ЯЦС, которое в 02.00 возрастает по сравнению с 14.00. Относительно старых крыс, то при световой стимуляции все изученные цитометрические показатели их нейронов в среднем значительно ниже ($p < 0,001$), чем такие у зрелых крыс.

INFLUENCE OF DIFFERENT LIGHTING REGIMEN ON THE MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF NEURONS IN THE PARAVENTRICULAR NUCLEI OF THE RAT HYPOTHALAMUS

R.E. Bulik, O.V. Smetanyuk, K.V. Vlasova, M.I. Krivchanska

Paraventricular nuclei (PVN) of the hypothalamus are the autonomic center for coordination of functions and consists of a number of neuronal populations - sub-nuclei, which differ in structural and functional features and the nature of nerve connections with various parts of the nervous and neuroendocrine systems. When studying stress reactions and actions of the stress-limiting factors, it is important to study subpopulations of PVN neurons of the hypothalamus, synthesizing stress-releasing hormones, which initiate stress reactions of the body. One of the main factors that show a pronounced effect in the regulation of ACTH secretion is corticotropin-releasing factor (CRF). The CRF-immunoreactive tracer was found mainly in the medial small-cell subnucleus of the paraventricular nuclei of the rat hypothalamus. Despite deep and comprehensive studies of the hypothalamus, until now there are no unified ideas about its individual reactivity and the degree of involvement of these structures into the stress reaction caused by the prolonged change in the lighting regime.

Purpose - to find out the effect of different illumination regimes on the morphometric characteristics of the medial small-cell subnuclei of the paraventricular nuclei of the hypothalamus of mature and old rats.

Material and methods. The experiments were conducted on 72 nonlinear white male rats, divided into 6 series of studies, in each of which the biomaterial sampling was carried out at 14.00 and 02.00 h using morphometric and statistical research methods.

Results. Morphometric assessment of the medial small-cell sub-nuclei of the paraventricular nuclei (msPVN) of the hypothalamus of rats revealed the diurnal dynamics of indices. It has been established that in both old and mature rats, their average volume ($p < 0.05$) significantly decreases at 2.00 compared to 14.00 under normal lighting. The nuclear-cytoplasmic ratio at 02.00 increases in comparison with 14.00 respectively.

When the animals were kept under constant illumination, more pronounced changes in the structures under study were established. In particular, the volume of neurons in the msPVN of the hypothalamus decreases both mature and old rats compared with rats under standard illumination and even more in comparison with rats under light deprivation. In accordance with this, the NCR also changes. The average number of neurons on the standard plane of the histological section also decreases in comparison with other illumination regimes. It is also necessary to point out that under conditions of light stimulation in mature rats in msPVN, the average volume of neurons ($p < 0.05$) noticeably decreases at 02:00 in comparison with 14:00, when the volume of their nuclei does not change on average during the indicated study periods. This is reflected, respectively, in the NCR change, which increases at 02.00 in comparison with 14.00. As to the old rats, the average neuron volume does not decrease at 2.00 in comparison with 14.00 in msPVN neurons at light stimulation, as well as the volume of their nuclei changes, on average, is barely noticeable, and according to it, NCR at 02.00 remains stable in comparison with 14.00, and the average quantity of neurocytes in msPVN does not change on a standard plane of the histological section during various periods of the twenty four hours. At the same time, with various modifications of the light regime, cytometric parameters of neurons under study in old rats, on average, are significantly lower ($p < 0.001$) than those in mature rats.

Conclusions. 1. The duration of the photoperiod significantly affects the 24 hours activity of msPVN in the hypothalamus of mature and old rats. In particular, in both investigated groups of rats, the average volume of neurons ($p < 0.05$) reliably decreases at 2.00 under normal illumination in comparison with 14.00, and, accordingly, the NCR

Key words:

paraventricular nucleus, morphometric state, light deprivation, constant illumination.

Clinical and experimental pathology 2021. Vol.20, № 3 (77). P. 11-18 .

at 02.00 increases compared to 14.00. All cytometric parameters of their neurons in old rats are, on average, significantly lower ($p < 0.001$) than in mature rats.

2. Constant illumination causes more pronounced changes in the morphometric parameters of the msPVN of the hypothalamus than light deprivation. Thus, in mature rats in the msPVN, the average volume of neurons ($p < 0.05$) decreases noticeably at 02:00 in comparison with 14:00, which is reflected, respectively, in the change in NCR, which increases at 02:00 compared to 14:00. For old rats, under light stimulation, all the studied cytometric parameters of their neurons, on average, are significantly lower ($p < 0.001$) than those in mature rats.

Вступ

З'ясування місця і ролі нейроендокринних структур у механізмах циркадіанних ритмів є одним з актуальних питань хрономедицини [1, 4, 7]. Паравентрикулярні ядра (ПВЯ) гіпоталамуса є вегетативним центром координації функцій і складаються з низки нейронних популяцій – суб'ядер, які різняться за структурно-функціональними особливостями і характером нервових зв'язків із різними відділами нервової і нейроендокринної систем [2, 10].

Зміни тривалості основного часозадавача – фотоперіоду, як стресові чинники, десинхронізують ритми соматичних і вісцеральних функцій, а також координацію і модуляцію механізмів адаптації організму до впливу різних чинників [3, 5, 9]. При вивченні стресових реакцій і дії стрес-лімітувальних чинників (зокрема, мелатоніну) постає важливим дослідження вказаних субпопуляцій нейронів ПВЯ гіпоталамуса, що синтезують стрес-релізинг гормони, які ініціюють стресорні реакції організму [6, 8, 11]. Одним з основних чинників, що проявляє виражений ефект у регуляції секреції АКТГ, є кортикотропін-релізинг фактор (КРФ). КРФ-імунореактивна мітка виявлена, здебільшого, в медіальних дрібноклітинних суб'ядрах (мдПВЯ) [6].

Викликає зацікавленість з'ясування впливу світлового стресора на стан вказаних дрібноклітинних суб'ядер. При цьому важливо вивчити їх морфометричні зміни за різного режиму освітлення у зрілих та старих щурів. Водночас, відомості щодо впливів постійного освітлення або темряви на діяльність вказаних субпопуляцій нейронів ПВЯ гіпоталамуса, залучених у формування механізмів циркадіанних ритмів, залишаються відносно обмеженими. Незважаючи на глибокі і всебічні дослідження гіпоталамуса, дотепер немає єдиних уявлень про його індивідуальну реактивність і ступінь залучення клітинних структур у стресову реакцію, викликану тривалим перебуванням за умов постійної темряви (світлової депривації) чи тривалого освітлення у віковому аспекті.

Мета дослідження

З'ясувати вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику медіальних дрібноклітинних суб'ядер паравентрикулярних ядер гіпоталамуса зрілих та старих щурів.

Матеріал та методи дослідження

Експерименти проведені на 72 статевозрілих та старих білих нелінійних щурах-самцях. Усі

піддослідні тварини розподілені на шість серій (по дванадцять щурів), кожна з яких також складалася з двох груп (по шість тварин).

Серія №1 – зрілі щури, що знаходилися сім діб за умов стандартного режиму освітлення (12.00С:12.00Т). Люмінесцентні лампи вмикали з 08.00 до 20.00 год, освітленість приміщення на рівні тварин становила 500 лк.

Серія №2 – зрілі щури, що перебували сім діб в умовах постійної темряви (00.00С:24.00Т), моделювання гіперфункції шишкоподібної залози.

Серія №3 – зрілі щури, що знаходилися сім діб при постійному освітленні (24.00С:00.00Т), моделювання гіпофункції шишкоподібної залози.

Серія №4 – старі щури, яких утримували сім діб за умов стандартного режиму освітлення (12.00С:12.00Т), умови, ідентичні утриманню зрілих щурів.

Серія №5 – старі щури, що сім діб заходилися в умовах постійної темряви (00.00С:24.00Т).

Серія №6 – старі щури, які перебували сім діб при постійному освітленні (24.00С:00.00Т).

Враховуючи циклічність синтезу мелатоніну, забір матеріалу виконували з 12-годинним інтервалом (о 14.00 та о 02.00 год.), здійснюючи декапітацію під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг, внутрішньочеревно). Усі етапи експерименту проведено з дотриманням основних вимог Європейської конвенції щодо гуманного ставлення до тварин.

Вилучений мозок тварин протягом 22-24 годин фіксували в нейтральному забуференому 10% розчині формаліну. Далі вирізували стандартні пластини тканини мозку товщиною близько 1 мм та зневоднювали їх у висхідній батареї спиртів. Після цього заливали їх у парафін при 58°C та робили серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм за допомогою санного мікротому. Після депарафінізації гістологічних зрізів виконували забарвлення гематоксиліном і еозинном.

Дослідження кількісних показників проводили за допомогою комп'ютерної морфометрії, яку виконували на цифрових копіях оптичних мікроскопічних зображень тканини (мікроскоп Delta Optical Evolution 100 (планахроматичні об'єктиви) та цифрова камера Olympus SP550UZ). Цифрові копії зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми ImageJ v1.48.

Статистичне опрацювання отриманих результатів проводили за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми PAST. З метою перевірки на нормальність розподілу застосовували критерій Вілкі-Хана-Шапіро. Оскільки гіпотеза

про нормальність розподілу не відхилялася (при $p=0,05$), різницю в середніх тенденціях між групами дослідження оцінювали параметричними методами статистичного аналізу: обрахування середньої арифметичної та її похибки, непарний двобічний критерій Стьюдента. Водночас додатково застосовували критерій Манна-Вітні з метою підвищення надійності результатів перевірки розбіжностей між групами дослідження у середніх тенденціях.

Результати та їх обговорення

При гістологічних дослідженнях мдПВЯ гіпоталамуса щурів враховувалися особливості їх внутрішньої структури. Завдяки виявленим морфологічним особливостям нейронів мдПВЯ у них методом морфометрії (цитометрії) визначали такі цитометричні параметри, як розміри ядра та клітини

в цілому, а також обраховували похідні параметри, зокрема ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС). Вказані цитометричні параметри виявилися доволі чутливими в нейронах мдПВЯ до умов проведеного експерименту на тваринах. Окрім того, було відзначено, що різні умови експерименту помітно впливають на середню кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу, тобто на їх концентрацію. У цьому дослідженні вважали за доцільне підраховувати середню кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу $100 \times 100 \text{ мкм}^2$.

Середні дані (середня арифметична та її похибка) щодо вказаних морфометричних показників для нейронів мдПВЯ у зрілих та старих щурів за стандартного режиму освітлення наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Окремі морфометричні показники нейронів мдПВЯ гіпоталамуса щурів за стандартного режиму освітлення

Показник	Години доби	Зрілі щури	Старі щури
Середній об'єм нейронів (мкм ³)	14.00	712±9,6	665±6,6 P<0,001
	02.00	642±8,7	603±5,6 P<0,001
Середній об'єм ядер нейронів (мкм ³)	14.00	278±8,1	236±6,3 P<0,001
	02.00	276±7,4	232±7,6 P<0,001
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення в нейронах	14.00	0,391±0,0023	0,355±0,0024 P<0,001
	02.00	0,430±0,0027	0,385±0,0022 P<0,001
Середня кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм ²)	14.00	28±0,4	17±0,3 P<0,001
	02.00	27±0,5	17±0,5 P<0,001

Примітка: P – вірогідність розбіжності між групами зрілих та старих щурів.

З наведених у таблиці 1 даних видно, що при звичайному режимі освітлення у зрілих щурів у мдПВЯ помітно знижується середній об'єм нейронів ($p<0,05$) о 02.00 порівняно з 14.00, тоді як об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому не змінюється. Це відзеркалюється відповідно і на зміні ЯЦС, яке о 02.00 зростає порівняно з 14.00. Водночас необхідно відзначити, що середня кількість нейронів у мдПВЯ на стандартній площині гістологічного зрізу ($100 \times 100 \text{ мкм}^2$) не змінюється в різні періоди доби.

Дані таблиці 1 засвідчують також, що у старих щурів при звичайному освітленні в нейронах мдПВЯ відзначено такі ж закономірності, як і у нейронах мдПВЯ зрілих щурів. Тобто, помітно знижується середній об'єм нейронів ($p<0,05$) о 2.00 порівняно з 14.00, тоді як об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому не змінюється, відповідно ЯЦС о 02.00 зростає порівняно з 14.00, але середня

кількість нейронів у мдПВЯ на стандартній площині гістологічного зрізу не змінюється в різні періоди доби. Водночас, слід зауважити, що всі цитометричні показники нейронів у старих щурів у середньому є значно нижчими ($p<0,001$), ніж у зрілих щурів.

Далі відповідно до плану експерименту визначали цитометричні показники нейронів мдПВЯ у зрілих та старих щурів у різні періоди доби за умов світлової депривації. Середні цифри таких обрахунків і рівні вірогідності розбіжностей наведені в табл. 2.

Як засвідчують дані таблиці 2, за умов світлової депривації зростає об'єм нейронів мдПВЯ як у зрілих, так і у старих щурів порівняно зі щурами при стандартному режимі освітлення (табл. 1). Відповідно до цього зменшується ЯЦС. Окрім цього, дещо зростає середня кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу. Зокрема, необхідно вказати на те, що за умов світлової депривації у зрілих щурів у

**Окремі морфометричні показники нейронів мдПВЯ гіпоталамуса щурів
за умов світлової депривації**

Показник	Години доби	Зрілі щури	Старі щури
Середній об'єм нейронів (мкм ³)	14.00	779±9,3	695±5,4 P<0,001
	02.00	698±8,5	644±5,9 P<0,001
Середній об'єм ядер нейронів (мкм ³)	14.00	279±8,7	238±6,4 P<0,001
	02.00	280±8,9	238±6,2 P<0,001
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення в нейронах	14.00	0,358±0,0020	0,342±0,0024 P<0,001
	02.00	0,401±0,0023	0,369±0,0022 P<0,001
Середня кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм ²)	14.00	34±0,5	25±0,6 P<0,001
	02.00	33±0,7	24±0,5 P<0,001

Примітка: P – вірогідність розбіжності між групами зрілих та старих щурів.

мдПВЯ помітно знижується середній об'єм нейронів ($p<0,05$) о 02.00 порівняно з 14.00, тоді як об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому не змінюється. Це віддзеркалюється відповідно і на зміні ЯЦС, яке о 02.00 зростає порівняно з 14.00.

Щодо старих щурів, то дані таблиці 2 засвідчують, що в них при світловій депривації в нейронах мдПВЯ відзначено такі ж закономірності, як і у нейронах мдПВЯ зрілих щурів. Тобто, помітно знижується середній об'єм нейронів ($p<0,05$) о 02.00 порівняно з 14.00, тоді як об'єм їхніх ядер у зазначені періоди

дослідження в середньому не змінюється, відповідно до цього ЯЦС о 02.00 зростає порівняно з 14.00, але середня кількість нейронів у мдПВЯ на стандартній площині гістологічного зрізу не змінюється в різні періоди доби. Водночас слід відзначити, що при світловій депривації усі вивчені цитометричні показники нейронів у старих щурів у середньому є значно нижчими ($p<0,001$), ніж такі у зрілих щурів.

Цифрова документація змін нейронів мдПВЯ у зрілих та старих щурів за умов світлової стимуляції наведена у табл. 3.

Таблиця 3

**Окремі морфометричні показники нейронів мдПВЯ гіпоталамуса щурів
за умов світлової стимуляції**

Показник	Години доби	Зрілі щури	Старі щури
Середній об'єм нейронів (мкм ³)	14.00	664±8,2	609±6,1 P<0,001
	02.00	642±8,7	603±5,6 P<0,001
Середній об'єм ядер нейронів (мкм ³)	14.00	274±6,8	232±6,1 P<0,001
	02.00	268±5,2	230±6,0 P<0,001
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення в нейронах	14.00	0,412±0,0021	0,381±0,0022 P<0,001
	02.00	0,417±0,0022	0,381±0,0019 P<0,001
Середня кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм ²)	14.00	22±0,5	13±0,4 P<0,001
	02.00	22±0,3	14±0,4 P<0,001

Примітка: P – вірогідність розбіжності між групами зрілих та старих щурів.

Відповідно до даних табл. 3, за умов світлової стимуляції зменшується об'єм нейронів мдПВЯ як у зрілих, так і у старих щурів порівняно зі щурами при стандартному режимі освітлення (табл.1) і ще більше – порівняно зі щурами за умов світлової депривації. У відповідності до цього змінюється й ЯЦС (воно ще більше зменшується порівняно з іншими режимами освітлення). Потрібно відзначити й те, що дещо знижується середня кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу порівняно з іншими режимами освітлення. Необхідно також вказати на те, що за умов світлової стимуляції у зрілих щурів у мдПВЯ помітно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 02.00 порівняно з 14.00, тоді як об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому не змінюється. Це віддзеркалюється відповідно і на зміні ЯЦС, яке о 02.00 зростає порівняно з 14.00.

Щодо старих щурів, то дані таблиці 3 засвідчують, що в них при світловій стимуляції в нейронах мдПВЯ не знижується середній об'єм нейронів о 02.00 порівняно з 14.00, як і об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому змінюється малопомітно, відповідно до цього ЯЦС о 02.00 залишається сталим порівняно з 14.00 і середня кількість нейронів у мдПВЯ на стандартній площині гістологічного зрізу не змінюється в різні періоди доби. Водночас слід відзначити, що при світловій стимуляції усі вивчені цитометричні показники нейронів у старих щурів у середньому є значно нижчими ($p < 0,001$), ніж такі у зрілих щурів.

Висновки

1. Тривалість фотоперіоду істотно впливає на добову активність мдПВЯ гіпоталамуса зрілих і старих щурів. В обох досліджуваних групах щурів при звичайному освітленні вірогідно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 2.00 порівняно з 14.00, і відповідно, ЯЦС о 02.00 зростає порівняно з 14.00. Усі цитометричні показники нейронів у старих щурів у середньому є значно нижчими ($p < 0,001$), ніж у зрілих щурів.

2. Постійне освітлення викликає більш виражені зміни морфометричних параметрів мдПВЯ гіпоталамуса, ніж світлова депривація. У зрілих щурів у мдПВЯ помітно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 02.00 порівняно з 14.00, що віддзеркалюється на зміні ЯЦС, яке о 02.00 зростає порівняно з 14.00. У старих щурів, то при світловій стимуляції усі вивчені цитометричні показники їх нейронів у середньому є значно нижчими ($p < 0,001$), ніж такі ж у зрілих щурів.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується досліджувати вплив мелатоніну на морфофункціональну активність нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів для глибшого пізнання механізмів участі вказаних структур у регуляції нейроендокринних процесів при стресі і стрес-реактивності організму залежно від тривалості фотоперіоду у віковому аспекті.

Список літератури

1. Бондаренко ЛА, Губина-Вакулик ГИ, Геворкян АР. Пинеальная железа и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная система: возрастные и хронобиологические аспекты. Харьков; 2013. 264 с.
2. Тимофій ОВ, Булик РС, Ломакіна ЮВ. Ефекти мелатоніну на експресію гена c-fos у нейронах медіального дрібноклітинного суб'ядра паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів при зміненому фотоперіоді. Світ медицини та біології. 2015;2:188-92.
3. Bedont JL, Blackshaw S. Constructing the suprachiasmatic nucleus: a watchmaker's perspective on the central clockworks. *Front Syst Neurosci* [Internet]. 2015[cited 2021 Sep 29];9:74. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4424844/pdf/fnsys-09-00074.pdf> doi: 10.3389/fnsys.2015.00074
4. Заморский ИИ, Сопова ИЮ, Хавинсон ВХ. Влияние мелатонина и эпиталамина на содержание продуктов белковой и липидной перекисидации в коре больших полушарий и гиппокампе мозга крыс в условиях острой гипоксии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012;154(7):59-61.
5. Venegas C, García JA, Escames G, Ortiz F, López A, Doerrier C, et al. Extrapineal melatonin: analysis of its subcellular distribution and daily fluctuations. *J Pineal Res*. 2012;52(2):217-27. doi: 10.1111/j.1600-079X.2011.00931.x
6. Kiessling S, Sollars PJ, Pickard GE. Light stimulates the mouse adrenal through a retinohypothalamic pathway independent of an effect on the clock in the suprachiasmatic nucleus. *PLoS One* [Internet]. 2014[cited 2021 Sep 30];9(3):e92959. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962469/pdf/pone.0092959.pdf> doi: 10.1371/journal.pone.0092959
7. Арушанян ЭБ, Щетинин ЕВ. Мелатонин как универсальный модулятор любых патологических процессов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016;60(1):79-88. doi: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2016.01.79-88>
8. Хавинсон ВХ, Линькова НС, Кветной ИМ, Кветная ТВ, Полякова ВО, Корф Х. Молекулярно-клеточные механизмы пептидной регуляции синтеза мелатонина в культуре пинеалоцитов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012;153(2):223-6.
9. Fernandez F, Lu D, Ha P, Costacurta P, Chavez R, Heller HC, et al. Circadian rhythm. Dysrhythmia in the suprachiasmatic nucleus inhibits memory processing. *Science*. 2014;346(6211):854-7. doi: 10.1126/science.1259652
10. Bedont JL, Newman EA, Blackshaw S. Patterning, specification, and differentiation in the developing hypothalamus. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2015;4(5):445-68. doi: 10.1002/wdev.187
11. Wang JL, Lim AS, Chiang WY, Hsieh WH, Lo MT, Schneider JA, et al. Suprachiasmatic neuron numbers and rest-activity circadian rhythms in older humans. *Ann Neurol*. 2015;78(2):317-22. doi: 10.1002/ana.24432

References

1. Bondarenko LA, Gubina-Vakulik GI, Gevorkyan AR. Pineal'naya zheleza i gipotalamo-gipofizarno-tireoidnaya sistema: vozrastnye i khronobiologicheskie aspekty [Pineal gland and hypothalamic-pituitary-thyroid system: age and chronobiological aspects]. Khar'kov; 2013. 264 p. (in Russian)
2. Timofei OV, Bulyk RYe, Lomakina YuV. Efekty melatoninu na ekspresiiu gena c-fos u neuronakh medial'nogo dribnoklityn'nogo sub'iadra paraventrykuliarnogo yadra hipotalamusa shchuriv pry zminenomu fotoperiodi [Melatonin's effects on the c-fos

- gene expression in neurons of the medial small subnucleus of hypothalamus paraventricular nucleus of rats under altered light condition]. *Svit medytsyny ta biolohii*. 2015;2:188-92. (in Ukrainian)
- Bedont JL, Blackshaw S. Constructing the suprachiasmatic nucleus: a watchmaker's perspective on the central clockworks. *Front Syst Neurosci* [Internet]. 2015[cited 2021 Sep 29];9:74. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4424844/pdf/fnsys-09-00074.pdf> doi: 10.3389/fnsys.2015.00074
 - Zamorskiy II, Sopova IYu, Khavinson VKh. Vliyanie melatonina i epitalamina na sodержanie produktov belkovoy i lipidnoy peroksidatsii v kore bol'shikh polu-shariy i gippokampe mozga krys v usloviyakh ostroy gipoksii [The effect of melatonin and epitalamin on the content of protein and lipid peroxidation products in the cerebral cortex and the hippocampus of rat brain in acute hypoxia]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2012;154(7):59-61. (in Russian)
 - Venegas C, García JA, Escames G, Ortiz F, López A, Doerrier C, et al. Extrapineal melatonin: analysis of its subcellular distribution and daily fluctuations. *J Pineal Res*. 2012;52(2):217-27. doi: 10.1111/j.1600-079X.2011.00931.x
 - Kiessling S, Sollars PJ, Pickard GE. Light stimulates the mouse adrenal through a retinohypothalamic pathway independent of an effect on the clock in the suprachiasmatic nucleus. *PLoS One* [Internet]. 2014[cited 2021 Sep 30];9(3):e92959. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962469/pdf/pone.0092959.pdf> doi: 10.1371/journal.pone.0092959
 - Arushanian EB, Schetinina EV. Melatonin kak universal'nyy modulyator lyubykh patologicheskikh protsessov [Melatonin as a universal modulator of any pathological processes]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2016;60(1):79-88. doi: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2016.01.79-88> (in Russian)
 - Khavinson VKh, Lin'kova NS, Kvetnoy IM, Kvetnaya TV, Polyakova VO, Korf Kh. Molekulyarno-kletochnye mekhanizmy peptidnoy regulyatsii sinteza melatonina v kul'ture pinealotsitov [Molecular Cellular Mechanisms of Peptide Regulation of Melatonin Synthesis in Pinealocyte Culture]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2012;153(2):223-6. (in Russian)
 - Fernandez F, Lu D, Ha P, Costacurta P, Chavez R, Heller HC, et al. Circadian rhythm. Dysrhythmia in the suprachiasmatic nucleus inhibits memory processing. *Science*. 2014;346(6211):854-7. doi: 10.1126/science.1259652
 - Bedont JL, Newman EA, Blackshaw S. Patterning, specification, and differentiation in the developing hypothalamus. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2015;4(5):445-68. doi: 10.1002/wdev.187
 - Wang JL, Lim AS, Chiang WY, Hsieh WH, Lo MT, Schneider JA, et al. Suprachiasmatic neuron numbers and rest-activity circadian rhythms in older humans. *Ann Neurol*. 2015;78(2):317-22. doi: 10.1002/ana.24432

Відомості про авторів:

Булик Р.С. – д.мед.н., проф., зав. кафедри медичної біології та генетики, Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, Україна.

Сметанюк О.В. – асистент кафедри медичної біології та генетики, Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, Україна.

Власова К.В. – к.мед.н., доцент кафедри медичної біології та генетики, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.

Кривчанська М.І. – к.мед.н., доц. кафедри медичної біології та генетики, Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, Україна.

Сведения об авторах:

Булык Р.Е. – д.мед.н., проф., зав. кафедрой медицинской биологии и генетики Буковинского государственного медицинского университета, г. Черновцы, Украина.

Сметаниук А.В. – ассистент кафедры медицинской биологии и генетики Буковинского государственного медицинского университета, г. Черновцы, Украина.

Власова К.В. – к.м.н., доцент кафедры медицинской биологии и генетики Буковинского государственного медицинского университета, г. Черновцы, Украина.

Кривчанская М.И. – к.мед.н., доц. кафедры медицинской биологии и генетики Буковинского государственного медицинского университета, г. Черновцы, Украина.

Information about the authors:

Bulyk R.Ye. – Doctor of Medical sciences, Professor, Head of the Department of Medical Biology and Genetics, Bukovinian state medical university, Chernivtsi, Ukraine.

Smetaniuk O.V. – assistant of the Department of Medical Biology and Genetics of Bukovinian state medical university, Chernivtsi, Ukraine.

Vlasova K.V. – PhD, Associate Professor of the Department of Medical Biology and Genetics Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Kryvchanska M.I. – PhD, Associate Professor of the Department of Medical Biology and Genetics, Bukovinian state medical university, Chernivtsi, Ukraine.

Стаття надійшла до редакції 25.06.2021 р.

Рецензент – проф.С.С. Ткачук

© Р.С. Булик, О.В. Сметанюк, К.В. Власова, М.І. Кривчанська, 2021

