

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СМЕТАНЮК ОЛЕКСІЙ ВАСИЛЬОВИЧ

УДК 611.814.1.018:591.044]-053

ДИСЕРТАЦІЯ

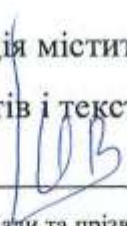
**ВІКОВІ АСПЕКТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
ВЕЛИКОКЛІТИННИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА
ПРИ СТРЕСОГЕННИХ ВПЛИВАХ**

22 – Охорона здоров'я; 222 – Медицина

14.03.01 – нормальна анатомія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело


_____ О.В. Сметанюк
(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник – Булик Роман Євгенович, доктор медичних наук,
професор

Чернівці – 2022

АНОТАЦІЯ

Сметанюк О.В. Вікові аспекти структурно-функціонального стану великоклітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (14.03.01 – нормальна анатомія). Буковинський державний медичний університет МОЗ України, Чернівці, 2022.

Буковинський державний медичний університет МОЗ України, Чернівці, 2022.

Дисертаційна робота присвячена віковим аспектам структурно-функціонального стану великоклітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах. У дисертації визначені закономірності вікової хроноритмічної організації вищого центру координації вегетативних функцій – пришлуночкових (ПШЯ) і надзорових ядер (НЯ) гіпоталамуса залежно від модифікацій фотоперіоду, що є необхідним для пізнання центральних механізмів циркадіанних ритмів головного мозку старих щурів.

Дослідження проведені на 178 старих нелінійних самцях білих щурів віком 24-30 міс., масою 320-460 г із застосуванням комплексу методів дослідження, який включає: імуногістохімічні (застосування поліклональних антитіл до мелатонінових рецепторів 1A), морфометричні, денситометричні (аналіз нейронів пришлуночкового та надзорового ядер гіпоталамуса й кількісне визначення вмісту в них РНК), гістологічні (вивчення досліджуваних структур на світлооптичному рівні), електронно-мікроскопічні (вивчення досліджуваних структур на ультраструктурному рівні) та статистичний.

У результаті проведеного дослідження з'ясовано, що функціонування нейронів присередніх дрібноклітинних (пдсПШЯ) та задньобічних велико-

клітинних суб'ядер (звсПШЯ) гіпоталамуса щурів відзначається циркадною ритмічністю. За умов світлової депривації проявляється десинхроноз активності досліджуваних нейросекреторних клітин гіпоталамуса та зсув найбільших величин площі структур нейрона з 14.00 до 02.00 год. Відсутність вираженого підсилення функціональної активності присередніх дрібноклітинних суб'ядер та вірогідних відмінностей площі тіл нейронів, їх ядер, ядерець, цитоплазми, концентрації в них РНК, ядерно-цитоплазматичного співвідношення (ЯЦС), питомих об'ємів ядер і цитоплазми у тварин, які знаходилися за світлових режимів 12.00С:12.00Т та 24.00С:00Т дозволяє припустити широкі межі пластичності досліджуваних нейросекреторних клітин при утримуванні тварин за умов постійного освітлення впродовж тижня.

За світлового стресу в звсПШЯ гіпоталамуса, уночі виявлено вірогідне збільшення площі тіла нейрона на 9,3 % щодо такої в інтактних старих тварин о 02.00 год. Така картина спричинена вірогідним підвищенням площі ядра на 16,1 % та ядерець нейрона – на 27,3 %. Постійне освітлення віддзеркалилося і вірогідним зростанням концентрації РНК в ядрі на 5,5 %, ядерець – на 9,2 % та цитоплазмі – на 7,9 % стосовно групи попереднього часового інтервалу.

Тривалість фотоперіоду більш суттєво впливає на мофрометричну та денситометричну структуру нейронів надзорових ядер, ніж суб'ядер ПШЯ гіпоталамуса старих щурів. Постійний світловий режим десинхронізує морфо-функціональну активність нейронів НЯ гіпоталамуса, змінює концентрацію РНК у їхньому ядрі, ядерець та цитоплазмі. Уведення мелатоніну (1,0 мг/кг маси тіла тварини) старим щурам, що перебували за умов постійного освітлення нормалізує показники площі нейронів надзорового ядра (НЯ) і концентрацію у них РНК. Водночас, мелатонін не корегував ритм активності нейронів НЯ, який залишався таким, як і при тривалому фотоперіоді та інверсним щодо старих тварин, які перебували за звичайного світлового режиму. Рівень концентрації РНК у нейронах НЯ

гіпоталамуса о 02.00 год не зазнає вірогідних змін у групах порівняння, що, ймовірно, свідчить про залучення додаткових ендогенних механізмів, спрямованих на збереження функціональної активності нейронів у вказаний період, коли в нормі в організмі продукується найбільше мелатоніну.

Електронно-мікроскопічні дослідження нейронів НЯ гіпоталамуса старих щурів за умов стандартного світлового режиму характеризуються збільшеною активністю клітин у нічний проміжок часу порівняно з денним періодом. Утримування старих тварин за умов світлового стресу викликає більш виражені зміни морфо-функціонального стану нейронів НЯ гіпоталамуса, ніж за умов світлової депривації, зокрема це чітко простежується о 02.00 год.

Показано доцільність застосування мелатоніну (1,0 мг/кг маси тіла тварини) упродовж 7 діб за умов світлового стресу, що зумовлює підвищення компенсаторно-пристосувальних перетворень, відновлення циркадіанного ритму добової динаміки з тенденцією до нормалізації показників щільності рецепторів мелатоніну 1А і морфо-функціональної активності у НЯ гіпоталамуса старих щурів. При застосуванні мелатоніну на фоні тривалого освітлення кількість позитивно забарвлених на мелатонінові рецептори 1А нейронів складає о 02.00 год – $0,412 \pm 0,0025$ одиниць оптичної щільності (о. опт. щільності) та о 14.00 год – $0,324 \pm 0,0027$ у. о. опт. щільності відповідно і наближається до такої у контрольній групі старих щурів.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених експериментальних досліджень розширюють уяву про механізми хроно-нейроендокринної інтеграції у формуванні циркадіанних ритмів, і зокрема участь у них нейроендокринних трансдукторів – пдсПШЯ і звсПШЯ та великоклітинних нейросекреторних клітин НЯ гіпоталамуса старих щурів.

Отримано нові фундаментальні відомості про щільність мелатонінових рецепторів та структурні перетворення периферичних компонентів системи, що регулює добові ритми та адаптацію при впливі світла, що може бути

морфологічним підґрунтям для розробки нових підходів і принципів профілактики та лікування десинхронозу, пов'язаного з цілодобовим освітленням. Одержані результати доцільно враховувати у науково-педагогічному процесі на кафедрах анатомії людини, патологічної фізіології, гістології, цитології.

Науково обґрунтовано доцільність застосування мелатоніну для корекції морфо-функціональних та імуногістохімічних порушень субпопуляцій нейронів ПШЯ, а також нейронів НЯ гіпоталамуса старих щурів при світловому стресі.

Ключові слова: циркадіанний ритм, гіпоталамус, морфо-функціональний стан, фотоперіод, мелатонін, рецептори, старі щури.

ANNOTATION

Smetanyuk O.V. Age aspects of the structural and functional state of the large cell nuclei of the hypothalamus under stress. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a doctor of philosophy science degree in specialty 222 “Medicine” (14.03.01 - normal anatomy). – Bukovynian State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Chernivtsi, 2022.

Bukovynian State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Chernivtsi, 2022.

The thesis is devoted to the age-related aspects of the structural and functional state of the large-cell hypothalamic nuclei under stress-induced influences. The thesis establishes the morphological basis for the regularities of age-related chronorhythmic organization of the supreme center of coordination of autonomic functions – paraventricular and suprachiasmatic nuclei of hypothalamus depending on the photoperiod modifications, which is necessary for studying the central mechanisms of circadian rhythms of the brain.

The studies were performed on 158 old nonlinear male white rats aged 24-30 months, weighing 320-460 g, using a complex of adequate research methods, which included: immunohistochemical (application of polyclonal antibodies to melatonin receptors 1, densitometric (analysis of paraventricular and suprachiasmatic hypothalamic nuclei neurons and quantification of RNA content in them), histological (analysis of structures under study at light-optical level), electron microscopic (study of structures under study at ultrastructural level), statistical.

As a result of this study, we found that the functioning of neurons of the medial small-cell and lateral large-cell subjects of the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus is characterized by circadian rhythmicity. Light deprivation manifested desynchronosis of the activity of the studied hypothalamic neurosecretory cells and a shift of the highest values of the neuron structures area from 2 p.m. to 2 a.m. Absence of a marked increase in the functional activity of the medial small-cell subjects and reliable differences in the areas of neuronal bodies, their nuclei, nucleoli, cytoplasm, RNA concentration in them, nuclear-cytoplasmic ratio, specific nuclei and cytoplasmic volume in animals kept under the light conditions of 12.00L:12.00D and 24.00L:00D suggests wide limits of plasticity of the neurosecretory cells under study when keeping animals in constant light for a week.

During light stress in the lateral large-cell subnuclei of the paraventricular nucleus of the hypothalamus at night, a probable increase in the neuron body area by 9.3 % relative to that in intact old animals at 2 a.m. was detected. This pattern was caused by a possible 16.1 % increase in the nucleus area and a 27.3 % increase in the neuron nucleolus area. Constant illumination was also reflected by a probable increase in RNA concentration in the nucleus by 5.5 %, nucleolus by 9.2 %, and cytoplasm by 7.9 % relative to the group of the previous time interval.

The duration of photoperiod has a significant effect on the morphometric and densitometric structure of suprachiasmatic neurons than on the subnuclei of the

paraventricular nuclei of the hypothalamus of old rats. Constant light desynchronizes the morphofunctional activity of suprachiasmatic hypothalamic nuclei neurons and alters the RNA concentration in the nucleus, nucleolus, and cytoplasm. Administration of melatonin (1.0 mg/kg of animal body weight) to aged rats under constant light conditions normalized the area indices of SN neurons and RNA concentration in them. At the same time, melatonin did not correct the rhythm of activity of the supraoptic nucleus neurons, which remained the same as during the long photoperiod and inverse with respect to the aged animals under the normal light regime. The level of RNA concentration in the hypothalamic SN neurons at 2 a.m. did not undergo probable changes in the comparison groups, which probably indicates the involvement of additional endogenous mechanisms aimed at maintaining the functional activity of neurons during the above period, when the body normally produces the most melatonin amount.

Electron microscopic studies of supraoptic neurons of hypothalamic nuclei of old rats under standard light conditions were characterized by the increased activity of cells during the night period compared to the day period. Keeping old animals under conditions of light stress caused more pronounced changes in the morphofunctional state of neurons of hypothalamic supraoptic nuclei than under conditions of light deprivation, in particular, this was clearly observed at 2 a.m.

The reasonability of melatonin application (1.0 mg/kg of animal body weight) for 7 days under light stress was shown, which led to an increase in compensatory-adaptive transformations, restoration of circadian rhythm of diurnal dynamics with a tendency to normalization of 1A melatonin receptor density indicators and morphofunctional activity in the supraoptic nucleus of the hypothalamus of aged rats. When melatonin was applied against the background of prolonged illumination, the number of neurons positively stained for 1A melatonin receptors was 0.412 ± 0.0025 AU at 2 a.m. and 0.324 ± 0.0027 AU at 2 p.m. respectively and was close to that of the control group of old rats.

Practical significance of the obtained results. The results of the experimental studies expand the idea of the morphological basis of the mechanisms of chrononeuroendocrine integration in the formation of circadian rhythms and, in particular, the participation in them of neuroendocrine transducers – lateral large-cell and medial small-cell subnuclei of the paraventricular nuclei and large-cell neurosecretory cells of the hypothalamic supraoptic nuclei of old rats.

New fundamental data on melatonin receptor density and structural transformations of peripheral components of the system regulating diurnal rhythms and adaptation under light exposure have been obtained, which may form the basis for the development of new approaches and principles of prevention and treatment of desynchronosis associated with 24-hour light. The results are advisable to consider in the process of teaching pathological histology, cytology, physiology, hygiene and ecology.

The scientific validity of using melatonin for the correction of morphofunctional and immunohistochemical disorders of the subpopulations of the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus of old animals under light stress has been scientifically proved.

Key words: circadian rhythm, hypothalamus, morphofunctional state, photoperiod, melatonin, receptors, old rats.

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Сметанюк ОВ, Булик РС, Власова КВ, Волошин ВЛ. Морфо-функціональна активність нейронів надзорових ядер гіпоталамуса щурів під дією стресу. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2019;18(3):121-6. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-0847.18.3.2019.23>

2. Сметанюк ОВ, Булик РС, Булик ТС, Кривчанська МІ. Вплив світлової депривації на морфо-функціональний стан нейронів надзорових

ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2020;19(4):61-7. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.4.74.2020.9>

3. Булик РЄ, Федонюк ЛЯ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Стрес-індуковані зміни морфо-функціонального стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2020;4:43-9. doi: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2020.v.i4.11756>

4. Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Вплив мелатоніну на стрес-зумовлені ультраструктурні перебудови нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Буковинський медичний вісник. 2021;25(3):25-32. <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.4>

5. Булик РЄ, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику нейронів паравентрикулярних ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2021;20(3):11-8. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.2>

6. Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Ефекти мелатоніну на щільність мелатонінових рецепторів у надзоровому ядрі гіпоталамуса щурів за умов стресу. Вісник проблем біології і медицини. 2021;3:245-8. doi: [10.29254/2077-4214-2021-3-161-245-248](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-3-161-245-248)

7. Сметанюк ОВ. Характер змін активності великоклітинних ядер гіпоталамуса щурів за модифікації фотоперіоду. Клінічна та експериментальна патологія. 2021;20(4):87-92. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.4.78.2021.0>

8. Bulyk RYe, Smetaniuk OV, Bulyk TS, Kryvchanska MI. Morphometric analysis of supraoptic neurons of the rat hypothalamic nuclei under conditions of prolonged illumination. J Educ Health Sport. 2021;11(10):215-20. doi: <https://doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.019>

9. Bulyk RY, Smetanyuk OV, Vlasova KV, Kryvchanska MI, Yosypenko VR, et al. Morphohistochemical alterations of neurons of the supraoptic nucleus of

the rat hypothalamus at different durations of the photoperiod and melatonin administration. Journal of medicine and life. 2021;14(6):810–5. doi: <https://doi.org/10.25122/jml-2021-0220>. *Scopus*

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

10. Сметанюк ОВ. Ультраструктурний стан нейросекреторних клітин супраоптичних ядер гіпоталамуса щурів за модифікацій фотоперіоду. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 101-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2020 Лют 10, 12, 17; Чернівці. Чернівці: БДМУ; 2020, с. 66.

11. Сметанюк ОВ. Добові варіації морфо-функціональної активності надзорних ядер гіпоталамуса щурів. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 102-ї підсумкової наук.-практ. конф. з міжнар. участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету; 2021 Лют 08, 10, 15; Чернівці. Чернівці: БДМУ; 2021, с. 69.

12. Власова КВ, Волков КС, Булик РЄ, Сметанюк ОВ. Ультраструктурні зміни нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів при постійному освітленні. В: Небесна ЗМ, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень; 2019 Жов 10-11; Тернопіль. Тернопіль: ТНМУ; 2019, с. 20-2.

13. Власова КВ, Булик РЄ, Сметанюк ОВ. Варіації цитометричних показників надзорних ядер гіпоталамуса за різної тривалості. В: Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології; 2019 Жов 17-18; Яремче; Яремче: ІФНМУ; 2019, с. 18-9.

14. Bulyk RYe, Vlasova KV, Smetaniuk OV. The hypothalamic supraoptic nuclei reaction on stress. В: Бойчук ТМ, Цигикало ОВ, Олійник ІЮ, редактори. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині; 2019 Жов 24-25; Чернівці. Чернівці: БДМУ; 2019, с. 45.

15. Сметанюк ОВ, Булик РЄ. Аналіз морфо-функціонального статусу надзорних ядер гіпоталамуса щурів у різні періоди доби. В: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Медичні та фармацевтичні науки: аналіз сучасності та прогноз майбутнього; 2020 Лис 13-14; Дніпро. Дніпро: Salutem; 2020, с. 26-9.

16. Булик РЄ, Власова КВ, Сметанюк ОВ. Морфо-функціональні особливості змін нейронів надзорних ядер гіпоталамуса щурів під дією світлової депривації. В: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики; 2020 Гру 25-26; Львів. Львів: Львівська медична спільнота; 2020, с. 77-80.

17. Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Вплив мелатоніну на ультраструктурну організацію нейронів надзорного ядра гіпоталамуса щурів при стресі. В: Матеріали VII Національного конгресу геронтологів і геріатрів України; 2021 Жов 6-8; Київ. Київ; 2021, с. 14.

18. Власова КВ, Волошин ВЛ, Сметанюк ОВ. Варіації цитометричних показників надзорних ядер гіпоталамуса щурів за постійного освітлення. В: Матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. Modern Science: Innovations and Prospects; 2021 Гру 5-7; Стокгольм, Швеція : Стокгольм; 2021, с. 90-2.

19. Vlasova KV, Bulyk RYe, Davydenko IC, Yosypenko VR, Smetaniuk OV. Diurnal variations of cytometric parameters of hypothalamic supraoptic nucleus neurocytes in rats under stress conditions. In: *Conference proceedings Natural Science Readings*; 2019 May 30-31; Bratislava. Bratislava; 2019, p. 103-4.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень.....	14
ВСТУП.....	15
РОЗДІЛ 1. БІОРИТМІЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ ФУНКЦІЙ ОРГАНІЗМУ В НОРМІ ТА ПІД ДІЄЮ СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	24
1.1. Гіпоталамус і циркадні ритми як провідний чинник регуляції життєдіяльності організмів.....	24
1.2. Біоритмічні аспекти розвитку стрес-реакції.....	31
1.3. Мелатонін – метаболізм та механізм дії.....	38
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	52
2.1. Експериментальні тварини.....	52
2.2. Серії експериментальних досліджень.....	52
2.3. Забір біоматеріалу.....	54
2.4. Морфометрія гістологічних зображень.....	54
2.5. Ультрамикроскопія препаратів.....	57
2.6. Морфометрична і денситометрична характеристика нейронів гіпоталамуса щурів.....	58
2.7. Імуногістохімічне дослідження мелатонінових рецепторів 1А.....	59
2.8. Методи статистичного аналізу.....	60
РОЗДІЛ 3. ГІСТОЛОГІЧНА ТА МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ НЕЙРОНІВ ПРИСЕРЕДНІХ ДРІБНОКЛІТИННИХ СУБ'ЯДЕР ПРИШЛУНОЧКОВИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА СТАРИХ ЩУРІВ ЗА РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ.....	62
3.1. Структурні зміни за різної тривалості фотоперіоду.....	62
3.2. Ефекти мелатоніну на морфо-функціональну активність присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкового ядра гіпоталамуса старих щурів за умов постійного освітлення.....	78

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ НА МОРФО- ТА ДЕНСИТОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗИ НЕЙРОНІВ ЗАДНЬО- БІЧНИХ ВЕЛИКОКЛІТИННИХ СУБ'ЯДЕР ПРИШЛУНОЧКО- ВИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА СТАРИХ ЩУРІВ.....	96
4.1. Параметри суб'ядер за різної тривалості фотоперіоду.....	96
4.2. Показники морфо-функціональної активності заднобічних вели- коклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса ста- рих щурів за умов постійного освітлення й уведення мелатоніну.	112
Розділ 5. МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНІВ НАДЗОРОВИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА СТАРИХ ЩУРІВ ЗА РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ, ВПЛИВУ СТРЕСУ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ.....	129
5.1. Вплив світлової депривації та стимуляції.....	129
5.2. Експериментальна терапія порушень морфо-функціональної активності нейронів надзорових ядер гіпоталамуса старих щурів, спричинених світловим стресом	143
5.3. Субмікроскопічні дослідження надзорового ядра гіпоталамуса інтактної групи старих тварин.....	149
5.4. Ультраструктурна організація нейросекреторних клітин за умов світлового стресу та уведення мелатоніну.....	155
РОЗДІЛ 6. ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ЩІЛЬНОСТІ МЕЛАТОНІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ У НАДЗОРОВОМУ ЯДРІ ГІПОТАЛАМУСА СТАРИХ ЩУРІВ ЗА МОДИФІКАЦІЙ ФОТОПЕРІОДУ ТА УВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ	161
РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	171
ВИСНОВКИ	187
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	189
ДОДАТКИ	227

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АКТГ	– адренокортикотропний гормон (кортикотропін)
ВП	– вазопресин
ГАМК	– гамма-аміномасляна кислота
ГГАКС	гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальна система
ГГНС	– гіпоталамо-гіпофізарна нейросекреторна система
ГІОМТ	– гідроксііндол-О-метилтрансфераза
ДА	– дофамін
ЕПР	– ендоплазматичний ретикулум
КЛ	– кортиколіберин
МТ	– мелатонін
НА	– норадреналін
НЯ	– надзорове ядро
НПЯ	– надперехресне (супрахізматичне) ядро
НСК	– нейросекреторні клітини
ПШЯ	– пришлуночкове ядро
звсПШЯ	– задньобічне великоклітинне суб'ядро ПШЯ
пдсПШЯ	– присереднє дрібноклітинне суб'ядро ПШЯ
ЦР	– циркадіанний (білядобовий) ритм
ШЗ	– шишкоподібна залоза
6-СОМ	– 6-сульфатоксимелатонін
ЯЦС	– ядерно-цитоплазматичне співвідношення

ВСТУП

Обґрунтування теми дисертаційного дослідження. Багато фізіологічних та поведінкових процесів проявляють циркадіанні (білядобові) ритми, які генеруються внутрішніми хронометричними системами, біологічним годинником [4, 124, 202, 244, 310]. У ссавців місцем розташування головного пейсмекера, що контролює циркадіанні ритми є надперехресне ядро (НПЯ) гіпоталамуса [3, 17]. Синхронізація пейсмекера з геофізичних добовим циклом відбувається за допомогою освітлення [43, 177]. Від НПЯ гіпоталамуса інформація про освітленість поширюється до шишкоподібної залози (ШЗ, епіфіза мозку) [25, 170, 281]. Залоza є частиною системи, яка здатна сприймати зміни рівня освітленості довкілля і забезпечувати циркадіанні ритми функціонування організму, зокрема шляхом синтезу її провідного гормону – мелатоніну (МТ) [51]. Показано, що секреція МТ підпорядкована чітким добовим варіаціям із мінімальним значенням вдень і максимумом близько 02.00 год [29, 228]. Порушення світлового режиму (тривале освітлення, постійна темрява) є визначальним стресором, що призводить до розвитку десинхронозу [7]. Також відомо, що добова ритмічність істотно порушується із віком [44, 131, 159]. Застосування екзогенного мелатоніну в різних дозах (0,5-6,0 мг) є ефективним щодо покращання суб'єктивних та об'єктивних параметрів фізіологічних та поведінкових процесів у людей літнього і старечого віку та тварин [5, 7, 199, 249, 267].

Гіпоталамус, як вищий підкірковий центр вегетативної нервової системи, має потужний регулювальний вплив на всі життєвоважливі функції організму, у т. ч., і на підтримання гомеостатичної рівноваги живої системи, яка порушується внаслідок впливу стресорів [12, 23, 49].

Однією з важливих ланок нейроендокринної адаптації мозку до стресу є пришлуночкові ядра гіпоталамуса (ПШЯ), які визначають реактивність усіх

ланок гіпоталамо-гіпофізарно-аденокортикальної системи (ГГАКС) та забезпечують розвиток адаптаційних реакцій та формування резистентності організму до стресу [106, 195, 272]. Вважається, що специфічним активатором ГГАКС є кортикотропін-рилізінг гормон (кортиколіберин – КЛ), що синтезується нейронами підсПШЯ [2, 269]. Нейроцити підсПШЯ мають можливість одночасно з КЛ синтезувати [Arg8]-вазопресин (ВП), який надає стимулювальний і, спільно з КЛ, пермісивний ефекти на синтез адренокортикотропного гормону (АКТГ) і кортикостероїдів. При цьому низка досліджень показує більш ранню активацію ВП-ергічної системи на стрес порівняно з КЛ-ергічною [269]. Разом з тим, основним місцем синтезу ВП у ПШЯ є великоклітинні нейрони поруч розташованої бічної частини заднього великоклітинного суб'ядра ПШЯ гіпоталамуса [1, 147].

До важливих ланок нейроендокринної системи гіпоталамуса разом із ПШЯ належать і НЯ (супраоптичні) ядра, нейрони яких синтезують ВП і окситоцин, транспортують їх в нейрогіпофіз і згодом ву кровотік [3]. Механізми циркадіанної пейсмеркерної активності нейронних систем ПШЯ і НЯ гіпоталамуса в даний час підлягають інтенсивним дослідженням. Водночас відомості, що торкаються впливів модифікацій фотоперіоду (зокрема, постійного освітлення) на гістологічний, морфометричний, денситометричний та ультрамікроскопічний стан вразливих структур гіпоталамуса (ПШЯ і НЯ) у віковому аспекті, залишаються фрагментарними.

У зв'язку з важливою роллю вказаних нейросекреторних ядер гіпоталамуса у формуванні послідовності нейроендокринних змін при стресі і стрес-реактивності організму, а також враховуючи той факт, що у процесі онтогенезу знижується стійкість організму до дії пошкоджувальних стрес-чинників, актуальним є також вивчення щільності МТ-рецепторів у цих структурах при впливі на організм старих тварин модифікацій фотоперіоду та ефектів МТ.

Таким чином, незважаючи на накопичений значний експериментальний матеріал, закономірності індукованих світлом структурних перетворень ПШЯ і НЯ гіпоталамуса у віковому аспекті залишаються не встановленими.

Не визначена залежність щільності мелатонінових рецепторів у великоклітинних ядрах гіпоталамуса старих щурів від зміни світлового режиму. На даний час дослідження функціональної морфології центральних і периферичних осциляторів, що регулюють добові ритми і адаптацію організму, розглядається як одна з важливих проблем біології та медицини. Вивчення морфо-функціональних аспектів адаптації ПШЯ гіпоталамуса старих щурів при впливі світла та застосування мелатоніну відкриває широкі можливості для розкриття закономірностей організації ритмічної діяльності досліджуваних утворень гіпоталамуса та структурних проявів компенсаторно-пристосувальних перетворень вищого центру координації вегетативних функцій.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри медичної біології та генетики Буковинського державного медичного університету “Морфо-функціональне і біохімічне обґрунтування дисфункцій нейросекреторних структур головного мозку й ендокринних залоз та гепаторенальної системи щурів при експериментальній патології, у віковому аспекті та шляхи її корекції” (№ державної реєстрації 0119 U101346 – фундаментальна). Термін виконання 01.2019-12.2023 рр. Автор є співвиконавцем зазначеної теми, виконавцем фрагменту “Стрес-індуковані зміни структурно-функціонального стану великоклітинних ядер гіпоталамуса щурів”.

Тема дисертації затверджена на засіданні вченої ради Буковинського державного медичного університету (протокол № 4 від 22 листопада 2018 р.).

Мета роботи. Визначення структурно-функціональних перебудов надзорових та пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів при

стресогенних впливах, а також ролі мелатоніну в механізмах корекції виявлених відхилень.

Для досягнення вказаної мети поставлені такі завдання:

1. Встановити морфологічні та денситометричні перебудови нейронних популяцій пришлуночкових ядер гіпоталамуса впродовж доби.
2. Визначити особливості впливу світлового стресу та світлової депривації на площу нейронів присередніх дрібноклітинних кортиколіберинпродукуючих суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса, їх ядерець та цитоплазми, а також концентрацію в них РНК.
3. Охарактеризувати стан активності задньобічних великоклітинних вазопресинсинтезуючих суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса за тривалого освітлення та постійної темряви.
4. Встановити динаміку перебудов надзорових ядер гіпоталамуса на світлооптичному та електронно-мікроскопічному рівнях за умов світлової стимуляції в різні періоди доби.
5. Проаналізувати щільність рецепторів мелатоніну 1А у надзоровому ядрі гіпоталамуса щурів за модифікацій фотоперіоду в циркадіанному аспекті, при світловому стресі та уведенні мелатоніну.
6. З'ясувати роль мелатоніну в механізмах корекції відхилень морфологічного, денситометричного та ультраструктурного стану досліджуваних популяцій нейронів пришлуночкового ядра та надзорового ядра гіпоталамуса щурів, викликаних світловим стресом.

Об'єкт дослідження: перебудови субпопуляцій нейронів пришлуночкового ядра та надзорового ядра гіпоталамуса щурів за різної модифікації фотоперіоду.

Предмет дослідження: морфологічні, денситометричні зміни задньобічних великоклітинних і присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлу-

ночкового ядра та надзорного ядра гіпоталамуса щура за різної тривалості циклу світло-темрява та їх корекція мелатоніном.

Методи дослідження: імуногістохімічні (застосування поліклональних антитіл до мелатонінових рецепторів 1A), морфометричні, денситометричні (аналіз нейронів пришлуночкового та надзорного ядер гіпоталамуса і кількісне визначення вмісту в них РНК), гістологічні (вивчення досліджуваних структур на світлооптичному рівні), електронно-мікроскопічні (вивчення досліджуваних структур на ультраструктурному рівні), кореляційного та регресійного аналізу, математичної статистики (обробка отриманих результатів).

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі на основі теоретичного підходу та експериментального дослідження вперше розкрито нові, невідомі раніше, вікові закономірності морфо-функціональних змін задньобічних великоклітинних і присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкового ядра та надзорного ядра гіпоталамуса старих щурів за різної тривалості світлового періоду.

Вперше досліджено добові закономірності перебудов морфометричних та денситометричних параметрів нейросекреторних клітин (НСК) гіпоталамуса при модифікації фотоперіоду у старих щурів. Зростання денситометричних параметрів більш виражене за світлового стресу в звсПШЯ гіпоталамуса, зокрема спостереженнями, проведеними уночі виявлено вірогідне збільшення площі тіла нейрона на 9,3 % щодо такої в інтактних старих тварин о 02.00 год. Така картина спричинена вірогідним підвищенням площі ядра на 16,1 % та ядерця нейрона – на 27,3 %. Постійне освітлення віддзеркалилося і вірогідним зростанням концентрації РНК в ядрі на 5,5 %, ядерці – на 9,2 % та цитоплазмі – на 7,9 % стосовно групи попереднього часового інтервалу.

Вперше встановлено більш виражені добові закономірності перебудов морфо-функціональних параметрів НСК НЯ гіпоталамуса, ніж у субпопуля-

ціях нейронів ПШЯ гіпоталамуса старих щурів.

Уперше на підставі проведених ультраструктурних досліджень у щурів за умов світлової стимуляції виявлені деструктивні порушення в нейроцитах надзорового ядра гіпоталамуса старих щурів, зниження їх функціональної активності у досліджувані періоди доби, ніж при світловій депривації.

На основі комплексного вивчення характеру щільності мелатонінових рецепторів у нейронах НЯ гіпоталамуса старих щурів впродовж доби отримано переконливі докази фото-індукованого порушення циркадіанного ритму функціонування мелатонінових рецепторів у досліджуваних НСК. При постійному освітленні оптична густина специфічного забарвлення досліджуваних структур вірогідно менша, ніж при світловій депривації. Крім того, імуногістохімічне дослідження показало, що за умов світлового стресу порушується циркадіанний ритм функціонування мелатонінових рецепторів у нейронах НЯ гіпоталамуса, що характеризується невірогідною різницею показників ($p > 0,05$) у досліджувані періоди доби. Водночас, при світловій депривації найбільший показник відзначається о 02.00 год, складаючи $0,499 \pm 0,0025$ в.од.опт. щільності. Тижневе уведення мелатоніну за умов тривалого освітлення проявляється тенденцією до нормалізації оптичної густини специфічного забарвлення на мелатонінові рецептори 1А у нейронах надзорних ядер старих щурів, що особливо помітно у зразках, відібраних на дослідження о 02.00 год, коли показник перебував у межах $0,408 \pm 0,0024$ у. о. опт. щільності.

Доведена закономірність, згідно з якою уведення екзогенного мелатоніну (1,0 мг/кг) старим щурам сприяє зростанню резистентності ультраструктур до світлового стресора, покращанню показників площі компонентів нейронів ПШЯ та концентрації у них РНК, тенденції до нормалізації морфометричних показників компонентів нейронів ПШЯ і НЯ гіпоталамуса тварин.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених експериментальних досліджень розширюють уяву про механізми хроно-

нейроендокринної інтеграції у формуванні циркадіанних ритмів, і зокрема участь у них нейроендокринних трансдукторів – звсПШЯ і пдсПШЯ та великоклітинних НСК НЯ гіпоталамуса старих щурів.

Отримано нові фундаментальні відомості про структурні перетворення периферичних компонентів системи, яка регулює добові ритми та адаптацію при впливі світла, що може бути морфологічним підґрунтям для розробки нових підходів і принципів профілактики та лікування десинхронозу, пов'язаного з цілодобовим освітленням. Одержані результати доцільно враховувати у науково-педагогічному процесі на кафедрах анатомії людини, патологічної фізіології, гістології, цитології.

Науково обґрунтовано доцільність застосування мелатоніну для корекції морфофункціональних та імуногістохімічних порушень субпопуляцій нейронів ПШЯ та НЯ гіпоталамуса старих щурів при світловому стресі.

Впровадження результатів досліджень. Результати дисертаційного дослідження впроваджено в науково-педагогічну роботу кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії і кафедри гістології (10.11.2021 р.), кафедри анатомії людини імені М.Г. Туркевича (12.11.2021 р.), кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету (16.11.2021 р.); кафедри анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету (2.11.2021 р.); кафедри нормальної анатомії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського (30.11.2021 р.); кафедри клінічної медицини ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка (1.12.2021 р.); кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (14.12.2021 р.); кафедри нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (6.04.2022 р.).

Особистий внесок здобувача. Автором здійснено патентно-інформаційний пошук за темою дисертації, сформульовано ідею дослідження, підібрано методи дослідження та опановано методологічними основами їх виконання.

Самостійно зібрано матеріал для морфологічних, імуногістохімічних та ультрамікроскопічних досліджень, здійснено морфометричний і статистичний аналізи одержаних даних та їх узагальнення. Особисто написано та проілюстровано всі розділи дисертації. Результати дослідження автором оприлюднено на науково-практичних конференціях, опубліковано наукові статті, тези, що віддзеркалюють основні положення наукової роботи. У працях, опублікованих у співавторстві, реалізовані наукові ідеї здобувача та висвітлено дані, отримані автором у процесі виконання дисертаційного дослідження.

Вибір теми дисертаційної роботи, визначення мети та завдань дослідження, формулювання остаточних висновків та практичних рекомендацій здійснено здобувачем разом із науковим керівником. Участь Сметанюка О.В. у виконанні дисертаційної роботи є визначальною.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дослідження доповідалися та обговорювалися на: науково-практичній конференції з міжнародною участю «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень» (Тернопіль, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології» (Яремче, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині» (Чернівці, 2019); міжнародній науково-практичній конференції «Природничі наукові читання» (Братіслава, 2019); міжнародній науково-практичній конференції «Медичні та фармацевтичні науки: аналіз сучасності та прогноз майбутнього» (Дніпро, 2020); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної

практики» (Львів, 2020); VII Національному конгресі геронтологів і геріатрів України (Київ, 2021); III міжнародній науково-практичній конференції «Modern Science: Innovations and Prospects» (Стокгольм, Швеція, 2021); 101-102 підсумкових наукових конференціях професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету (Чернівці, 2020-2021 рр.).

Публікації. Основні наукові положення та висновки дисертаційного дослідження висвітлено у 19 працях, із них 9 статей у фахових наукових виданнях (у т.ч. одна стаття включена до міжнародної наукометричної бази Scopus), 10 публікацій у матеріалах наукових форумів (у т.ч. дві праці у наукових періодичних виданнях інших держав).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 241 сторінці (167 сторінок основного тексту) і складається із анотацій (українською та англійською мовами), списку праць за темою дисертаційного дослідження, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалу і методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури, який включає 310 найменувань (116 – кирилицею, 194 – латиницею) та додатків. Дисертаційна робота ілюстрована 51 таблицею та 68 рисунками.

РОЗДІЛ 1

БІОРИТМІЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ ФУНКЦІЙ ОРГАНІЗМУ В НОРМІ ТА ПІД ДІЄЮ СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Гіпоталамус і циркадні ритми як провідний чинник регуляції життєдіяльності організмів

Організм людини – організована сукупність надзвичайно складних біологічних систем, поєднаних між собою сотнями функціональних зв'язків. Для узгодженого функціонування цього механізму, необхідна чітка програма дій і точний порядок роботи.

Роль цієї універсальної програми життєдіяльності людини виконують біологічні ритми, які є вищим проявом самоорганізації біологічної системи і віддзеркалюють її існування в часі [16, 65, 124]. Біологічні ритми організму забезпечують максимально ефективне функціонування всіх його тканин та органів і найбільш економне витрачання енергетичних ресурсів [136, 175, 303].

Біологічні ритми – фундаментальна властивість органічного світу, яка забезпечує здатність організму до адаптації та виживання в циклічно мінливих умовах навколишнього середовища. Це коливальний процес, що відтворює біологічне явище чи стан біологічної системи через приблизно рівні проміжки часу [48, 213, 293]. В основі біологічних ритмів лежать зміни метаболізму, які зумовлені впливом зовнішніх та внутрішніх чинників. Фактори, які впливають на ритмічність процесів, що відбуваються в живому організмі, отримали назву “синхронізаторів”, або “датчиків”. Фундаментальною основою біологічних ритмів будь-якого рівня є міжмолекулярні автохвильові взаємодії, а синхронізація ритму – це взаємна перебудова коливальних характеристик елементів біосистеми [56, 68, 108, 218, 246].

У будь-якому організмі спостерігається певна кількість біологічних ритмів його функцій, які часто характеризуються неоднаковими періодами. При цьому хроноритми різняться своїми параметрами, функціональною приналежністю, значенням для організму, визначеною підпорядкованістю тощо [244, 253].

Головним серед усіх ритмів живої системи (циркадіанні, ультрадіанні, циркануальні тощо) є циркадіанний (циркадний) ритм [4, 31, 110, 118, 234, 310].

У людини вивчено понад 400 фізіологічних функцій, що проявляють добову активність [39, 146, 296]. Виявлено, що добовим коливанням підпорядковані вміст різних речовин у тканинах і органах, наприклад, глюкози, іонів натрію та калію у плазмі крові та сечі, гормонів у тканинах і плазмі крові. За звичайних умов ці ритми належать до 24-годинного періоду, оскільки вони тісно пов'язані з зовнішніми геофізичними циклами. Однак, якщо ліквідувати вплив звичайного освітлення, частина добових ритмів зникає [51, 79, 127, 157]. Величина періоду ритмів рідко виходить за межі 20-28 годин, тому їх ще називають білядобовими ритмами.

Будь-який справжній ритм, здебільшого, складається з двох компонентів [161, 177, 209, 238]. Перший – ендогенний, пов'язаний з внутрішньою, генетично закріпленою властивістю клітин і органів проявляти ритмічні коливання показників своєї життєдіяльності. Другий компонент – екзогенний, зумовлений взаємодією організму з навколишнім середовищем і реакціями, що виникають у відповідь на ті чи інші подразники. Екзогенний компонент є реактивним, частково залежний від ритму сон-бадьорість і проявляється у впливі рівня фізичної активності на показники життєдіяльності, наприклад, на вивільнення деяких гормонів [243, 262, 282].

Теоретичною основою біоритмологічного підходу до оцінки різноманітних станів організму є уява про безперервність і циклічність адаптаційних процесів. Середовище існування сприяло появі в живих системах механізмів адаптації, однією з відмінних рис яких є ритмічна циклічна часова організація [7, 43, 195, 267].

Нормальним для діяльності мозку, та й організму в цілому, є поступове підвищення освітленості на початку дня, максимум вдень, поступове зниження після заходу Сонця і темрява вночі. Все це впливає на активність мозку, постійно корегує його діяльність, підтримує відповідність періоду доби. Організм функціонує, взаємодіє з навколишнім середовищем, яке є природнім регулятором його хроноритмів. У нормі організм та середовище складають єдину автоколивальну систему. Важливою основою цієї цілісності є стан добового циклу життєдіяльності. Природнім чинником, який підтримує нормальний стан цього циклу, є зміна освітленості впродовж доби. Завдяки освітленню у дитини порівняно швидко формується добовий 24-годинний ритм нейроендокринної регуляції усіх фізіологічних процесів [10, 104, 198, 204, 216, 270]. Водночас продукція гормонів також стає залежною від ритму дня і ночі. Так, становлення добової секреції кортикостероїдів відбувається в перші тижні життя дитини.

Отже, у процесі розвитку в людини формується часова організація функцій організму. Просторово-часова організація процесів біосистеми розвивається в онтогенезі, досягає у зрілому віці оптимуму адаптивності, максимуму надійності і впорядкованості, мінімуму ентропії. Таким чином, у цей період онтогенезу досягається неперевершеність циркадіанної часової організації, а циркадіанні ритми – провідна ланка в цілісній ритмічній системі організму, яка об'єднує усі фрагменти організму в єдине ціле. Критерієм біологічного віку є початок зміни циркадіанної хроноструктури у бік зменшення амплітуд біопроцесів, зміни конфігурації акрофаз, посилення спектру ультрадіанних складових у ритмічній структурі біосистеми [19, 34, 38, 189, 200].

Провідним з відомих зовнішніх синхронізаторів циркадіанної ритмічності – є фазове співвідношення періодів світла та темряви [60, 65, 228, 242]. Зміна фази світло-темрява провокує коливання фази будь-якого з вивчених показників життєдіяльності. У ссавців доведено вагому участь двох

морфологічних утворень у забезпеченні синхронізації циркадіанних ритмів із зовнішнім ритмом світло-темряви. Це – над перехресні (супрахіазматичні) ядра гіпоталамуса та ШЗ (епіфіз мозку) [8, 29, 37, 139, 276, 300].

Фотоперіодизм, або тривалість світлового дня, чітко впливає на метаболічні процеси в організмі та регулює його адаптаційні можливості. Лише фотоперіод (довжина добової тривалості освітлення) є для гомойотермних тварин, у тому числі й для людини, основним задавачем часу або зовнішнім синхронізуючим чинником [13, 35, 50, 51, 75, 154, 306]. Фотоперіод є найстабільнішим і надійним серед інших параметрів зовнішнього середовища, найстійкішим до дії різних середників, повністю співпадає з головним зовнішнім періодичним фактором – обертанням Землі, а також віддалений у часі від тих “суттєвих” для організму факторів (наприклад, величина добової температури, кількість доступної їжі), які безпосередньо визначають виживання як окремих індивідуумів, так і виду в цілому.

Фотоперіодична система організму забезпечує синхронізацію активності своїх функцій з циклічними добовими і річними змінами зовнішніх умов. З одного боку, організм своєчасно готується до неминучих змін у навколишньому середовищі, які обов’язково повинні настати протягом доби, “передбачаючи” таким чином зовнішні зміни [27, 50, 51, 307]. З іншого, організм зовсім не реагує на неперіодичну, несвоечасну і неприродну зміну зовнішніх сигнальних параметрів [294, 302]. У цьому випадку чим більше виражені власні періодичні програми організму, тим стійкіший він до несприятливого впливу зовнішніх умов. Також періодичні програми потрібні організму для роз’єднування в часі несумісних фізіологічних процесів, різних форм поведінки та особливих зовнішніх умов (наприклад, сон та вживання їжі), і узгодження сумісних процесів у межах організму. Таке почергове переключення організму на виконання одного із завдань у сприятливий період доби та звільнення його від таких навантажень у несприятливий

період може допомагати швидкій і якісній перебудові адаптивних реакцій [240, 245, 274].

Одним з центральних водіїв біоритмів є зміна фотоперіоду. Центральним біологічним годинником, який здійснює контроль над циркадіанними ритмами організму ссавців є НПЯ гіпоталамуса. У цих структурах виявлені ендogenousні, зумовлені генетичними механізмами, добові зміни низки показників (рівня нейромедіаторів, електричної і метаболічної активності нейронів) [137, 237, 241]. Оскільки ендogenousні ритми в НПЯ перебігають з періодом, що дещо відрізняється від тривалості в 24 години, необхідна щоденна синхронізація біологічного годинника з 24-годинним геофізичним денним циклом. Основним стимулом, який дозволяє здійснити таку регуляцію, є рівень освітлення. Цикл світло/темрява викликає зрушення фази циркадіанного осцилятора в НПЯ таким чином, що коливання, які він генерує, синхронізуються з циклом освітленості. Базуючись на фотоперіодизмі, інформація від НПЯ передається циркадіанним підсистемам – формуються хронобіологічні функціональні блоки з різними мозковими структурами. Провідне місце серед подібних блоків займає взаємодія НПЯ і головного ендокринного організатора білядобового періодизму – ШЗ [5, 70, 98, 116]. При дослідженні клітин ШЗ – пінеалоцитів, виявлено, що їх ультраструктура змінюється, підпорядковуючись циркадіанним ритмам – вдень синтезується серотонін, а вночі – МТ [30, 52, 89, 117, 142, 305]. Разом з тим, в якості синхронізаторів можуть виступати і незалежні від світла сигнали [165, 259, 273].

Заснована на фотоперіодизмі, інформація про час від НПЯ передається різним циркадіанним підсистемам, кожна з яких здійснює ритмічні коливання тієї чи іншої функції. Без НПЯ ці осцилятори перестають підтримувати внутрішнє sprzęження по відношенню один до одного. Зв'язки між ними формуються, ймовірно, за участі нервових шляхів і гуморально за допомогою ендокринних механізмів. Крім того, для стійкої роботи

циркадіанної системи в цілому надзвичайно важлива наявність зворотних зв'язків осциляторних підсистем і первинного пейсмекера [167, 180, 202].

Повноцінне функціонування гіпоталамуса важливе для забезпечення циркадіанної фазової синхроності ендогенних процесів в організмі. Механізми синхронізації між рівнем освітлення і біологічним годинником НПЯ гіпоталамуса деякі автори пов'язують з накопиченням у цих клітинах кальцію, що відбувається за участі певних рецепторів, які регулюють його внутрішньоклітинний рівень [203, 260].

Добові коливання, які генеруються в НПЯ, передаються іншим органам і тканинам, викликають у них ритмічні процеси, внаслідок інтеграції яких формуються добові ритми різних фізіологічних функцій на рівні цілого організму. Основним передавачем добових ритмів від НПЯ до органів-мішеней є гормон ШЗ МТ [197, 208, 223].

Крім епіфізарного, існує ще позаепіфізарний шлях регуляції добових ритмів ендокринних залоз НПЯ, що можна спостерігати при дослідженні функцій надниркових залоз у епіфізектомованих тварин [231, 247].

Не зважаючи на те, що НПЯ здійснюють контроль над багатьма циркадіанними функціями організму, проекції нейронів цих ядер в основному обмежені гіпоталамусом [12, 63, 128, 138, 152]. Через контакти з гіпоталамічними ендокринними нейронами, що містять релізінг-гормони, зокрема КЛ-ергічними нейронами, НПЯ регулюють добові ритми секреції гормонів гіпофіза. За допомогою контактів з автономними нейронами гіпоталамуса ці ядра посиляють свої сигнали до розташованих на периферії ендокринних залоз, таких як надниркові залози і щитоподібна залоза, викликають ритмічні зміни рівня синтезованих ними гормонів [66, 76, 132, 147]. Таким чином, в якості передавача циркадіанних ритмів від НПЯ до органів і тканин може розглядатися не тільки МТ, а весь комплекс гормонів, добові ритми яких контролюються циркадіанним осцилятором.

Гіпоталамус за допомогою рилізінг-гормонів, продукція яких підвладна добовим ритмам, регулює тропні функції аденогіпофіза. Відповідно до циркадіанних ритмів центральної гіпоталамо-гіпофізарної ланки змінюється і секреторна активність периферичних ендокринних залоз [1, 3, 178, 221, 269].

Роль ще одного активного циркадіанного осцилятора відіграє кора надниркових залоз, оскільки ендогенна природа ритмічності процесів у корі надниркових залоз і здатність їх до самопідтримання ритмічної активності добре відомі [105, 106].

В експериментах з вивчення різних показників в епіфізектомованих тварин доведено, що видалення ШЗ призводить до істотних порушень інфрадіанної та циркадіанної ритміки низки показників [6, 21]. У цих тварин виникає десинхроноз, тобто модифікація інфрадіанної та циркадіанної ритмік, неузгодженість коливальних процесів. Аналіз результатів цих та інших досліджень дозволяє дійти висновку про ритмоорганізаційну, а не ритмогенераторну (пейсмейкерну) роль ШЗ [25, 69, 102]. Ймовірно, ШЗ у формуванні часової структури фізіологічних функцій діє як координатор різних коливань і організатор їх синхронності.

Своєрідну участь ШЗ у формуванні циркадіанних ритмів функцій організму вдається виявити і в модельних ситуаціях зі зміною довжини фотоперіоду або інверсією світлового режиму [44, 122, 136, 285, 286, 295]. Припускають, що роль ШЗ в організації циркадіанного періодизму полягає, з одного боку у формуванні більш чіткого стану різних ритмів впродовж доби, з іншого – у затягуванні періоду коливань. Таким чином, ШЗ є інерційним механізмом, який запобігає дезорганізації циркадіанної ритміки у випадку швидкої зміни довжини фотоперіоду [58, 145, 250, 261].

Різноманітність функцій та шляхів регуляції ендокринної системи ссавців зумовлюють складність її часової організації. Хроноструктура ендокринних органів, у тому числі надниркових залоз, характеризується

великою кількістю ритмічних коливань функцій, а відповідно й ультраструктурної організації.

Результати численних досліджень хроноструктури гіпоталамо-гіпофізарно-нейросекреторної системи (ГГНС) у людини узгоджуються між собою і підтверджують, що секреція АКТГ і кортизолу має чіткий синхронізований у часі циркадіанний ритм [182, 239]. Максимальна продукція цих гормонів відбувається в ранкові години (останні дві години сну і першу годину бадьорості). Впродовж дня функціональна активність ГГНС поступово знижується і стає мінімальною в пізні вечірні та нічні години.

Втрата узгодженості між біоритмами, або задавачами часу викликає десинхроноз [11, 131, 159]. На основі експериментальних досліджень встановлено, що адреналектомія та різноманітні стресові ситуації спричиняють десинхроноз, який, у свою чергу, призводить до різних патологічних станів [49, 28, 160, 206, 220, 280]. Тому, з'ясування взаємовідносин та функціональних зв'язків організму за умов дії на нього стресового чинника дасть змогу ближче підійти до розроблення ефективних методів захисту організму від стресорів та підвищення його адаптаційних можливостей у віковому аспекті.

1.2. Біоритмічні аспекти розвитку стрес-реакції

Одна з центральних проблем сучасної біоритмології – проблема синхронізації і десинхронізації біоритмів. Десинхронізація біологічних ритмів, що спостерігається при адаптивних та патологічних процесах, які виникають при дії на організм стресового агента, дозволила встановити, що дослідження біоритмів є важливим методичним заходом у з'ясуванні питань фізіології праці, виявленні патологічного процесу, адаптації людини до змінених геофізичних та соціальних синхронізаторів.

Оскільки практично всі показники життєдіяльності (біохімічні, фізіологічні, поведінкові) проявляють свою ритмічність, і перш за все циркадіанну ритміку, виникає питання про те, як змінюється відповідь організму на дію стресових чинників у біоритмологічному аспекті.

З позицій вчення про біоритми, адаптація – це тимчасове узгодження функціонального стану організму щодо умов навколишнього середовища. На початку стресу, при порушенні синхронізації біоритмів організму та датчиків часу виникає ситуація зовнішнього десинхронозу [67, 91-93, 121, 190, 210]. Така дезорганізація викликає стан внутрішнього десинхронозу, який, за Г.Сельє відповідає стадії тривоги розвитку стрес-реакції. Вона полягає в порушенні взаємоузгодження циркадіанних ритмів різних функцій. Після цього, через деякий проміжок часу стадія тривоги компенсується. Ритми різних функцій знову повертаються у фазові співвідношення, властиві стійкій нормі, причому весь ансамбль ритмів добре узгоджується і з зовнішніми датчиками часу. Це стадія резистентності. Якщо вона не настає, внаслідок неузгодженості виникає повний десинхроноз – аритмічний хаос, несумісний з життям. Стан повного десинхронозу відповідає стадії виснаження.

Стрес-система – складний регуляторний комплекс, який допомагає координувати гомеостаз за звичайних умов і відіграє ключову роль в активації і регуляції змін у організмі, що складають адаптивну реакцію на стресори [36, 185]. Згідно сучасних досліджень, ця система складається з центральної ланки і двох периферичних гілок, які здійснюють зв'язок центральної ланки з цілісним організмом. Центральна ланка знаходиться в головному мозку: у гіпоталамусі та інших відділах стовбура мозку. Периферичні гілки стрес-системи представлені двома основними відділами:

- 1) гіпоталамо-гіпофізарно-адреналовою системою, кінцевим продуктом якої є глюкокортикоїди;
- 2) симпатичною системою, кінцевим продуктом якої є катехоламіни – адреналін та норадреналін.

Стресорні впливи зумовлюють появу цілого спектру змін (стимуляції або пригнічення) багатьох фізіологічних процесів головного мозку, ендокринних залоз та інших органів. Активація усіх ланок ГГНС, яка запускається потоком збудливих імпульсів з ретикулярної формації мозку, є головною характеристикою реакції організму на стресовий подразник [219, 227, 257].

Доведено, що в адаптації організму до зовнішнього середовища основна роль належить кортикостероїдам у зв'язку з тим, що в розвитку стресу найбільш важливою є не мобілізаційна, а адаптаційна фаза, яка призводить до нормалізації гомеостазу [258, 292]. Водночас, показано, що функціонуванню надниркових залоз, а відповідно і екскреції ними кортикостероїдів властива чітка циркадіанна ритмічність [76, 275]. Можна припустити, що відповідь організму на певні стресорні впливи також залежить від періоду доби, в якій діяв стресор. При надходженні у кров кортикостероїди служать потужним чинником захисту периферичних і центральних ланок регуляції гомеостазу від надмірного збудження, в результаті чого всі процеси, що активовані стресорними впливами, протягом короткого постстресорного періоду повертаються до початкового функціонального стану [196, 266]. Відповідно, у ті періоди доби, на які припадає акрофаза концентрації цього гормону у крові, організм буде найбільш толерантним до дії стресу.

Ефект стресу на секрецію кортикостерону зумовлений стимуляцією нейронів ПШЯ гіпоталамуса, що містять КЛ [43, 168]. Саме в цих ядрах синтезуються основні стрес-релізінг гормони (КЛ, ВП), що ініціюють стресорні реакції організму внаслідок регуляції синтезу АКТГ. Стрес викликає підвищення синтезу і секреції стрес-пептидів ГГНС, а також активує опіоїдєргічну систему (у надниркових залозах, гіпоталамусі, смугастому тілі) [113, 173, 235, 272].

При стресі розвиток гормональної відповіді гіпофізарно-адренокортикальної системи має свою динаміку, яка залежить від періоду доби і відрізняється в окремих часових проміжках швидкістю досягнення максимуму та завершення [185, 192]. Це прямо залежить від механізмів її активації і дезактивації, в організації яких ключова роль належить гіпоталамічним нейронам, які продукують “перший медіатор стресу” – КЛ [264, 284]. Відомо, що продукція КЛ носить чіткий циркадіанний характер і ритм його секреції знаходиться під регуляторним впливом нейронів НПЯ того ж гіпоталамуса [179, 290].

У літературі висвітлюється роль взаємодії ШЗ з гіпокампом в реалізації відповіді на стрес [33, 53]. Гіпокамп пов’язаний з організацією емоціонального компонента стресорної реакції. Доведено, що гіпокамп-ектомія спричинює зниження чутливості до стресу [33, 277]. ШЗ, навпаки, відіграє діаметрально протилежну роль. Забезпечуючи антистресорний ефект за допомогою МТ, залоза може бути включена в число стрес-протективних утворень мозку [82, 87, 151]. Різноманітні типи стресорів (примусове плавання, біль, охолодження, іммобілізація) на певному етапі стресорної відповіді викликають активацію ШЗ і посилюють вироблення МТ [9, 14, 123, 271]. Цей факт доцільно вважати проявом захисної антистресорної реакції.

Нейроендокринна реакція на стрес полягає в каскаді секреторних процесів, які ініціюються та регулюються гіпоталамічними нейропептидами, в основному КЛ. Кульмінацією стресорної реакції є посилення біосинтезу і секреції глюкокортикоїдних гормонів кори надниркових залоз. Відомо, що КЛ, який утворюється в ПШЯ гіпоталамуса, є провідним стимулятором ГГАС за фізіологічних умов. Згідно класичної теорії загального адаптаційного синдрому, при стресі відбувається збудження гіпофізарно-адренокортикальної та симпато-адреномедулярної систем [1, 3, 112, 178].

Експресія генів КЛ та його виділення в портальні судини гіпофіза контролюється нейротрансмітерами мозку та глюкокортикоїдами, які

знаходяться в системному кровообігу. Відомий ряд нейротрансмітерів і нейрогормонів, які відносяться до стрес-реалізуючої (норадреналін) та стрес-лімітуючої (гамааміномасляна кислота (ГАМК), індоламіни)) систем головного мозку [81, 222, 245, 247].

Взаємодія гіпоталамічних кортиколіберинових структур з кортикостероїдами сприяє відключенню систем запуску стресу і тим самим оберігає функціональні системи від їх надмірного збудження стресовим чинником. Регуляція активності кортиколіберинових нейронів ПШЯ циркулюючими кортикостероїдами є класичним прикладом саморегуляції за принципом “зворотного зв’язку” [263]. У ПШЯ гіпоталамуса сконцентроване основне скупчення кортиколіберинових нейронів, що регулюють гормональну функцію гіпофіз-адреналової системи. При активації цих центрів стресорними впливами одночасно посилюється секреція катехоламінів та кортикостероїдів мозковою і кірковою речовиною надниркових залоз, та за їх участі регулюються всі компоненти стресової відповіді [1]. Але в будь-якому випадку в ролі тригерного фактора виступає КЛ як “перший медіатор стресу” і водночас як інтегратор основних адаптаційних систем [105]. КЛ бере участь у регуляції всіх ендокринних функцій, однак при стресі його дія направлена на зниження або повне виключення секреції гормонів, не пов’язаних з адаптацією організму до чинників навколишнього середовища. При гострому стресі, поряд з КЛ у стресовій перебудові ендокринних функцій великого значення набувають кортикостероїди, які або пригнічують, або посилюють продукцію гіпоталамічних нейрогормонів, а також їх дію на гіпофіз [129, 144, 156, 286, 301].

Доведено, що посилення секреції глюкокортикоїдних гормонів у відповідь на стресовий вплив є однією з найбільш важливих ланок адаптації організму і в значній мірі віддзеркалює стрес-реактивність ГГНС. Показано, що в реакції ГГНС на поодинокі або повторні стресори змінюється реактивність та стійкість надниркових залоз [106]. Це означає, що керування

реакцією на стресор відбувається не тільки завдяки тому, що під впливом нервових та гуморальних сигналів змінюється продукція КЛ, а відповідно, АКТГ і кортикостероїдів. Змінюється ще і чутливість надниркових залоз до сигналів, що до них поступають. Це нарівні зі зміною продукції КЛ визначає реакцію ГГНС на стресор в цілому.

Глюкокортикоїди є потужними інгібіторами утворення КЛ і під час стресу за принципом зворотного зв'язку регулюють його утворення в ПШЯ гіпоталамуса.

Доведено, що саме норадреналіну належить ключова роль у реалізації стресорних впливів на секрецію АКТГ і кортикостероїдів [97, 107]. Нейроендокринна реакція під час стресу неоднакова і залежить від типу стресового подразника (його природи та інтенсивності), а також від інших чинників (температурних, видових, період доби). Показано, що у щурів лінії Август постстресовий рівень норадреналіну у плазмі крові вірогідно не відрізнявся від контролю. У щурів лінії Вістар під впливом стресу вміст норадреналіну у плазмі крові збільшувався в 1,5-2 рази порівняно з його рівнем у контрольній групі. Існують також докази про статевий диморфізм стресової реакції ГГНС [263, 275].

Відомо, що гуморально-гормональні механізми стресу пов'язані з активацією гіпоталамо-гіпофізарного синтезу АКТГ і наступним підвищенням у крові концентрації катехоламінів внаслідок викиду їх наднирковими залозами. Одним з патогенетичних механізмів розвитку патологічних процесів під впливом стресових подразників є виснаження тканинних запасів катехоламінів і зниження резервних можливостей симпато-адреналової системи [40, 113]. Активація симпато-адреналової системи при дії стресових чинників відіграє провідну роль у терміновій мобілізації фізіологічних функцій і енергетичних ресурсів організму. Реакція симпато-адреналової системи на стресовий вплив залежить не тільки від

індивідуальної стійкості цієї системи до стресу, а і від часу нанесення подразника та його сили.

Індукована ЦНС активація гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи при стресі призводить до значного виділення АКТГ, глюкокортикоїдів (кортизолу – в людей, кортикостерону – у тварин) і пригнічення продукції статевих гормонів і соматотропіну. Виникає змішана активація симпато-адреналової і парасимпатичної нервової систем, що призводить до вазоконстрикції і підвищення артеріального тиску поєднано з вагусною брадикардією, активації травного тракту з порушенням моторики та пошкодженням його слизової оболонки, пригнічення імунної системи [12, 70].

Відомо, що необхідною умовою нормальної життєдіяльності організму є рухова активність, певний рівень якої виробився в ході еволюції для кожного виду. Однак, у зв'язку з розвитком науково-технічного прогресу все більш зростає диспропорція між розумовою і фізичною діяльністю. Встановлено, що тривалий іммобілізаційний стрес викликає комплекс структурно-функціональних порушень практично в усіх органах і системах [105]. Показано, що пусковим механізмом для розвитку неспецифічних реакцій служить реакція симпато-адреналової системи [1]. Діяльність цієї системи носить циркадіанний характер, однак особливості її ритмічного функціонування мало вивчені. В експериментальних моделях на тваринах вивчено вплив на організм іммобілізаційного стресу. Доведено, що іммобілізаційний стрес викликає зрушення в активності ферментів печінки, які відповідають за окисно-відновні перетворення. Показана активація перекисного окиснення ліпідів при стресових навантаженнях. Іммобілізаційний стрес активує NO-синтазу і посилює експресію її гена в головних органах, відповідальних за стрес-реакцію – гіпоталамусі, гіпофізі та надниркових залозах. У серії досліджень доведено, що короточасний іммобілізаційний стрес супроводжується підвищенням інтенсивності

процесів перекисного окиснення ліпідів і зниженням концентрації локальних антиоксидантних ферментів [100].

Стрес має шкідливий вплив на організм, виступає патогенетичною основою розвитку багатьох захворювань, кількість яких останнім часом, невпинно зростає. Разом з тим, недостатньо вивченим залишається послідовність, час та ступінь залучення різних органів та систем у формування стресових та адаптивних реакцій.

Таким чином, враховуючи виражені метаболічні порушення та виходячи з взаємозв'язку структури та функції, представляє інтерес вивчення морфологічних та функціональних змін надниркових залоз за умов іммобілізаційного стресу, оскільки саме вони є первинною ланкою в реалізації стрес-реактивних та стрес-адаптивних реакцій.

1.3. Мелатонін – метаболізм та механізм дії

Близько 80 % МТ, що циркулює у крові, продукується у ШЗ [17, 18]. У людини синтез і виділення МТ підпорядковані добовим варіаціям з мінімальним значенням вдень і максимумом близько 02.00 год, а також сезонним коливанням [11, 80]. Здебільшого, синтез МТ індукується інтенсивністю освітлення. Впродовж світлових годин фоторецепторні клітини сітківки ока гіперполяризовані, нервовий сигнал не надходить до НПЯ, і це гальмує виділення норадреналіну (НА) [171, 281, 309]. У цей час система ретина-гіпоталамус-ШЗ, знаходиться у спокої, секретується мало МТ. З настанням темряви гіперполяризація фоторецепторів зникає, нервовий сигнал вивільняє НА, активує, таким чином, систему ретина-гіпоталамус-ШЗ; кількість α_1 - і β -адренорецепторів у ШЗ збільшується. Підвищується активність ферментів, що регулюють синтез МТ, ініціюють його виділення.

Початковою ланкою в ланцюгу синтезу МТ є амінокислота триптофан, яку захоплюють пінеалоцити з крові. Потім у ШЗ відбуваються наступні перетворення: за участі фермента триптофангідроксилази триптофан

трансформується в 5-гідрокситриптофан. До реакцій долучається другий фермент – 5-окситриптофандекарбоксилаза, синтезується 5-гідрокситриптамін (серотонін). Далі N-ацетилсеротонін перетворюється в МТ (останні два перетворення проходять за участі ферментів N-АТ і гідроксиіндол-О-метилтрансфераза (ГІОМТ)).

Транспорт і метаболізм мелатоніну. МТ, що синтезується, не накопичується у ШЗ, а відразу шляхом пасивної дифузії надходить з пінеалоцитів у кровотік і спинномозкову рідину. Транспортною формою для МТ є сироватковий альбумін. Висока щільність ділянок, що зв'язують МТ, виявлена також на молекулі гемоглобіну, що може свідчити про роль гемоглобіну як переносника МТ до органів-мішеней [176, 254, 278]. У людини напівперіод життя МТ у крові становить близько 28,4 хв [188] і залежить як від його дифузії у тканини і рідини організму [193], включаючи спинно-мозкову рідину [212], так і від рівня його метаболізму печінкою, де значна частка МТ гідроксильована вже при першому пасажі. Гідроксильовані метаболіти МТ екскретуються із сечею, переважно, у вигляді сульфатів з утворенням 6-СОМ, головного метаболіту, що виводиться із сечею, а також у меншій кількості, у вигляді глюкуронідів [214].

Крім ШЗ синтез МТ відбувається в сітківці ока, ентерохромафінних клітинах шлунково-кишкового тракту, дихальних шляхах, підшлунковій залозі, надниркових залозах, щитоподібній залозі, тимусі, мозочку, сечостатевої системі, плаценті [224, 236, 287]. Синтезується МТ і в неендокринних клітинах: тучних клітинах, еозинофільних лейкоцитах, тромбоцитах і ендотеліоцитах [304]. Таке поширення черговий раз підтверджує провідну роль МТ як міжклітинного нейроендокринного регулятора і координатора багатьох складних та взаємопов'язаних біологічних процесів. Системи генерації МТ характеризуються наступними основними критеріями: 1) фоточутливістю; 2) циркадіанною ритмічністю; 3) зниженням утворення та активності при старінні організму.

Визначення рівня МТ у плазмі крові вимагає взяття зразків крові через короткі проміжки часу. Цього можна уникнути, визначаючи рівень 6-SOM у сечі. Близько 90 % МТ екскретується із сечею у формі α MT6s, рівень якого добре корелює з показниками гормону у крові в період забору проб сечі.

Біологічні ритми секреції мелатоніну. Циркадіанний ритм (ЦР) утворення МТ досить складний і містить декілька секреторних фаз, що забезпечуються роботою двох осциляторів – перед ранком і при смерканні [283]. Синтез МТ зумовлений не тільки інтенсивністю освітлення, але і руховою активністю тварини [189]. Так, у щурів осліплених або тих, що утримувалися в темряві, існує особливий ритм МТ, пов'язаний з локомоторною активністю [126]. Після фізичного навантаження (біг у колесі) вміст МТ у ШЗ значно перевищує рівень у тварин у стані спокою. Ці дослідження дають змогу вважати, що ритм синтезу МТ знаходиться не тільки під регулювальним впливом фотоперіоду, а є природженим, ендогенним ритмом.

Крім добового існує і сезонний ритм МТ. Пізньою осінню й узимку, у зв'язку зі зменшенням освітленості, рівень гормону в організмі підвищується. Навесні і влітку, навпаки, концентрація МТ в організмі знижується [135]. Однак при цьому зберігається добова ритмічність утворення МТ. Ці зміни зумовлені флуктуацією ферментативної активності ключових ферментів синтезу МТ – N-AT і ПІОМТ, що перетворює ШЗ у своєрідний біологічний “годинник”, який має пряме відношення до регуляції циркадіанних ритмів в організмі. Концентрація МТ у плазмі змінюється залежно від віку й істотно коливається впродовж життя. Діти молодше 3-х місяців секретують мало МТ. Секреція МТ зростає і стає циркадіанною у старшому віці. Найвища пікова нічна концентрація МТ (близько 325 пг/мл або 1400 пмоль/л) спостерігається у віці 1-3 років, після чого вона поступово знижується [6]. У молодих людей середня кількість МТ вдень і пік у середині ночі складає 10 і 60 пг/мл (40 і 260 пмоль/л) відповідно. Максимум продукції гормону припадає на вік від 10

до 40 років. Після цього відбувається зниження продукції МТ, зменшується амплітуда добового ритму його секреції ШЗ.

В опосередкуванні ритмогенних ефектів МТ відіграє роль не тільки рівень у крові, але і тривалість його нічної продукції [148, 174]. У вищих ссавців і людини, крім мелатонінового шляху існують й інші, що здійснюють передачу інформації про ритми, які генеруються НПЯ до органів і тканин. Проте роль МТ провідна, про що свідчать експериментальні роботи на тваринах, в яких при видаленні ШЗ основні фізіологічні функції втрачають циркадіанну ритміку або їхні ритми стають вільноперебігаючими [164, 181, 233]. Використовуючи різноманітні схеми уведення МТ пінеалектомованим тваринам, дослідникам вдалося змодельовати відновлення циркадіанних ритмів локомоторної активності і харчової поведінки з періодами 21-27 год, причому період ЦР залежав від схеми уведення МТ [251, 279].

Раніше вважали, що зниження вмісту МТ при старінні викликано кальцифікацією ШЗ, однак на сучасному етапі розвитку знань з'ясувалося, що вказане явище відбувається внаслідок зменшення адренергічної іннервації і кількості β -адренергічних рецепторів на поверхні пінеалоцитів [214, 226].

Механізм дії мелатоніну на клітинному рівні. МТ опосередковує свої ефекти як при впливі на власні рецептори, визначені на клітинних мембранах практично всіх органів і тканин людського організму, так і самостійно, у зв'язку з високою проникністю через клітинні мембрани [26]. Більше того, встановлено родину ядерних рецепторів до МТ [184]. Ядерний рецептор ROR, що належить до сімейства орфанових нуклеарних ретиноїдних рецепторів RZR/ROR, виявлений у трьох принципових органах ссавців, що визначають добові ритми організму: у НПЯ, сітківці ока й ШЗ. ROR клонований із РНК мозку щурів [207]. Вказаний рецептор виявляється у структурах ЦНС, які здебільшого належать до сенсорних ділянок. Ген ROR

локалізований у хромосомі 9 людини в ділянці, ідентичній хромосомі 4 миші [308].

Сімейство ретиноїдних Z рецепторів (RZR) або ретиноїдних орфанових рецепторів (ROR) містить продукти трьох генів: α -ROR, β -ROR, γ -ROR. Експресія рецепторів цього сімейства значно варіює в різних тканинах [169]. Експресія β -ROR найбільш обмежена: сенсорна ділянка нервової тканини, нейроендокринна тканина, лімбічна система, за винятком локомоторної. γ -ROR чітко виражена в кістковій мускулатурі, печінці, нирках й адипоцитах. Варіант β -ROR – γ -ROR-t специфічний для тимуса. Найбільшою мірою виражена експресія α -ROR у таламусі, нюхових цибулинах, мозочку, адипозній тканині, печінці, шкірі, яєчках, хрящовій тканині. Ґрунтовно вивчена й описана участь ROR/RZR у регуляції імунних процесів, диференціюванні центральної нервової системи й, можливо, у модуляції метаболізму ліпідів [225].

Всі нейрональні мембранні МТ-рецептори зчеплені з G-білками, які володіють здатністю гальмувати активність аденілатциклази, тобто вони є G_i -білками [232]. Крім того, встановлено, що мембранні МТ-рецептори при їх зв'язуванні з МТ гальмують утворення цГМФ, діацилгліцеролу та метаболітів арахідонової кислоти, вхід іонів кальцію всередину клітини [230]. Можливий також неопосередкований мембранними рецепторами вплив МТ на пригнічення синтезу цГМФ: при цьому МТ всередині клітини зв'язується з кальмодуліном та блокує утворення NO (II) [291]. Таким чином, МТ зменшує рівень більшості внутрішньоклітинних месенджерів.

У людини відомо два підтипи МТ-рецепторів – Mel1A і Mel1B. Як й інші представники сімейства родопсину, МТ-рецептори складаються із семи трансмембранних α -спіралей, трьох внутрішньоклітинних і трьох позаклітинних гідрофільних петель та внутрішньо- і позаклітинного кінцевих доменів. Методами моделювання за гомологією (як шаблоновий білок обраний родопсин КРС) побудована модель МТ-рецепторів Mel1B-підтипу та

уточнена модель рецепторів Mel1A-підтипу. На основі цих моделей запропоновані механізми взаємодії МТ-подібних лігандів із сайтами зв'язування рецепторів Mel1A- і Mel1B-підтипів і вивчене амінокислотне оточення МТ у сайтах зв'язування. З використанням побудованих моделей проведений молекулярний докінг відомих агоністів, що різняться за структурою, і запропоновані їх модифікації, які сприятимуть збільшенню афінності лігандів. Автори відмітили критерії структурного розходження МТ-рецепторів першого і другого підтипів [298].

Мембранні МТ-рецептори у структурах головного мозку поділяються по-різному, що залежить від видової і філогенетичної ознак [297]. Однак практично у всіх ссавців ці рецептори виявляються в головних структурах хроноперіодичної системи – у НПЯ і туберальній частині гіпофіза [299]. Зокрема, виявлено міжлінійні розходження в щільності МТ-рецепторів у НПЯ, добовій зміні рухової активності, екскреції із сечею 6-COM, концентрації МТ у сечі й ШЗ трьох інбредних ліній щурів [20]. Щільність МТ-рецепторів у НПЯ і його нічний синтез у щурів ВН і LEV виявилися вірогідно вищими, ніж у щурів АСІ. У тварин АСІ відзначено унімодальний характер і високу добову рухову активність, тоді як у щурів ВН і LEV добова рухова активність знижена і носила мультимодальний характер. Добова екскреція 6-COM із сечею у всіх трьох ліній щурів унімодальна, що вказує на лінійні розходження щурів у відповідальних за рухову активність шляхах вивільнення МТ з НПЯ гіпоталамуса.

У мозку щурів високий рівень мембранних МТ-рецепторів знайдений, крім НПЯ, також у задньому полі (*area postrema*) і спінальному тракті трійчастого нерва. Більш низький рівень МТ-рецепторів локалізований в ядрах гіпоталамуса – медіальної, преоптичної і передньої ділянок, а також вентромедіальних, аркуатних і бічних сосочкових ядрах; ядрах бічного нюхового тракту; ядрах таламуса – пришлуночковому, передньовентральному й інтермедіодорсальному; габенулярному комплексі –

медіальної частини бічних габенулярних ядер; септальному комплексі – ядрах, що направляють проєкції на гіпоталамус (септогіпоталамічних ядрах) і ядрі ложа медулярної смужки; мигдалеподібному комплексі – базолатеральному і медіальному ядрах [24, 109]; а також у гіпокампальній формації [133, 153, 265]. Крім нейрональних ділянок рецептори виявлялися в туберальній і передній частках гіпофіза, а також у стінках передніх і задньої мозкових артерій [248, 256].

Взаємодія МТ з так званими «вартовими» генами (*Per*, *Clock*, *Bmal*, *Cry* тощо) визначає фотоперіодичний контроль циркадіанних і сезонних змін фізіологічних функцій організму [199, 229, 252].

Прогрес у розвитку методів молекулярної біології, зокрема, метод мікрочіпів ДНК, сприяв розумінню механізму дії МТ. В одному з перших досліджень, проведених з використанням даного методу, вивчені впливи МТ на експресію генів у пігментному епітелії сітківки і ретинальних нейронах. Установлено, що в нейронах сітківки МТ стимулює експресію 6-ти і пригнічує експресію 8-ми генів з 8000 вивчених, тоді як у пігментному епітелії 15 генів стимулювалися, а 2 гальмувалися [255].

Досліджено вплив МТ на експресію понад 15000 генів у серці мишей СВА. Аналіз дозволив ідентифікувати 212 транскриптів (< 1,4 % від усіх досліджених клонів) з істотно зміненою експресією клонів [10]. Серед них експресія 146-ти генів стимулювалася, а 66 генів пригнічувалася більше, ніж у 2 рази. Серед цих генів були насамперед такі, що контролюють клітинний цикл, адгезію і транспорт. Ці дані відповідають відомостям про вплив МТ на клітинну проліферацію, апоптоз і адгезію [45, 46, 120]. Потрібно також зауважити, що МТ істотно впливав на експресію генів, які належать до онкогенезу (*Mybl1*, *Rasa 1*, *Mllt3* та *Enigma homolog 2*) і обміну кальцієм (*Kcnn4* та *Dcamk11*).

Виявлено істотний вплив МТ на експресію деяких мітохондріальних генів, зокрема, стимулював гени, що кодують 16S рибосомальну РНК (mt-

Rnr2), субодиниці I і III цитохром С оксидази (mt-c1, mt-c3), NADH-дегідрогенази 1 (mt-Nd1), а також субодиницю 6 АТФ-синтази, активність якої інгібував.

При вивченні ефекту МТ у мозку мишей виявлено, що його введення модифікує експресію лише 38-ми з майже 17000 генів, що вивчені (<0,3 %) [83]. Серед них стимулювалася активність 5-ти генів і пригнічувалася 33-ох генів. Виявлений тільки один ген, на який МТ діяв як у серці, так і в мозку – це ген *NADH* дегідрогенази 4 (*mt-Nd4*), що кодується мітохондріальним геномом. Порівняльний аналіз дії МТ на генну експресію в серці і мозку миші відповідає спостереженням про тканинно-специфічний характер біологічних ефектів МТ і свідчить про важливу роль мітохондріальних генів у дії МТ на тканини-мішені.

Функції мелатоніну. В останні роки отримані нові відомості про механізми, що забезпечують комплексну взаємодію між нервовою, імунною й ендокринною системами. Передбачається, що інтегратором цієї взаємодії є ШЗ, а її основний гормон – МТ бере участь у регуляції діяльності центральної і вегетативної нервових систем, ендокринних органів й імунної системи [119, 130, 158, 205].

Проведені дослідження показали, що МТ має надзвичайно широкий спектр фізіологічних функцій [32, 59, 249], основними з яких є: біоритморегулювальна функція; терморегулювальна дія й індукція сну; антиоксидантний вплив; імуномодулювальна дія; антистресорна дія; регуляція статевого розвитку; геропротекторний вплив.

Біоритморегулювальна функція. Властивість організму адекватно реагувати на різні стимули шляхом перебудови біоритмів характеризує стабільність і здоров'я людського організму. Тому здатність МТ здійснювати корекцію ендогенних ритмів щодо екзогенних ритмів навколишнього середовища є найбільш важливою фізіологічною функцією цього гормону [99, 186, 217]. Біоритморегулювальна функція забезпечується безпосереднім

ефектом МТ і модулювальним впливом на секрецію інших гормонів і біологічно активних речовин, концентрація яких змінюється залежно від часу доби. МТ опосередковує всі найбільш важливі функції ШЗ, пов'язані з контролем над діяльністю периферичних ендокринних залоз і центральної нервової системи. У нормі функціональна активність ШЗ знаходиться в протифазі з діяльністю гіпофіза. Так, якщо гіпофіз за рахунок тропних гормонів активує ендокринну функцію, то ШЗ, навпаки, її гальмує. Таке чергування діяльності цих двох нейроендокринних утворень мозку забезпечує циркадіанне ритмічне функціонування не тільки залоз внутрішньої секреції, але й організму в цілому [71, 95, 140].

Існують окремі спостереження, що стосуються взаємодії ШЗ і гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі. Показано, що гіперсекреція кортизолу і знижена реакція його при пригніченні дексаметазоном поєднується зі зниженою секрецією МТ. Безпосередньо впливаючи на клітини і модулюючи секрецію інших гормонів та біологічно активних речовин, концентрація яких змінюється залежно від часу доби, МТ виконує біоритмічну функцію. Так, показано, що МТ інгібує викид АКТГ і зменшує, таким чином, концентрацію кортизолу [134, 149], гальмує продукцію НА [166]. У сезонних перебудовах організму основна роль належить зв'язаним з фотоперіодизмом змінам продукції МТ [187].

Терморегульовальна дія й індукція сну. МТ відіграє основну роль у регуляції циркадіанних ритмів і сну [78, 201, 211]. Він підтримує цикл сон-неспанья, добові зміни локомоторної активності і температури тіла. ЦР температури в людини характеризуються максимумом вдень і мінімумом вночі й асоційовані з особливостями біоелектричної активності мозку [268, 289]. Підвищення секреції МТ в темновий час доби зумовлює більше 40 % амплітуду добового ритму температури тіла. У зв'язку з цим запропонований непрямий метод оцінки синтезу МТ за вимірюванням добової динаміки

температури тіла. Розмах добової температури менше $0,5^{\circ}\text{C}$ може свідчити про зниження продукції МТ.

МТ називають “гормоном ночі”, тому що пік його синтезу припадає на темновий час доби [183, 191]. У людини циркадіанний ритм секреції МТ ШЗ тісно синхронізований з типовим «годинником» сну. МТ може модифікувати рівень моноамінових нейротрансмітерів у мозку, ініціювати каскад реакцій, що при досягненні кульмінації активують механізми сну [163]. Функціональна активність ШЗ, як правило, збільшується з настанням темряви і досягає максимуму опівночі. До ранку, функціональна активність цього органа різко знижується, сягаючи мінімуму опівдні [170].

Зміни в регуляції циркадіанних ритмів впливають на симптоматику при різних патологічних станах, ризик поширення яких підвищений у старечому віці (порушення сну, деменція і депресія) [22]. Різноплановий підхід до дослідження механізмів вікових змін циркадіанної регуляції, у кінцевому результаті, може призвести до покращання терапевтичних стратегій і, отже, до поліпшення якості життя старих людей. Найбільшу увагу дослідників привертає вивчення можливих механізмів, за допомогою яких порушена циркадіанна система може бути залучена до порушення сну. Вважають, що при корекції порушень сну в старості застосування терапевтичних методів, відмінних від фармакологічних, буде високо пріоритетним. Хронобіологічні підходи до дослідження порушень сну можуть відігравати важливу роль у розвитку раціональних терапевтичних заходів [114].

Антиоксидантний вплив. Механізм антиоксидантної дії МТ пов’язаний, насамперед, з його здатністю зв’язувати, найбільш токсичні гідроксильні радикали, що утворюються при ПОЛ, а також пероксинітрит, оксид азоту, синглетний кисень і пероксильний радикал [54, 62]. Як активний донор електронів і ефективний перехоплювач активних форм кисню, особливо гідроксильного радикалу $\text{OH}^{\cdot}$, він також знищує радикал оксиду азоту ($\text{NO}^{\cdot}$). Разом із прямим антиоксидантним ефектом, гормон діє, як вторинний

антиоксидант. Він стимулює активність глутатіонпероксидази, що переводить пероксид водню у воду, активує супероксиддисмутазу, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, а також пригнічує активність прооксидантного ферменту NO-синтази. Крім цього, гормон має здатність безпосередньо зв'язувати іони металів зі змінною валентністю (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}), які виявляють в організмі прооксидантну дію. Антиоксидантні ефекти МТ не пов'язані з його впливом на рецептори клітинних мембран, а зумовлені проникненням гормону в клітини і його взаємодією практично з усіма субклітинними структурами, включаючи ядро. Тому МТ може впливати на вільнорадикальні процеси в будь-якій клітині людського організму, а не тільки у клітинах, що мають рецептори до МТ. Антиоксидантний ефект МТ забезпечує захист ДНК, ліпідів і білків від вільнорадикального ушкодження [64]. Таким чином, МТ може бути головною молекулою в системі захисту організму від окисного стресу, завдяки нейтралізації пероксиду водню і знищенню гідроксильних радикалів [141, 150].

Імуномодулювальна дія. МТ бере участь у регуляції функції імунної системи. Про це свідчить присутність МТ-рецепторів на імунокомпетентних клітинах загруднинної залози і селезінки, периферичних імунокомпетентних клітинах (лімфоцити, нейтрофіли), що активує ефект МТ у відношенні вироблення цими клітинами цитокінів [12]. Однією з причин погіршення функціонування імунної системи вважається ослаблення діяльності тимуса. Екзогенне введення МТ відновлює масу тимуса, поліпшує пам'ять та активність клітин, що підсилює диференціювання Т-лімфоцитів і відновлює чутливість шкіри до алергенів. Даний гормон стимулює імунну відповідь як за В-, так і за Т-системою, однак це залежить від початкового стану імунокомпетентних органів. Між кількістю лімфоцитів і рівнем МТ визначається зворотний взаємозв'язок, тобто простежується визначена адаптивна спрямованість у впливі МТ на імунітет. Шляхом збільшення продукції цитокінів, що виробляються Т-хелперами, МТ підсилює імунну відповідь [70].

Ще одним свідченням взаємозв'язку імунної системи і МТ в організмі людини є циркадіанні зміни кількості нейтрофілів, Т- і В-лімфоцитів у крові з максимумом у темновий час доби. Таким чином, МТ бере участь, як у клітинній, так і гуморальній ланках імунітету [72, 145].

Антистресорний вплив. МТ відіграє істотну роль у нормалізації постстресового стану організму, що зумовлена його впливом на нейромедіаторні системи, ефекти на синхронізацію циркадіанної ритміки [25]. Впливаючи одночасно на нейроендокринну й імунну системи, МТ оптимізує гомеостаз і здійснює захист від стресу [4].

У механізмі протистресової активності МТ істотна роль належить зменшенню активності тонуусу симпатичної нервової системи й активності гіпофізарно-надниркової системи, зниження рівня кортикостероїдів, що впливають на кардіоваскулярну систему. У процесі реалізації стресу на імунологічні реакції беруть участь опіоїдні пептиди, що модулюють імунологічні функції, впливають на активність Т-клітин, натуральних кілерів, і макрофагів. Найбільшою активністю і тривалістю дії відрізняється β-ендорфін, що є не тільки трансмітером, але і гормоном [31]. На підставі експериментальних досліджень обґрунтована найважливіша роль β-ендорфіну в розвитку стрес-синдрому, що виявляється збільшенням концентрації пептиду у крові при різних видах стресу. Разом зі зниженням рівня кортизолу, МТ стимулює виділення ендорфінів [57].

МТ, уведений перед початком стресування щурів, не тільки запобігав, але й гальмував стресову секрецію адреналіну. При багаторазовому введенні гормону ШЗ базальний рівень НА в крові зростав, а стрес за умов дії МТ гальмував стресове підвищення концентрації адреналіну у крові [40].

При використанні доз МТ близьких до фізіологічних, за умов емоційного стресу, відзначали чіткий стимулювальний вплив гормону на рівень пролактину у плазмі крові, що дало можливість вважати цей механізм одним з корелятивів участі МТ у стрес-реакції. У тварин, що зазнали стресу

пренатально, МТ не впливав на стрес-індукований рівень сумарних глюкокортикоїдів і пролактину, що свідчить про втрату здатності МТ модулювати активовані стресом ендокринні механізми. Висловлено припущення про можливі порушення функції ШЗ або ж десенситизацію МТ-рецепторів гіпоталамуса і гіпофіза з втратою антистресового впливу.

Регуляція статевого розвитку. Існує достатньо доказів впливу ШЗ на статевий розвиток і репродукцію. Він виявляє чітко виражену антигонадо-тропну дію [61, 74]. Зниження вмісту МТ у крові стимулює виділення гіпофізом статевих гормонів – лютеїнізуючого і фолікулостимулюючого (пролактину й окситоцину) [66].

Геропротекторна дія мелатоніну. У численних дослідженнях показана здатність МТ сповільнювати процеси старіння і збільшувати тривалість життя лабораторних тварин (дрозофіл, плоских червів, мишей, щурів) [10, 22, 34, 166, 309]. За останні роки оприлюднено переконливі докази порушення експресії генів циркадіанного ритму при старінні [69, 101]. Старіння супроводжується зниженням функції ШЗ, що виявляється насамперед у порушенні ритму і зменшенні рівня секреції МТ [114].

ЦР важливий не тільки для часової організації фізіологічних функцій організму, але і тривалості його життя [125, 172, 194]. Низкою робіт показано, що порушення фотоперіодів може призводити до істотного зменшення тривалості життя тварин. Досліджено роль ЦР при старінні організму на золотистих хом'ячках з мутацією ритмоводія *tau* у НПЯ гіпоталамуса. Спостереження показали, що мутантні хом'ячки мали на 20 % меншу тривалість життя, ніж контрольні. Коли ж у головний мозок старих мутантних хом'яків імплантували НПЯ від плодів нормальних хом'яків, відновлювалася нормальна тривалість життя. Таким же ефектом, на думку авторів, будуть володіти будь-які впливи, спрямовані на нормалізацію ЦР. Зруйнування осцилятора (НПЯ) призводить до скорочення тривалості життя тварин [154]. Порушення функції циркадіанного гена *Per2* викликає

передчасне старіння і збільшує чутливість мишей до гамма-радіації [24]. Мутації в генах ЦР *Clock/Clock* у мишей спричиняють ожиріння і розвиток метаболічного синдрому [18, 30], а також передчасні порушення астрального циклу і зниження фертильності.

Незважаючи на розкриття деяких аспектів молекулярних механізмів функціонування структур гіпоталамуса, взаємозв'язок між продукцією МТ за різної тривалості циклу світло-темрява та морфо-функціональними змінами звсПШЯ і пдсПШЯ, а також НЯ гіпоталамуса у віковому аспекті до теперішнього часу не встановлено, що і стало метою нашої роботи.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Експериментальні тварини

Дослідження проведені на 178 старих нелінійних самцях білих щурів віком 24-30 міс. і масою 320-460 г. Вибір статі тварин зумовлений більшою вразливістю нейронендокринної регуляції стрес-реактивності у самців. Адаптаційні системи самок динамічніші, надійніші і мають більшу резервну потужність, а, отже, саме у самців легше виявити нейрохімічні, ендокринні та морфологічні кореляти зрушень, викликаних впливом стресу.

До початку експерименту тварин утримували у віварії при сталій температурі, вологості повітря та вільному доступі до води та їжі. Усі експерименти проведені в літньо-осінній період, оскільки за літературними джерелами, це є період стабільної сезонної активності кори надниркових залоз [6].

Об'єктом дослідження в експериментальних тварин обрано присередні дрібноклітинні, задньобічні великоклітинні суб'ядра ПШЯ та НЯ гіпоталамуса.

2.2. Серії експериментальних досліджень

В анатоμο-експериментальному дослідженні старі щури поділені на 6 серій досліджень. Кожна з останніх у свою чергу, складалася з двох груп. Розподіл кількості старих щурів вказаний у таблиці 2.1.

Тварини серії № 1 перебували за умов стандартного світлового режиму. Люмінесцентні лампи вмикали з 08.00 до 20.00 год, освітленість приміщення на рівні тварин становила 500 лк упродовж 7-ми діб.

Таблиця 2.1

Розподіл експериментальних тварин на групи

№ п/п	Серії досліджень
1	(12.00С:12.00Т)
2	(00С:24.00Т)
3	(24.00С:00Т)
4	(12.00С:12.00Т) + розчинник
5	(12.00С:12.00Т) + мелатонін
6	(24.00С:00Т) + мелатонін

Тварини серії № 2 знаходилися за умов постійної темряви (світлової депривації) впродовж 7-ми діб.

Тварини серії № 3 перебували при постійному освітленні (моделювання світлового стресу) впродовж 7-ми діб.

Тварини серії № 4 (контроль) знаходилися за тих же умов експерименту, як і щури серії № 1, проте щоденно о 19.00 год внутрішньоочеревинно отримували ін'єкцію 1,0 мл розчинника (0,9 % розчин етанолу на фізіологічному розчині).

Тваринам серії № 5, які знаходилися за умов експерименту, як і щури серії № 1, щоденно о 19.00 год внутрішньоочеревинно вводили МТ (Sigma, США, ступінь очищення – 99,5 %) у дозі 1,0 мг/кг, у 1,0 мл розчинника (0,9 % розчин етанолу на фізіологічному розчині).

Тварини серії № 6 знаходилися за умов експерименту, як і щури серії № 3. Їм щоденно о 19.00 год внутрішньоочеревинно вводили МТ (Sigma, США, ступінь очищення – 99,5 %) у дозі 1,0 мг/кг, у 1,0 мл розчинника (0,9 % розчин етанолу на фізіологічному розчині).

Експерименти в серії № 2 та в нічний період доби в серіях № 1, 4, 5 проводили при слабкому (2 лк) червоному світлі, оскільки воно практично не

впливає на біосинтез МТ ШЗ [19].

Комісією з питань біомедичної етики Буковинського державного медичного університету МОЗ України (протокол №3 від 18 листопада 2021 р.) встановлено, що дослідження виконані з дотриманням наказів МОЗ України No 690 від 23.09.2009 р., No 944 від 14.12.2009 р.. та законами України. Усі маніпуляції проводили відповідно до Директиви Європейського союзу 2010/63/EU про захист тварин, що використовуються в наукових цілях [155].

2.3. Забір біоматеріалу

Після закінчення 7-денного експерименту наступного дня о 14.00 і о 02.00 год здійснювали виведення тварин з експерименту шляхом одномоментної декапітації під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг внутрішньочеревинно).

З метою виявлення морфо-функціональних відмінностей досліджуваних структур та враховуючи циклічність продукції МТ забір біоматеріалу здійснювався з 12-годинним інтервалом (о 02.00 год, коли функціональна активність ШЗ щодо синтезу МТ максимальна та о 14.00 год, коли спостерігається її гіпофункція).

Мозок тварин негайно вилучали і поміщали в 10 % розчин формаліну в 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,2) на 20 год при кімнатній температурі. Після стандартної процедури зневоднення і просочення хлороформом і парафіном, мозок заливали в парафін. Виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5-6 мкм та зафарбовували гематоксиліном і еозином.

2.4. Морфометрія гістологічних зображень

Досліджувані структури фіксували в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну впродовж 48-ми годин, після чого виконували зневоднювання у спиртах та парафінову заливку. Парафінові зрізи завтовшки

5,0 мкм фарбували гематоксиліном і еозином. Для комп'ютерної морфометрії отримували цифрові копії зображень досліджуваних структур з використанням мікроскопа ЛЮМAM-P8 (об'єктив 40^x – для цитометричних досліджень, окуляр 10^x – для гістологічних досліджень, окуляр 10^x для всіх досліджень) та цифрової камери Olympus C740UZ. Потім цифрові копії зображення аналізували за допомогою ліцензійної версії комп'ютерної програми "ВидеоТест – Размер 5.0" (ООО Видеотест, Росія) – проводили комп'ютерну мікроденситометрію із застосуванням показників, які вказані в результатах дослідження. Окремого пояснення потребує лише показник комп'ютерної мікроденситометрії „Стандартне відхилення відносної оптичної щільності забарвлення” щодо застосування його для зафарбованих клітинних ядер. Вказаний показник кількісно віддзеркалює ступінь гомогенності забарвлення – величина „0” відповідає абсолютній гомогенності (однорідності) забарвлення, а зростання величини показника свідчить про збільшення неоднорідності забарвлення. Це дозволяє застосувати показник “Стандартне відхилення відносної оптичної щільності забарвлення” для об'єктивної, відтворюваної оцінки співвідношення еухроматину (більш гомогенне забарвлення) та гетерохроматину (більш гранулярне забарвлення) у клітинних ядрах.

Топографічну належність нейронів окремим структурам гіпоталамуса картували відповідно до стереотаксичного атласу мозку щура (Paxinos G.D., Watson C.C., 1985). Належність ідентифікованих нейронів окремим суб'ядрам ПШЯ проводили на підставі топографічної і функціональної класифікації, що зазначена в роботах W.E. Armstrong et al. (1980), L.W. Swanson, H.G. Kupers (1980), L.W. Swanson, P.E. Sawchenko (1983), Е.И. Гоуфманом (1985, 1990). Згідно з даною класифікацією в ПШЯ виділяють групу дрібноклітинних суб'ядер – переднє, присереднє, перивентрикулярне, бічне, заднє, – і групу великоклітинних – переднє, присереднє і заднє (рис. 2.1).

Відомо, що присереднє, перивентрикулярне і дорсоприсереднє дрібно-

клітинні, а також присереднє і бічне великоклітинні суб'ядра ПШЯ належать до нейросекреторних утворень, оскільки основні свої еферентні проекції направляють у серединне підвищення гіпоталамуса, забезпечують надходження нейропептидів у портальний кровотік і регуляцію ними функції аденогіпофіза.

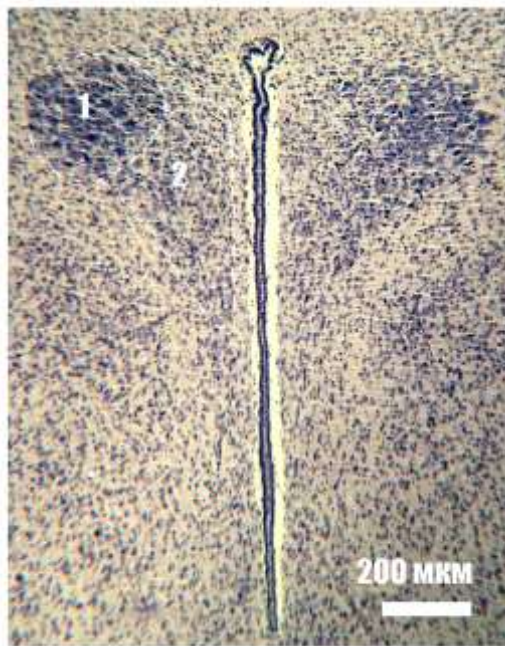


Рис. 2.1. Гістологічне зображення ПШЯ гіпоталамуса старого щура.

Примітки: 1 – задньобічне великоклітинне суб'ядро;

2 – присереднє дрібноклітинне суб'ядро.

При цьому присереднє і дорсоприсереднє дрібноклітинні суб'ядра синтезують кортикотропін-рилізінг фактор (КРФ) і, в першу чергу, залучені в нейроендокринну відповідь при різноманітних стресових реакціях організму, що і визначило їх вибір для вивчення реакції нейроендокринної системи при порушенні світлового режиму перебування тварин. Оскільки топографічно дорсоприсереднє дрібноклітинне суб'ядро ПШЯ розташоване в дорсальній частині присереднього дрібноклітинного суб'ядра і займає значно меншу площу, ніж останнє, у своїх дослідженнях обидва суб'ядра розглядали як одну структуру.

Серед великоклітинних суб'ядер об'єктом вивчення слугувало заднє великоклітинне суб'ядро ПШЯ, яке прийнято поділяти на задньоприсереднє суб'ядро, що містить здебільшого окситоцин-синтезуючі нейрони, і задньобічне суб'ядро, що містить ВП-синтезуючі нейрони. Враховуючи щільність розташування вказаних суб'ядер, а також ту обставину, що синтезовані ними нейропептиди також беруть участь у реалізації нейроендокринної відповіді на стрес, у наших дослідженнях заднє великоклітинне суб'ядро ПШЯ розглядалося як єдина структура.

Об'єктом вивчення було і НЯ гіпоталамуса щурів (рис. 2.2).

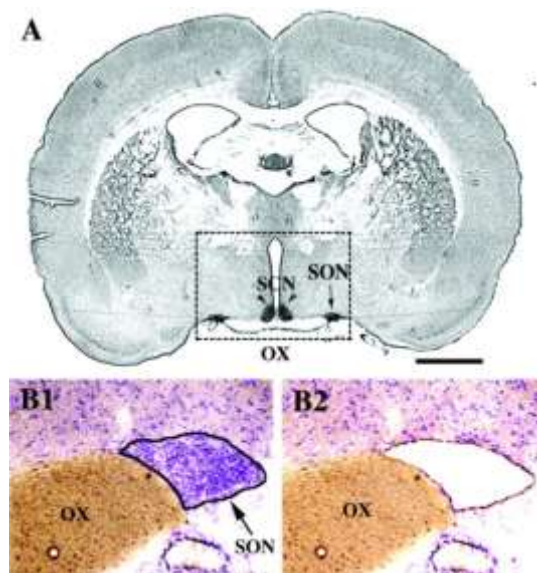


Рис. 2.2. Картування НЯ гіпоталамуса відповідно до стереотаксичного атласу мозку щура.

2.5. Ультрамiкроскопія препаратів

Для електронно-мiкроскопічних досліджень маленькі шматки з ділянки локалізації НЯ гіпоталамуса занурювали в 2,5 % розчин глутаральдегіду з активною реакцією середовища 7,3-7,4 на фосфатному буфері Міллоніга. Фіксований у глутаральдегіді матеріал через 50-60 хв переносили в буферний розчин і промивали впродовж 20-30 хв. Дофіксацію матеріала проводили в 1 % розчині чотириокису осмію на буфері Міллоніга впродовж

60 хв. Подальшу обробку матеріалу (дегідратацію у спиртах і ацетоні, зафарбовування уранілацетатом і заливку в епоксидні смоли) проводили за загальноприйнятою методикою. Готові блоки ультрамікротомували на приладах УМТП-7 і “ЛКВ-3”. Напівтонкі зрізи, приготовлені з матеріалу гіпоталамуса, наносили на скельця, зафарбовували за допомогою толуїдинового синього на 1 % розчині бури і проглядали у світловому мікроскопі. Блоки, що містили НСК, підлягали ультратонкому різанню. Зрізи фіксували на електролітичні сіточки, контрастували уранілацетатом і цитратом свинцю за Рейнольдсом.

Вивчення і фотографування препаратів проводили за допомогою електронних мікроскопів ЕМВ-100 ЛМ та ЕМ 125 К наукової лабораторії Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського.

Відомо, що НЯ належать до великоклітинних нейросекреторних утворень, оскільки основні свої еферентні проекції направляють у серединне підвищення гіпоталамуса, забезпечують надходження нейропептидів у портальний кровотік і регуляцію ними функції нейрогіпофіза. НСК НЯ продукують гормони ВП і окситоцин, і в першу чергу залучені в нейроендокринну відповідь при різноманітних стресових реакціях та порушеннях водно-сольового гомеостазу організму, що і визначило їх вибір для вивчення реакції нейроендокринної системи.

2.6. Морфометрична і денситометрична характеристика нейронів гіпоталамуса щурів

Для вивчення морфометричних і денситометричних характеристик нейронів гіпоталамуса на ротаційному мікротомі Microm 340HR (Microm, Німеччина) готували серійні гістологічні зрізи завтовшки 7 мкм депарафінували у ксилолі, проводили регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100 %, 96 %, 70 %), тричі відмивали у дистильованій воді і впродовж 48 годин забарвлювали за Ейнарсоном у розчині галоціанін-хромових

галунів, що дозволяє виявляти нуклеїнові кислоти (здебільшого РНК) у нейронах. Потім зрізи тричі відмивали у дистильованій воді, дегідрували у висхідних концентраціях етанолу (70 %, 96 %, 100 %), ксилолі і поміщали в канадський бальзам.

Морфометричний і денситометричний аналіз нейронів гіпоталамуса і кількісний аналіз вмісту в них РНК проводили на комп'ютерній системі цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) у видимому спектрі. Зображення, що отримується на мікроскопі AXIOSKOP, за допомогою відеокамери COHU-4922 (COHU Inc., США) вводили в комп'ютерну систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) та оцифровували за денситометричною шкалою з 256 градаціями сірого кольору. Аналіз зображення проводили в напівавтоматичному режимі за допомогою пакету прикладних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина): інтерактивно визначалися межі тіла нейрона, його ядра і ядерця, а потім автоматично визначалися площа виділених об'єктів, концентрація і вміст у них РНК.

На підставі отриманих показників обчислювали концентрацію РНК у виділених структурах нейронів K_i (одиниць оптичної щільності – о.о.щ.): $K_i = |\lg(D_i / D_0)|$, і вміст РНК у виділених структурах нейронів C_i (одиниць оптичної щільності – о.о.щ.): $C_i = S_i \cdot |\lg(D_i / D_0)|$, де S_i – площа структури нейрона (мкм^2), а D_i і D_0 – показники оптичної щільності виділених структур нейронів і міжклітинної речовини («фону» препарату), відповідно.

2.7. Імуногістохімічне дослідження мелатонінових рецепторів 1A

Для імуногістохімічного дослідження фрагменти великих півкуль мозку фіксували у 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну впродовж 22 год. Після цього виконували прискорене зневоднення у спиртах висхідної концентрації, заливали в парафін при температурі 58°C з наступним отриманням гістологічних зрізів 5 мкм завтовшки.

З метою виконання імуногістохімічної методики використані поліклональні антитіла до МТ-рецепторів 1А виробника Abcam (Великобританія) та стрептавідинбіотинову систему візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника Chemicon International Inc. (США). Максимально дотримувалися стандартизації протоколу методики для всіх зрізів. Дофарбовування ядер виконували гематоксиліном Майєра.

2.8. Методи статистичного аналізу

Отримані експериментальні дані кількісного визначення cFos у нейронах, а також морфометричних характеристик нейронів і кількісного визначення в них РНК обробляли на персональних комп'ютерах пакетом прикладних і статистичних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина) і EXCEL-2003 (Microsoft Corp., США). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки ($\bar{x}$), її дисперсії і похибки середньої (S_x). Для виявлення вірогідності відмінностей результатів у дослідних і контрольних групах тварин визначали коефіцієнт Ст'юдента (t), вірогідність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої за таблицями розподілу Ст'юдента. Вірогідними вважали значення, для яких $p < 0,05$ [73].

При імуноцитохімічному дослідженні кількісні дослідження інтенсивності зафарбовування проводили за наступною схемою. Спочатку, при використанні об'єктива мікроскопа $\times 40$, отримували цифрові копії оптичного зображення, які надалі аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми "ВидеоТест – Размер 5.0" (ООО Видеотест, Росія), а саме – проводили комп'ютерну мікроденситометрію. Аналіз здійснювали на підставі вимірювань мікрозондовою методикою в місцях позитивного забарвлення за показником "Оптична щільність" (у відносних одиницях з діапазоном 0-1, причому «0» відповідає абсолютній оптичній прозорості у мікрозонді, а «1» – абсолютній оптичній непрозорості). Інтенсивність специ-

фічного зафарбовування (показник "Оптична щільність") ототожнювали зі ступенем щільності МТ-рецепторів.

Враховуючи необхідність виконання множинних статистичних порівнянь середніх величин у статистичних вибірках, для визначення відмінностей між сукупностями використаний критерій Ньюмена-Кейлса. Розбіжність у варіюванні індивідуальних величин вимірюваного показника оцінювали за допомогою двох відповідних цьому завданню статистичних методів – критерію Фішера та критерію Левене [90].

РОЗДІЛ 3

**ГІСТОЛОГІЧНА ТА МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ
НЕЙРОНІВ ПРИСЕРЕДНІХ ДРІБНОКЛІТИННИХ СУБ'ЯДЕР
ПРИШЛУНОЧКОВИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА СТАРИХ ЩУРІВ
ЗА РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ТЕРАПІЇ**

3.1. Структурні зміни за різної тривалості фотоперіоду

При гістологічних дослідженнях пдсПШЯ та звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів враховувалися особливості їх внутрішньої структури. Зокрема, було встановлено, що нейроцити як пдсПШЯ, так і звсПШЯ гіпоталамуса старих тварин розташовані в них порівняно рівномірно в різних ділянках, клітини мали однотипну будову відповідно до особливостей ядра.

Так, у пдсПШЯ нейроцити мали менші розміри як у цілому, так і були менших розмірів їхні клітинні ядра, ніж у нейроцитах у звсПШЯ гіпоталамуса. Окрім того, клітинні ядра нейронів у пдсПШЯ гіпоталамуса мали більш конденсований хроматин, іноді він виглядав навіть пікнотичним, тоді коли у звсПШЯ гіпоталамуса клітинні ядра нейронів виглядали пухирцеподібними з підкреслено гетерогенним хроматином зі значною присутністю світлого хроматину (гетерохроматину).

Завдяки таким морфологічним особливостям нейроцитів пдсПШЯ та звсПШЯ гіпоталамуса в них методом морфометрії можна було визначити низку цитометричних параметрів, які виявилися доволі чутливими в нейронах пдсПШЯ та звсПШЯ гіпоталамуса до умов проведеного експерименту на тваринах, що дозволило їх систематично використати в наведених таблицях і рисунках у цьому та наступному розділах. Окрім того, було відмічено, що різні умови експерименту помітно впливають на середню кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу, тобто на їх концентрацію. У даному

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 пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів за звичайних умов освітлення наведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Окремі морфометричні показники нейронів дрібноклітинного ядра гіпоталамуса старих щурів при стандартному режимі освітлення

Показник	Години доби	
	14.00	02.00
Середній об'єм нейроцитів (мкм^3)	$665 \pm 6,6$	$603 \pm 5,6$ $p < 0,05$
Середній об'єм ядер нейроцитів (мкм^3)	$236 \pm 6,3$	$232 \pm 7,6$
Середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу ($100 \times 100 \text{ мкм}^2$)	$17 \pm 0,3$	$17 \pm 0,5$

Примітка. $p < 0,05$ – вірогідність розбіжності порівняно з групою попереднього часового інтервалу.

З наведених у таблиці 3.1 даних видно, що при звичайному режимі освітлення у пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів (рис. 3.1-3.2) помітно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 02.00 год (рис. 3.2) порівняно з 14.00 год (рис. 3.1), тоді, коли об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому не змінюється. Разом з тим, необхідно відмітити, що середня кількість нейроцитів у пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів на стандартній площині гістологічного зрізу ($100 \times 100 \text{ мкм}^2$) вірогідно не змінюється в різні періоди доби.

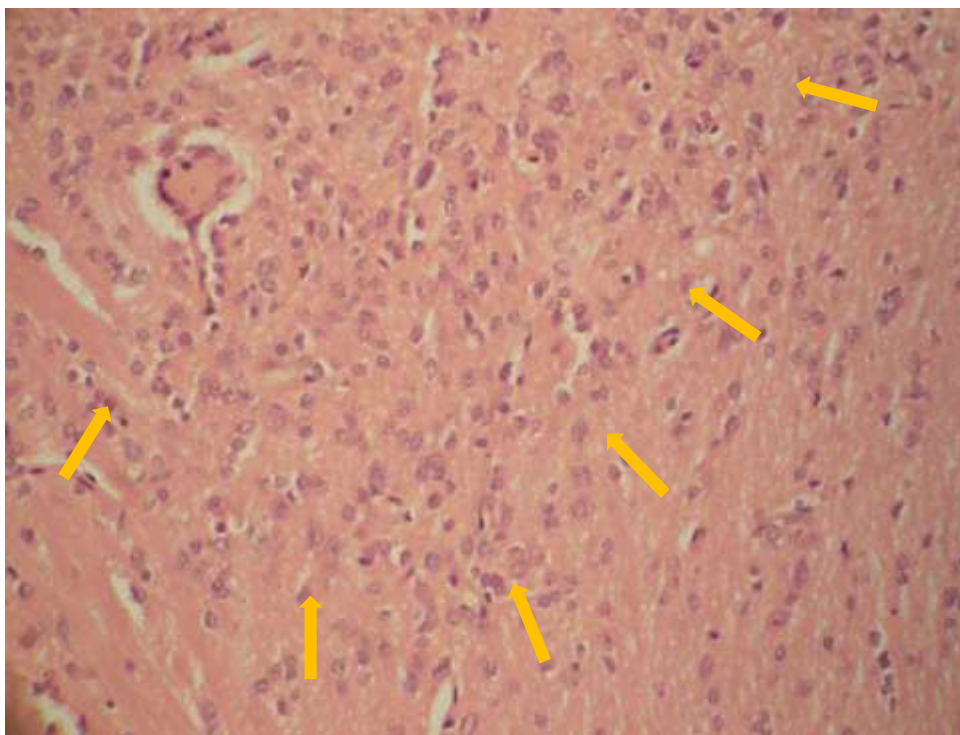


Рис. 3.1. Фрагмент пдсПШЯ гіпоталамуса інтактного старого щура о 14.00 год. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

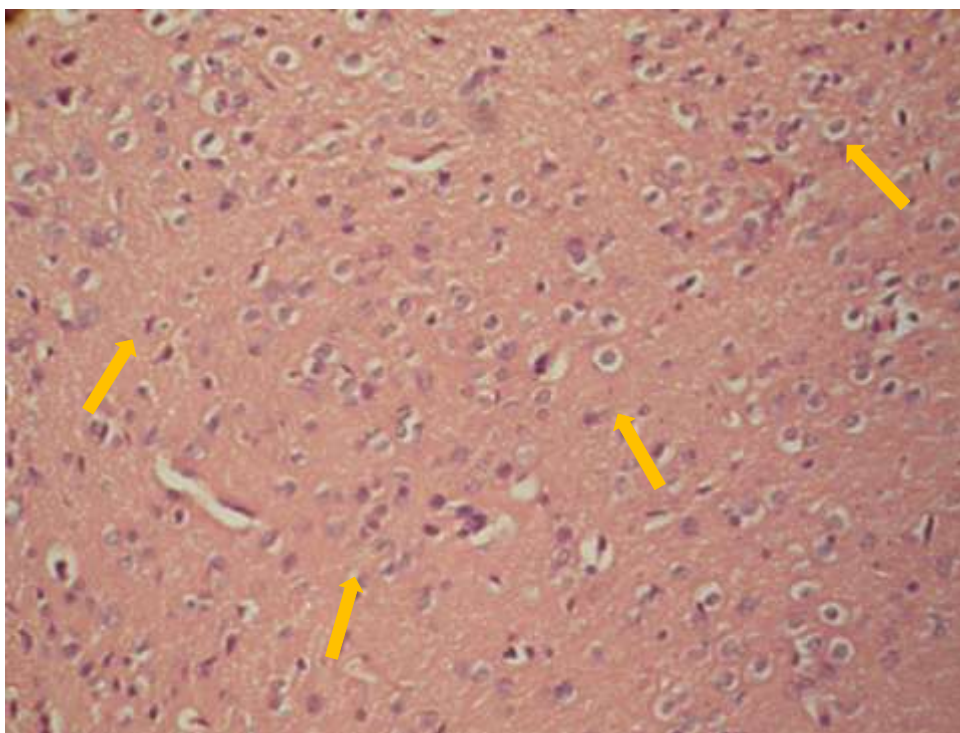


Рис. 3.2. Фрагмент пдсПШЯ гіпоталамуса інтактного старого щура о 02.00 год. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

Дослідженням морфометричних та денситометричних показників пдсПШЯ гіпоталамуса відзначено їх коливання впродовж періодів спостереження. О 14.00 год площа тіла нейрона складає $60,37 \pm 0,764$ мкм², ядра – $35,34 \pm 0,570$, ядерця – $5,12 \pm 0,129$ мкм², цитоплазми – $25,72 \pm 0,352$ мкм² (табл. 3.2). Такі розміри тіла нейрона зумовлені площами ядра та цитоплазми, що відмічено шляхом кореляційного аналізу ($r=0,87$ та $r=0,94$ відповідно). У цей добовий проміжок питомий об'єм ядра становив $58,54 \pm 0,944$ %, а цитоплазми – $41,46 \pm 0,566$ % від загального об'єму НСК. ЯЦС нейрона пдсПШЯ гіпоталамуса тварин перебувало в межах $1,36 \pm 0,023$ од. Вимірювання концентрації РНК у компонентах нейрона показало, що в ядрі вона становила $0,180 \pm 0,0015$ о.о.щ, в ядерці – $0,292 \pm 0,0021$ о.о.щ., у цитоплазмі – $0,131 \pm 0,0011$ о.о.щ.

Порівняно з денним періодом (14.00 год) о 02.00 год відмічається вірогідне зниження площі нейрона на $10,1 \pm 2,02$ % внаслідок зменшення площі його ядра на $8,8 \pm 1,76$ % та цитоплазми на $14,3 \pm 2,85$ % (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Добова морфометрична характеристика нейронів присередніх дрібноклітинних суб'ядер прищлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	$60,37 \pm 0,764$	$35,34 \pm 0,570$	$5,12 \pm 0,129$	$25,72 \pm 0,352$
Інтактні, 02.00 год	$54,82 \pm 0,559$ $p < 0,001$	$32,46 \pm 0,434$ $p < 0,01$	$5,11 \pm 0,138$	$22,51 \pm 0,289$ $p < 0,001$

Примітки: n – кількість тварин; p – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

Кореляційним аналізом доведено тісний прямий зв'язок: між площею тіла нейрона та ядра коефіцієнт кореляції складав 0,65, а між площею тіла та

цитоплазми нейрона значення сягало 0,63. Водночас, ЯЦС становило $1,42 \pm 0,018$ од. і вірогідно більше на $5,11 \pm 0,09$ % щодо денних величин (рис. 3.3). Зміна площі НСК супроводжувалася вірогідним зниженням концентрації РНК у цитоплазмі на $3,1 \pm 0,62$ % (табл. 3.3). При цьому концентрація РНК в ядрі та ядерці нейрона гіпоталамуса не зазнавала істотних змін порівняно з групою інтактних тварин о 14.00 год.

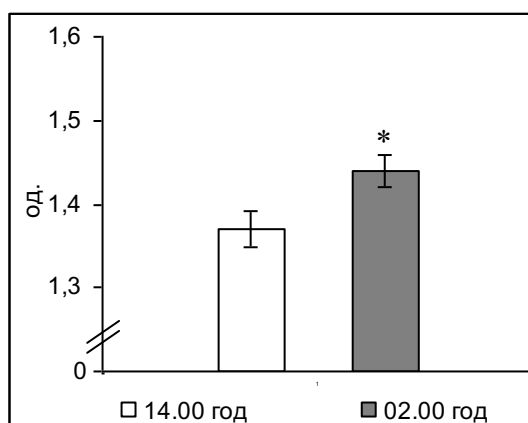


Рис. 3.3. Добові зміни ядерно-цитоплазматичного співвідношення у нейронах пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів.

Таблиця 3.3

**Концентрація РНК у нейронах пдсПШЯ гіпоталамуса
старих щурів впродовж доби ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Інтактні, 14.00 год	$0,180 \pm 0,0015$	$0,292 \pm 0,0021$	$0,131 \pm 0,0011$
Інтактні, 02.00 год	$0,179 \pm 0,0017$	$0,293 \pm 0,0023$	$0,127 \pm 0,0013$ $p < 0,05$

Отже, в інтактних старих щурів спостерігається добовий ритм морфофункціональної активності досліджуваних нейротрансдукторів пдсПШЯ гіпоталамуса з максимальними показниками в денний проміжок доби (до 14.00).

Поміж інших, головними активаторами періодичності циркадіанних ритмів систем органів є добові зміни дня і ночі. Відомо, що хронорегуляторним гормоном є МТ, максимальна частка якого продукується в ШЗ. Світлова депривація стимулює, а постійне освітлення, навпаки, пригнічує секрецію

епіфізарного МТ, і, таким чином, спричиняють десинхроноз циркадіанного пейсмейкера. Для з'ясування місця нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса тварин у формуванні циркадіанного періодизму нами проведені морфометричні та денситометричні вимірювання вказаних складових гіпоталамуса за різної тривалості фотоперіоду.

Оскільки за умов тривалої темряви підвищується функціональна здатність ШЗ відносно синтезу МТ частину тварин утримували саме за таких умов упродовж 7 діб. Тому, наступний етап експерименту полягав у визначенні цитометричних показників нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів у різні періоди доби за умов світлової депривації. Середні цифри таких обчислень і рівні вірогідності розбіжностей наведені в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Морфометричні показники нейронів присереднього дрібноклітинного суб'ядра ПШЯ гіпоталамуса старих щурів за умов світлової депривації

Показник	Години доби	Стандартне освітлення	Світлова депривація
Середній об'єм нейроцитів (мкм ³)	14.00	665±6,6	695±5,4 p<0,05
	02.00	603±5,6	644±5,9 p<0,05
Середній об'єм ядер нейроцитів (мкм ³)	14.00	236±6,3	238±6,4
	02.00	232±7,6	238±6,2
Середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм ²)	14.00	17±0,3	25±0,6 p<0,05
	02.00	17±0,5	24±0,5 p<0,05

Примітка. Вірогідність розбіжності вказана порівняно з групою інтактних старих щурів у межах часового інтервалу (у разі p<0,05).

Як засвідчують дані табл. 3.4, за умов світлової депривації зростає об'єм нейроцитів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів порівняно з тваринами при звичайному режимі освітлення. Окрім цього, дещо зростає середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу. Водночас, необхідно вказати на те, що за умов світлової депривації у пдсПШЯ гіпоталамуса старих

щурів помітно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 02.00 (рис. 3.5) порівняно з 14.00 год (рис. 3.4), тоді, як об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження, в середньому, не змінюється.

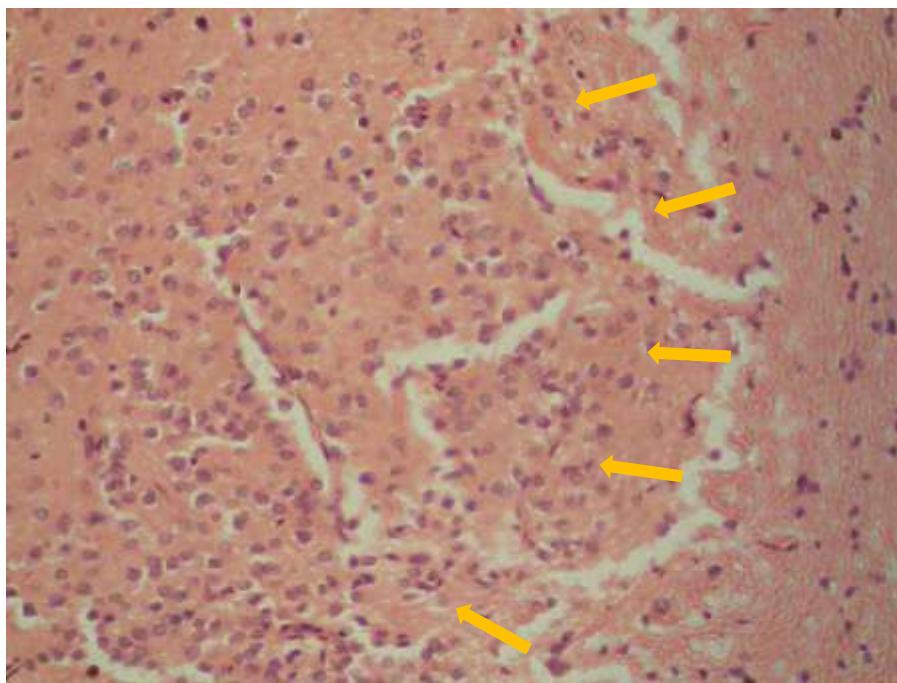


Рис. 3.4. Фрагмент пдсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової депривації о 14.00 год. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

У першій групі серії старих щурів, яких декапітували о 14.00 год, площа нейрона становила $54,56 \pm 0,602 \text{ мкм}^2$ і вірогідно нижча на $9,3 \pm 1,08 \%$ за аналогічний параметр в інтактних старих щурів (табл. 3.5). Такі зміни зумовлені зниженням площі як ядра на $22,8 \pm 2,85 \%$, так і ядерця нейрона на $20,1 \pm 2,18 \%$ щодо групи порівняння. Потрібно також зауважити, що не зважаючи на вірогідне зниження площі досліджуваного трансдуктора пдсПШЯ площа його цитоплазми сягала $28,49 \pm 0,317 \text{ мкм}^2$ і на $10,8 \pm 2,53 \%$ більша, ніж у інтактній групі тварин ($r=0,83$).

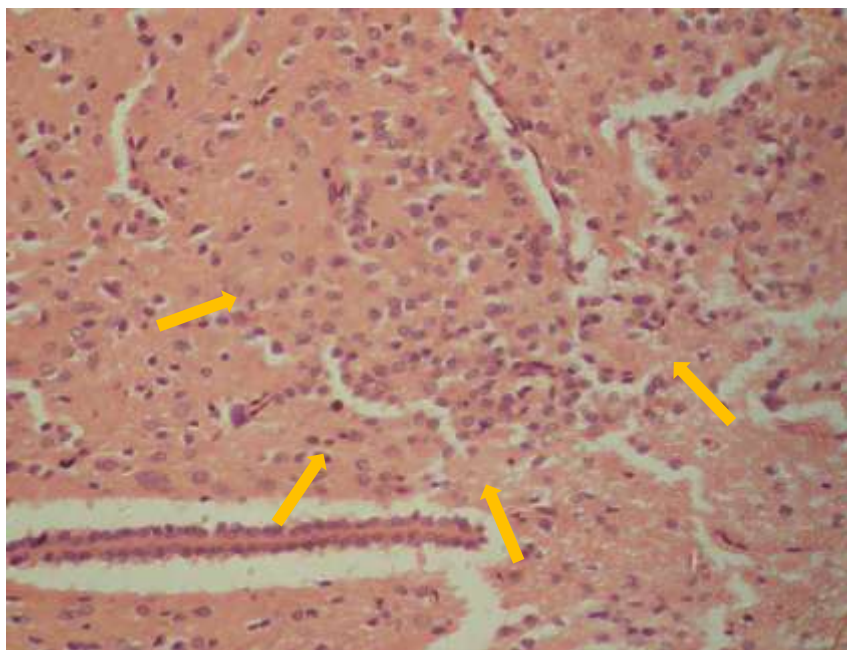


Рис. 3.5. Фрагмент пдсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової депривації о 02.00 год. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

Таблиця 3.5

Вплив світлової депривації на площу тіла нейрона пдсПШЯ гіпоталамуса старих тварин, його ядра, ядерця та цитоплазми ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	60,37 ± 0,764	35,34 ± 0,570	5,12 ± 0,129	25,72 ± 0,352
Інтактні, 02.00 год	54,82 ± 0,559 $p_1 < 0,001$	32,46 ± 0,434 $p_1 < 0,01$	5,11 ± 0,138	22,51 ± 0,289 $p_1 < 0,001$
Постійна темрява, 14.00 год	54,56 ± 0,602 $p < 0,001$	27,28 ± 0,414 $p < 0,001$	4,09 ± 0,136 $p < 0,001$	28,49 ± 0,317 $p < 0,001$
Постійна темрява, 02.00 год	60,44 ± 0,885 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	32,01 ± 0,558 $p_1 < 0,001$	4,76 ± 0,120 $p_1 < 0,01$	28,67 ± 0,522 $p < 0,001$

Примітка. У цій та наступних таблицях розділу – p – вірогідні зміни щодо параметрів тварин, які перебували за умов стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p_1 – вірогідність різниці щодо параметрів тварин попереднього часового інтервалу в межах серії. У кожній групі по 6 тварин.

Збільшення площі цитоплазми нейрона віддзеркалилося вірогідним зростанням її питомого об'єму щодо соми нейрона за умов значного зниження питомого об'єму ядра (рис. 3.6). У свою чергу, це стало причиною вірогідного зниження ЯЦС, яке становило $0,95 \pm 0,015$ од. і на $29,9 \pm 2,05$ % нижче за контрольний показник у денний інтервал спостереження.

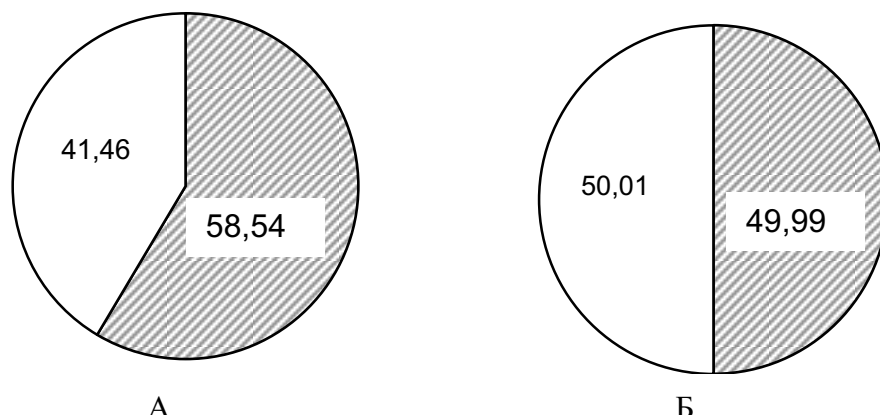


Рис. 3.6. Зміни питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів (%) під впливом світлової депривації о 14.00 год.

А – стандартний світловий режим; Б – вплив постійної темряви; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра)

У цей добовий період реєстрували вірогідно нижчу концентрацію РНК в ядрі (на $14,8 \pm 1,75$ %) та ядерці (на $12,5 \pm 1,19$ %) нейрона (рис. 3.7).

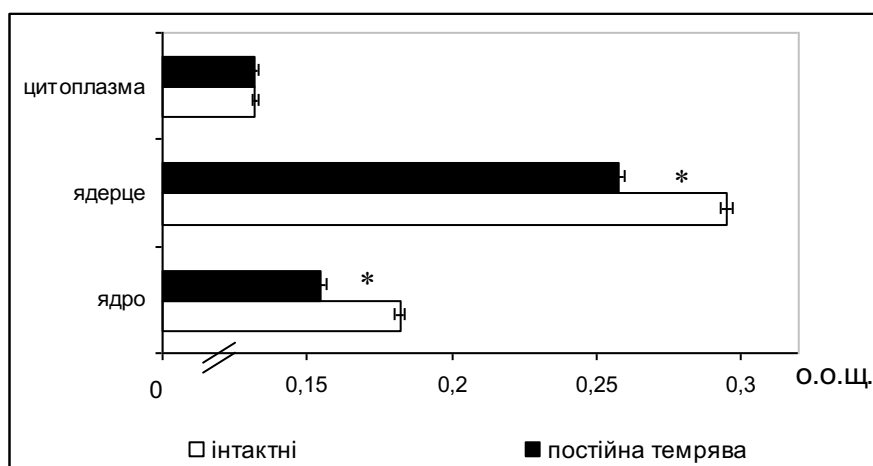


Рис. 3.7. Зміни концентрації РНК (о.о.щ.) в нейроні пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів о 14.00 год за світлової депривації.

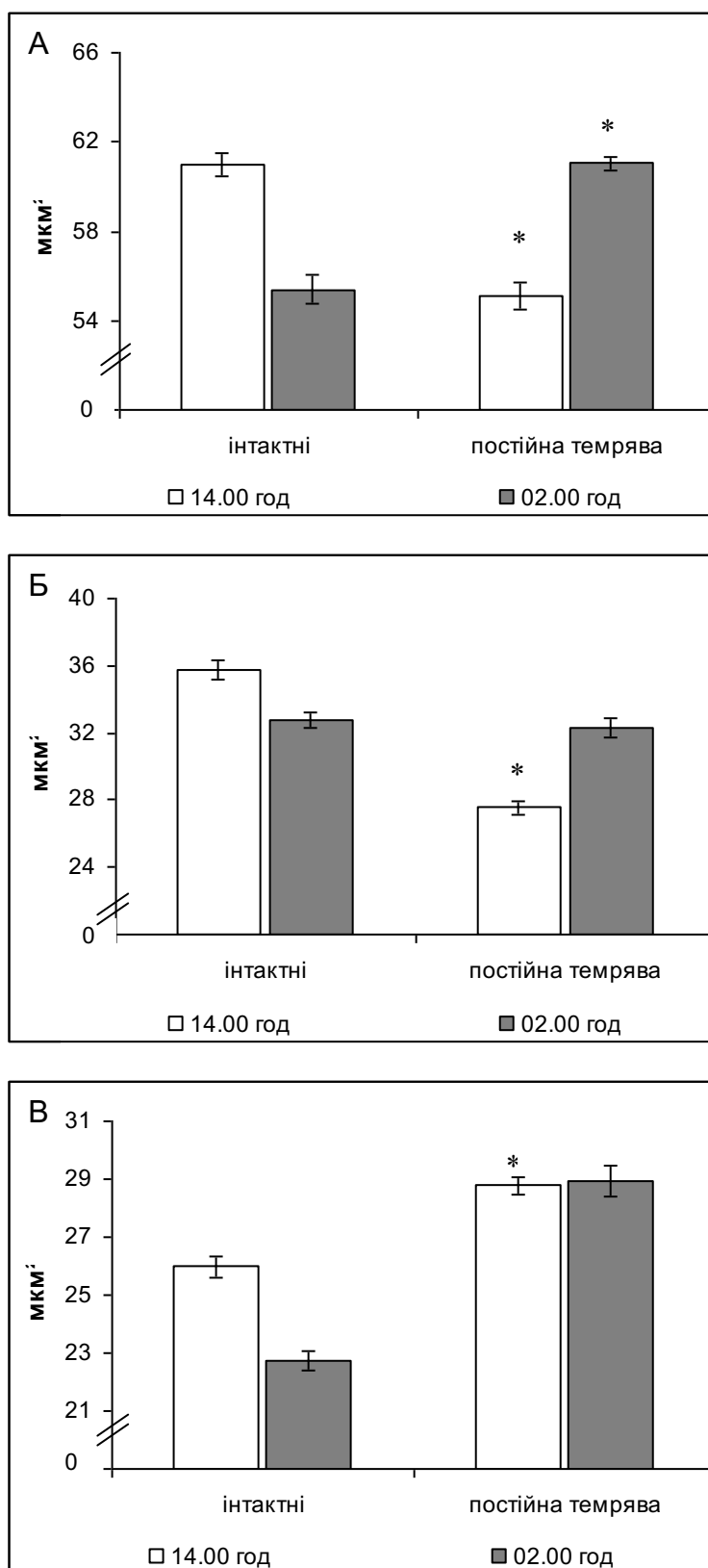


Рис. 3.8. Вплив світлової депривації на добову динаміку морфометричних показників компонентів нейрона підПШЯ гіпоталамуса старих щурів.

А – площа тіла; Б – площа ядра; В – площа цитоплазми.

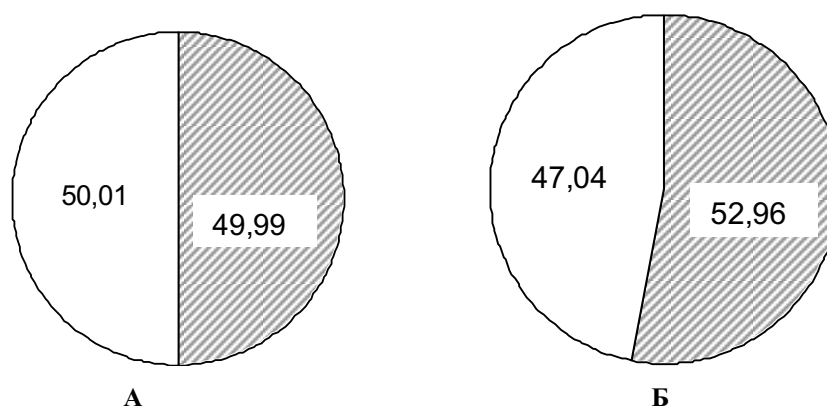


Рис. 3.9. Коливання питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів пдсПШЯ у різні періоди доби в старих щурів, які перебували за умов світлової депривації.

А – стандартний світловий режим; Б – вплив постійної темряви; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра)

Отримані величини свідчать про зниження активності нейронів пдсПШЯ в денний період спостереження на тлі світлової депривації.

Незважаючи на збільшення площі тіла нейрона і його компонентів, у нічний період, порівняно з денним (рис. 3.8-3.9), в ядрі реєстрували вірогідно нижчу концентрацію РНК (на $32,04 \pm 3,25$ %) внаслідок її зниження в ядерці (на $22,01 \pm 2,09$ %). Водночас уміст РНК вірогідно спадав і в цитоплазмі, де її концентрація становила $0,104 \pm 0,0011$ о.о.щ. (рис. 3.10).

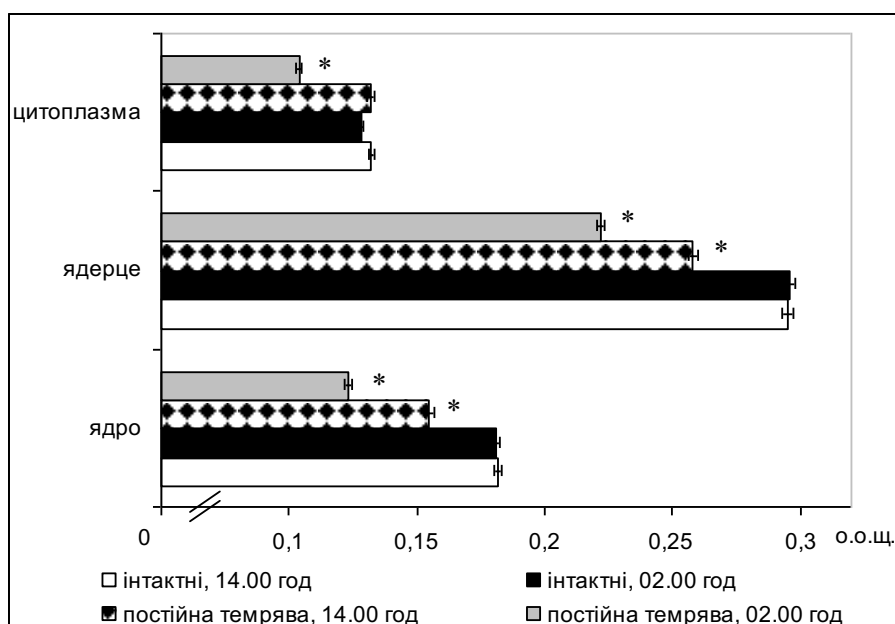


Рис. 3.10. Добова динаміка концентрації РНК (о.о.щ.) в нейроні пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, які перебували за умов світлової депривації.

Результати нічного етапу експерименту у тварин, яких утримували за умов тривалої темряви вказують на порушення ритмічності активності нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса та зміщення максимальних величин з денних на нічні години. Ці зміни можна пояснити присутністю в цьому інтервалі доби підвищеної кількості у крові епіфізарного хронобіотика – МТ, який у якості стрес-лімітувального чинника інгібує продукцію КЛ пдсПШЯ гіпоталамуса тварин.

Наступним етапом дослідження став аналіз морфо-функціональної активності нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса у тварин, яким моделювали гіпофункцію ШЗ шляхом утримування їх за умов світлового стресу.

Цифрова документація змін нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів за умов постійного освітлення наведена у табл. 3.6, де показані середні арифметичні з похибкою та результати перевірки вірогідності розбіжностей методами статистичного аналізу.

Таблиця 3.6

Окремі морфометричні показники нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів за умов світлової стимуляції

Показник	Години доби	Стандартне освітлення	Постійне освітлення
Середній об'єм нейроцитів (мкм ³)	14.00	665±6,6	609±6,1 p<0,05
	02.00	603±5,6	603±5,6
Середній об'єм ядер нейроцитів (мкм ³)	14.00	236±6,3	232±6,1
	02.00	232±7,6	230±6,0
Середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм ²)	14.00	17±0,3	13±0,4 p<0,05
	02.00	17±0,5	14±0,4 p<0,05

Примітка. Вірогідність розбіжності вказана між групами старих щурів (у разі p<0,05).

Відповідно до даних табл. 3.6, за умов світлової стимуляції зменшується об'єм нейроцитів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів порівняно з тваринами, що перебували при звичайному режимі освітлення і ще більше – порівняно зі старими щурами за умов світлової депривації. Потрібно відмітити й те, що дещо знижується середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу порівняно з іншими режимами освітлення. Необхідно також вказати, що за умов світлової стимуляції у пдсПШЯ гіпоталамуса старих тварин знижується середній об'єм нейронів о 02.00 год (рис. 3.12) порівняно з 14.00 год (рис. 3.11), тоді, коли об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому не змінюється.

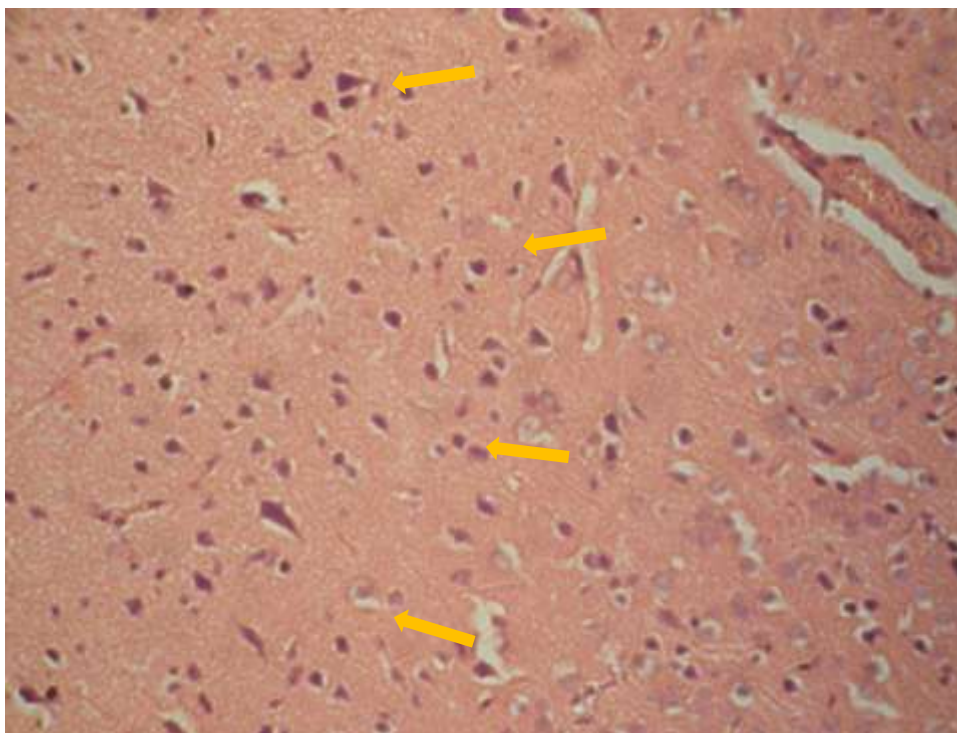


Рис. 3.11. Фрагмент пдсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової стимуляції о 14.00. Забарвлення гематоксилином і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

Проведеним етапом експерименту о 14.00 год нами відмічено тенденцію до зростання розмірів тіла нейрона, його ядра та цитоплазми без вірогідних змін показників концентрації РНК (о.о.щ.) відносно значень інтактних старих щурів (див. дрис. 3.7).

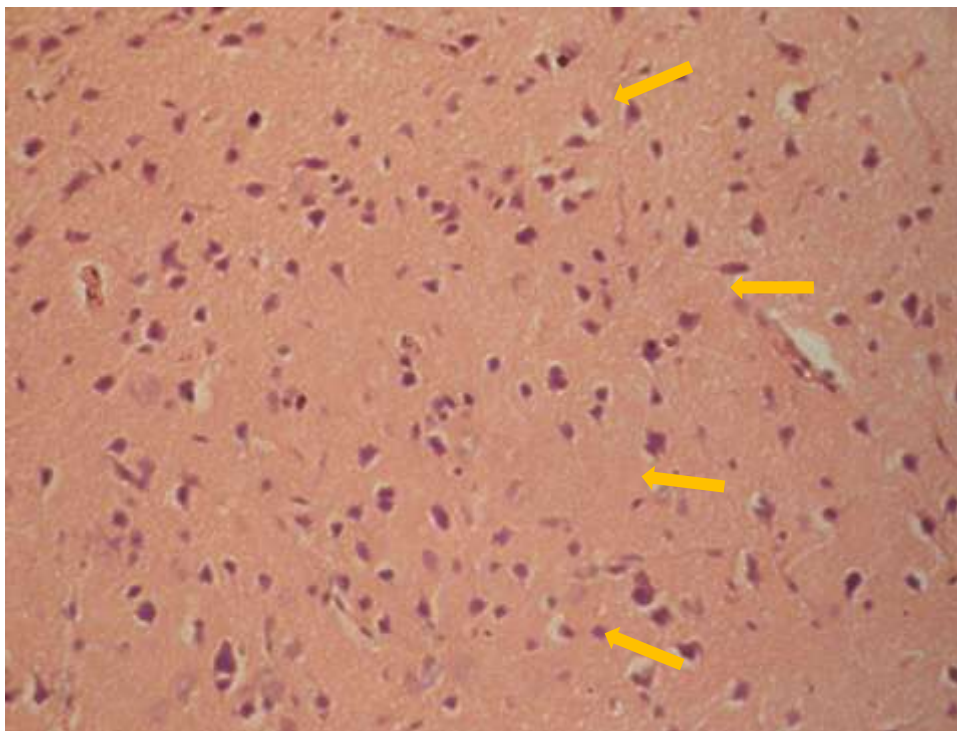


Рис. 3.12. Фрагмент пдсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової стимуляції о 02.00. Забарвлення гематоксилином і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

Таблиця 3.7

Вплив світлового стресу на морфометричну характеристику нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	60,37 ± 0,764	35,34 ± 0,570	5,12 ± 0,129	25,72 ± 0,352
Інтактні, 02.00 год	54,82 ± 0,559 $p_1 < 0,001$	32,46 ± 0,434 $p_1 < 0,01$	5,11 ± 0,138	22,51 ± 0,289 $p_1 < 0,001$
Постійне освітлення, 14.00 год	61,23 ± 0,725	36,45 ± 0,502	4,98 ± 0,104	26,75 ± 0,374
Постійне освітлення, 02.00 год	56,80 ± 0,888 $p_1 < 0,01$	33,93 ± 0,682 $p_1 < 0,05$	5,16 ± 0,160	23,02 ± 0,377 $p_1 < 0,001$

Також не виявлено істотних змін ЯЦС, питомих об'ємів ядра та цитоплазми щодо вказаної групи порівняння.

Аналізуючи концентрацію РНК у компонентах нейрона відмітимо вірогідне її зростання тільки в ядерці НСК, яка в денний період становила $0,299 \pm 0,0023$ о.о.щ. на $2,5 \pm 0,29$ % перевищуючи контрольні величини (рис. 3.13).

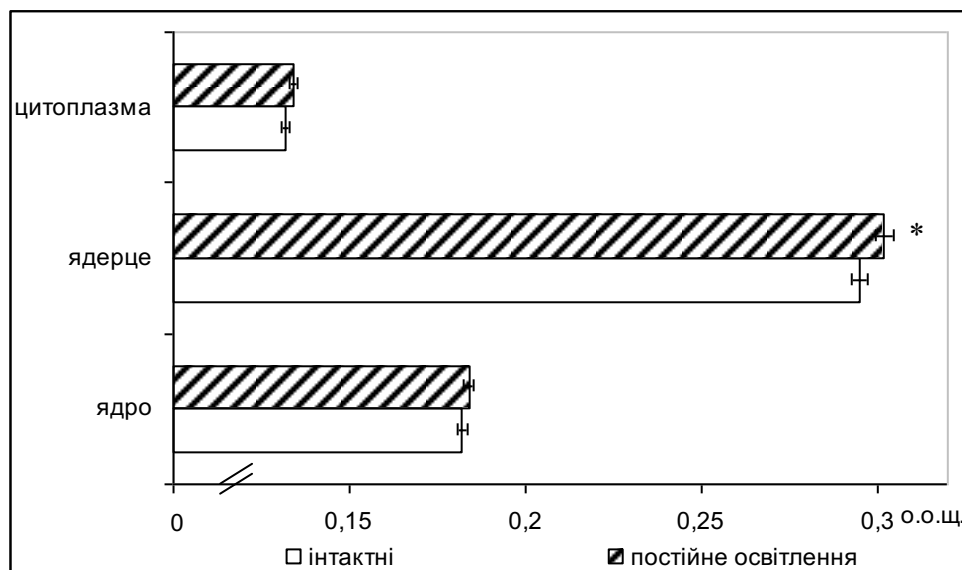


Рис. 3.13. Концентрація РНК (о.о.щ.) у нейроні пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, які знаходилися за умов світлового стресу.

Подібно до денних спостережень, уночі вірогідних змін площі нейрона та його складових стосовно величин інтактних тварин не виявлено (див. табл. 3.7). Концентрація РНК в ядрі та цитоплазмі залишалася без змін, проте в ядерці вона на $2,7 \pm 0,41$ % нижча від групи порівняння (табл. 3.8).

Постійне освітлення віддзеркалилося вірогідним зростанням площі нейрона на $7,8 \pm 2,14$ % вдень за рахунок збільшення площі ядра на $7,4 \pm 1,89$ % ($r=0,79$) та цитоплазми – на $16,2 \pm 3,49$ % ($r=0,73$) стосовно групи попереднього часового інтервалу.

У нічний період спостерігали зростання ЯЦС у пдсПШЯ, яке становило $1,46 \pm 0,030$ % і було вірогідно більшим (на $8,09 \pm 1,04$ %), ніж у денний проміжок (табл. 3.9).

Таблиця 3.8

**Добові коливання концентрації РНК у нейронах пдсПШЯ
гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Інтактні, 14.00 год	$0,180 \pm 0,0015$	$0,292 \pm 0,0021$	$0,131 \pm 0,0011$
Інтактні, 02.00 год	$0,179 \pm 0,0017$	$0,293 \pm 0,0023$	$0,127 \pm 0,0013$ $p_1 < 0,05$
Постійне освітлення, 14.00 год	$0,182 \pm 0,0014$	$0,299 \pm 0,0023$ $p < 0,05$	$0,133 \pm 0,0011$
Постійне освітлення, 02.00 год	$0,179 \pm 0,0015$	$0,285 \pm 0,0020$ $p < 0,05$ $p_1 = 0,001$	$0,124 \pm 0,0012$ $p_1 < 0,001$

Таблиця 3.9

Параметри нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од.	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Інтактні, 14.00 год	$1,36 \pm 0,023$	$57,95 \pm 0,935$	$41,05 \pm 0,560$
Інтактні, 02.00 год	$1,42 \pm 0,018$ $p_1 < 0,05$	$58,92 \pm 0,78$	$40,38 \pm 0,519$
Постійне освітлення, 14.00 год	$1,35 \pm 0,018$	$58,93 \pm 0,812$	$40,09 \pm 0,561$
Постійне освітлення, 02.00 год	$1,46 \pm 0,029$ $p_1 < 0,05$	$59,14 \pm 1,189$	$39,88 \pm 0,653$

У цілому, аналізуючи добові коливання та ритмічність функціональної активності нейронів пдсПШЯ старих щурів, які перебували за умов світлового стресу, спостерігали їх подібність до таких в інтактних тварин. Хоча тривале

освітлення є значним стресором і пусковим чинником розвитку десинхронозу, у даному випадку це мало стосується досліджуваних суб'ядер НСК гіпоталамуса. Практично відсутність ознак підсилення функціональної активності структур ПШЯ та вірогідних різниць площі нейронів і його компонентів при постійному та стандартному режимі освітлення дозволяє дійти висновку про широкий діапазон пластичності підсПШЯ при 7-добовій експозиції яскравим світлом.

3.2. Ефекти мелатоніну на морфо-функціональну активність при-середніх дрібноклітинних суб'ядер прищлуночкового ядра гіпоталамуса старих щурів за умов постійного освітлення

Для більш чіткої диференціації ефектів епіфізарного МТ (розчин МТ в дозі 1,0 мг/кг) на активність досліджуваних структур ПШЯ гіпоталамуса у наступній серії старих тварин вводили тільки розчинник (1,0 мл 0,9 % розчину етанолу на фізіологічному розчині натрію хлориду).

При введенні розчинника о 14.00 год площа нейрона становила $66,59 \pm 0,925$ мкм² вірогідно перевищуючи на $10,32 \pm 2,114$ % аналогічні величини інтактних тварин внаслідок збільшення площі ядра на $13,22 \pm 1,982$ % (табл. 3.10). Коефіцієнт кореляції між вказаними показниками сягав 0,90. Водночас відбувалося зниження концентрації РНК у структурах нейрона підсПШЯ гіпоталамуса (табл. 3.11). Так, в ядрі її кількість зменшилася на $12,09 \pm 0,89$ %, в ядерці – на $16,95 \pm 0,74$ % та цитоплазмі – на $17,42 \pm 1,03$ %. На цьому фоні зростало ЯЦС на $8,78 \pm 1,17$ % щодо такого у тварин, яким розчинник не вводили (табл. 3.12).

О 02.00 год у тварин з введенням розчинника вірогідно вищі показники площі нейронів на $20,01 \pm 3,42$ %, ніж в інтактних старих щурів. Паралельно щодо вказаної групи старих щурів вірогідно зростали і площі ядер НСК на $26,41 \pm 4,09$ %, ядерця на $9,48 \pm 1,68$ % та цитоплазми на $10,29 \pm 2,09$ % (див. табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Морфометрична характеристика нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів при уведенні розчинника ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	60,37 ± 0,764	35,34 ± 0,570	5,12 ± 0,129	25,72 ± 0,352
Інтактні, 02.00 год	54,82 ± 0,559 $p_1 < 0,001$	32,46 ± 0,434 $p_1 < 0,01$	5,11 ± 0,138	22,51 ± 0,289 $p_1 < 0,001$
Уведення розчинника, 14.00 год	66,59 ± 0,925 $p < 0,001$	40,02 ± 0,620 $p < 0,001$	5,32 ± 0,161	26,83 ± 0,396
Уведення розчинника, 02.00 год	65,80 ± 1,092 $p_1 < 0,001$	41,04 ± 0,757 $p < 0,001$	5,60 ± 0,173	24,83 ± 0,455 $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$

Таблиця 3.11

Зміни концентрації РНК у нейронах пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів при уведенні розчинника ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Інтактні, 14.00 год	0,180 ± 0,0015	0,292 ± 0,0021	0,131 ± 0,0011
Інтактні, 02.00 год	0,179 ± 0,0017	0,293 ± 0,0023	0,127 ± 0,0013 $p_1 < 0,05$
Уведення розчинника, 14.00 год	0,158 ± 0,0009 $p < 0,001$	0,243 ± 0,0010 $p < 0,001$	0,108 ± 0,0007 $p < 0,001$
Уведення розчинника, 02.00 год	0,187 ± 0,0018 $p = 0,05$ $p_1 < 0,001$	0,293 ± 0,0021 $p_1 < 0,001$	0,126 ± 0,0014 $p_1 < 0,001$

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, питомий об'єм ядра та цитоплазми нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів при введенні розчинника ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од.	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Інтактні, 14.00 год	$1,36 \pm 0,023$	$57,95 \pm 0,935$	$41,05 \pm 0,560$
Інтактні, 02.00 год	$1,42 \pm 0,018$ $p_1 < 0,05$	$58,92 \pm 0,78$	$40,38 \pm 0,519$
Уведення розчинника, 14.00 год	$1,48 \pm 0,022$ $p < 0,01$	$59,49 \pm 0,922$	$39,51 \pm 0,583$
Уведення розчинника, 02.00 год	$1,63 \pm 0,029$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	$61,75 \pm 1,140$ $p < 0,05$	$37,25 \pm 0,683$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$

Величини вмісту РНК у нейронних структурах у групах, що порівнюються, не відрізнялися, за винятком концентрації досліджуваної нуклеїнової кислоти в ядрі (див. табл. 3.11).

ЯЦС нейрона пдсПШЯ о 02.00 год перевищувало таке в інтактних тварин на $14,58 \pm 1,027$ % внаслідок зростання питомого об'єму ядра, який складав $62,37 \pm 0,711$ % та зменшення питомого об'єму цитоплазми клітини (рис. 3.14).

Аналізуючи добову динаміку, істотних змін площі нейрона пдсПШЯ, його ядра та ядерця у денний та нічний періоди нами не виявлено. Проте, привертало на себе увагу різке підвищення концентрації РНК у ядрі на $18,13 \pm 1,68$ %, ядерці – на $20,82 \pm 1,94$ % та цитоплазмі – на $16,51 \pm 1,75$ % щодо тварин, яким вводили розчинник і знеживлювали о 14.00 год (рис. 3.15).

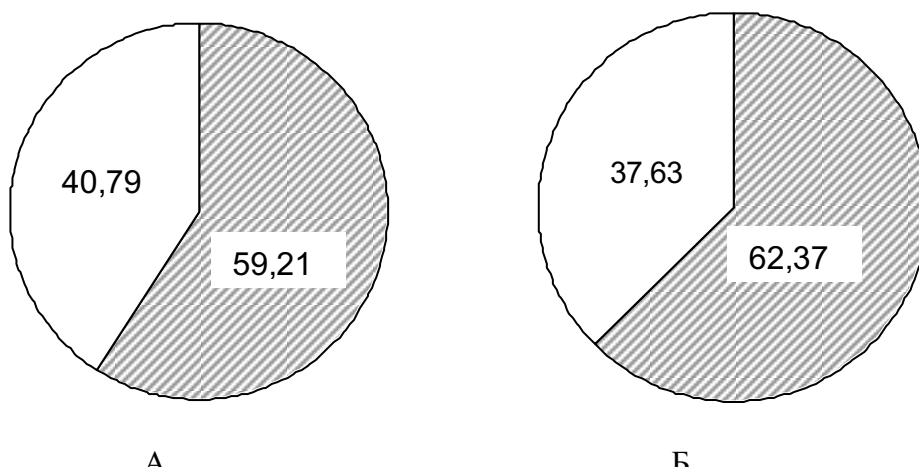


Рис. 3.14. Зміни питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів о 02.00 год.

Примітки. А – стандартний світловий режим; Б – введення розчинника; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра)

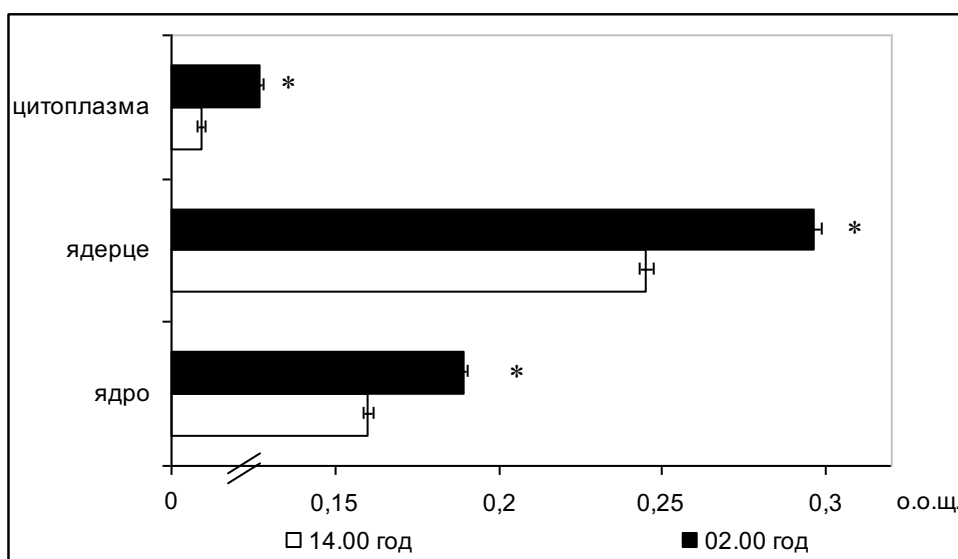


Рис. 3.15. Добові коливання концентрації РНК (о.о.щ.) у нейроні пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, яким вводили розчинник.

Семидобові внутрішньоочеревинні ін'єкції інтактним старим щурам 1,0 мл 0,9 % розчину етанолу на фізіологічному розчині натрію хлориду віддзеркалилися підвищенням о 02.00 год ЯЦС, яке становило $1,63 \pm 0,029$, внаслідок зниження питомого об'єму цитоплазми нейрона порівняно з

величинами цієї серії тварин попереднього часового інтервалу дослідження (див. табл. 3.12).

Таким чином, уведення розчинника (0,9 % розчин етанолу на фізіологічному розчині) підвищувало ступінь функціональної активності нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса, особливо о 02.00 год досліду. Отриману картину з боку пдсПШЯ можна інтерпретувати як їх нейроендокринну реакцію на стресор – щоденне внутрішньоочеревинне уведення етанол-вмісного розчинника.

Відомо, що пдсПШЯ гіпоталамуса залучені в нейроендокринну відповідь при різноманітних стресових реакціях організму шляхом синтезу кортикотропін-рилізінг гормону, що надходить у портальний кровотік і запускає стрес-реалізуючі механізми, стимулює продукцію АКТГ аденогіпофізом та, надалі, вивільнення гормонів кори надниркових залоз.

У цілому, істотних порушень функціонального стану досліджуваних суб'єдів ПШЯ гіпоталамуса уведення розчинника не викликає.

Для з'ясування впливу епіфізарної активності на морфометричну і денситометричну характеристику пдсПШЯ гіпоталамуса застосований МТ (1,0 мг/кг маси тіла тварини).

Внутрішньоочеревинні ін'єкції МТ впродовж 7-ми діб істотно не вплинули на площу тіла та ядра нейрона о 14.00 год, залишаючи показники подібними до таких у тварин, які отримували розчинник (табл. 3.13). Водночас екзогенний МТ спонукав до вірогідного зростання площі ядерця нейрона на $12,8 \pm 3,51$ %, за рахунок збільшення в ньому концентрації РНК на $6,5 \pm 0,94$ %. Коефіцієнт кореляції між вказаними показниками становив 0,57. Крім того, спостерігали зменшення площі цитоплазми на $8,2 \pm 1,43$ % внаслідок зниження в ній концентрації РНК на $3,7 \pm 0,64$ % у вказаний часовий проміжок щодо тварин, яким вводили розчинник (рис. 3.16).

Таблиця 3.13

**Вплив мелатоніну (1,0 мг/кг) на морфометричні параметри нейронів
пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Контроль (розчинник), 14.00 год	67,27 ± 0,934	40,42 ± 0,626	5,37 ± 0,163	27,10 ± 0,400
Контроль (розчинник), 02.00 год	66,46 ± 1,103	41,45 ± 0,765	5,66 ± 0,175	25,08 ± 0,460 p<0,01
Уведення мелатоніну, 14.00 год	64,48 ± 0,718	40,01 ± 0,542	6,00 ± 0,141 p=0,01	24,62 ± 0,321 p=0,001
Уведення мелатоніну, 02.00 год	69,68 ± 1,677 p ₁ <0,05	40,88 ± 1,167	6,10 ± 0,260	28,80 ± 0,700 p<0,001 p ₁ <0,001

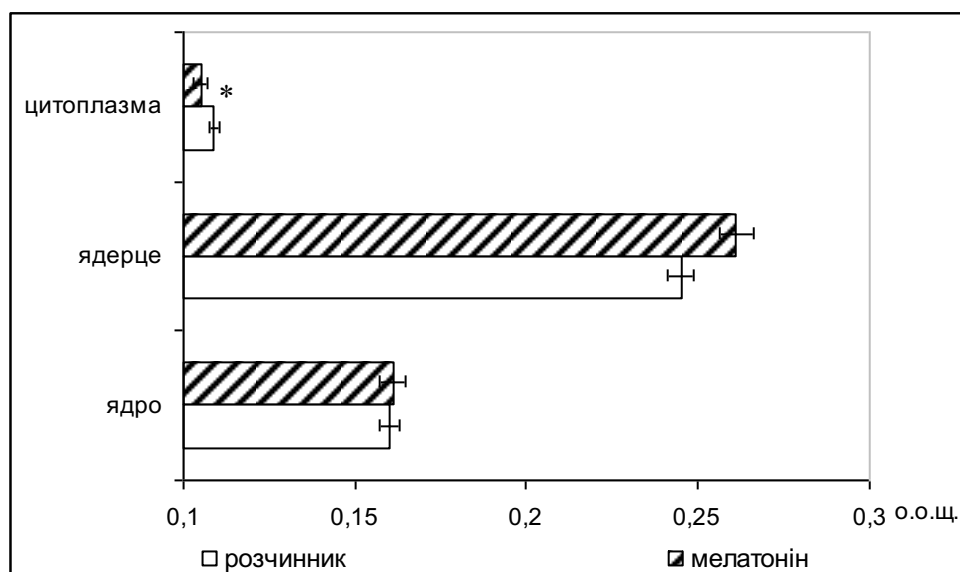


Рис. 3.16. Концентрація РНК (о.о.щ.) у нейроні пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, при введенні МТ.

О 14.00 год ЯЦС становило $1,61 \pm 0,021$ од. і збільшувалося на $9,4 \pm 1,36$ %, а питомий об'єм цитоплазми вірогідно знижувався на $4,9 \pm 1,09$ % стосовно параметрів старих щурів, яким проводили ін'єкції розчинника.

Екзогенний МТ о 02.00 год призводив до зростання площі цитоплазми нейрона пдсПШЯ без вірогідних змін об'ємів тіла, ядра та ядерця щодо

контролю (див. табл. 3.13). При нічному визначенні, концентрація РНК у досліджуваних складових нейрона вірогідно нижча від величин контрольних тварин: в ядрі – на $19,5 \pm 2,17$ %, в ядерці – на $15,2 \pm 1,49$ % та цитоплазмі – на $14,9 \pm 1,63$ % (табл. 3.14). Враховуючи таке гальмування синтетичних процесів у нейроні, свідченням чого є отримані величини концентрації нуклеїнової кислоти в його ядрі, ядерці та цитоплазмі, можна припустити, що ін'єкований МТ та його ендогенний аналог, який за фізіологічних умов активно синтезується у нічний період доби, проявляли аддитивний ефект. Це співпадає з даними літератури, які вказують на здатність гормону (як антистресорного агента) гальмувати гіпоталамо-гіпофізарно-адrenокортикальну систему.

Таблиця 3.14

Зміни концентрації РНК у нейронах пдсПШЯ при уведенні мелатоніну (1,0 мг/кг маси тварини) ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Контроль, 14.00 год	$0,158 \pm 0,0009$	$0,243 \pm 0,0010$	$0,108 \pm 0,0007$
Контроль, 02.00 год	$0,187 \pm 0,0018$ $<0,001$	$0,293 \pm 0,0021$ $p_1 < 0,001$	$0,126 \pm 0,0014$ $p_1 < 0,001$
Уведення мелатоніну, 14.00 год	$0,159 \pm 0,0010$	$0,258 \pm 0,0012$ $p < 0,001$	$0,104 \pm 0,0007$ $p < 0,01$
Уведення мелатоніну, 02.00 год	$0,151 \pm 0,0017$ $p < 0,001$ $p_1 = 0,001$	$0,249 \pm 0,0018$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$0,107 \pm 0,0012$ $p < 0,001$

Порівнюючи морфометричні дані, отримані у денний та нічний періоди доби, відмітимо незначне зростання площі тіла нейрона на $8,1 \pm 1,17$ %, яке відбувалося переважно внаслідок збільшення площі його цитоплазми, яка за цих умов експерименту сягала $28,80 \pm 0,700$ мкм² ($r=0,61$).

У темновий період доби зниження РНК у нейронах пдсПШЯ вказують на потенціюючу дію ін'єкованого МТ з ендогенним аналогом (див. табл. 3.14). Подібно до контролю, спостерігали значне зниження ЯЦС у нейроні

досліджуваного суб'єдра відносно групи тварин попереднього часового інтервалу (табл. 3.15). Потрібно також відмітити інверсію максимальних показників площі тіла нейрона, його ядра, ядерця та цитоплазми з денних на нічні годин щодо значень інтактних старих щурів.

Таблиця 3.15

Вплив мелатоніну (1,0 мг/кг маси тварини) на ядерно-цитоплазматичне співвідношення, питомий об'єм ядра та цитоплазми нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од.	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Контроль, 14.00 год	1,48±0,022	59,49±0,922	39,51±0,583
Контроль, 02.00 год	1,63±0,029 $p_1 < 0,01$	61,75±1,140	37,25±0,683 $p_1 < 0,05$
Уведення мелатоніну, 14.00 год	1,61±0,021 $p = 0,001$	61,43±0,824	37,57±0,490 $p < 0,05$
Уведення мелатоніну, 02.00 год	1,41 ±0,040 $p_1 < 0,001$	58,08±1,657	40,92±0,999 $p_1 < 0,05$

Таким чином, МТ у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини о 14.00 год призводить до активації синтетичних процесів в ядерці нейрона пдсПШЯ гіпоталамуса та збільшення його площі, вірогідно не змінюючи при цьому площу самого нейрона. Ін'єкції гормону о 02.00 год викликали зростання площі нейрона, яке супроводжувалося збільшенням площі цитоплазми НСК. Отримані показники концентрації РНК в ядрі, ядерці та цитоплазмі нейрона свідчать на користь суттєвого пригнічення МТ нейрональних синтетичних процесів уночі.

Корекція МТ змін, які були спричинені світловою стимуляцією, віддзеркалені у цитометричних параметрах нейронів, які подані у табл. 3.16.

**Морфометричні показники нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів
за умов світлової стимуляції та уведення мелатоніну**

Показник	Години доби	Стандартне освітлення	Постійне освітлення	Постійне освітлення + мелатонін
Середній об'єм нейроцитів (мкм ³)	14.00	665±6,6	609±6,1 p<0,05	662±6,8
	02.00	603±5,6	603±5,6	605±5,9
Середній об'єм ядер нейроцитів (мкм ³)	14.00	236±6,3	232±6,1	238±6,1
	02.00	232±7,6	230±6,0	234±7,2
Середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм ²)	14.00	17±0,3	13±0,4 p<0,05	18±0,4
	02.00	17±0,5	14±0,4 p<0,05	17±0,6

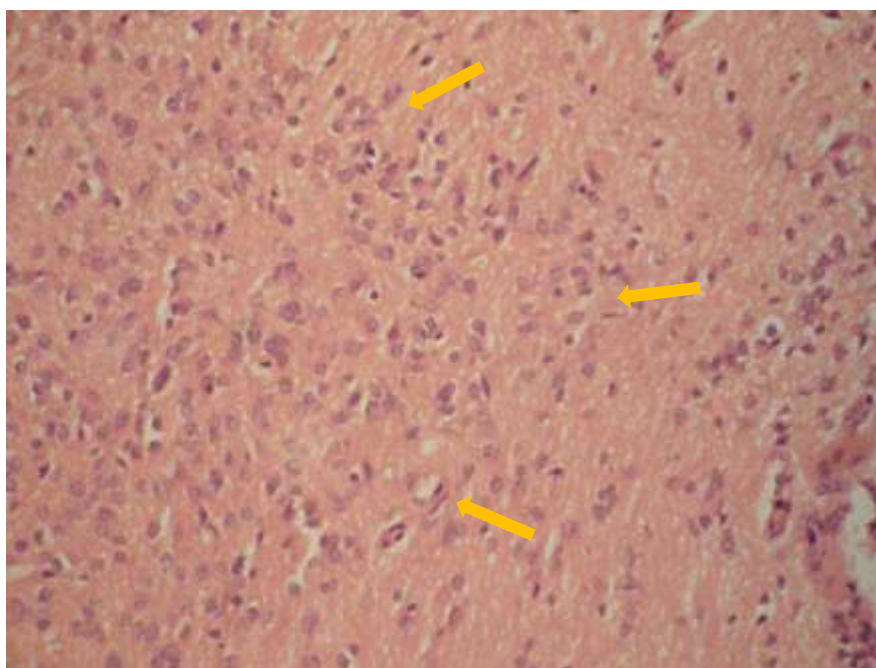


Рис. 3.17. Фрагмент пдсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової стимуляції та уведення МТ о 14.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (опт. збільшення 400^x)

Загалом, можна констатувати, що уведення МТ призвело до фактичної нормалізації вивчених параметрів нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів у досліджувані періоди доби (див. рис. 3.17) і рис. 3.18.

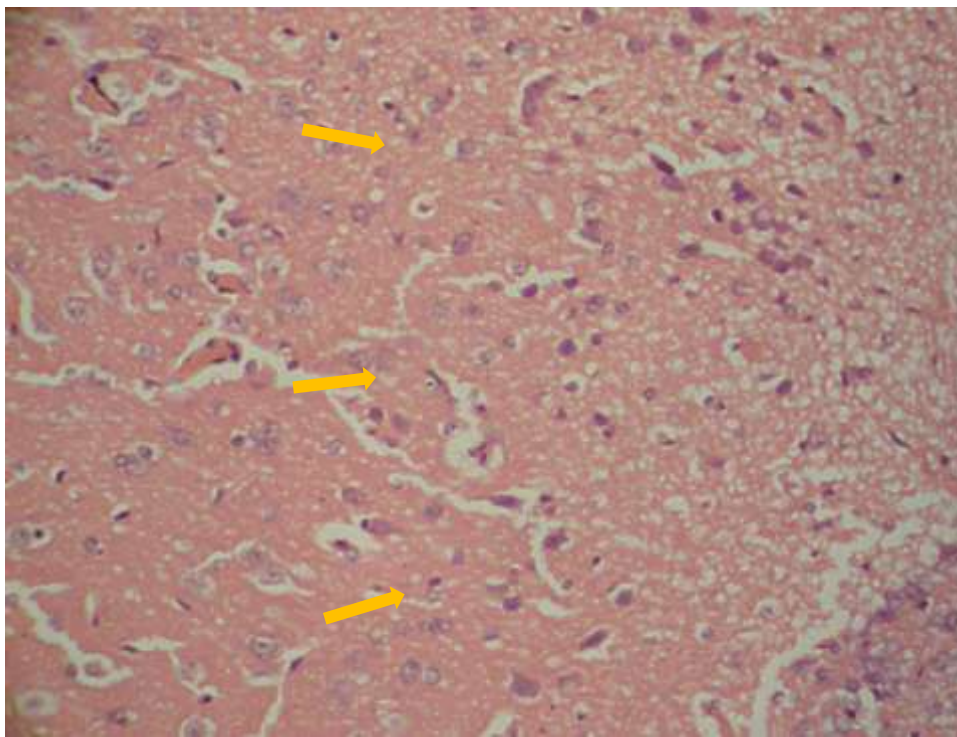


Рис. 3.18. Фрагмент пдсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової стимуляції та уведення МТ о 02.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

Уведення МТ на фоні світлового стресу о 14.00 год призвело до вірогідних змін морфометричних параметрів компонентів нейрона пдсПШЯ гіпоталамуса (табл. 3.17).

Зокрема, площа нейрона складає $68,83 \pm 0,927 \text{ мкм}^2$, цитоплазми – $28,08 \pm 0,409 \text{ мкм}^2$. Ці параметри вірогідно більші від таких у старих щурів, яким не вводили МТ за умов постійного освітлення на $6,74 \pm 0,631 \%$ та $14,03 \pm 1,082 \%$ відповідно ($r=0,41$). Щодо показників тварин, яким ін'єкували МТ за стандартного світлового режиму, площа тіла нейрона пдсПШЯ, його ядра, ядерця та цитоплазми також вищі (рис. 3.19).

Вплив мелатоніну (1,0 мг/кг) на морфометричні показники нейронів підсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, які зазнали дії світлового стресу ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин		Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
1	Інтактні, 14.00 год	60,37 ± 0,764	35,34 ± 0,570	5,12 ± 0,129	25,72 ± 0,352
	Інтактні, 02.00 год	54,82 ± 0,559 p ₁ <0,001	32,46 ± 0,434 p ₁ <0,01	5,11 ± 0,138	22,51 ± 0,289 p ₁ <0,001
2	Уведення розчинника, 14.00 год	66,59 ± 0,925 p<0,001	40,02 ± 0,620 p<0,001	5,32 ± 0,161	26,83 ± 0,396
	Уведення розчинника, 02.00 год	65,80 ± 1,092 p ₁ <0,001	41,04 ± 0,757 p<0,001	5,60 ± 0,173	24,83 ± 0,455 p<0,01 p ₁ <0,01
3	Уведення мелатоніну, 14.00 год	64,48 ± 0,718	40,01 ± 0,542	6,00 ± 0,141 p ₂ =0,01	24,62 ± 0,321 p ₂ =0,001
	Уведення мелатоніну, 02.00 год	69,68 ± 1,677 p ₁ <0,05	40,88 ± 1,167	6,10 ± 0,260	28,80 ± 0,700 p ₂ <0,001 p ₁ <0,001
4	Постійне освітлення, 14.00 год	61,23 ± 0,725	36,45 ± 0,502	4,98 ± 0,104	26,75 ± 0,374
	Постійне освітлення, 02.00 год	56,80 ± 0,888 p ₁ <0,01	33,93 ± 0,682 p ₁ <0,05	5,16 ± 0,160	23,02 ± 0,377 p ₁ <0,001
5	Постійне освітлення + мелатонін, 14.00 год	68,83 ± 0,927 p ₃ =0,004 p ₄ =0,001	41,70 ± 0,747 p ₃ =0,099 p ₄ <0,001	5,67 ± 0,198 p ₃ =0,196 p ₄ =0,012	28,08 ± 0,409 p ₃ <0,001 p ₄ =0,038
	Постійне освітлення + мелатонін, 02.00 год	58,79 ± 0,665 p ₃ <0,001 p ₄ =0,105 p ₁ <0,001	32,55 ± 0,562 p ₃ <0,001 p ₄ =0,151 p ₁ <0,001	4,63 ± 0,144 p ₃ <0,001 p ₄ =0,034 p ₁ =0,002	26,47 ± 0,355 p ₃ =0,014 p ₄ <0,001 p ₁ =0,014

Примітки: p – вірогідні зміни щодо параметрів тварин, які перебували за умов стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p₁ – щодо параметрів тварин попереднього часового інтервалу в межах серії; p₂ – щодо тварин, яким вводили розчинник; p₃ – щодо тварин, яким ін'єкували МТ за стандартного фотоперіоду; p₄ – щодо тварин, яких піддали дії постійного освітлення.

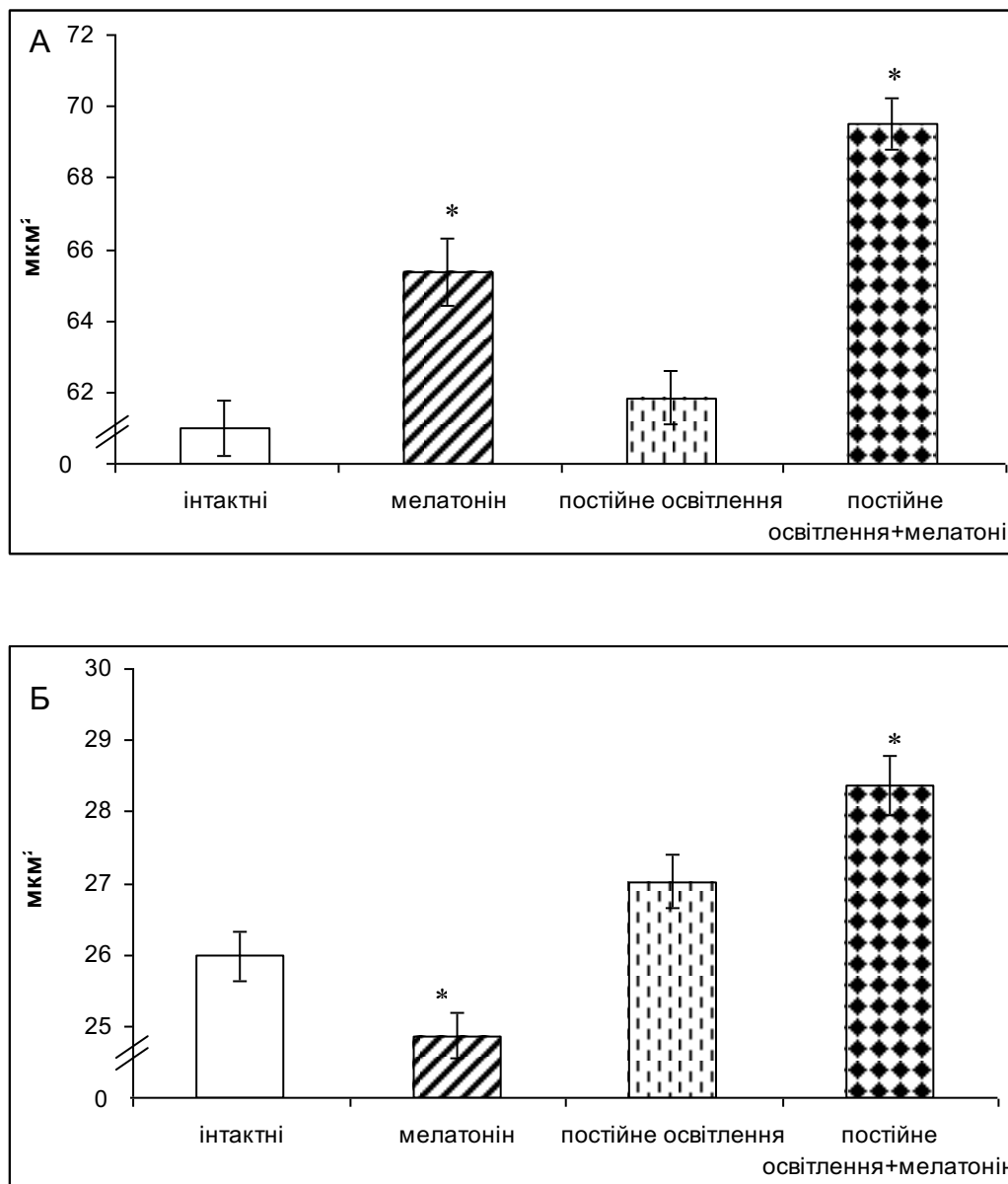


Рис. 3.19. Зміни площі тіла нейрона (А) та цитоплазми (Б) підПШЯ гіпоталамуса о 14.00 год, що викликані введенням МТ за умов світлового стресу.

Стосовно концентрації РНК у структурах клітин ПШЯ, то вдень в ядрі вона становила $0,120 \pm 0,0014$ о.о.щ., в ядерці – $0,197 \pm 0,0019$ о.о.щ., у цитоплазмі – $0,084 \pm 0,0010$ о.о.щ. і вірогідно нижча від тварин з гіпофункцією ШЗ без введення МТ. Суттєво нижчими були вказані значення порівняно з показниками у тварин, яким вводили МТ в аналогічний часовий проміжок за звичайного фотоперіоду (табл. 3.18).

Вплив мелатоніну (1,0 мг/кг) на концентрацію РНК у нейронах підсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, які зазнали дії світлового стресу ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин		Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
1.	Інтактні, 14.00 год	$0,180 \pm 0,0015$	$0,292 \pm 0,0021$	$0,131 \pm 0,0011$
	Інтактні, 02.00 год	$0,179 \pm 0,0017$	$0,293 \pm 0,0023$	$0,127 \pm 0,0013$ $p_1 < 0,05$
2.	Уведення розчинника, 14.00 год	$0,158 \pm 0,0009$ $p < 0,001$	$0,243 \pm 0,0010$ $p < 0,001$	$0,108 \pm 0,0007$ $p < 0,001$
	Уведення розчинника, 02.00 год	$0,187 \pm 0,0018$ $p = 0,05$ $p_1 < 0,001$	$0,293 \pm 0,0021$ $p_1 < 0,001$	$0,126 \pm 0,0014$ $p_1 < 0,001$
3.	Уведення мелатоніну, 14.00 год	$0,159 \pm 0,0010$	$0,258 \pm 0,0012$ $p_2 < 0,001$	$0,104 \pm 0,0007$ $p_2 < 0,01$
	Уведення мелатоніну, 02.00 год	$0,151 \pm 0,0017$ $p_2 < 0,001$ $p_1 = 0,001$	$0,249 \pm 0,0018$ $p_2 < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$0,107 \pm 0,0012$ $p_2 < 0,001$
4.	Постійне освітлення, 14.00 год	$0,182 \pm 0,0014$	$0,299 \pm 0,0023$ $p < 0,05$	$0,133 \pm 0,0011$
	Постійне освітлення, 02.00 год	$0,179 \pm 0,0015$	$0,285 \pm 0,0020$ $p < 0,05$ $p_1 = 0,001$	$0,124 \pm 0,0012$ $p_1 < 0,001$
5.	Постійне освітлення + мелатонін, 14.00 год	$0,120 \pm 0,0014$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$0,197 \pm 0,0019$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$0,084 \pm 0,0010$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
	Постійне освітлення + мелатонін, 02.00 год	$0,144 \pm 0,0011$ $p_3 = 0,007$ $p_4 < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$0,245 \pm 0,0015$ $p_3 = 0,138$ $p_4 < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$0,097 \pm 0,0010$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_1 < 0,001$

У старих щурів, яким проводили ін'єкцію МТ за умов постійного освітлення (моделювання гіпофункції ШЗ) о 02.00 год спостерігали вірогідне зниження площі нейрона (на $15,6 \pm 2,97$ %) щодо тварин, які отримували МТ за фізіологічної функції ШЗ (рис. 3.20).

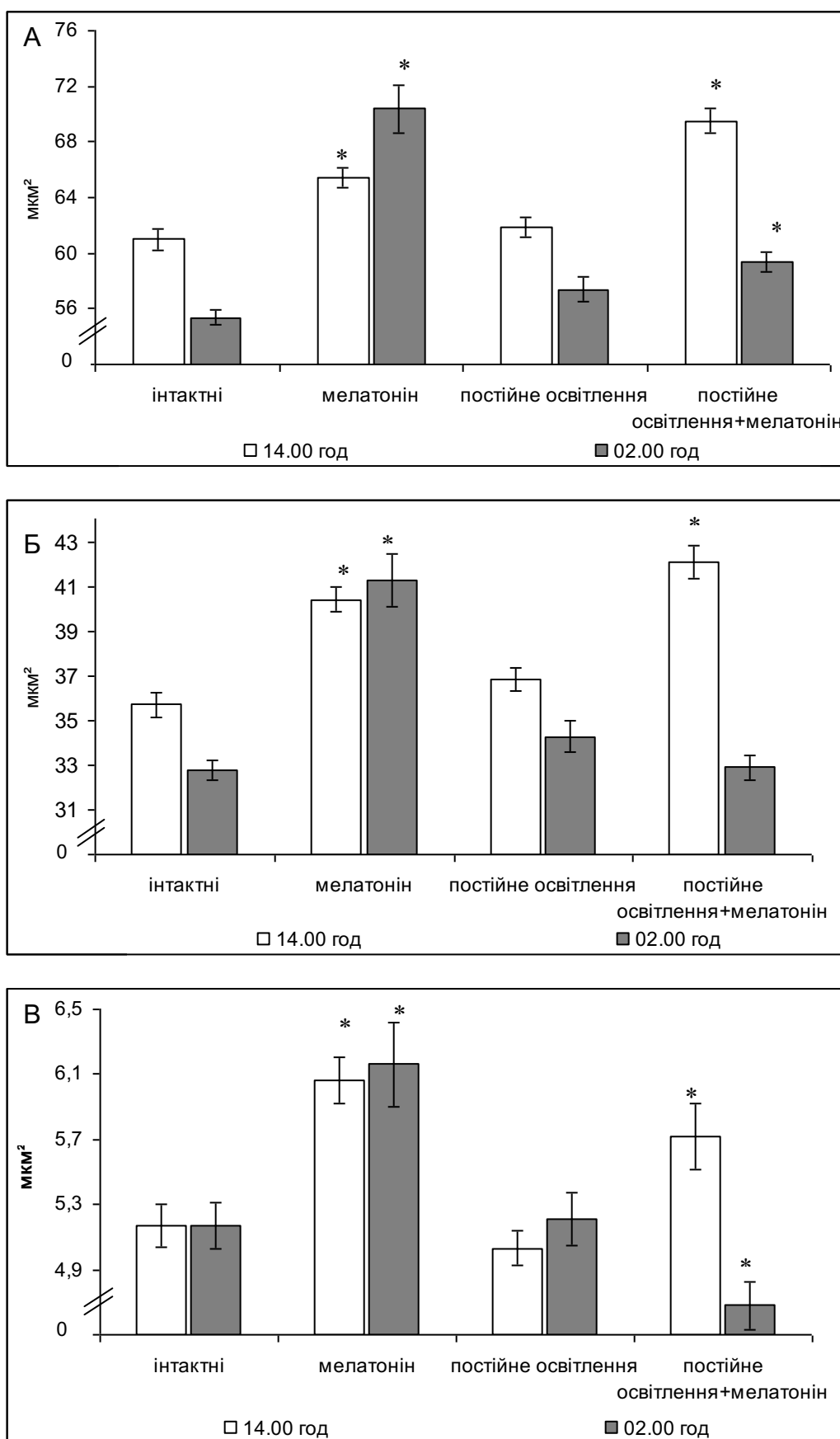


Рис. 3.20. Циркадіанні коливання площі соми (А), ядра (Б) та ядерця (В) нейрона підПШЯ стресованих світлом старих тварин після уведення МТ

Така картина зумовлена зменшенням площі ядра на $20,4 \pm 3,65$ % ($r=0,97$), ядерця – на $24,0 \pm 3,18$ % ($r=0,71$) та цитоплазми нейрона – на $8,1 \pm 1,39$ % ($r=0,11$) стосовно групи порівняння. На фоні світлового стресу та уведення хронобіотика о 02.00 год відмічається зниження концентрації РНК у ядрі на $4,60 \pm 0,39$ % і цитоплазмі – на $9,26 \pm 1,18$ % стосовно особин, яких утримували за світлової стимуляції та відповідно на $19,89 \pm 3,19$ % і $21,60 \pm 3,75$ % порівняно з тваринами, яким проводили ін'єкції МТ за стандартного фотоперіоду (див. табл. 3.18).

За таких умов експерименту у цей добовий період ЯЦС становило $1,22 \pm 0,020$ од., що нижче на $16,33 \pm 1,42$ % від показника тварин, які зазнали світлового стресу та на $13,38 \pm 1,20$ % – стосовно старих щурів, яким вводили МТ за стандартного режиму освітлення. Це спричинено вірогідно меншими питомими об'ємами ядра нейрона та більшими питомими об'ємами його цитоплазми (табл. 3.19).

Отже, за умов постійного освітлення у нічний період МТ спричиняє пригнічення функціональної активності пдсПШЯ гіпоталамуса більше, ніж на тлі стандартного фотоперіоду у відповідний період спостереження.

Проводячи паралелі денного і нічного спостереження при уведенні МТ за умов постійного освітлення слід зауважити деякі зміни в параметрах функціонального стану нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів. Так, о 14.00 год у цих щурів площа нейрона зросла на $12,4 \pm 1,79$ % внаслідок переважаючого збільшення ядра (на $14,4 \pm 2,17$ %) та цитоплазми (на $5,0 \pm 0,89$ %). Якщо в денний період площа ядерця становила $5,7 \pm 0,20$ мкм² і була на $13,7 \pm 2,54$ % більшою, то в нічний проміжок відзначали вірогідне її зменшення на $24,0 \pm 2,18$ % за умов зростання об'єму цитоплазми на $15,0 \pm 2,39$ % порівняно з старими щурами, які зазнали постійного освітлення.

Вплив мелатоніну (1,0 мг/кг) на ядерно-цитоплазматичне співвідношення, питомі об'єми ядер та цитоплазми нейронів підПШЯ старих щурів, які зазнали дії світлового стресу ($\bar{x} \pm S_x$)

	Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
1	Інтактні, 14.00 год	1,36 $\pm$ 0,023	57,95 $\pm$ 0,935	41,05 $\pm$ 0,560
	Інтактні, 02.00 год	1,42 $\pm$ 0,018 $p_1 < 0,05$	58,92 $\pm$ 0,78	40,38 $\pm$ 0,519
2	Уведення розчинника, 14.00 год	1,48 $\pm$ 0,022 $p < 0,01$	59,49 $\pm$ 0,922	39,51 $\pm$ 0,583
	Уведення розчинника, 02.00 год	1,63 $\pm$ 0,029 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	61,75 $\pm$ 1,140 $p < 0,05$	37,25 $\pm$ 0,683 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$
3	Уведення мелатоніну, 14.00 год	1,61 $\pm$ 0,021 $p_2 = 0,001$	61,43 $\pm$ 0,824	37,57 $\pm$ 0,490 $p_2 < 0,05$
	Уведення мелатоніну, 02.00 год	1,41 $\pm$ 0,040 $p_1 < 0,001$	58,08 $\pm$ 1,657	40,92 $\pm$ 0,999 $p_1 < 0,05$
4	Постійне освітлення, 14.00 год	1,35 $\pm$ 0,018	58,93 $\pm$ 0,812	40,09 $\pm$ 0,561
	Постійне освітлення, 02.00 год	1,46 $\pm$ 0,029 $p_1 < 0,05$	59,14 $\pm$ 1,189	39,88 $\pm$ 0,653
5	Постійне освітлення + мелатонін, 14.00 год	1,47 $\pm$ 0,026 $p_3 = 0,022$ $p_4 = 0,005$	59,95 $\pm$ 1,074 $p_3 = 0,301$ $p_4 = 0,462$	39,05 $\pm$ 0,568 $p_3 = 0,078$ $p_4 = 0,222$
	Постійне освітлення + мелатонін, 02.00 год	1,22 $\pm$ 0,020 $p_3 = 0,002$ $p_4 = 0,001$ $p_1 < 0,001$	54,82 $\pm$ 0,947 $p_3 = 0,118$ $p_4 = 0,018$ $p_1 = 0,005$	44,18 $\pm$ 0,593 $p_3 = 0,018$ $p_4 < 0,001$ $p_1 < 0,001$

Оцінюючи результати денного і нічного етапів експерименту потрібно відмітити, що ін'єкції МТ на тлі постійного освітлення істотно не вплинули на добовий ритм морфо-функціональної активності нейронендокринних

трансдукторів ПШЯ гіпоталамуса, який залишався схожим до такого в інтактної групи старих щурів та тварин із зниженою функціональною активністю.

Однак, характеризуючи концентрації РНК у структурах нейрона пдсПШЯ гіпоталамуса тварин, які зазнали тривалої експозиції яскравим світлом відмітимо, що ін'єкції на цьому фоні МТ більше її пригнічують у денний інтервал спостереження. Отриманий факт можна пояснити тим, що стресорний вплив у світлову фазу доби супроводжується підвищенням рівня МТ у крові. Це забезпечує корегувальне гальмування гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи з метою приведення гормонального фону у відповідність до сили стресорної дії і є одним з елементів стрес-лімітуючого механізму, що запускається у відповідь на мобілізацію стрес-реалізуючої системи.

Таким чином, активність пдсПШЯ гіпоталамуса характеризуються добовою ритмічністю зі зниженням у нічний період доби. На це вказує вірогідне зменшення площі нейрона внаслідок зниження площі ядра ($r=0,65$) та цитоплазми ($r=0,63$), низька концентрація РНК у цитоплазмі на фоні збільшення ЯЦС до $1,42 \pm 0,018$ од. порівняно з денними величинами. Результати нічного етапу експерименту у тварин, які утримувалися за умов постійної темряви вказують на порушення ритмічності активності нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса та зміщення максимальних величин площі складових нейрона з денних на нічні години. Проте низькі концентрації РНК в ядрі, ядерці та цитоплазмі нейротрансдуктора можна пояснити присутністю в цьому інтервалі доби підвищеної кількості у крові епіфізарного хронобіотика – МТ, який в якості стрес-лімітуючого чинника інгібує продукцію кортикотропін-рилізінг гормону пдсПШЯ гіпоталамуса.

Хоча тривале освітлення є значним стресором і пусковим чинником розвитку десинхронозу, у даному випадку це мало стосується досліджуваних суб'єдів НСК гіпоталамуса. Практично відсутність ознак підсилення

функціональної активності структур ПШЯ та вірогідних різниць площі нейронів і його компонентів при постійному та стандартному режимі освітлення дозволяє дійти висновку про широкий діапазон пластичності пдсПШЯ при 7-добовій експозиції яскравим світлом та визначальний вплив на їх діяльність світлового подразника.

Ін'єкції МТ (1,0 мг/кг маси тіла тварини) на тлі постійного освітлення істотно не вплинули на добовий ритм морфо-функціональної активності нейроендокринних трансдукторів ПШЯ гіпоталамуса, який залишався схожим до такого в інтактної групи старих щурів та тварин із зниженою функціональною активністю.

Матеріали цього розділу опубліковані:

Булик РЄ, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику нейронів паравентрикулярних ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2021;20(3):11-8. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.2> [26].

РОЗДІЛ 4

**ВПЛИВ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ НА МОРФО- ТА
ДЕНСИТОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ НЕЙРОНІВ ЗАДНЬОБІЧНИХ
ВЕЛИКОКЛІТИННИХ СУБ'ЯДЕР ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНИХ ЯДЕР
ПЕРЕДНЬОГО ГІПОТАЛАМУСА СТАРИХ ЩУРІВ**

4.1. Параметри суб'ядер за різної тривалості фотоперіоду

Серед великоклітинних суб'ядер ПШЯ об'єктом вивчення слугувало заднє великоклітинне суб'ядро, яке прийнято поділяти на задньоприсереднє суб'ядро, що містить здебільшого окситоцин-синтезуючі нейрони, і задньобічне суб'ядро, що містить ВП-синтезуючі нейрони. Враховуючи щільність розташування вказаних суб'ядер, а також те, що синтезовані ними нейропептиди беруть участь у реалізації нейроендокринної відповіді на зміну фотоперіоду, у наших дослідженнях звсПШЯ гіпоталамуса розглядається як єдина структура.

Дані таблиці 4.1, де наведені цитометричні параметри нейронів звсПШЯ, у першу чергу, цікаві порівнянням з нейронами пдсПШЯ гіпоталамуса старих щурів. Зокрема, цілком очікувано в нейроцитах звсПШЯ гіпоталамуса тварин, відмічені більші розміри самих клітин та їхніх ядер.

При подальшому аналізі видно, що при звичайному режимі освітлення у звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів помітно знижується середній об'єм нейронів ($p < 0,05$) о 02.00 (рис. 4.2) порівняно з 14.00 (рис. 4.1), тоді, коли об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження, в середньому, практично не змінюється. При цьому, середня кількість нейроцитів у звсПШЯ гіпоталамуса на стандартній площині гістологічного зрізу суттєво не змінюється в різні періоди доби.

Морфометричні показники нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів при звичайному освітленні

Показник	Години доби	
	14.00	02.00
Середній об'єм нейроцитів (мкм ³)	1198±11,0	1104±10,2 p<0,05
Середній об'єм ядер нейроцитів (мкм ³)	526±9,9	524±9,5
Середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу (100х100 мкм ²)	26±0,6	25±0,8

Примітка. p – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

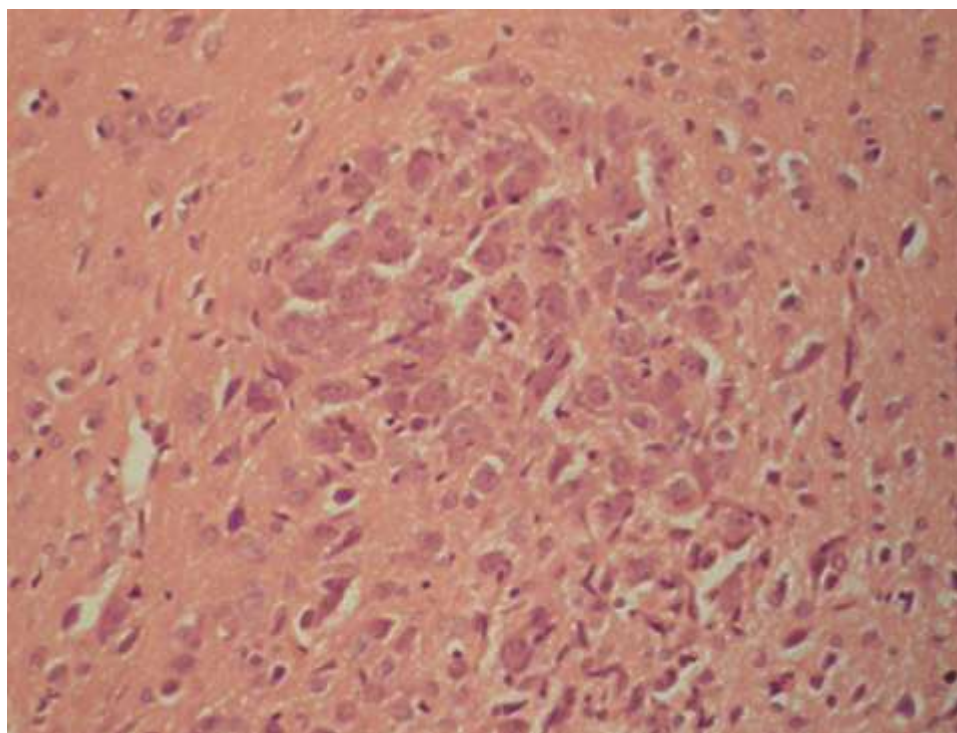


Рис. 4.1. Фрагмент звсПШЯ гіпоталамуса інтактного старого щура о 14.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

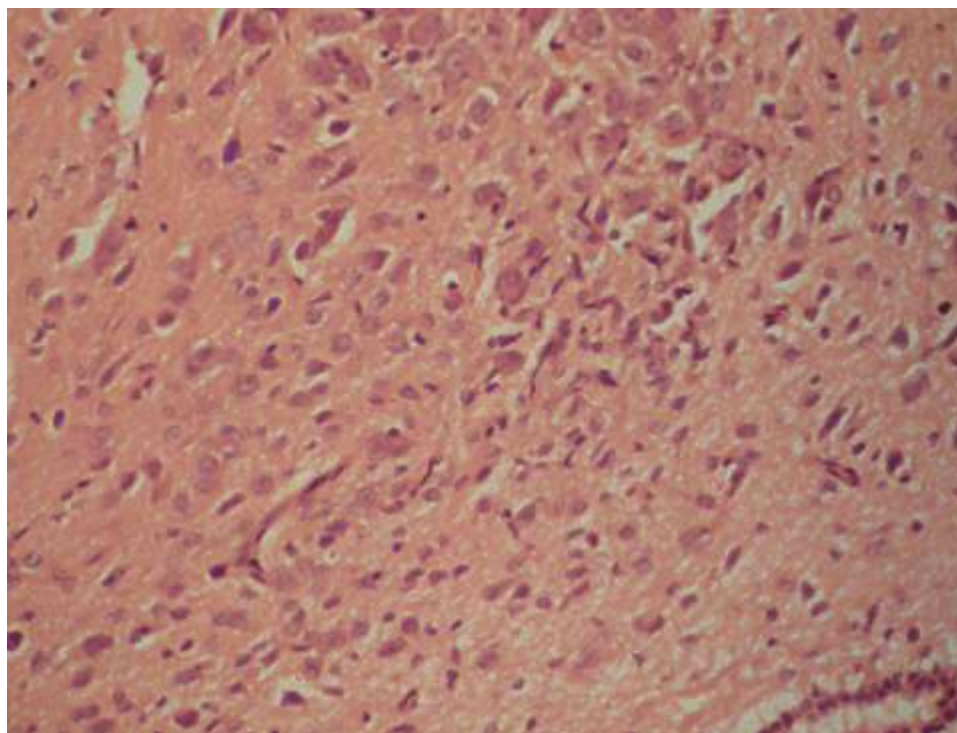


Рис. 4.2. Фрагмент звсПШЯ гіпоталамуса інтактного старого щура о 02.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

При дослідженні морфометричних параметрів звсПШЯ гіпоталамуса встановлено, що у денний період площа тіла нейрона складає $90,22 \pm 1,312 \text{ мкм}^2$, його ядра – $51,93 \pm 1,034 \text{ мкм}^2$, ядерця – $8,57 \pm 0,249 \text{ мкм}^2$ та цитоплазми – $38,29 \pm 0,708 \text{ мкм}^2$ (табл. 4.2). При аналізі нами виявлено кореляційний зв'язок між площею тіла нейрона і його ядра ($r=0,60$). Крім того, спостерігали пряму кореляційну залежність між площею нейрона і його цитоплазми ($r=0,36$). ЯЦС сягало $1,36 \pm 0,027$ од, питомий об'єм ядра нейрона становив $57,5 \pm 1,146 \%$, а цитоплазми – $42,4 \pm 0,785 \%$.

При визначенні концентрації РНК у складових нейрона досліджуваного суб'єкту в ядрі вона становила $0,184 \pm 0,0029$ о.о.щ, в ядерці – $0,293 \pm 0,0042$ о.о.щ., у цитоплазмі – $0,144 \pm 0,0025$ о.о.щ.

О 02.00 год зареєстровано вірогідне зниження площі нейрона на $11,0 \pm 1,92 \%$ внаслідок зменшення площі його ядра на $13,5 \pm 1,67 \%$, ядерця – на $10,3 \pm 1,84 \%$ та цитоплазми на $7,7 \pm 1,55 \%$ щодо 14.00 год (див. табл. 4.2).

**Морфометрична характеристика нейронів звсПШЯ гіпоталамуса
старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	90,22 ± 1,312	51,93 ± 1,034	8,57 ± 0,249	38,29 ± 0,708
Інтактні, 02.00 год	80,22 ± 2,010 p<0,01	44,88 ± 1,677 p<0,01	7,68 ± 0,314 p=0,05	35,34 ± 0,881 p<0,05

Примітки: n – кількість тварин, p – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

Проведений кореляційний аналіз встановив тісний прямий зв'язок: між площею тіла нейрона та його ядра. Коефіцієнт кореляції складав 0,87. ЯЦС становило $1,26 \pm 0,047$ од. вірогідно не відрізняючись від величин вдень (табл. 4.3). Зменшення площі НСК супроводжувалося вірогідним зниженням концентрації РНК у ядрі – на $6,9 \pm 0,88$ %, ядерці – на $5,7 \pm 0,64$ % (табл. 4.4). При цьому концентрація РНК у цитоплазмі нейрона гіпоталамуса залишалася без істотних змін порівняно з інтактними старими щурами, яких знеживлювали о 14.00 год.

Таким чином, в інтактних тварин простежується циркадіанна ритмічність морфо-функціональної активності досліджуваних нейротрансдукторів звсПШЯ гіпоталамуса з максимальними показниками в денний проміжок доби.

Таблиця 4.3

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, питомий об'єм ядра та цитоплазми нейронів звсПШЯ гіпоталамуса у старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од.	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Інтактні, 14.00 год	1,35±0,027	56,98±1,135	42,02±0,777
Інтактні, 02.00 год	1,26±0,047	55,38±2,068	43,62±1,086

Таблиця 4.4

**Концентрація РНК у нейронах звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів
впродовж доби ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Інтактні, 14.00 год	0,184 ± 0,0029	0,293 ± 0,0042	0,144 ± 0,0025
Інтактні, 02.00 год	0,171 ± 0,0041 p<0,05	0,276 ± 0,0058 p<0,05	0,139 ± 0,0035

Для дослідження ролі нейронів звсПШЯ гіпоталамуса тварин у формуванні добового періодизму, як і в попередніх серіях експериментів, старих щурів утримували за умов світлової депривації та постійного освітлення (моделювали гіпер- та гіпофункцію ШЗ відповідно).

У табл. 4.5 наводяться результати вимірювань параметрів нейроцитів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів за умов світлової депривації. У цілому знову видно, що в нейроцитах звсПШЯ їх об'єм та об'єм їхніх ядер значно перевищує параметри нейроцитів пдсПШЯ гіпоталамуса.

На основі даних (див. табл. 4.5) можна побачити, що за умов світлової депривації зростає об'єм нейроцитів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів порівняно з старими щурами при звичайному режимі освітлення. Окрім цього, зростає середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу у звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів. Водночас, необхідно вказати на те, що за умов світлової депривації у звсПШЯ помітно знижується середній об'єм нейронів (p<0,05) о 02.00 (рис. 4.4) порівняно з 14.00 (рис. 4.3), тоді, коли об'єм їхніх ядер у зазначені періоди дослідження в середньому не змінюється.

**Окремі морфометричні показники нейронів звсПШЯ гіпоталамуса
старих щурів за умов світлової депривації ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)**

Показник	Години доби	Стандартне освітлення	Світлова депривація
Середній об'єм нейроцитів (мкм ³)	14.00	1198±11,0	1222±11,3
	02.00	1104±10,2	1202±10,4 p<0,05
Середній об'єм ядер нейроцитів (мкм ³)	14.00	526±9,9	485±9,0
	02.00	524±9,5	494±9,1
Середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм ²)	14.00	26±0,6	24±0,6
	02.00	25±0,8	23±0,6

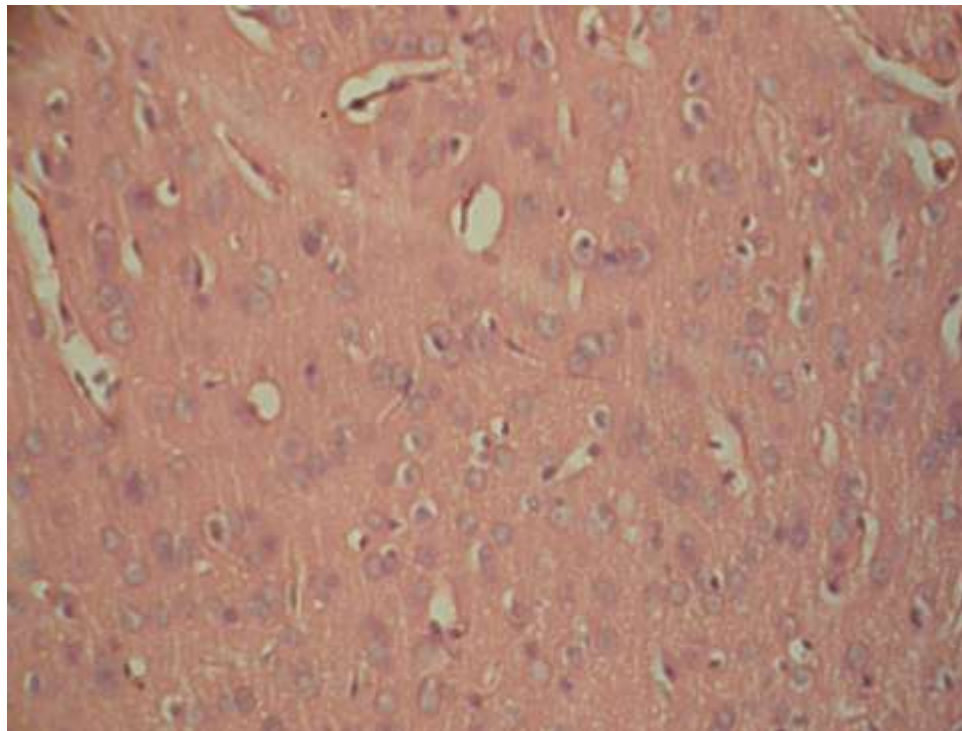


Рис. 4.3. Фрагмент звсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової депривації о 14.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

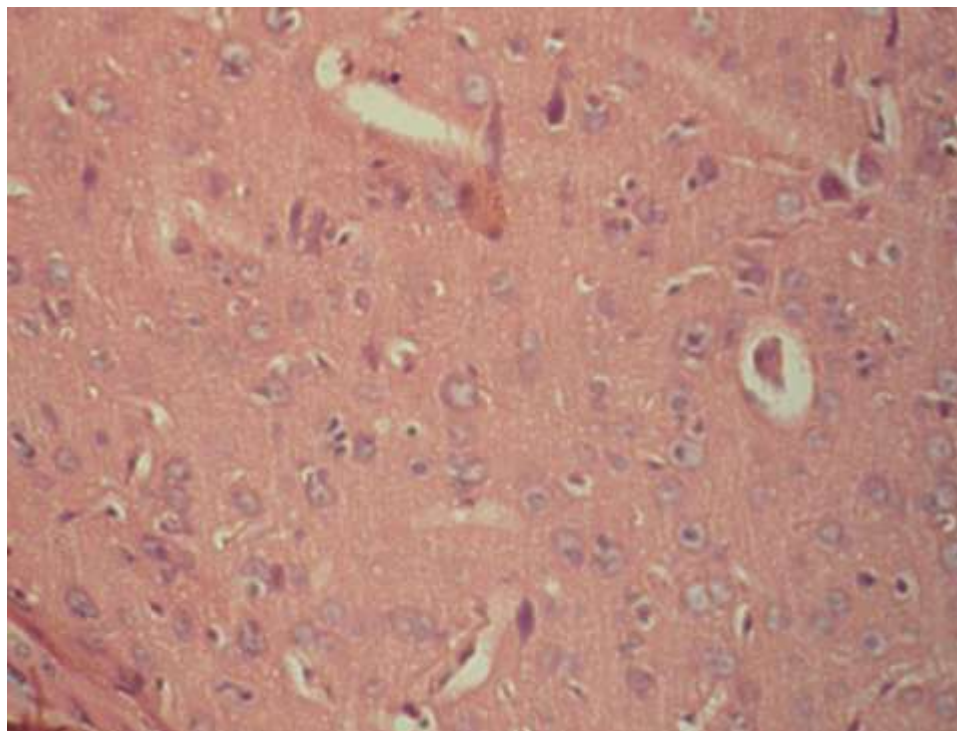


Рис. 4.4. Фрагмент звсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової депривації о 02.00. Забарвлення гематоксилином і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

На основі морфометричних та денситометричних вимірювань звсПШЯ гіпоталамуса за світлової депривації у першій групі старих щурів, яких декапітували о 14.00 год, площа нейрона становила $82,59 \pm 1,080 \text{ мкм}^2$ і вірогідно нижча на $8,4 \pm 1,18 \%$ за аналогічний параметр в інтактних старих щурів (табл. 4.6). Це зумовлено зниженням площі ядра на $17,9 \pm 2,85 \%$ ($r=0,44$) та ядерця нейрона на $16,5 \pm 2,08 \%$ ($r=0,75$) щодо групи порівняння. Не зважаючи на вірогідне зменшення площі досліджуваного трансдуктора звсПШЯ площа його цитоплазми сягала $40,3 \pm 0,42 \text{ мкм}^2$ і на $4,4 \pm 0,53 \%$ більша, ніж у тварин, яких утримували за стандартного режиму освітлення ($r=0,83$).

Зменшення площі ядра нейрона спричинило зниження його питомого об'єму в нейроні, який сягав $51,5 \pm 0,97 \%$ внаслідок чого спостерігали

низький показник ЯЦС – $1,06 \pm 0,019$ од. стосовно контрольних величин (рис. 4.5).

Таблиця 4.6

Вплив світлової депривації на площу тіла нейрона, його ядра, ядерця та цитоплазми звсПШЯ гіпоталамуса тварин ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	$90,22 \pm 1,312$	$51,93 \pm 1,034$	$8,57 \pm 0,249$	$38,29 \pm 0,708$
Інтактні, 02.00 год	$80,22 \pm 2,010$ $p_1=0,002$	$44,88 \pm 1,677$ $p_1=0,005$	$7,68 \pm 0,314$ $p_1=0,050$	$35,34 \pm 0,881$ $p_1=0,026$
Постійна темрява, 14.00 год	$82,59 \pm 1,080$ $p=0,001$	$42,59 \pm 0,802$ $p<0,001$	$7,16 \pm 0,184$ $p=0,001$	$39,98 \pm 0,552$ $p=0,090$
Постійна темрява, 02.00 год	$97,63 \pm 1,428$ $p<0,001$ $p_1<0,001$	$50,39 \pm 0,909$ $p=0,016$ $p_1<0,001$	$9,03 \pm 0,261$ $p=0,008$ $p_1<0,001$	$47,24 \pm 0,717$ $p<0,001$ $p_1<0,001$

Примітка: У цій та наступних таблицях розділу – p – вірогідні зміни щодо параметрів тварин, які перебували за умов стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p_1 – вірогідність різниці щодо параметрів тварин попереднього часового інтервалу в межах серії. У кожній групі по 6 тварин.

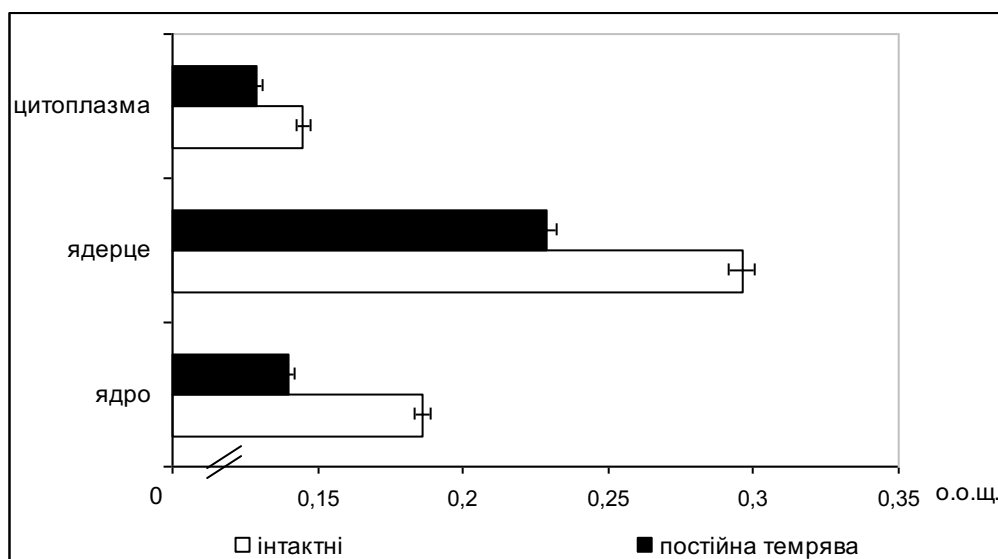


Рис. 4.5. Зміни концентрації РНК (о.о.щ.) в нейроні звсПШЯ гіпоталамуса о 14.00 год старих щурів, які перебували за умов світлової депривація.

Зміни площі ядра та ядерця о 14.00 год за умов світлової депривації спричинені вірогідно нижчою концентрацією РНК в ядрі (на $24,7 \pm 2,74$ %) та ядерці (на $22,6 \pm 2,91$ %) нейрона (рис. 4.6). Такі показники свідчать про пригнічення функціональної та синтетичної активності нейронів звсПШЯ в денний період на фоні світлової депривації.

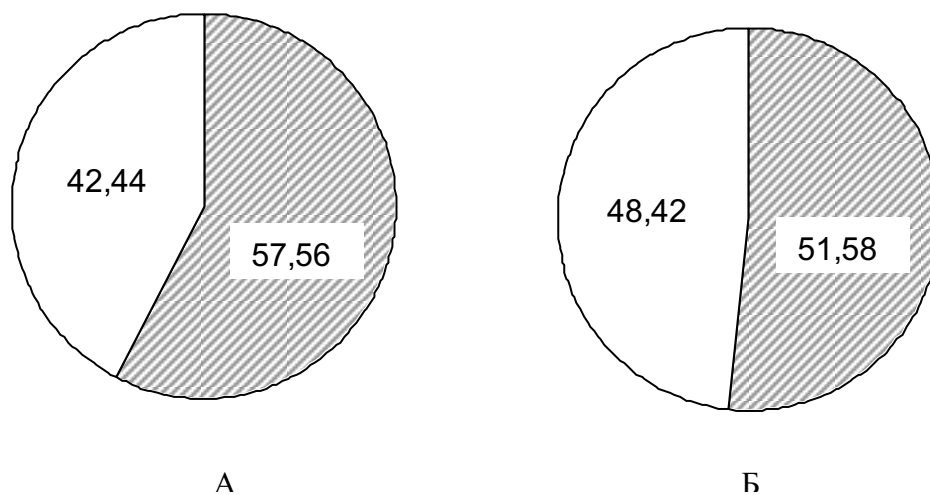


Рис. 4.6. Зміни питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів звсПШЯ старих щурів (%) під впливом світлової депривації о 14.00 год.

А – стандартний світловий режим; Б – вплив постійної темряви; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра)

Проведеними експериментами о 02.00 год, у період найбільшого синтезу МТ, виявлено вірогідне зростання площі тіла нейрона на $21,7 \pm 3,12$ % щодо такої в інтактних тварин та на $18,2 \pm 2,31$ % відносно старих щурів, які перебували за умов світлової депривації о 14.00 год. У першому випадку тіло нейрона звсПШЯ збільшувалося внаслідок вірогідного підвищення його ядра на $12,3 \pm 1,81$ % ($r=0,98$), ядерця – на $17,5 \pm 1,97$ % ($r=0,48$), цитоплазми – на $33,7 \pm 4,51$ % ($r=0,61$), а в другому – показники зростали на $18,3 \pm 2,21$ %, $26,1 \pm 3,08$ % та $18,2 \pm 1,45$ % відповідно (рис. 4.7).

За таких умов експерименту ЯЦС, як і вдень, становило $1,06 \pm 0,018$ од., питомий об'єм ядра – $51,09 \pm 0,922$ % та цитоплазми нейрона – $47,91 \pm 0,727$ % (табл. 4.7). При цьому вірогідних змін стосовно контрольних показників в аналогічний добовий інтервал не спостерігали.

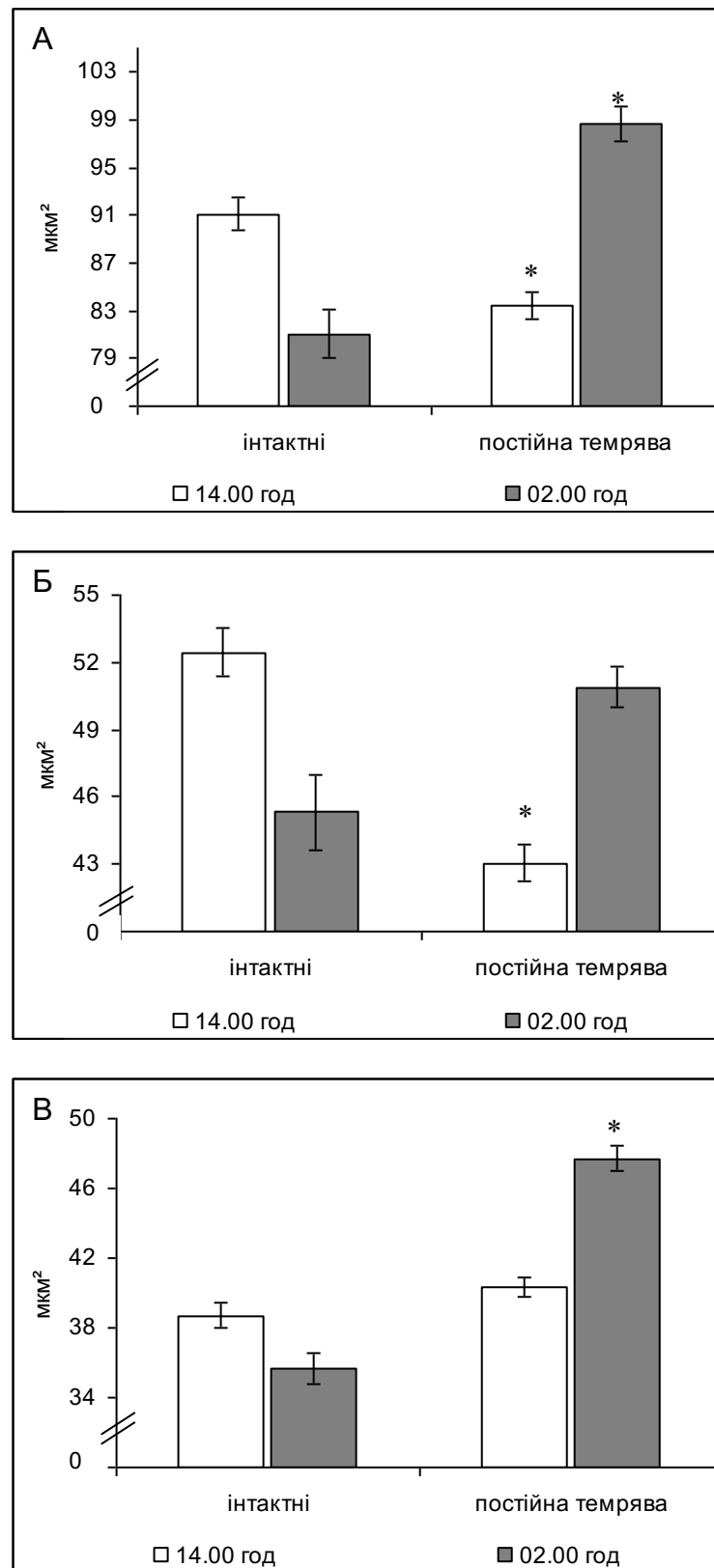


Рис. 4.7. Вплив світлової депривації на добову динаміку морфометричних показників компонентів нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів.

А – площа тіла; Б – площа ядра; В – площа цитоплазми.

Таблиця 4.7

Вплив світлової депривації на ядерно-цитоплазматичне співвідношення, питомий об'єм ядра та цитоплазми нейронів звсПШЯ гіпоталамуса у старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од.	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Інтактні, 14.00 год	$1,35 \pm 0,027$	$56,98 \pm 1,135$	$42,02 \pm 0,777$
Інтактні, 02.00 год	$1,26 \pm 0,047$	$55,38 \pm 2,068$	$43,62 \pm 1,086$
Постійна темрява, 14.00 год	$1,06 \pm 0,019$ $p < 0,001$	$51,06 \pm 0,961$ $p < 0,01$	$47,94 \pm 0,662$ $p < 0,001$
Постійна темрява, 02.00 год	$1,06 \pm 0,018$ $p < 0,01$	$51,09 \pm 0,922$	$47,91 \pm 0,727$ $p < 0,01$

Незважаючи на збільшення площі тіла нейрона і його компонентів, у нічний період, порівняно з денним, в ядрі реєстрували вірогідно нижчу концентрацію РНК (на $31,8 \pm 3,52$ %) за рахунок її зниження в ядерці (на $29,4 \pm 2,89$ %). Водночас уміст РНК вірогідно спадав і в цитоплазмі, де її концентрація становила $0,104 \pm 0,0012$ о.о.щ. (рис. 4.8).

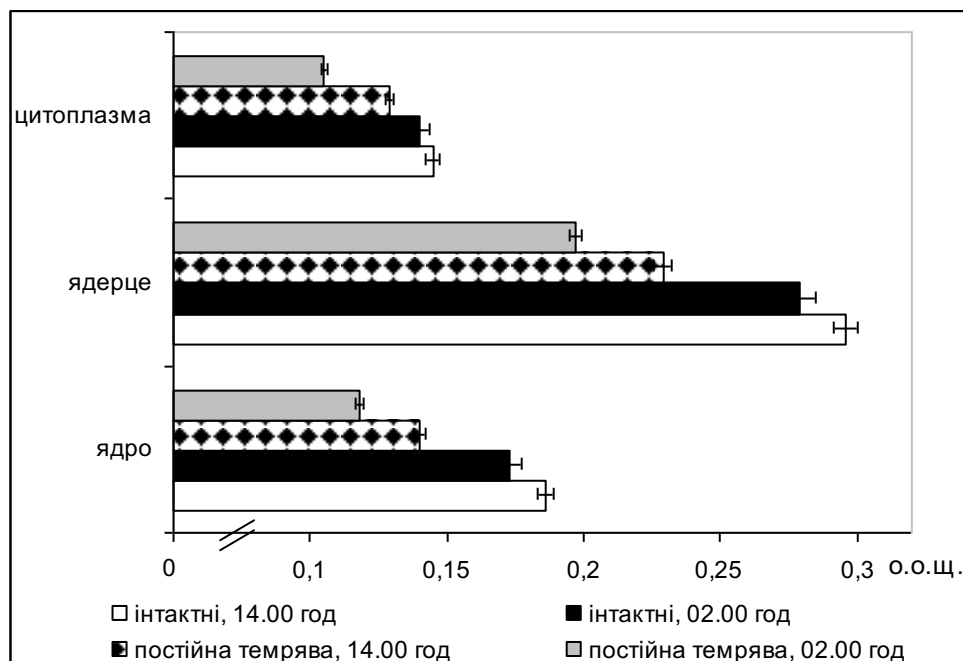


Рис. 4.8. Добова динаміка концентрації РНК (о.о.щ.) в нейроні звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, які перебували за світлової депривації.

Аналіз даних експерименту у тварин, які перебували за умов світлової депривації свідчить про десинхроноз функціональної активності нейронів звсПШЯ гіпоталамуса та інверсію максимальних величин з денних на нічні години. Ці зміни можна віднести на користь МТ, який, як стрес-лімітуючий чинник, пригнічує синтез ВП звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів.

Таблиця 4.8 присвячена опису параметрів нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів за умов світлової стимуляції. Далі видно, що об'єм ядер нейронів та самих нейронів звсПШЯ є більшим, ніж у нейронах пдсПШЯ гіпоталамуса незалежно від умов експерименту.

Таблиця 4.8

**Окремі морфометричні показники нейронів звсПШЯ гіпоталамуса
старих щурів за умов світлової стимуляції ($\bar{x} \pm S_x$)**

Показник	Години доби	Стандартне освітлення	Світлова стимуляція
Середній об'єм нейроцитів (мкм ³)	14.00	1198±11,0	1045±11,6 p<0,05
	02.00	1104±10,2	1001±10,3 p<0,05
Середній об'єм ядер нейроцитів (мкм ³)	14.00	526±9,9	492±9,0
	02.00	524±9,5	491±8,6
Середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм ²)	14.00	26±0,6	15±0,4
	02.00	25±0,8	14±0,4

Примітка. Вірогідність розбіжності вказана між групами старих щурів у межах часового інтервалу (у разі p<0,05).

Водночас, дані (див. табл. 4.8) чітко демонструють, що при світловій стимуляції у старих щурів суттєво зменшується об'єм нейронів звсПШЯ гіпоталамуса. При цьому, о 02.00 (рис. 4.10) це є більш помітним, ніж о 14.00 (рис. 4.9). Також є дуже важливим те, що зменшується середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу. Суб'єктивно ще можна відмітити зростання поліморфізму нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів стосовно їхніх розмірів та форми. При цьому, багато нейроцитів мали пікнотичні ядра, хоча поширеність таких нейронів у межах звсПШЯ гіпоталамуса була нерівномірною.

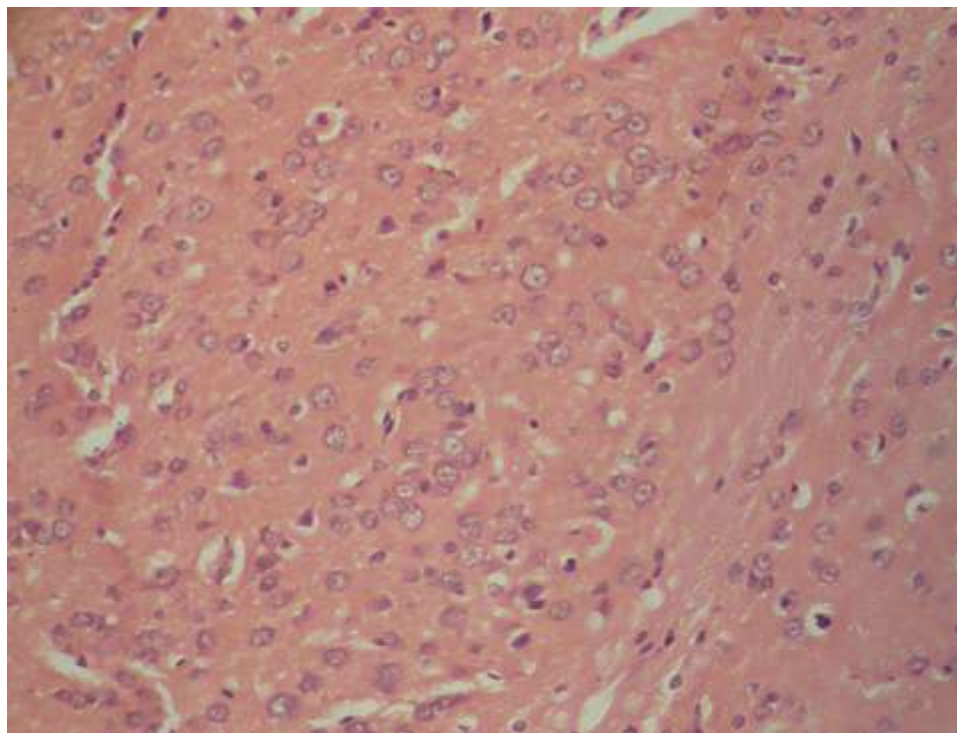


Рис. 4.9. Фрагмент звсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової стимуляції о 14.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

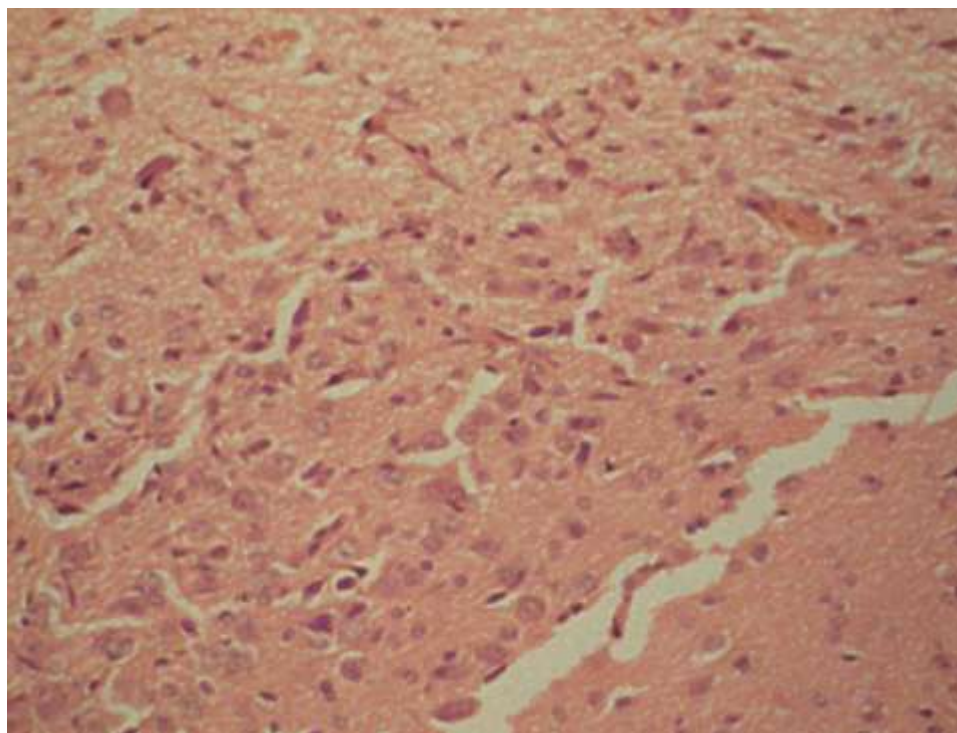


Рис. 4.10. Фрагмент ЗВПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової стимуляції о 02.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

Результатами денного етапу дослідження морфо-функціональної активності нейронів ЗВПШЯ гіпоталамуса у тварин, яким моделювали гіпофункцію ШЗ шляхом утримування їх за умов тривалого світлового режиму не виявлено вірогідних відмінностей площі тіла нейрона, його ядра та ядерця щодо інтактних старих щурів (табл. 4.9). Винятком була площа цитоплазми, яка становила $35,58 \pm 0,754 \text{ мкм}^2$, і на $7,08 \pm 1,12 \%$ менша від такої в контролі. Збільшення площі цитоплазми стало причиною зростання ЯЦС на $8,09 \pm 0,98 \%$ щодо величин інтактних тварин.

При аналізі концентрації РНК у компонентах нейрона о 14.00 год відмічено тенденцію до її зниження без вірогідних різниць стосовно величин інтактних тварин.

**Результати впливу світлового стресу на морфометричну характеристику
нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	90,22 ± 1,312	51,93 ± 1,034	8,57 ± 0,249	38,29 ± 0,708
Інтактні, 02.00 год	80,22 ± 2,010 $p_1 < 0,01$	44,88 ± 1,677 $p_1 < 0,01$	7,68 ± 0,314 $p_1 = 0,05$	35,34 ± 0,881 $p_1 < 0,05$
Постійне освітлення, 14.00 год	87,79 ± 1,358	52,21 ± 1,031	8,49 ± 0,240	35,58 ± 0,754 $p < 0,05$
Постійне освітлення, 02.00 год	87,64 ± 1,558 $p < 0,05$	52,09 ± 1,304 $p < 0,01$	9,77 ± 0,417 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	35,54 ± 0,915

Спостереженнями, проведеними уночі, виявлено вірогідне зростання площі тіла нейрона на $9,26 \pm 1,49$ % щодо такої в інтактних тварин о 02.00 год (див. табл. 4.9). Така картина спричинена вірогідним підвищенням площі ядра на $16,1 \pm 2,18$ % ($r=0,54$) та ядерця нейрона – на $27,2 \pm 3,07$ % ($r=0,60$). Відносно вказаної групи порівняння вірогідним вище ЯЦС внаслідок зниження на $7,9 \pm 1,01$ % питомого об'єму цитоплазми і зменшення в ній концентрації РНК на $7,9 \pm 0,89$ % (табл. 4.10, 4.11).

Таблиця 4.10

**Добові коливання концентрації РНК у нейронах звсПШЯ гіпоталамуса
старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Інтактні, 14.00 год	0,184 ± 0,0029	0,293 ± 0,0042	0,144 ± 0,0025
Інтактні, 02.00 год	0,171 ± 0,0041 $p_1 < 0,05$	0,276 ± 0,0058 $p_1 < 0,05$	0,139 ± 0,0035
Постійне освітлення, 14.00 год	0,179 ± 0,0030	0,292 ± 0,0045	0,139 ± 0,0025
Постійне освітлення, 02.00 год	0,169 ± 0,0029 $p_1 < 0,05$	0,265 ± 0,0040 $p_1 = 0,001$	0,128 ± 0,0023 $p < 0,05$ $p_1 = 0,01$

Постійне освітлення віддзеркалилося вірогідним зростанням концентрації РНК в ядрі на $5,5 \pm 0,94$ %, ядерці – на $9,2 \pm 1,56$ % та цитоплазмі – на $7,9 \pm 1,04$ % стосовно групи попереднього часового інтервалу. Серед інших досліджуваних параметрів вірогідних відмінностей у добовому аспекті не спостерігали.

Таблиця 4.11

Параметри нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од.	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Інтактні, 14.00 год	$1,35 \pm 0,027$	$56,98 \pm 1,135$	$42,02 \pm 0,777$
Інтактні, 02.00 год	$1,26 \pm 0,047$	$55,38 \pm 2,068$	$43,62 \pm 1,086$
Постійне освітлення, 14.00 год	$1,46 \pm 0,028$ $p < 0,05$	$58,88 \pm 1,162$	$40,12 \pm 0,850$
Постійне освітлення, 02.00 год	$1,46 \pm 0,037$ $p < 0,01$	$58,85 \pm 1,473$	$40,17 \pm 1,035$ $p < 0,05$

Отже, наводячи проміжні підсумки щодо вивчення добових коливань та функціональної активності нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, які перебували за гіпофункції ШЗ потрібно відмітити згладжуваність різниці між денними та нічними показниками. І хоча при тривалому освітленні вдень вірогідних різниць щодо показників інтактних тварин не виявлено, уночі площа компонентів досліджуваних суб'ядра НСК гіпоталамуса вірогідно зростає. Це дозволяє дійти висновку, що за тривалого світлового стресу розвивається десинхроноз з проявами реактивних змін морфометричних параметрів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів.

4.2. Показники морфо-функціональної активності звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів за умов постійного освітлення та уведення мелатоніну

З метою вивчення впливу епіфізарного МТ (розчин МТ в дозі 1,0 мг/кг) на активність досліджуваних структур ПШЯ гіпоталамуса наступній серії тварин застосовували спочатку тільки розчинник (1,0 мл 0,9 % розчину етанолу на фізіологічному розчині натрію хлориду).

На уведення розчинника о 14.00 год суб'єдра відреагували збільшенням площі на $8,5 \pm 1,10$ % порівняно з тваринами, яким ін'єкції розчинника не проводили. Причиною змін площі тіла нейрона стало збільшення розмірів його ядра, яке становило $58,11 \pm 0,925$ мкм² (табл. 4.12). Коефіцієнт кореляції між вказаними показниками – 0,66.

Таблиця 4.12

Морфометрична характеристика нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів при уведенні розчинника ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	$90,22 \pm 1,312$	$51,93 \pm 1,034$	$8,57 \pm 0,249$	$38,29 \pm 0,708$
Інтактні, 02.00 год	$80,22 \pm 2,010$ $p_1 < 0,01$	$44,88 \pm 1,677$ $p_1 < 0,01$	$7,68 \pm 0,314$ $p_1 = 0,05$	$35,34 \pm 0,881$ $p_1 < 0,05$
Уведення розчинника, 14.00 год	$97,85 \pm 1,538$ $p < 0,01$	$58,11 \pm 0,925$ $p < 0,01$	$8,92 \pm 0,168$	$40,26 \pm 0,770$
Уведення розчинника, 02.00 год	$102,85 \pm 1,796$ $p < 0,001$	$62,29 \pm 1,042$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	$13,39 \pm 0,555$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$40,56 \pm 0,958$ $p = 0,002$

Водночас реєстрували зниження концентрації РНК у структурах нейрона звсПШЯ (табл. 4.13). Зокрема, в ядрі її кількість зменшилася на $28,1 \pm 2,41$ %, у ядерці – на $27,0 \pm 3,04$ % та цитоплазмі – на $29,7 \pm 3,86$ %. ЯЦС, питомий

об'єм ядра та цитоплазми вірогідно не різнилися від величин тварин, яким розчинник не вводили (табл. 4.14).

Таблиця 4.13

Зміни концентрації РНК у нейронах звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів при введенні розчинника ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Інтактні, 14.00 год	$0,184 \pm 0,0029$	$0,293 \pm 0,0042$	$0,144 \pm 0,0025$
Інтактні, 02.00 год	$0,171 \pm 0,0041$ $p_1 < 0,05$	$0,276 \pm 0,0058$ $p_1 < 0,05$	$0,139 \pm 0,0035$
Уведення розчинника, 14.00 год	$0,132 \pm 0,0018$ $p < 0,001$	$0,214 \pm 0,0023$ $p < 0,001$	$0,101 \pm 0,0012$ $p < 0,001$
Уведення розчинника, 02.00 год	$0,164 \pm 0,0030$ $p_1 < 0,001$	$0,253 \pm 0,0036$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$	$0,115 \pm 0,0018$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$

Таблиця 4.14

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, питомий об'єм ядра та цитоплазми нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів при введенні розчинника ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од.	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Інтактні, 14.00 год	$1,35 \pm 0,027$	$56,98 \pm 1,135$	$42,02 \pm 0,777$
Інтактні, 02.00 год	$1,26 \pm 0,047$	$55,38 \pm 2,068$	$43,62 \pm 1,086$
Уведення розчинника, 14.00 год	$1,42 \pm 0,023$	$58,26 \pm 0,935$	$40,74 \pm 0,779$
Уведення розчинника, 02.00 год	$1,53 \pm 0,026$ $p < 0,001$ $p_1 = 0,01$	$59,95 \pm 1,003$	$39,05 \pm 0,923$ $p < 0,01$

О 02.00 год у тварин з уведенням розчинника вірогідно вищі показники площі нейронів на $28,2 \pm 4,02$ %, ніж в інтактних старих щурів. Порівняно з вказаною групою щурів вірогідно зростали і площі ядер НСК на $38,8 \pm 4,91$ %, ядерець на $74,2 \pm 8,68$ % та цитоплазми на $14,8 \pm 3,31$ % (див. табл. 4.12). Концентрація нуклеїнової кислоти в компонентах суб'ядра також змінювалася (див. табл. 4.13).

ЯЦС нейрона звсПШЯ о 02.00 год перевищувало таке в інтактних тварин на $21,3 \pm 1,019$ % внаслідок зростання питомого об'єму ядра, який дорівнював $60,6 \pm 0,515$ % та вірогідного зменшення питомого об'єму цитоплазми НСК (рис. 4.11).

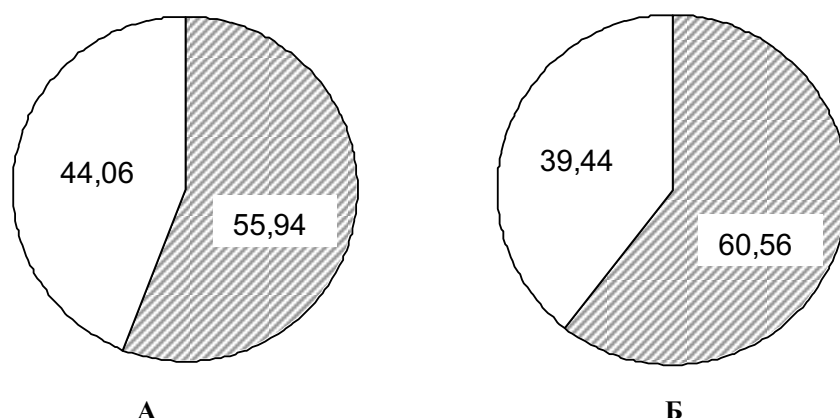


Рис. 4.11. Зміни питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів звсПШЯ старих щурів о 02.00 год.

Примітки. А – стандартний світловий режим; Б – уведення розчинника; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра)

При аналізі добової динаміки, істотних змін площі нейрона звсПШЯ, його ядра та ядерець у денний та нічний періоди нами не виявлено. Однак, слід відмітити значне зростання концентрації РНК в ядрі на $24,8 \pm 2,08$ %, ядерець – на $18,1 \pm 1,81$ % та цитоплазмі – на $13,7 \pm 2,09$ % щодо тварин, яким вводили розчинник і знеживлювали о 14.00 год (рис. 4.12).

На фоні тижневих внутрішньоочеревинних ін'єкцій старим щурам 1,0 мл 0,9 % розчину етанолу на фізіологічному розчині натрію хлориду відмічається підвищення о 02.00 год ЯЦС, яке становило $1,54 \pm 0,026$ од.,

внаслідок зниження питомого об'єму цитоплазми нейрона порівняно з величинами цієї серії тварин попереднього часового інтервалу дослідження (див. табл. 4.14).

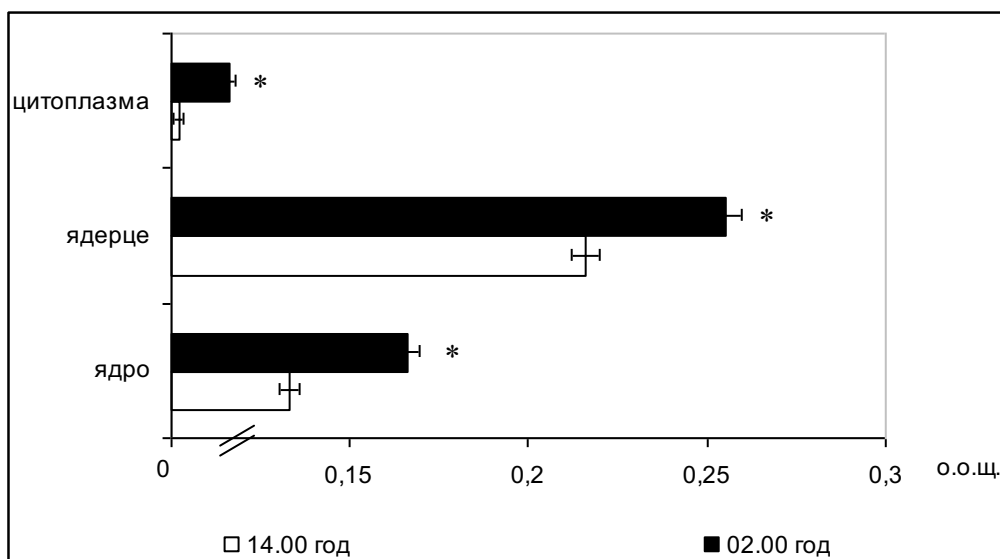


Рис. 4.12. Добові коливання концентрації РНК (о.о.щ.) у нейроні звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, яким вводили розчинник.

Отже, застосування розчинника (0,9 % розчин етанолу на фізіологічному розчині) підвищувало ступінь функціональної активності нейронів звсПШЯ гіпоталамуса, здебільшого о 02.00 год. Таку реакцію звсПШЯ можна пояснити як нейроендокринну відповідь на стресовий чинник – щоденне внутрішньоочеревинне введення етанол-вмісного розчинника.

Узагальнюючи цей етап експерименту, суттєвих порушень функціонального стану досліджуваних суб'ядер ПШЯ гіпоталамуса при введенні розчинника не виявлено.

Для з'ясування впливу епіфізарної активності на морфометричну і денситометричну характеристику звсПШЯ гіпоталамуса використаний МТ у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини. Внутрішньоочеревинні ін'єкції препарату впродовж тижня істотно не вплинули на площу тіла, ядра та цитоплазми нейрона о 14.00 год, залишаючи показники подібними до таких у тварин, які отримували розчинник (табл. 4.15). Однак МТ викликав вірогідне зростання площі ядерця нейрона на $10,3 \pm 2,01$ %

**Результати впливу мелатоніну (1,0 мг/кг) на морфометричні параметри
нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)**

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Контроль (розчинник), 14.00 год	97,85 ± 1,538 p<0,01	58,11 ± 0,925 p<0,01	8,92 ± 0,168	40,26 ± 0,770
Контроль (розчинник), 02.00 год	102,85 ± 1,796 p<0,001	62,29 ± 1,042 p<0,001 p ₁ <0,01	13,39 ± 0,555 p<0,001 p ₁ <0,001	40,56 ± 0,958 p<0,01
Уведення мелатоніну, 14.00 год	98,60 ± 1,322	59,95 ± 0,923	9,84 ± 0,240 p=0,01	38,65 ± 0,788
Уведення мелатоніну, 02.00 год	94,61 ± 1,693 p<0,01	53,32 ± 1,360 p<0,001 p ₁ <0,01	9,14 ± 0,287 p<0,001	41,30 ± 0,874 p ₁ <0,05

внаслідок збільшення в ньому концентрації РНК на $9,3 \pm 1,14$ %. Коефіцієнт кореляції між вказаними показниками становив 0,80, а регресійну залежність – див. рис. 4.12. Також виявлено підвищення концентрації РНК у цитоплазмі на $8,8 \pm 1,34$ % та в ядрі – на $9,0 \pm 1,36$ % у вказаний часовий проміжок щодо тварин, яким вводили розчинник (рис. 4.13).

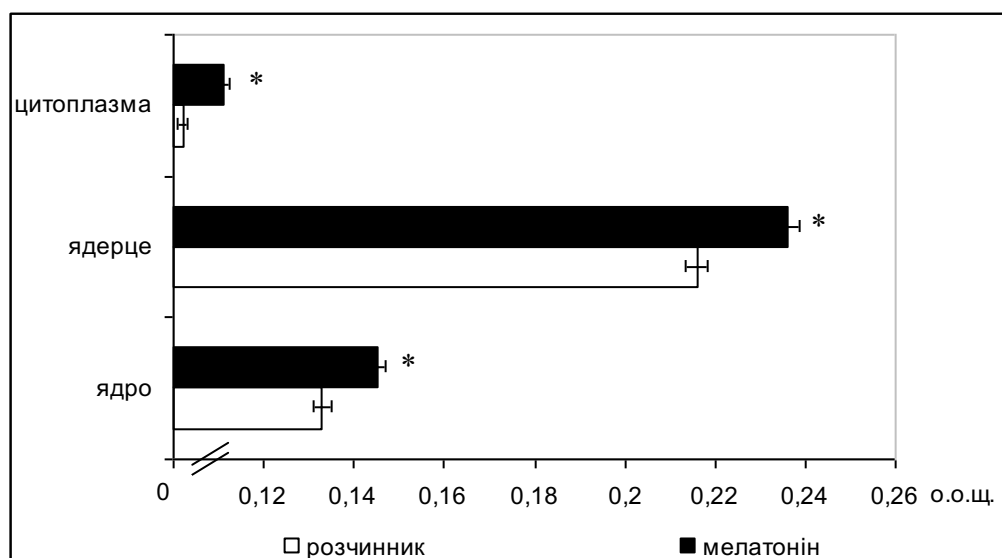


Рис. 4.13. Концентрація РНК (о.о.ш.) у нейроні звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, при введенні МТ.

О 14.00 год ЯЦС становило $1,55 \pm 0,024$ од., зростаючи на $8,4 \pm 1,36$ % щодо показників тварин, яким ін'єкували розчинник, а питомий об'єм ядра та цитоплазми вірогідно не змінювалися.

У нічний проміжок визначень МТ спричинив вірогідне зменшення площі тіла нейрона на $8,0 \pm 0,94$ % щодо контролю (див. табл. 4.15). Це зумовлено зниженням площі ядра нейрона звсПШЯ ($r=0,92$), що, у свою чергу, спричинене зниженням площі ядерця нейротрансдуктора ($r=0,60$). Отримані значення поєднувалися з вірогідним зниженням концентрація РНК у досліджуваних складових нейрона впродовж нічного дослідження, а саме в ядрі – на $16,3 \pm 2,04$ % та ядерці – на $9,8 \pm 0,89$ % (табл. 4.16). Беручи до уваги результати цієї серії досліджень відмітимо зниження інтрацелюлярних синтетичних процесів у нейроні в нічні години, та підвищення – вдень. Отже, уведений МТ та його ендogenousний аналог, пік продукції якого припадає саме на нічний період доби, проявляли аддитивний ефект.

Таблиця 4.16

Зміни концентрації РНК у нейронах звсПШЯ гіпоталамуса при введенні мелатоніну (1,0 мг/кг) ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Контроль, 14.00 год	$0,132 \pm 0,0018$	$0,214 \pm 0,0023$	$0,101 \pm 0,0012$
Контроль, 02.00 год	$0,164 \pm 0,0030$ $p_1 < 0,001$	$0,253 \pm 0,0036$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$	$0,115 \pm 0,0018$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Уведення мелатоніну, 14.00 год	$0,144 \pm 0,0018$ $p < 0,001$	$0,235 \pm 0,0026$ $p < 0,001$	$0,110 \pm 0,0013$ $p < 0,001$
Уведення мелатоніну, 02.00 год	$0,138 \pm 0,0022$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	$0,229 \pm 0,0029$ $p < 0,001$	$0,111 \pm 0,0015$

Порівнюючи морфометричні дані, отримані у денний та нічний періоди доби, відмітимо зниження площі ядра нейрона на $11,1 \pm 1,21$ %, та цитоплазми – на $6,9 \pm 0,82$ %. Спостерігали також зниження ЯЦС до $1,29 \pm 0,033$ од. внаслідок вірогідного зменшення питомого об'єму ядра на $7,4 \pm 0,90$ % та зростання питомого об'єму цитоплазми – на $11,3 \pm 1,71$ % (рис. 4.14).

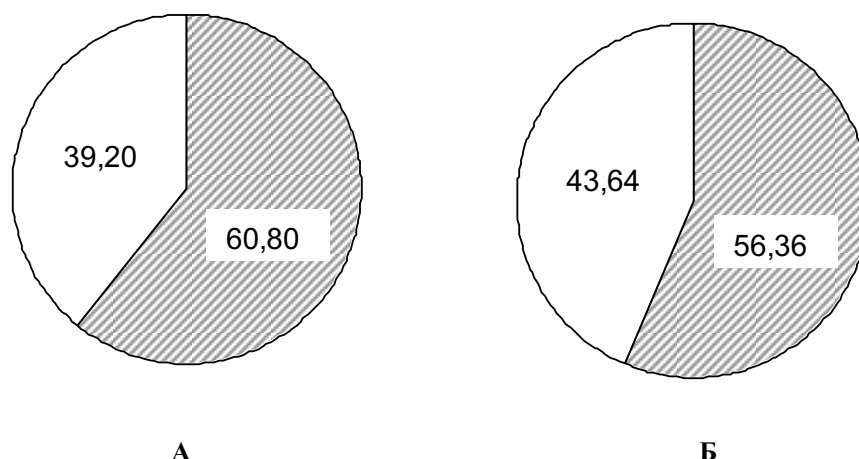


Рис. 4.14. Добові зміни питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів звсПШЯ старих щурів при застосуванні МТ. А – 14.00 год; Б – 02.00 год; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра)

На підставі отриманих проміжних результатів можна дійти висновку, що МТ у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини о 14.00 год призводить до активації синтетичних процесів у нейронах звсПШЯ гіпоталамуса та збільшення площі ядерцевого апарату. Ін'єкції гормону о 02.00 год викликали зниження площі нейронів, яке супроводжувалося зменшенням площі ядер та ядерць НСК. Показники концентрації РНК в ядрі, ядерці та цитоплазмі нейрона, зниження ЯЦС вказували на гальмування МТ нейрональних синтетичних процесів у нічний інтервал спостереження.

У табл. 4.17 подані результати цитометричних вимірювань у нейронах звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів за умов корекції МТ змін, викликаних світловою стимуляцією.

Морфометричні показники нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів за умов світлової стимуляції та введення мелатоніну ($\bar{x} \pm S_x$)

Показник	Години доби	Стандартне освітлення	Світлова стимуляція	Світлова стимуляція + мелатонін
Середній об'єм нейроцитів (мкм ³)	14.00	1198±11,0	1045±11,6 p<0,05	1192±11,3
	02.00	1104±10,2	1001±10,3 p<0,05	1099±10,5
Середній об'єм ядер нейроцитів (мкм ³)	14.00	526±9,9	492±9,0	493±9,0
	02.00	524±9,5	491±8,6	493±9,1
Середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу (100х100 мкм ²)	14.00	26±0,6	15±0,4	20±0,6
	02.00	25±0,8	14±0,4	19±0,6

Примітка. Вірогідність розбіжності вказана порівняно з тваринами, що перебували за стандартного режиму освітлення (у разі p<0,05).

У цілому, можна зазначити, що введення МТ старим щурам спричинило суттєві зрушення показників нейронів звсПШЯ фактично до рівня параметрів нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, яких утримували за звичайних умов освітлення (рис. 4.15, рис. 4.16). Зокрема, частково нормалізувалися об'єм нейроцитів та їх ядер, а також середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу.

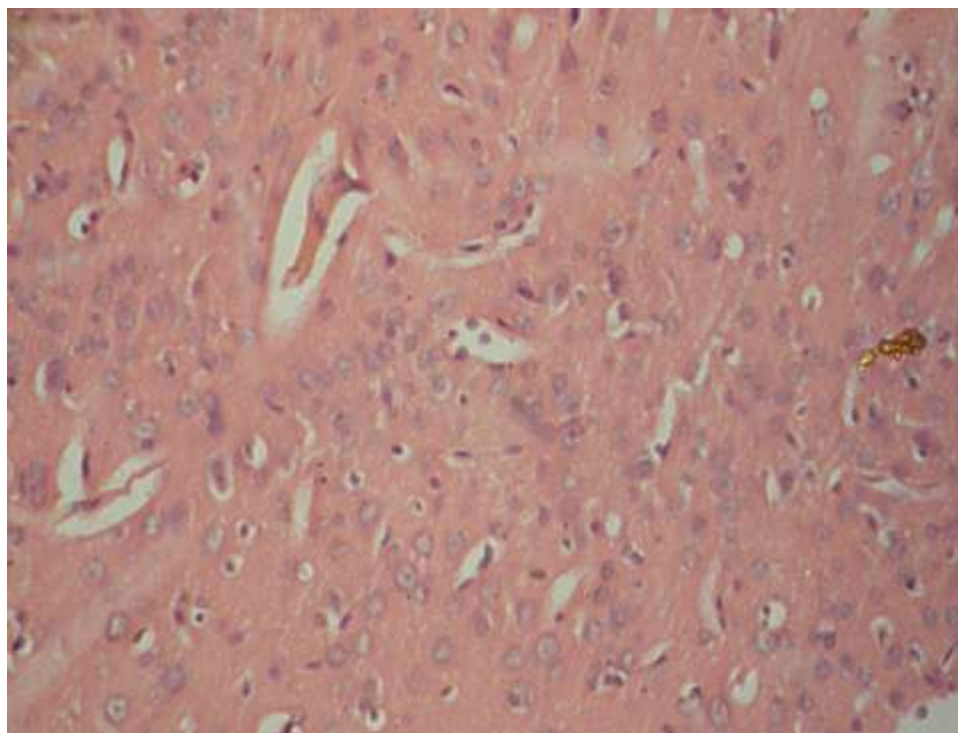


Рис. 4.15. Фрагмент звсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової стимуляції та уведення МТ о 14.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

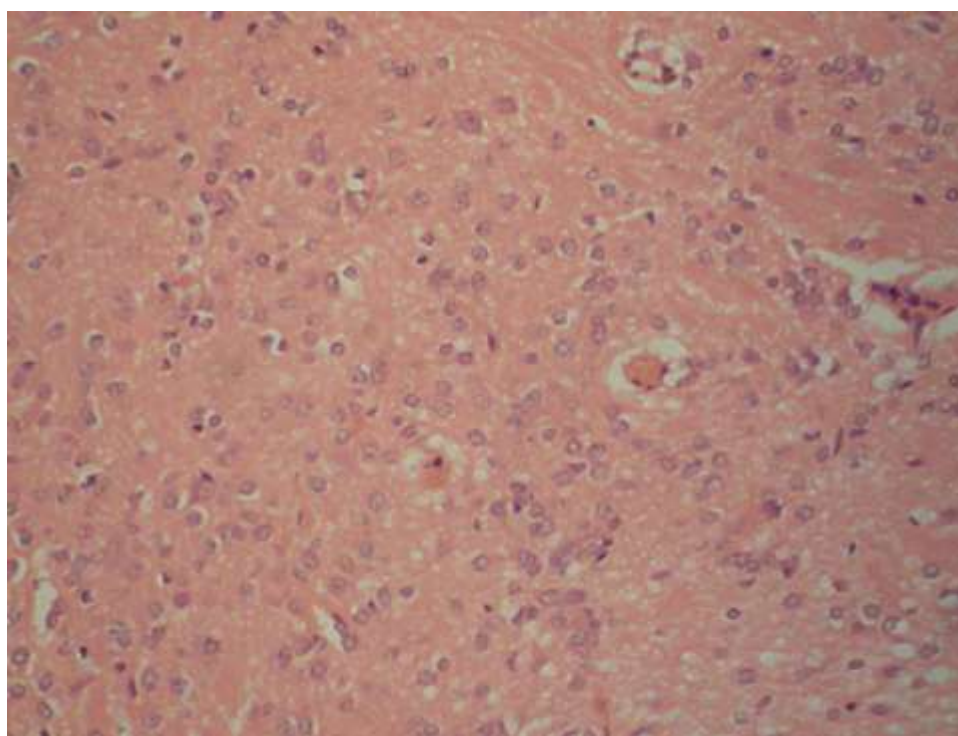


Рис. 4.16. Фрагмент звсПШЯ гіпоталамуса старого щура за умов світлової стимуляції та уведення МТ о 02.00. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб.: Об.40^x. Ок.10^x (оптичне збільшення 400^x)

Ін'єкції МТ тваринам за постійного освітлення не призвели о 14.00 год до вірогідних змін морфометричних параметрів компонентів нейрона звсПШЯ гіпоталамуса щодо тварин, яким вводили МТ за стандартного фотоперіоду, крім зниження площі цитоплазми (табл. 4.18).

Таблиця 4.18

Вплив мелатоніну (1,0 мг/кг) на морфометричні показники нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів при світловому стресі ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин		Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
1	Інтактні, 14.00 год	90,22 ± 1,312	51,93 ± 1,034	8,57 ± 0,249	38,29 ± 0,708
	Інтактні, 02.00 год	80,22 ± 2,010 p<0,01	44,88 ± 1,677 p<0,01	7,68 ± 0,314 p=0,05	35,34 ± 0,881 p<0,05
2	Уведення розчинника, 14.00 год	97,85 ± 1,538 p<0,01	58,11 ± 0,925 p<0,01	8,92 ± 0,168	40,26 ± 0,770
	Уведення розчинника, 02.00 год	102,85 ± 1,796 p<0,001	62,29 ± 1,042 p<0,001 p ₁ <0,01	13,39 ± 0,555 p<0,001 p ₁ <0,001	40,56 ± 0,958 p<0,01
3	Уведення мелатоніну, 14.00 год	98,60 ± 1,322	59,95 ± 0,923	9,84 ± 0,240 p ₂ <0,01	38,65 ± 0,788
	Уведення мелатоніну, 02.00 год	94,61 ± 1,693 p ₂ <0,01	53,32 ± 1,360 p ₂ <0,001 p ₁ <0,01	9,14 ± 0,287 p ₂ <0,001	41,30 ± 0,874 p ₁ =0,05
4	Постійне освітлення, 14.00 год	87,79 ± 1,358	52,21 ± 1,031	8,49 ± 0,240	35,58 ± 0,754 p<0,05
	Постійне освітлення, 02.00 год	87,64 ± 1,558 p=0,015 p ₁ =0,944	52,09 ± 1,304 p=0,007 p ₁ =0,944	9,77 ± 0,417 p=0,003 p ₁ =0,024	35,54 ± 0,915 p=0,879 p ₁ =0,974
5	Постійне освітлення + мелатонін, 14.00 год	98,53 ± 1,552 p ₄ <0,001	62,60 ± 1,137 p ₄ <0,001	10,14 ± 0,271 p ₄ =0,001	35,93 ± 0,668 p ₃ <0,05
	Постійне освітлення + мелатонін, 02.00 год	86,80 ± 1,584 p ₃ <0,01 p ₁ <0,001	47,58 ± 1,191 p ₃ =0,01 p ₄ <0,05 p ₁ <0,001	8,48 ± 0,287 p ₄ <0,05 p ₁ <0,01	39,23 ± 0,886 p ₄ <0,05 p ₁ <0,05

Примітка: p – вірогідні зміни щодо параметрів тварин, які перебували за умов стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p₁ – щодо параметрів тварин попереднього часового інтервалу в межах серії; p₂ – щодо тварин, яким вводили розчинник; p₃ – щодо тварин, яким ін'єкували МТ за стандартного фотоперіоду; p₄ – щодо тварин, яких піддали дії постійного освітлення.

При цьому концентрація РНК в ядрі становила $0,114 \pm 0,0017$ о.о.щ., в ядерці – $0,185 \pm 0,0024$ о.о.щ., у цитоплазмі – $0,086 \pm 0,0013$ о.о.щ. і була вірогідно нижчою щодо вказаної групи старих щурів (табл. 4.19).

Таблиця 4.19

Концентрація РНК у нейронах звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин		Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
1.	Інтактні, 14.00 год	$0,184 \pm 0,0029$	$0,293 \pm 0,0042$	$0,144 \pm 0,0025$
	Інтактні, 02.00 год	$0,171 \pm 0,0041$ $p < 0,05$	$0,276 \pm 0,0058$ $p < 0,05$	$0,139 \pm 0,0035$
2.	Уведення розчинника, 14.00 год	$0,132 \pm 0,0018$ $p < 0,001$	$0,214 \pm 0,0023$ $p < 0,001$	$0,101 \pm 0,0012$ $p < 0,001$
	Уведення розчинника, 02.00 год	$0,164 \pm 0,0030$ $p_1 < 0,001$	$0,253 \pm 0,0036$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$	$0,115 \pm 0,0018$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
3.	Уведення мелатоніну, 14.00 год	$0,144 \pm 0,0018$ $p_2 < 0,001$	$0,235 \pm 0,0026$ $p_2 < 0,001$	$0,110 \pm 0,0013$ $p_2 < 0,001$
	Уведення мелатоніну, 02.00 год	$0,138 \pm 0,0022$ $p_2 < 0,001$ $p_1 < 0,05$	$0,229 \pm 0,0029$ $p_2 < 0,001$	$0,111 \pm 0,0015$
4.	Постійне освітлення, 14.00 год	$0,179 \pm 0,0030$	$0,292 \pm 0,0045$	$0,139 \pm 0,0025$
	Постійне освітлення, 02.00 год	$0,169 \pm 0,0029$ $p_1 < 0,05$	$0,265 \pm 0,0040$ $p_1 < 0,001$	$0,128 \pm 0,0023$ $p < 0,05$ $p_1 = 0,01$
5.	Постійне освітлення + мелатонін, 14.00 год	$0,114 \pm 0,0017$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$0,185 \pm 0,0024$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$0,086 \pm 0,0013$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
	Постійне освітлення + мелатонін, 02.00 год	$0,126 \pm 0,0025$ $p_3 < 0,01$ $p_4 < 0,001$ $p_1 < 0,01$	$0,210 \pm 0,0036$ $p_3 < 0,01$ $p_4 < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$0,103 \pm 0,0017$ $p_3 < 0,01$ $p_4 < 0,001$ $p_1 < 0,001$

Порівнянням морфометричних параметрів з показниками стресованих світлом старих щурів встановлено вірогідне підвищення площі тіла нейрона

звсПШЯ на $12,2 \pm 1,04$ %. Причиною змін площі досліджуваної клітини стало зростання площі ядра ($r=0,99$) за рахунок збільшення площі його ядерця на $19,4 \pm 1,10$ % (рис. 4.17).

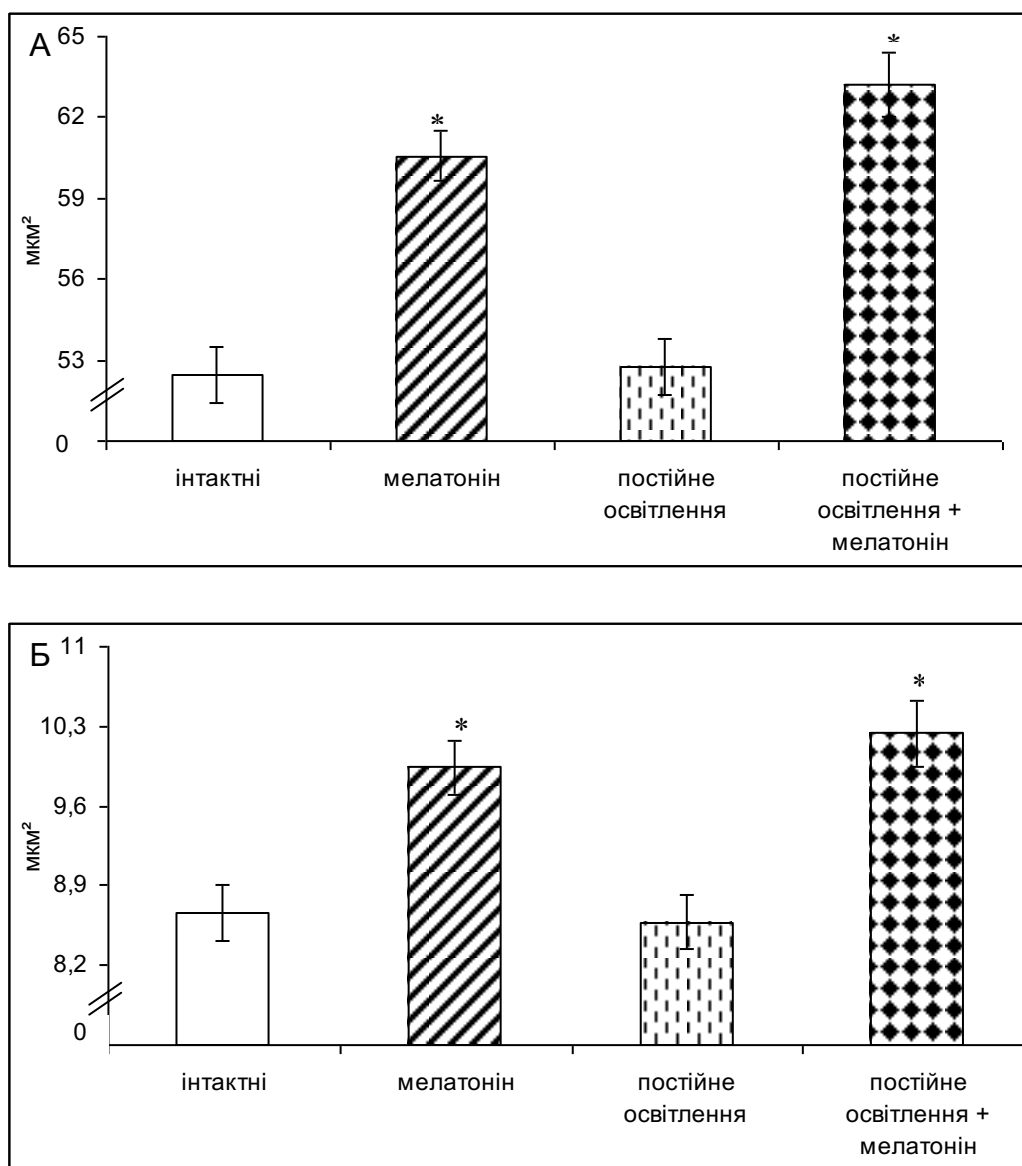


Рис. 4.17. Зміни площі ядра нейрона звсПШЯ (А) та його ядерця (Б) о 14.00 год, що викликані введенням МТ на фоні світлового стресу.

За умов світлового стресу та введення МТ о 14.00 год відмічається зниження ЯЦС на $12,3 \pm 1,76$ % стосовно тварин, яким вводили МТ за стандартного світлового режиму та на $18,4 \pm 2,01$ % щодо особин, які зазнали дії світлового стресу без застосування гормону (табл. 4.20).

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, питомі об'єми ядер та цитоплазми нейронів звсПШЯ гіпоталамуса у старих щурів за умов уведення мелатоніну на фоні світлового стресу ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

	Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
1	Інтактні, 14.00 год	1,35±0,027	56,98±1,135	42,02±0,777
	Інтактні, 02.00 год	1,26±0,047	55,38±2,068	43,62±1,086
2	Уведення розчинника, 14.00 год	1,42±0,023	58,26±0,935	40,74±0,779
	Уведення розчинника, 02.00 год	1,53±0,026 p<0,001 p ₁ =0,01	59,95±1,003	39,05±0,923 p<0,01
3	Уведення мелатоніну, 14.00 год	1,63±0,022 p ₂ =0,001	62,05±0,832	37,95±0,495 p ₂ <0,05
	Уведення мелатоніну, 02.00 год	1,42 ±0,041 p ₂ <0,001 p ₁ <0,001	58,67±1,674	41,33±1,000 p ₂ <0,05 p ₁ <0,05
4	Постійне освітлення, 14.00 год	1,46±0,028 p<0,05	58,88±1,162	40,12±0,850
	Постійне освітлення, 02.00 год	1,46±0,037 p<0,01	58,85±1,473	40,17±1,035 p<0,05
5	Постійне освітлення + мелатонін, 14.00 год	1,48 ±0,027 p ₃ <0,05 p ₄ <0,01	60,56±1,085	39,44±0,574
	Постійне освітлення + мелатонін, 02.00 год	1,23±0,021 p ₃ <0,01 p ₄ =0,001 p ₁ < 0,001	55,37±0,957 p ₄ <0,05 p ₁ <0,01	44,63±0,599 p ₃ <0,05 p ₄ <0,001 p ₁ <0,001

Зниження показника стало можливим внаслідок вірогідного зменшення питомого об'єму цитоплазми на фоні зростання питомого об'єму ядра нейрона звсПШЯ. Щодо концентрації РНК у структурах клітин ПШЯ, то в

цей часовий проміжок у досліджуваних складових НСК вона вірогідно нижча від такої у тварин з гіпофункцією ШЗ без уведення МТ (див. табл. 4.19).

Тижневі ін'єкції МТ за світлового стресу віддзеркалилися вірогідним зменшенням площі нейротрансдуктора о 02.00 год за рахунок зниження площі його ядра на $10,8 \pm 2,04$ % ($r=0,83$) відносно тварин, яким застосовували МТ за звичайного режиму світло-темрява (див. табл. 4.18). Інші складові клітини, що вивчалася, залишалися без істотних змін.

Застосування епіфізарного хронобіотика суттєво не вплинули на площу нейрона звсПШЯ гіпоталамуса о 02.00 год, хоча реєстрували вірогідно нижчу площу ядерця на $8,67 \pm 1,42$ % та вищу площу цитоплазми на $10,39 \pm 2,02$ % порівняно з старими щурами, яких піддавали тривалій експозиції постійним світлом (див. табл. 4.18). Зменшення концентрації РНК в ядрі та ядерці нейрона поєднувалися з низьким питомим об'ємом ядра, який становив $55,37 \pm 0,957$ %. Водночас збільшувався питомий об'єм цитоплазми, що слугувало вірогідному зниженню ЯЦС (рис. 4.18).

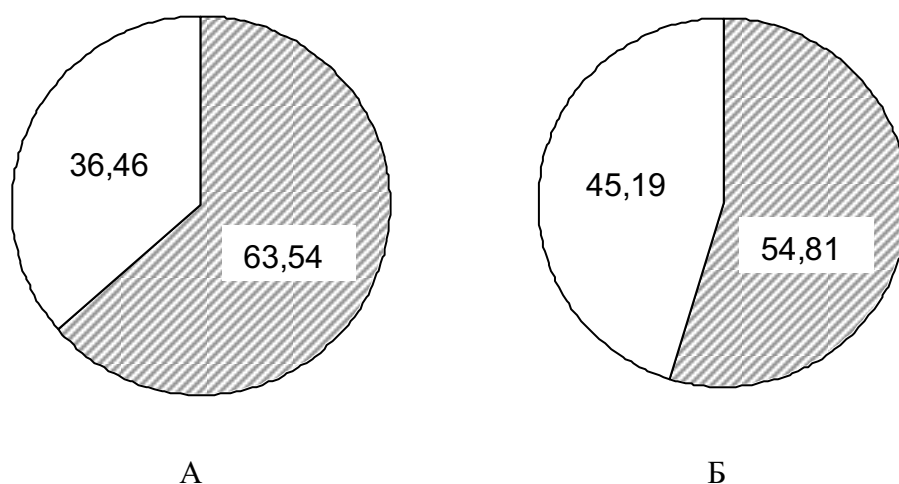


Рис. 4.18. Коливання питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів звсПШЯ старих щурів впродовж доби при застосуванні МТ.

Примітки. А – 14.00 год; Б – 02.00 год; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра)

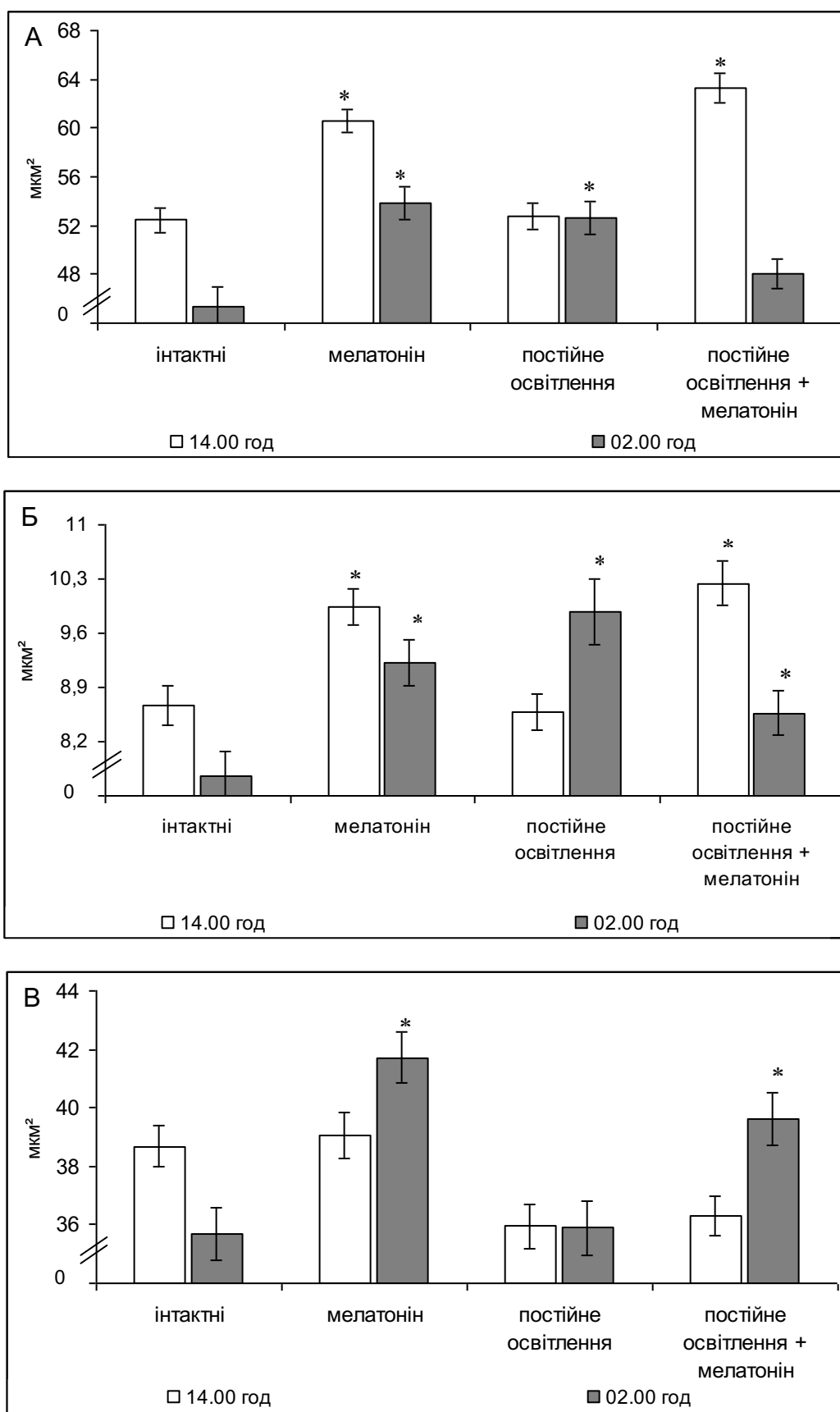


Рис. 4.19. Морфометричні дані площі ядра (А), ядерця (Б) та цитоплазми (В) нейрона звсПШЯ гіпоталамуса о 14.00 та 02.00 год, після застосування МТ стресованим світлом тваринам.

Аналізуючи добові відмінності ефектів МТ відзначимо, що площа тіла НСК становила $86,80 \pm 1,584 \text{ мкм}^2$ і була меншою від такої в попередній часовий інтервал на $11,9 \pm 1,03 \%$. Кореляційний аналіз показав пряму залежність тіла нейрона від площі його ядра, яка перебувала в межах $47,58 \pm 1,19 \text{ мкм}^2$ ($r=0,83$) і на $24,0 \pm 2,31 \%$ менша, ніж вдень. Це, у свою чергу, викликано зниженням площі ядерця (див. рис. 4.19).

Також велика площа цитоплазми нейрона ($39,23 \pm 0,886 \text{ мкм}^2$) на фоні зменшення питомого об'єму ядра спричинила вірогідні зміни співвідношення ядро-цитоплазма, яке знизилося до рівня $1,21 \pm 0,030$ од. (див. табл. 4.20).

Водночас денситометричні вимірювання концентрації РНК о 02.00 год в ядрі, ядерці та цитоплазмі нейросекреторної структури, що вивчається, виявили її зростання на $10,4 \pm 0,81 \%$, $13,4 \pm 1,30 \%$ та $19,5 \pm 1,8 \%$ відповідно до такої о 14.00 год (див. табл. 4.19).

Резюмуючи в цілому отримані результати підкреслимо, що при застосуванні МТ морфометричні параметри звсПШЯ гіпоталамуса зазнають істотніших перебудов у денний проміжок спостереження.

Таким чином, в інтактних тварин простежується циркадіанна ритмічність морфо-функціональної активності досліджуваних нейротрансдукторів звсПШЯ гіпоталамуса з максимальними показниками близько 14.00 год.

Гіперфункції ШЗ викликає десинхроноз функціональної активності нейронів звсПШЯ гіпоталамуса та інверсію максимальних величин з денних на нічні години, що розцінюємо, як ефекти МТ, який в якості стрес-лімітуючого чинника пригнічує синтез ВП звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів.

Вивчення добових коливань та функціональної активності нейронів звсПШЯ гіпоталамуса старих щурів, які перебували за гіпофункції ШЗ показало згладжуваність різниці між денними та нічними показниками. І хоча при тривалому освітленні вдень вірогідних різниць щодо показників інтактних тварин не виявлено, уночі площа компонентів досліджуваних суб'ядра НСК гіпоталамуса вірогідно зростає. Це дозволяє дійти висновку,

що за тривалого світлового стресу розвивається десинхроноз з проявами реактивних змін морфометричних параметрів звсПШЯ гіпоталамуса.

За стандартного фотоперіоду умов МТ (1,0 мг/кг маси тіла тварини) о 14.00 год призводив до активації синтетичних процесів в нейроні звсПШЯ гіпоталамуса та збільшення площі його ядерця. Ін'єкції гормону о 02.00 год викликали зниження площі нейрона, яке супроводжувалося зменшенням площі ядра та ядерця (з відповідними коефіцієнтами кореляції) НСК. Показники концентрації РНК в ядрі, ядерці та цитоплазмі нейрона, зниження ЯЦС вказували на гальмування МТ нейрональних синтетичних процесів у нічний інтервал досліду.

Застосування МТ (1,0 мг/кг маси тіла тварини) на фоні постійного освітлення нормалізувало порушення циркадіанного ритму морфо-функціональної активності нейротрансдукторів ПШЯ гіпоталамуса, спричинене світловим стресом. Порівнянням морфометричних параметрів з показниками стресованих світлом старих щурів о 14.00 год встановлено вірогідне підвищення площі тіла нейрона звсПШЯ на $12,2 \pm 1,04 \%$ за рахунок зростання площі ядра ($r=0,99$) та ядерця на $19,4 \pm 1,10 \%$ на тлі вірогідного зменшення питомого об'єму цитоплазми з одночасним зростанням питомого об'єму ядра структури. О 02.00 год реєстрували вірогідно нижчу площу ядерця на $8,7 \pm 1,42 \%$ та вищу площу цитоплазми на $10,4 \pm 2,02 \%$ порівняно з старими щурами, яких піддавали тривалій експозиції постійним світлом. Зменшувалася і концентрації РНК у складових нейрона в періоди експерименту.

Матеріали цього розділу опубліковані

Булик РЄ, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику нейронів паравентрикулярних ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2021;20(3):11-8. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.2> [26]

РОЗДІЛ 5

**МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНІВ НАДЗОРОВИХ
ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА СТАРИХ ЩУРІВ
ЗА РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ, ВПЛИВУ СТРЕСУ
ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ**

5.1. Вплив світлової депривації та стимуляції

При вивченні морфометричних параметрів надзорових ядер гіпоталамуса о 14.00 год виявлено, що площа тіла нейрона складає $273,89 \pm 4,298 \text{ мкм}^2$, ядра – $74,47 \pm 1,262 \text{ мкм}^2$, ядерця – $31,05 \pm 4,448 \text{ мкм}^2$ та цитоплазми – $199,42 \pm 4,172 \text{ мкм}^2$ (табл. 5.1). Проведений кореляційний аналіз встановив тісний зв'язок між площею тіла нейрона і ядра ($r=0,73$), між площею ядра та ядерця ($r=0,95$). Також виявлена пряма кореляційна залежність між площею нейрона і його цитоплазми ($r=0,67$). ЯЦС знаходиться в межах $2,62 \pm 0,022$, питомий об'єм ядра нейрона становить $27,64 \pm 0,561 \%$, а цитоплазми – $72,36 \pm 0,562 \%$.

Вивчення морфометричних характеристик нейронів НЯ гіпоталамуса виявило добову динаміку показників. Так, порівняно з денним періодом (14.00 год), до 02.00 год відмічається вірогідне збільшення на 11,6 % площі тіла нейронів НЯ гіпоталамуса, зумовлене зростанням площі ядра клітин на 17,8 % (табл. 5.1), що підтверджено прямим кореляційним зв'язком ($r=0,31$). У свою чергу, збільшення площі ядра нейрона зумовлено зростанням площі його ядерця, яка становила $36,68 \pm 8,804 \text{ мкм}^2$ (табл. 5.1), коефіцієнт кореляції між досліджуваними показниками дорівнює 0,59.

При цьому в нічний період спостереження ЯЦС у ВП-синтезуючих структурах становить $2,91 \pm 0,019 \%$ і вірогідно більше (на 11,1 %), ніж у денний проміжок. Водночас питомий об'єм цитоплазми нейрона зростає на 2,8 %, а ядра, навпаки, знижується на 7,3 % (табл. 5.2).

Добова морфометрична характеристика нейронів**НЯ гіпоталамуса у старих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	273,89±4,298	74,47±1,262	31,05±4,448	199,42±4,172
Інтактні, 02.00 год	305,67± 7,939 p ₁ <0,01	87,70 ± 5,016 p<0,05	36,68± 8,804	217,98±5,930 p ₁ <0,05

Примітки: n – кількість старих тварин, p – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

Ці зміни поєднуються зі зростанням концентрації РНК у самих ядрах на 13,2 % порівняно з денним періодом. При цьому вірогідних змін концентрації РНК в цитоплазмі нейрона НЯ гіпоталамуса нами не виявлено (рис. 5.1).

Параметри нейронів НЯ гіпоталамуса у старих щурів**у різні періоди доби ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Інтактні (n=6), 14.00 год	2,62± 0,022	72,36±0,562	27,64±0,561
Інтактні (n=6), 02.00 год	2,91±0,019 p ₁ <0,001	74,39±0,652 p ₁ <0,05	25,61±0,651 p ₁ <0,05

Примітки: n – кількість старих тварин, p – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

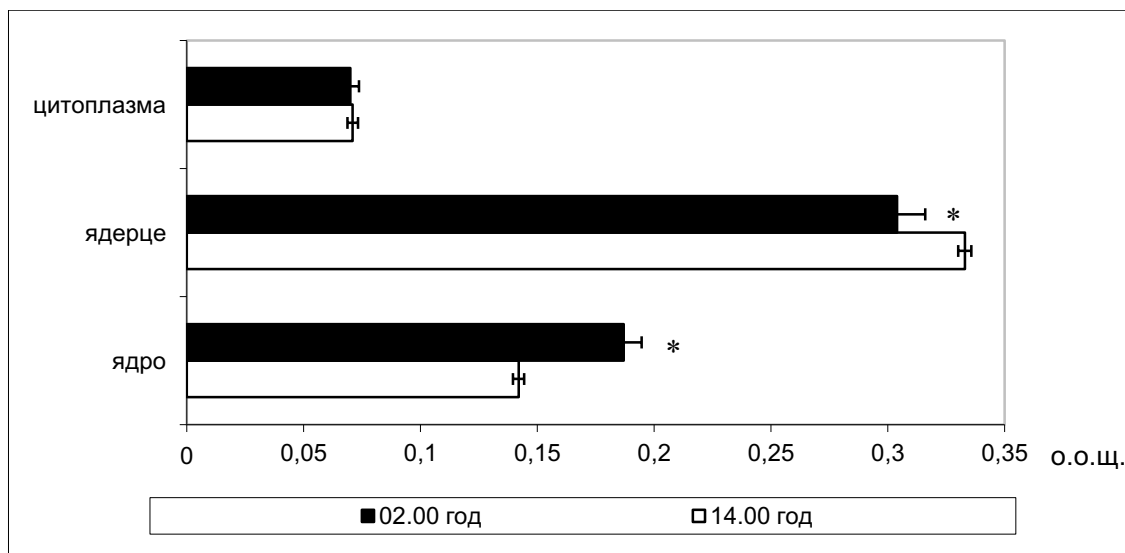


Рис. 5.1. Добова динаміка концентрації РНК в структурах нейрона надзорового ядра гіпоталамуса старих тварин, які перебували за стандартного світлового періоду.

Примітка. о.о.щ. – одиниці оптичної щільності.

Отримані величини свідчать про підвищення функціональної і синтетичної активності нейронів НЯ гіпоталамуса в інтактних старих щурів у нічний період доби.

З метою виявлення місця і ролі провідного нейроендокринного трансдуктора білядобового періодизму – ШЗ у функціонуванні НЯ гіпоталамуса, нами проведено морфометричне дослідження вказаних ядер за умов постійної темряви та тривалого освітлення (моделювання старих тваринам гіпер- та гіпофункції ШЗ відповідно).

Відомо, що за умов тривалої темряви підвищується функціональна здатність ШЗ щодо синтезу МТ. У старих тварин, яких піддали таким умовам о 14.00 год площа ядра нейрона НЯ гіпоталамуса становила $98,33 \pm 5,400 \text{ мкм}^2$ і була вірогідно більшою за аналогічну у старих щурів, яких утримували за умов стандартного освітлення. Вказані зміни супроводжувалися збільшенням площі ядереця, яка становить $48,90 \pm 6,892 \text{ мкм}^2$ ($r=0,87$) і площі цитоплазми нейрона, яка знаходиться у межах $217,61 \pm 7,199 \text{ мкм}^2$ ($r=0,91$). Потрібно підсумувати, що площі досліджуваного нейрона гіпоталамуса та його

компонентів у цей інтервал дослідження були вірогідно більшими порівняно з аналогічними в інтактних старих тварин (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив світлової депривації на площу тіла нейрона НЯ гіпоталамуса старих тварин, його ядра, ядерця та цитоплазми ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	273,89±4,298	74,47±1,262	31,05±4,448	199,42±4,172
Інтактні, 02.00 год	305,67± 7,939 $p_1 < 0,01$	87,70 ± 5,016 $p_1 < 0,05$	36,68± 8,804	217,98±5,930 $p_1 < 0,05$
Постійна темрява, 14.00 год	315,94±9,553 $p < 0,01$	98,33±5,400 $p < 0,001$	48,90±6,892 $p < 0,05$	217,61±7,599 $p < 0,05$
Постійна темрява, 02.00 год	320,23±9,192	106,14±5,440 $p < 0,05$	61,94±7,065 $p < 0,05$	204,09±6,022

Примітки: у цій та наступних таблицях розділу – p – вірогідні зміни щодо параметрів старих тварин, які перебували за умов стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p_1 – вірогідність різниці щодо параметрів тварин попереднього часового інтервалу в межах серії. У кожній групі по 6 тварин.

О 14.00 год зменшення площі цитоплазми нейрона віддзеркалилося зниженням її питомого об'єму щодо тіла нейрона (рис. 5.2), що стало причиною значного підвищення ЯЦС, яке майже вдвічі перевищує контрольний показник.

ЯЦС нейрона НЯ гіпоталамуса нижче від такого в інтактних старих тварин на $2,67 \pm 0,17$ % і становить $2,55 \pm 0,022$ од (рис. 5.2). Водночас питомий об'єм ядерця перебував у межах $9,12 \pm 1,260$ од. і був вірогідно більшим щодо об'єму досліджуваної структури у нейроні інтактних старих тварин у денний період спостереження, а питомі об'єми ядра і цитоплазми не

зазнають вірогідних змін щодо таких у контролі в аналогічний часовий проміжок (рис. 5.3).

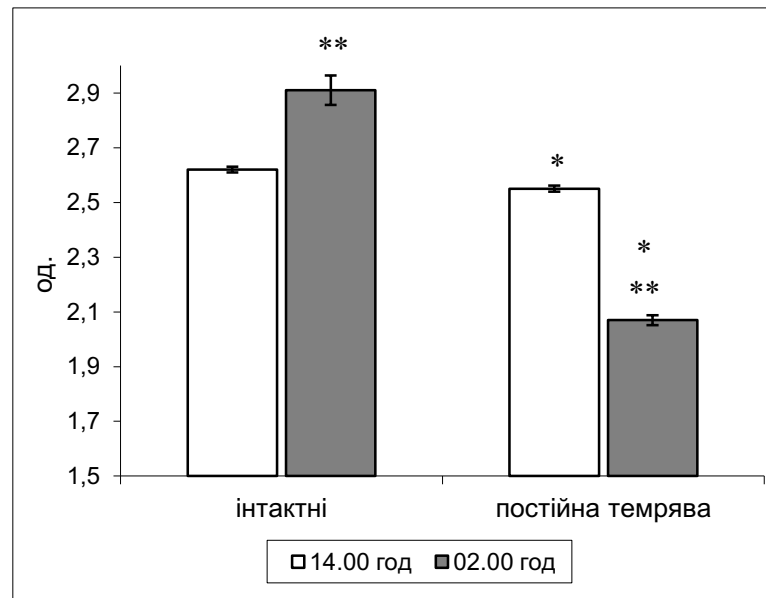


Рис. 5.2. Порівняльна добова характеристика ЯЦС нейрона НЯ гіпоталамуса в інтактних старих щурів і тварин, які перебували за умов постійної темряви.

Примітки: * – вірогідність різниці щодо інтактних старих тварин;

** – вірогідність різниці щодо параметрів старих тварин попереднього часового інтервалу в межах серії.

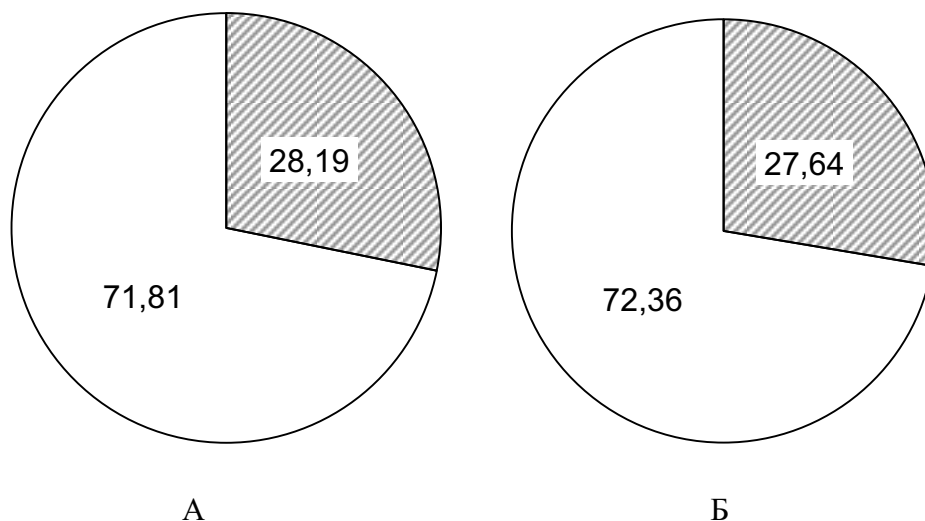


Рис. 5.3. Питомі об'єми ядра і цитоплазми нейронів НЯ гіпоталамуса старих щурів (%) під впливом світлової депривації о 14.00 год.

Примітки: А – стандартний світловий режим; Б – вплив постійної темряви; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра).

Характеризуючи денний етап експерименту, відзначимо вірогідне зростання концентрації РНК в цитоплазмі нейронів НЯ гіпоталамуса, щодо величин інтактних старих тварин того ж часового інтервалу. У цьому добово-му проміжку показники концентрації нуклеїнової кислоти в ядерці досліджуваних структур, навпаки, нижчі від таких у контролі (рис. 5.4). Нами виявлено прямий кореляційний зв'язок між концентрацією РНК в ядрі та площею ядра ($r=0,33$), концентрацією РНК у ядерці та площею ядерця ($r=0,30$), концентрацією РНК у цитоплазмі та площею останньої ($r=0,73$).

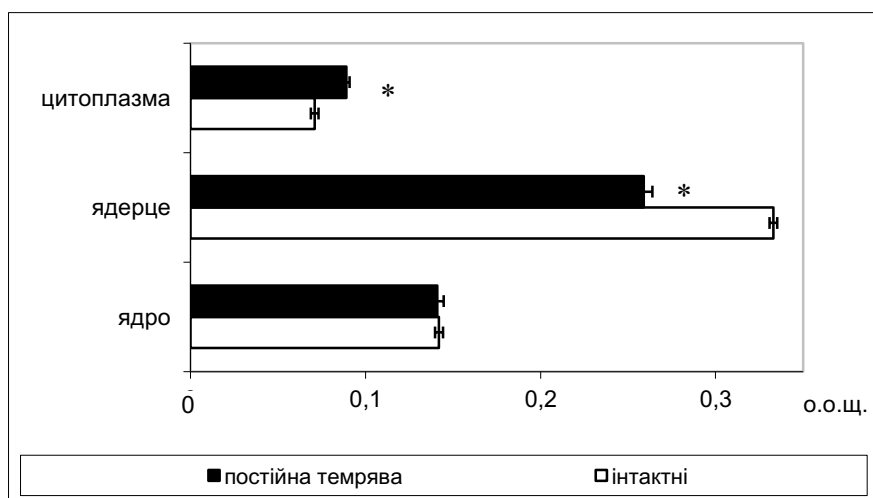


Рис. 5.4. Зміни концентрації РНК (о.о.щ.) в нейроні надзорового ядра гіпоталамуса старих щурів під впливом світлової депривації о 14.00 год.

Отримані проміжні результати дають підстави для припущення про зниження інтранейрональних синтетичних процесів у денний період доби при гіперфункції ШЗ.

Моделювання підвищеної МТ-продукувальної активності ШЗ характеризується більш глибокими проявами о 02.00 год, порівняно з 14.00 год (рис. 5.5). І хоча площа нейрона НЯ гіпоталамуса наближена до аналогічної величини в інтактних старих щурів, нами виявлено зростання розмірів його ядра на $21,1 \pm 2,4$ % ($r=0,73$). Зміни розмірів ядра викликані збільшенням площі ядерця нейрона ($r=0,89$), яка становить $61,94 \pm 7,07$ $\mu\text{м}^2$ і є значно більшою від такої в інтактних старих щурів.

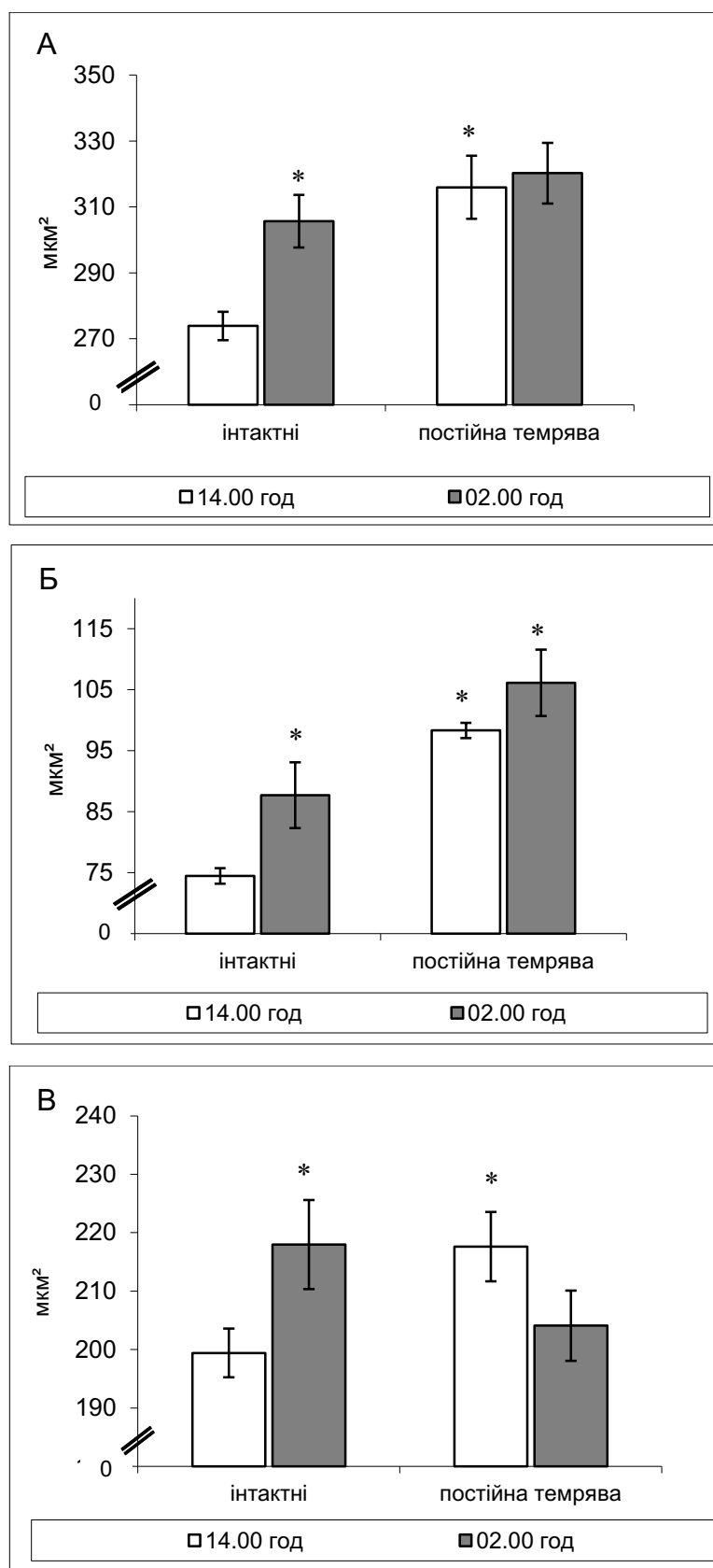


Рис. 5.5. Вплив світлової депривації на морфометричні показники компонентів нейрона НЯ гіпоталамуса старих щурів о 02.00 год.

Примітки: А – площа тіла; Б – площа ядра; В – площа цитоплазми.

Привертає увагу і вірогідне зниження щодо інтактних старих тварин ЯЦС, яке дорівнює $2,07 \pm 0,041$ од. Водночас питомий об'єм ядра знаходиться у межах $14,55 \pm 1,567$ од. і є вірогідно більшим щодо об'єму досліджуваної структури у нейроні інтактних старих тварин у денний період спостереження (рис. 5.6).

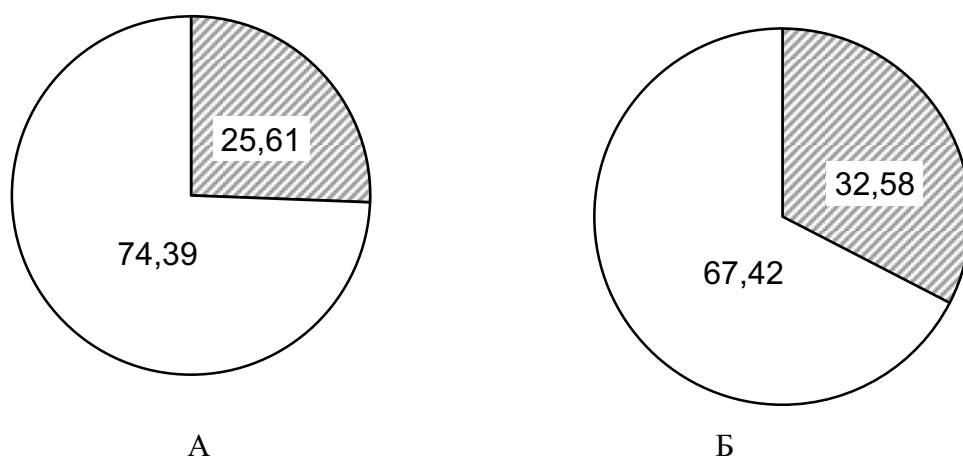


Рис. 5.6. Зміни питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів НЯ гіпоталамуса старих щурів (%) під впливом світлової депривації о 02.00 год.

Примітки: А – стандартний світловий режим; Б – вплив постійної темряви; (біле поле – питомий об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питомий об'єм ядра)

Характеризуючи нічний етап експерименту, відзначено вірогідне зниження концентрації РНК в ядрі, ядерці та цитоплазмі нейронів надзорових ядер гіпоталамуса, щодо величин о 14.00 у старих тварин, які перебували за умов світлової депривації. У цьому добовому проміжку показники концентрації нуклеїнової кислоти в ядрі та ядерці досліджуваних структур становлять $0,121 \pm 0,0032$ о.о.щ. та $0,223 \pm 0,0084$ о.о.щ. відповідно і також є нижчими від таких у контролі (рис. 5.7). Виявлено прямий кореляційний зв'язок між концентрацією РНК в ядрі та площею ядра ($r=0,33$), концентрацією РНК у ядерці та площею ядерця ($r=0,30$), концентрацією РНК у цитоплазмі та площею останньої ($r=0,73$).

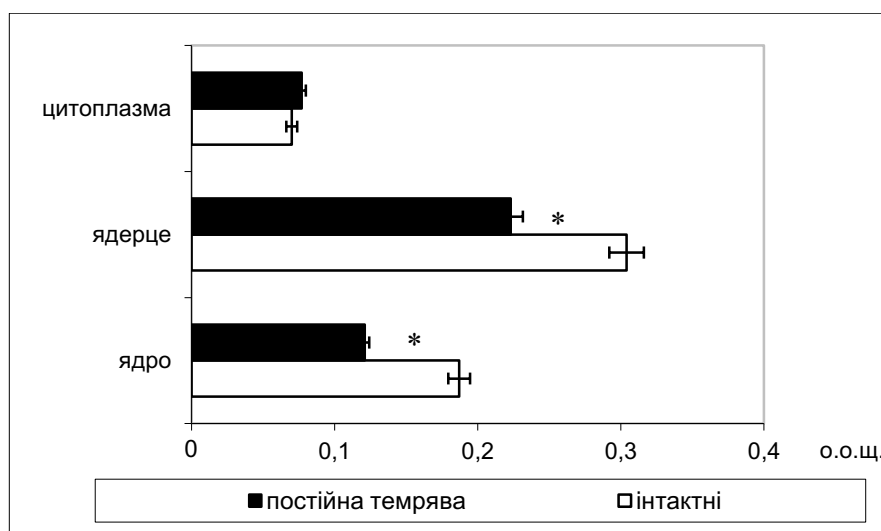


Рис. 5.7. Концентрація РНК у складових нейрона надзорового ядра гіпоталамуса о 02.00 год у старих тварин, які зазнали тривалої світлової депривації.

У добовому вимірі спостерігається незначне порушення ритму активності нейронів досліджуваних ядер порівняно з старими тваринами, які знаходилися за умов стандартного фотоперіоду. Так, денні значення площі ядра, ядерця та цитоплазми перевищували нічні, однак концентрація РНК у них при денному і нічному дослідженні була подібною до контролю.

Можна припустити, що світлова депривація (індукція синтезу МТ) по-різному впливає на морфо-функціональну активність досліджуваних НСК гіпоталамуса старих щурів, а саме: вдень – знижує, а вночі – підвищує її. Крім того, світлова депривація призводить до згладжування добових відмінностей площі тіла нейрона НЯ гіпоталамуса, що виявлено в інтактних старих тварин.

Відомо, що серед зовнішніх геофізичних чинників один з вагомих впливів на фізіологічні процеси органів і систем здійснює тривалість світлового дня. При утримуванні старих тварин за умов постійного освітлення о 14.00 год площа нейрона НЯ вірогідно не відрізняється від аналогічної величини в інтактних старих щурів та щурів, які перебували при тривалій темряві (див. табл. 5.3, табл. 5.4). Водночас, виявлено зростання розмірів його ядра на $26,3 \pm 2,1$ %. Зміни розмірів ядра викликані збільшенням площі ядерця нейрона, яка становить $47,61 \pm 6,184$ мкм² і є більшою від такої в інтактних на $53,3 \pm 3,7$ %. Між цими параметрами встановлено тісний прямий

кореляційний зв'язок ($r=0,98$). Привертає увагу і вірогідне зниження щодо інтактних старих тварин ЯЦС на $4,2\pm0,3$ %, яке дорівнює $2,51\pm0,023$ од.

Таблиця 5.4

**Морфометричні зміни нейронів НЯ гіпоталамуса у старих щурів,
спричинені світловим стресом ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
Інтактні, 14.00 год	273,89 $\pm$ 4,298	74,47 $\pm$ 1,262	31,05 $\pm$ 4,448	199,42 $\pm$ 4,172
Інтактні, 02.00 год	305,67 $\pm$ 7,939 $p_1<0,01$	87,70 $\pm$ 5,016 $p<0,05$	36,68 $\pm$ 8,804	217,98 $\pm$ 5,930 $p_1<0,05$
Постійне освітлення, 14.00 год	294,89 $\pm$ 6,369	94,08 $\pm$ 8,546 $p<0,05$	47,61 $\pm$ 6,184 $p<0,05$	200,82 $\pm$ 9,071
Постійне освітлення, 02.00 год	306,50 $\pm$ 11,338	103,39 $\pm$ 7,051	68,13 $\pm$ 8,970 $p<0,05$	203,11 $\pm$ 7,101

Це спричинено зміщенням параметра у бік збільшення питомого об'єму ядра до $28,47\pm0,979$ % та зменшення питомого об'єму цитоплазми до $71,53\pm0,979$ %. Водночас питомий об'єм ядерця нейрона вірогідно збільшується майже вдвічі і знаходиться у межах $8,06\pm1,623$ % щодо об'єму досліджуваного нейрона (рис. 5.8).

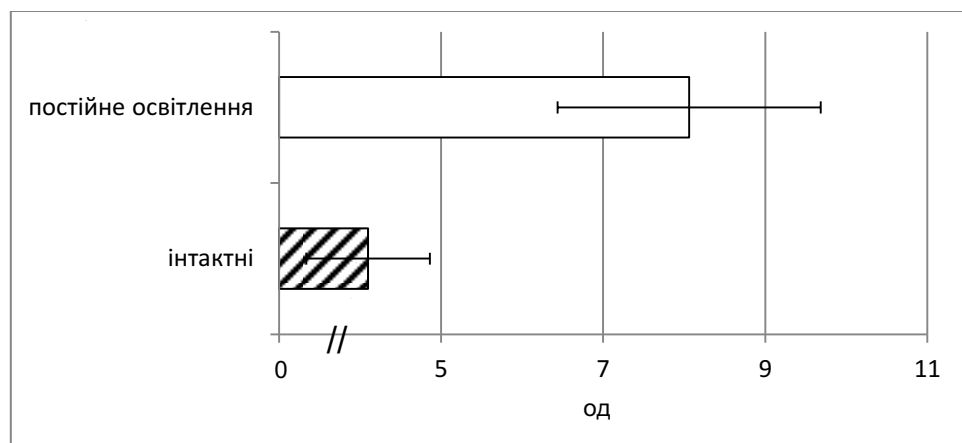


Рис. 5.8. Вплив тривалої світлової експозиції на питомий об'єм ядерця нейрона НЯ гіпоталамуса старих щурів о 14.00 год.

Світловий стрес призводить о 14.00 год до вірогідного збільшення концентрації РНК в цитоплазмі, яка становить $0,087 \pm 0,0045$ о.о.щ. і на $22,54 \pm 3,7$ % перевищує параметри того ж часового інтервалу інтактних старих тварин, проте в ядрі та ядерці нейрона кількість РНК залишається на рівні, близькому до величин інтактних старих тварин (рис. 5.9).

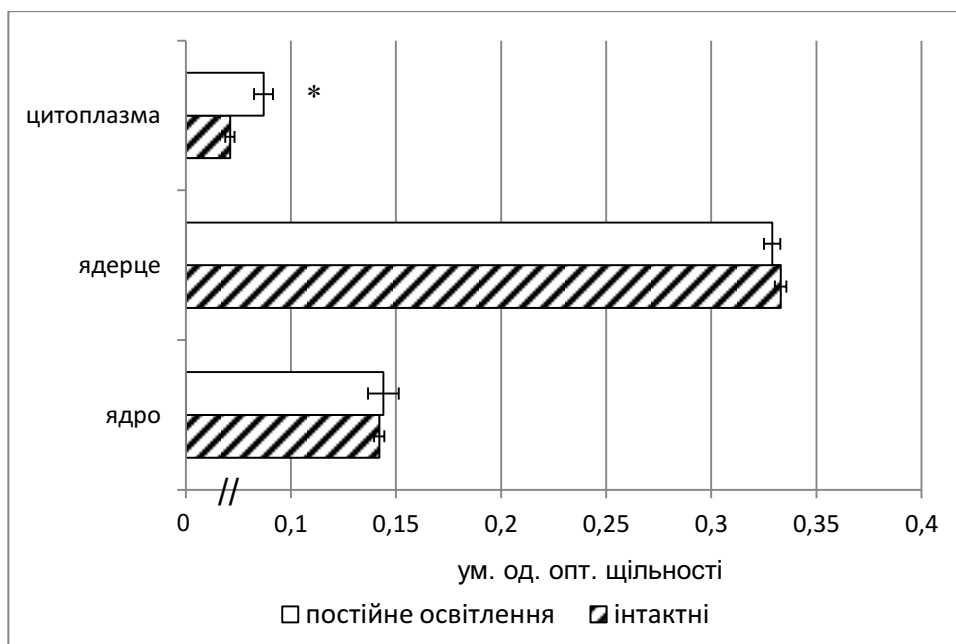


Рис. 5.9. Концентрація РНК у компонентах нейрона НЯ гіпоталамуса о 14.00 год у старих щурів, яких піддавали дії тривалого освітлення.

ЯЦС нейрона НЯ о 02.00 год є вірогідно нижчим від такого в інтактних старих тварин на $17,18 \pm 1,14$ % внаслідок зростання питомого об'єму ядра і ядерця нейрона, які становлять $29,31 \pm 0,829$ % та $11,11 \pm 1,523$ % відповідно, а також вірогідного зменшення питомого об'єму цитоплазми клітин, який дорівнює $70,69 \pm 0,834$ % (рис. 5.10).

Утримування старих тварин за гіперілюмінізованих умов викликає більш виражені зміни морфо-функціонального стану нейронів НЯ гіпоталамуса о 02.00 год, ніж о 14.00 год.

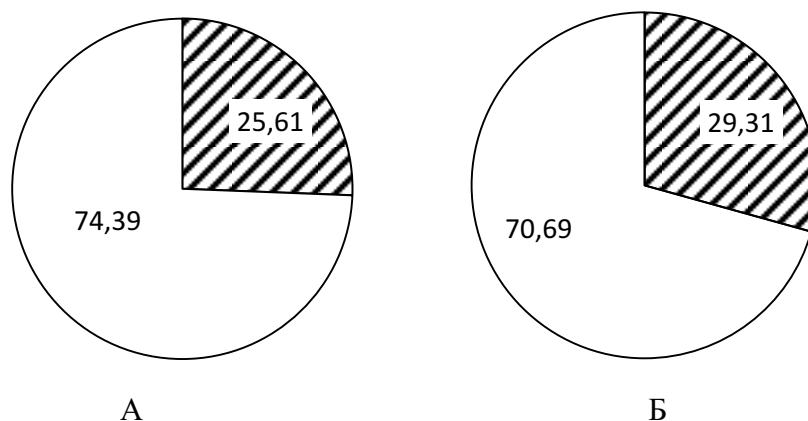


Рис. 5.10. Зміни питомих об'ємів ядра і цитоплазми нейронів НЯ старих щурів о 02.00 год внаслідок перебування старих тварин за умов тривалого освітлення.

Примітки: А – стандартний світловий режим; Б – вплив постійного освітлення; (біле поле – питома об'єм цитоплазми; заштриховане поле – питома об'єм ядра)

Так, площа ядерця нейрона становить $68,13 \pm 8,970 \text{ мкм}^2$ і є вірогідно більшою за аналогічну в інтактних старих тварин. Водночас, площа цитоплазми нейрона дорівнює $203,11 \pm 7,101 \text{ мкм}^2$ і є наближеною до такої у старих тварин, яких утримували за стандартного режиму освітлення (рис. 5.11). Відмічено, що перебування старих тварин за гіперілюмінованих умов не впливає на добовий ритм морфо-функціональної активності нейронів НЯ гіпоталамуса. Більшу їх активність, як і у тварин, які перебували за звичайного режиму освітлення, зареєстровано у нічний період спостереження, свідченням чого є отримані параметри морфометричної характеристики ядер, що вивчаються (див. табл. 5.4).

Характеризуючи нічний етап експерименту, встановлено вірогідне зростання концентрації РНК у ядерці та цитоплазмі нейрона НЯ о 02.00 год щодо показників старих тварин аналогічного часового проміжку, яких утримували за звичайного фотоперіоду. Така картина супроводжується вірогідним зниженням концентрації РНК в ядрі нейрона, яка становить $0,152 \pm 0,0058 \text{ о.о.щ.}$

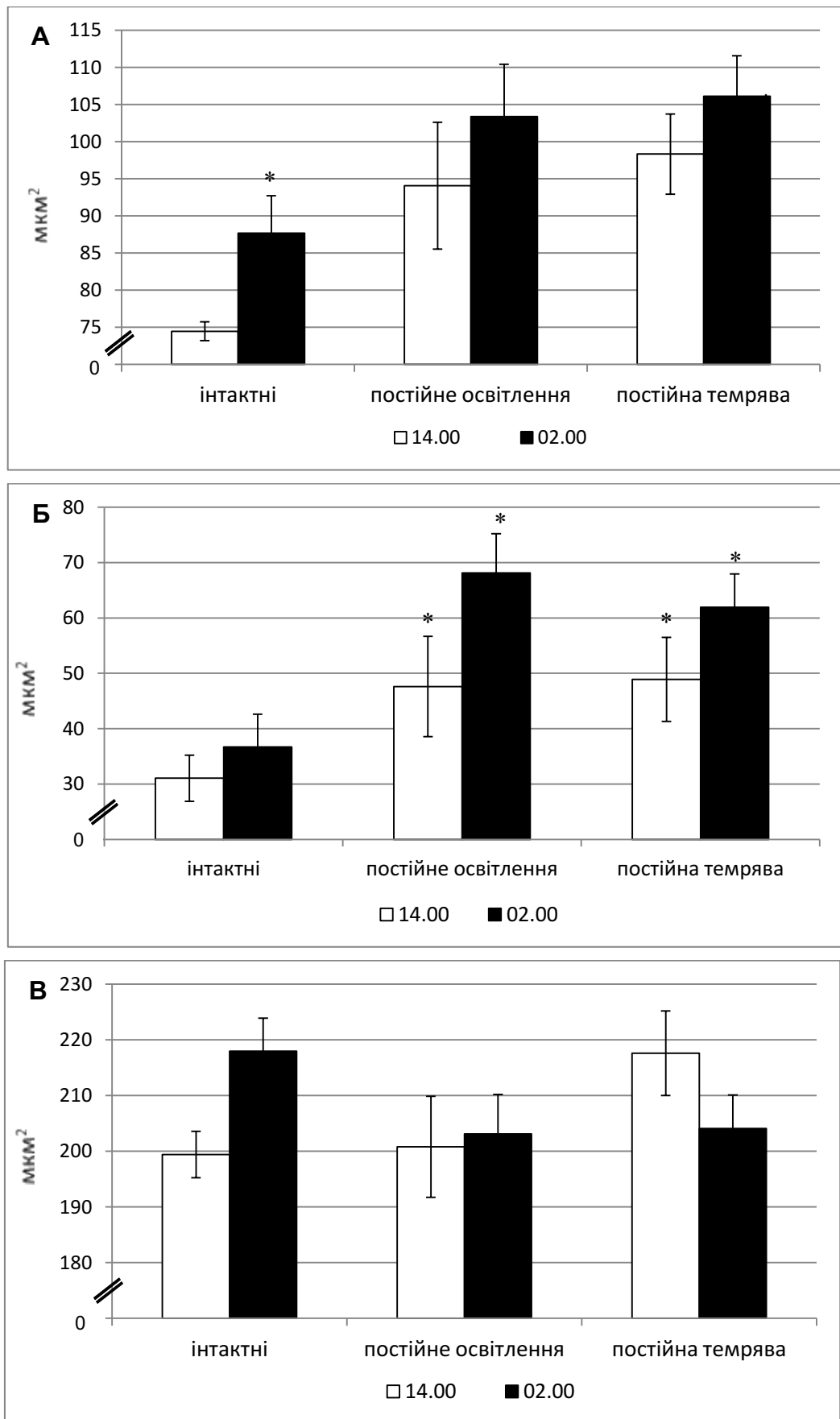


Рис. 5.11. Хрономорфометричні зміни площі структур нейрона НЯ, що викликані утримуванням старих тварин за різної модифікації фотоперіоду.

Примітки: А – ядра; Б – ядерця; В – цитоплазми

Виявлено прямий кореляційний зв'язок між концентрацією РНК в ядрі та площею ядра ($r=0,20$), концентрацією РНК в ядерці та його площею ($r=0,24$), концентрацією РНК у цитоплазмі та площею останньої ($r=0,83$). У цьому добовому проміжку показники концентрації нуклеїнової кислоти вірогідно не відрізняються від таких в інтактних старих тварин (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

**Добові коливання концентрації РНК у нейронах НЯ гіпоталамуса
у старих щурів при постійному освітленні ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)**

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Інтактні, 14.00 год	$0,142 \pm 0,0024$	$0,333 \pm 0,0028$	$0,071 \pm 0,0022$
Інтактні, 02.00 год	$0,187 \pm 0,0077$ $p_1 < 0,001$	$0,304 \pm 0,0121$ $p_1 < 0,05$	$0,070 \pm 0,0037$
Постійне освітлення, 14.00 год	$0,144 \pm 0,0073$	$0,329 \pm 0,0339$	$0,087 \pm 0,0045$ $p < 0,01$
Постійне освітлення, 02.00 год	$0,152 \pm 0,0058$ $p < 0,01$	$0,364 \pm 0,0434$ $p < 0,05$	$0,091 \pm 0,0043$ $p < 0,01$

О 02.00 год у старих тварин, які зазнали тривалої світлової експозиції виявлено вірогідне зниження ЯЦС у досліджуваних нейронах як щодо інтактних старих тварин того ж часового інтервалу на $17,18 \pm 1,97$ %, так і щодо тварин, які знаходилися за умов постійного освітлення попереднього часового інтервалу (табл. 5.6).

Отримані результати дозволяють дійти висновку, що довжина фотоперіоду суттєво впливає на нейрони НЯ гіпоталамуса старих щурів. Постійний світловий режим не спричинює інверсії ритму морфо-функціо-

нальної активності досліджуваних нейронів, максимальні величини, як і в інтактних старих тварин, припадають на нічний проміжок.

Таблиця 5.6

**Параметри нейронів НЯ гіпоталамуса старих щурів
у різні періоди доби ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, од.	Питомий об'єм ядра нейрона, %	Питомий об'єм цитоплазми нейрона, %
Інтактні, 14.00 год	$2,62 \pm 0,022$	$72,36 \pm 0,562$	$27,64 \pm 0,561$
Інтактні, 02.00 год	$2,91 \pm 0,019$ $p_1 < 0,001$	$74,39 \pm 0,652$ $p_1 < 0,05$	$25,61 \pm 0,651$ $p_1 < 0,05$
Постійне освітлення, 14.00 год	$2,51 \pm 0,023$ $p < 0,01$	$71,53 \pm 0,979$	$28,47 \pm 0,979$
Постійне освітлення, 02.00 год	$2,41 \pm 0,030$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	$70,69 \pm 0,834$ $p < 0,01$	$29,31 \pm 0,829$ $p < 0,01$

Світловий стрес викликає вірогідне збільшення площі ядра та ядерця нейронів порівняно зі старими тваринами, які знаходилися за стандартного режиму освітлення як у денний, так і нічний інтервал спостереження. Водночас спостерігається зменшення ЯЦС, підвищення концентрації РНК в ядерці та цитоплазмі нейрона НЯ гіпоталамуса старих щурів у нічний період доби.

5.2. Експериментальна терапія порушень морфо-функціональної активності нейронів надзорних ядер гіпоталамуса старих щурів, спричинених світловим стресом

З метою корекції порушень, що викликані тривалим перебуванням старих щурів при постійному освітленні, нами застосований екзогенний МТ у дозі 1,0 мг/кг у 1,0 мл розчинника.

Для кращої диференціації ефектів МТ на морфо-функціональний стан нейронів НЯ гіпоталамуса окремій серії старих тварин за стандартного

світлового режиму вводили тільки розчинник (1,0 мл 0,9 % розчину етанолу на фізіологічному розчині натрію хлориду).

У цілому введення розчинника дещо підвищувало ступінь функціональної активності нейронів НЯ. Це може бути пов'язано із залученням НЯ до нейроендокринної відповіді на помірний стрес у вигляді щоденного внутрішньоочеревинного введення розчинника, який містить етанол. Водночас, щадний режим маніпуляцій не призводив до серйозних порушень функціонального стану нейронів НЯ, про що свідчать односпрямованість зміни клітинних характеристик і збереження циркадіанного ритму активності досліджуваної структури.

Для корекції порушень, що викликані тривалим перебуванням старих щурів при постійному освітленні нами застосовано екзогенний МТ. При введенні МТ на фоні світлового стресу під час денного етапу дослідження площа нейрона дорівнює $300,79 \pm 11,539 \text{ мкм}^2$, ядра – $96,38 \pm 6,203 \text{ мкм}^2$, ядерця – $46,09 \pm 8,177 \text{ мкм}^2$. Перелічені параметри дещо більші від таких у старих щурів, яким не вводили МТ на фоні світлового стресу (рис. 5.12).

Вказані зміни розмірів нейрона НЯ о 14.00 год спричинені збільшенням площі ядра та ядерця (табл. 5.7). При аналізі морфометричних показників компонентів нейрона відзначено прямий кореляційний зв'язок між: площами нейрона та його ядра $r=0,65$, площами ядра та ядерця $r=0,98$. Площа цитоплазми не зазнавала вірогідних змін. ЯЦС знаходиться в межах $2,36 \pm 0,013$ од і є вірогідно нижче від такого в інтактних старих тварин та старих щурів, яким не вводили МТ на фоні світлового стресу. Показник питомого об'єму ядра становить $29,76 \pm 0,801 \%$, а цитоплазми $70,24 \pm 0,803 \%$, при цьому вірогідної різниці з групами порівняння не відмічено.

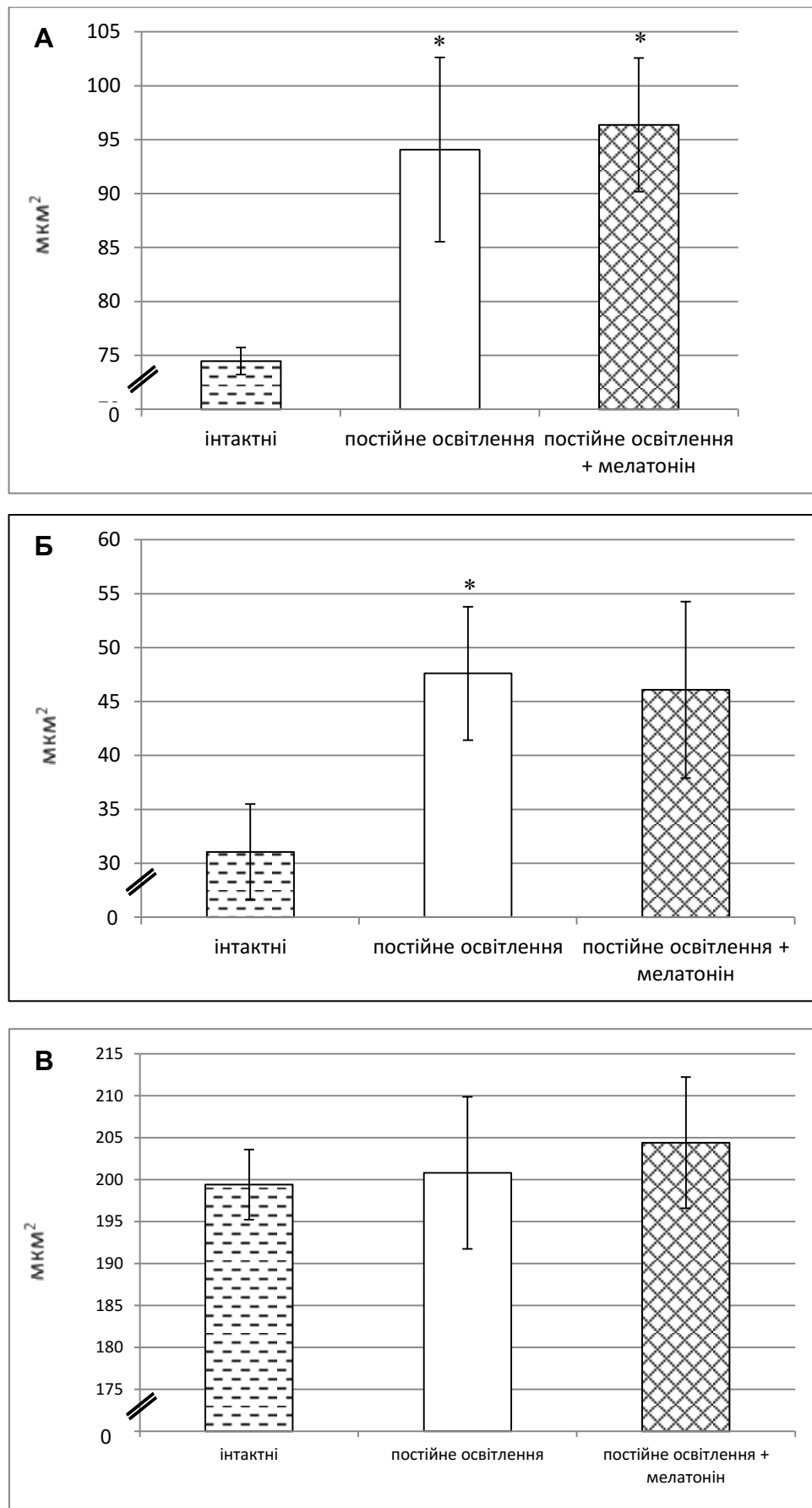


Рис. 5.12. Зміни площі структур нейрона надзорового ядра гіпоталамуса о 14.00 год, що викликані уведенням МТ на фоні світлового стресу. А – ядра; Б – ядерця; В – цитоплазми

Таблиця 5.7

Вплив мелатоніну (1,0 мг/кг) на морфометричні показники нейронів НЯ гіпоталамуса у старих щурів, які зазнали дії світлового стресу ($\bar{x} \pm S_x$)

Серії експериментальних тварин		Площа нейрона, мкм ²	Площа ядра нейрона, мкм ²	Площа ядерця нейрона, мкм ²	Площа цитоплазми нейрона, мкм ²
1	Інтактні, 14.00 год	273,89±4,298	74,47±1,262	31,05±4,448	199,42±4,172
	Інтактні, 02.00 год	305,67± 7,939 p<0,01	87,70 ± 5,016 p<0,05	36,68± 8,804	217,98±5,930 p<0,05
2	Постійне освітлення, 14.00 год	294,89±6,369	94,08±8,546 p ₁ <0,05	47,61±6,184 p ₁ <0,05	200,82±9,071
	Постійне освітлення, 02.00 год	306,50±11,338	103,39±7,051	68,13±8,970 p ₁ <0,05	203,11±7,101
3	Постійне освітлення + мелатонін, 14.00 год	300,79±11,539 p<0,01	96,38±6,203 p<0,05	46,09±8,177 p<0,01	204,41±7,824
	Постійне освітлення + мелатонін, 02.00 год	308,25±9,959	106,89±5,514 p ₁ <0,05	71,01±7,013 p<0,05 p ₁ <0,01	201,36±6,881

Примітка: p – щодо параметрів старих тварин попереднього часового інтервалу в межах серії; p₁ – вірогідні зміни щодо параметрів тварин, які перебували за умов стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу.

Щодо концентрації РНК у структурах клітин НЯ гіпоталамуса, то у денний інтервал дослідження в ядрі вона становить 0,132±0,0045 о.о.щ., в ядерці – 0,343±0,0327 о.о.щ., у цитоплазмі – 0,088±0,0043 о.о.щ. Порівняння цих значень з показниками у старих тварин з гіпофункцією ШЗ без уведення МТ в аналогічний часовий проміжок не має вірогідних відмінностей (табл.5.8).

**Концентрація РНК у нейронах НЯ гіпоталамуса у старих щурів
при корекції стрес-індукованих змін мелатоніном (1,0 мг/кг) ($\bar{x} \pm S_x$)**

Серії експериментальних тварин	Концентрація РНК в ядрі, о.о.щ.	Концентрація РНК в ядерці, о.о.щ.	Концентрація РНК у цитоплазмі, о.о.щ.
Інтактні, 14.00 год	0,142±0,0024	0,333±0,0028	0,071±0,0022
Інтактні, 02.00 год	0,187±0,0077 $p < 0,001$	0,304±0,0121 $p < 0,05$	0,070±0,0037
Постійне освітлен- ня, 14.00 год	0,144±0,0073	0,329±0,0339	0,087±0,0045 $p_1 < 0,01$
Постійне освітлен- ня, 02.00 год	0,152±0,0058 $p_1 < 0,01$	0,364±0,0434	0,091±0,0043 $p_1 < 0,01$
Постійне освітлен- ня + мелатонін, 14.00 год	0,132±0,0045	0,343±0,0327	0,088±0,0043 $p_1 < 0,01$
Постійне освітлен- ня + мелатонін, 02.00 год	0,131±0,0034 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$	0,351±0,0151 $p_1 < 0,01$	0,096±0,0032 $p_1 < 0,01$

Примітки: p – щодо параметрів старих тварин попереднього часового інтервалу в межах серії; p_1 – вірогідні зміни щодо параметрів старих тварин, які перебували за умов стандартного фотоперіоду того ж часового інтервалу; p_2 – щодо старих тварин, яких піддали дії постійного освітлення.

Як і у старих тварин, яким вводили МТ на фоні гіпофункції ШЗ о 14.00 год, у нічний період спостереження збільшення площі нейрона вірогідно відбувалося внаслідок зростання площі ядра та ядерця нейрона.

Визначення о 02.00 год ЯЦС, питомих об'ємів ядра, ядерця та цитоплазми нейронів НЯ гіпоталамуса старих щурів не показало вірогідної різниці щодо показників у старих тварин попереднього часового інтервалу. У цей добовий період концентрація РНК у ядрі нейрона НЯ гіпоталамуса становить 0,131±0,0034 о.о.щ. і була вірогідно нижчою як щодо інтактних тварин та старих щурів, яким не вводили МТ на фоні постійного освітлення.

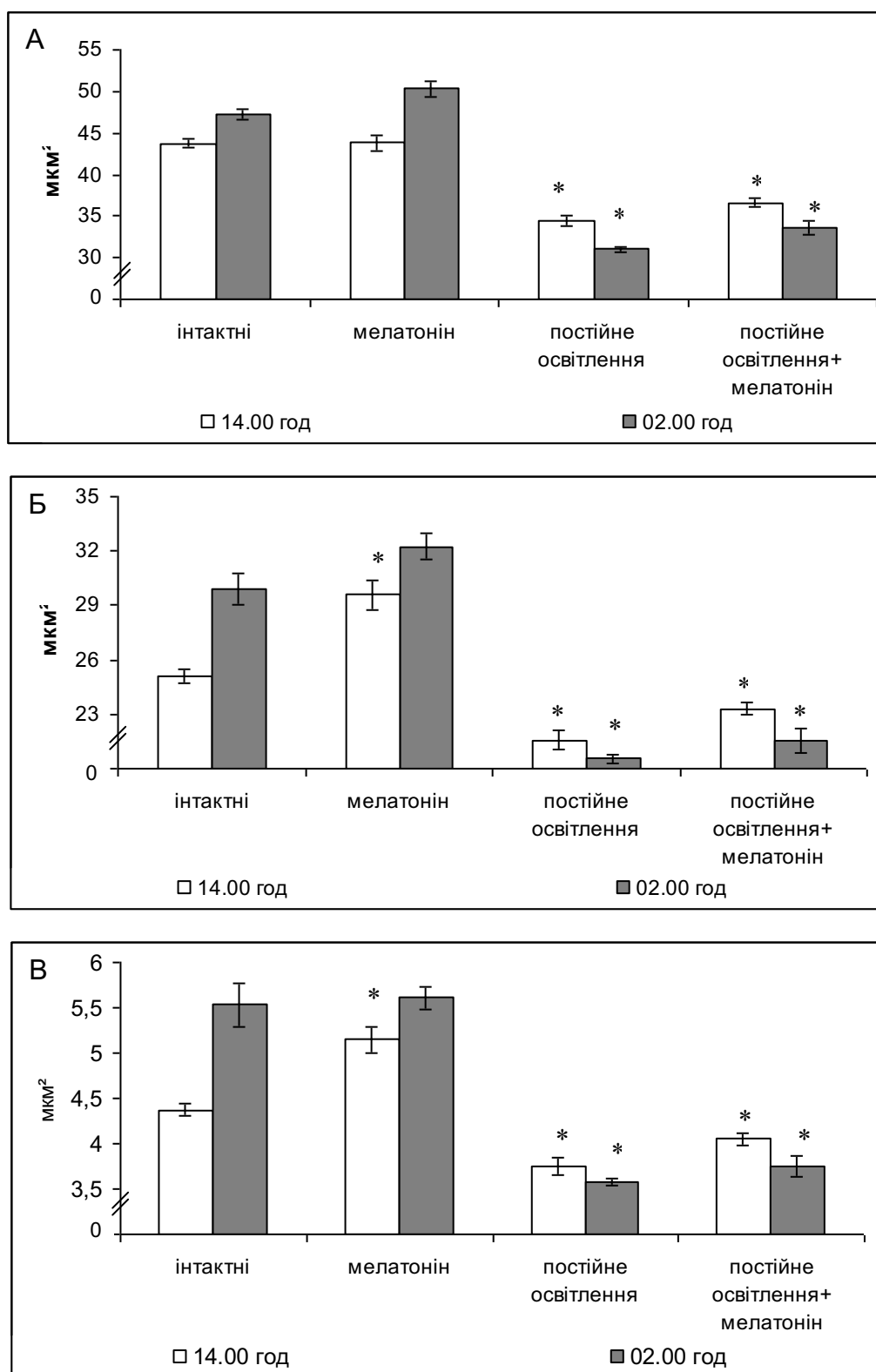


Рис. 5.13. Циркадіанні коливання площі соми нейрона (А), ядра (Б) та ядерця (В) НЯ гіпоталамуса у стресованих світлом тварин після уведення МТ

За таких умов експерименту концентрація нуклеїнової кислоти в ядерці і цитоплазмі нейрона є вірогідно вищою ніж в інтактних старих тварин, а з

іншими групами порівняння вірогідних відмінностей не виявлено (див. табл. 5.8).

Слід відмітити, що в цілому застосування гормону не нормалізує зміни морфометричних параметрів досліджуваних структур нейронів НЯ гіпоталамуса, викликані тривалим перебуванням старих щурів за умов постійного освітлення (рис. 5.13). Це дає підстави стверджувати, що світловий режим є домінуючим чинником у формуванні добових ритмів.

5.3. Субмікроскопічні дослідження надзорового ядра гіпоталамуса інтактної групи старих тварин

Гомеостатичні коливання в організмі є віддзеркаленням формування адаптивних реакцій, що відбуваються за участі взаємопов'язаних мозкових систем. В основі здатності організмів до тривалого існування у змінних умовах середовища лежить складна система регулювання свого внутрішнього середовища. Гіпоталамус є вищим підкірковим центром інтеграції вегетативних, емоційних та моторних компонентів складних реакцій адаптивної поведінки, основним центром регулювання та підтримки гомеостазу організму. Доведено, що гіпоталамус відноситься до основних структур, які забезпечують послідовність нейроендокринних змін при стресі і стрес-реактивність організму. До найбільш активних, і водночас найбільш вразливих утворень гіпоталамуса при стресі поряд із ПШЯ, віднесено і НЯ. Вказані великоклітинні нейрони регулюють водно-сольовий обмін, осмотичний гомеостаз, а також сприймають сигнали від ноцирецепторів, що безпосередньо свідчить про їх вагоме місце у ГГНС.

Під час проведення аналізу інформації, наведеної в анатомо-гістологічних джерелах, мозкова організація даного ядра, ймовірно, може бути регулювана, сприймаючи сигнали про інформацію зовнішнього середовища, від центрального пейсмекера – НПЯ гіпоталамуса.

При утримуванні тварин за стандартного режиму освітлення ультра-структурна організація НЯ гіпоталамуса о 14.00 год характеризується наступ-

ним: виражені поодинокі інвагінації та ядра неправильної форми з неглибокими інвагінаціями каріолеми у більшості НСК, форма яких округло-овальна. В ядерному соці візуалізується щільне осміофільне ядерце та грудочки хроматину (рис. 5.14).

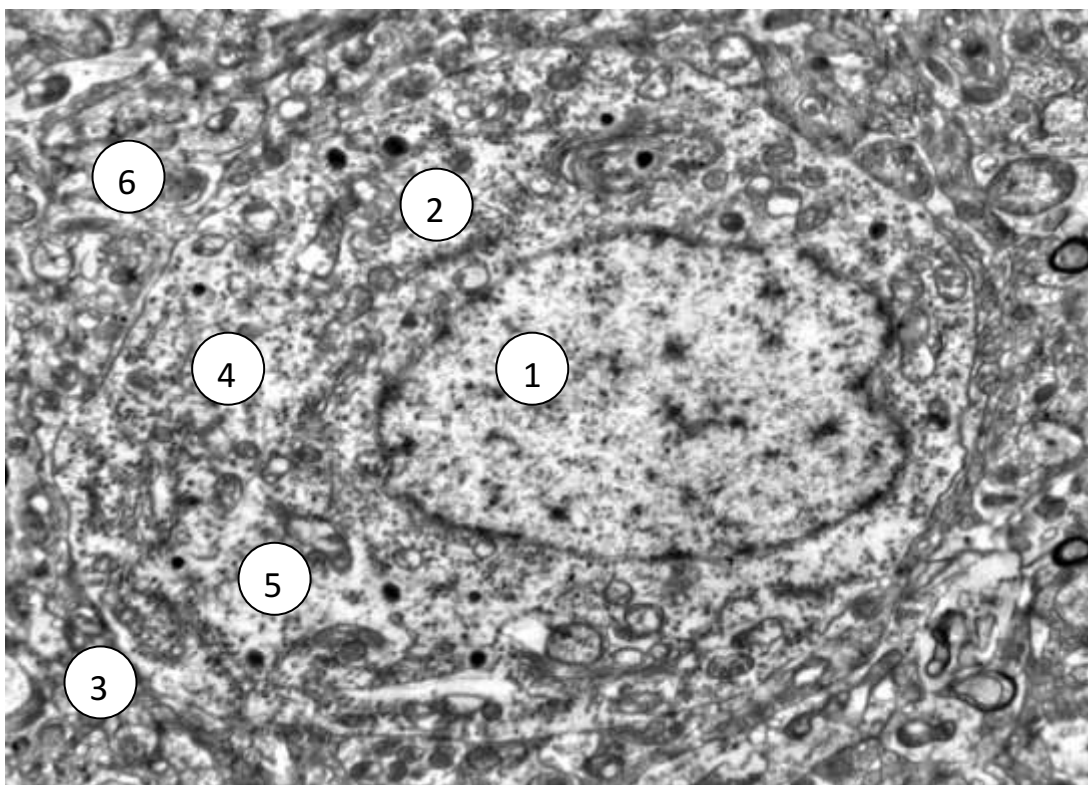


Рис. 5.14. Субмікроскопічна організація НСК НЯ гіпоталамуса тварини о 14.00 год за стандартного освітлення. Електронна мікрофотографія. Зб. 12 000^x.

Примітки: 1 – ядро з інвагінаціями, неправильної форми; 2 – нейроплазма електроннощільна; 3 – мітохондрії з невеликою кількістю крист; 4 – каналні гранулярного ендоплазматичного ретикулуму; 5 – комплекс Гольджі; 6 – секреторні гранули.

У нейроплазмі щільно влаштовані каналні гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР) з невеликим просвітом, де простежується значна кількість рибосом та полісом, а також невелике число рівномірно розподілених гранул. Нейроплазма займає невеликий об'єм.

Спостерігаються різних розмірів секреторні гранули, що формуються біля комплексу Гольджі. Енергетичні «станції клітини» – мітохондрії невеликих розмірів, містять небагато крист, зі щільним матриксом. Помітно, що окремі мітохондрії перебувають в енергетично напруженому стані, здатні гіпертрофуватися та частково втрачати кристи або навіть і гинути. Однак, слід відмітити, подібний процес є фізіологічним і в нормі має циклічний перебіг. Нейроплазма нейросекреторних клітин містить незначну кількість гормональних гранул, розсіяних у цитоплазмі. Така ультраструктурна організація нейросекреторних клітин свідчить про їх невисоку функціональну активність у досліджуваному часовому проміжку (див. рис. 5.14).

Дослідженням субмікроскопічної будови НЯ гіпоталамуса за стандартних умов освітлення о 02.00 год встановлено, що нейросекреторним клітинам притаманні ядра з нерівною каріолемою, глибокими впинаннями. Такі інвагінації ядерної оболонки, у свою чергу, збільшують площу взаємодії ядра і цитоплазми (рис. 5.15).

При дослідженні комплексу Гольджі помітно, що диктіосоми розташовуються перинуклеарно, невеликих розмірів, їх цистерни неширокі, в них формуються нейрогормональні гранули. При огляді на невеликому збільшенні електронного мікроскопа в окремих полях зору простежується, що невеликі осміофільні нейросекреторні гранули зосереджуються навколо комплексу Гольджі, а також в аксоні, що відходить від цієї клітини (рис. 5.15). Описана субмікроскопічна архітектоніка свідчить про активний функціональний стан великоклітинних НЯ гіпоталамуса під час нічного етапу експерименту.

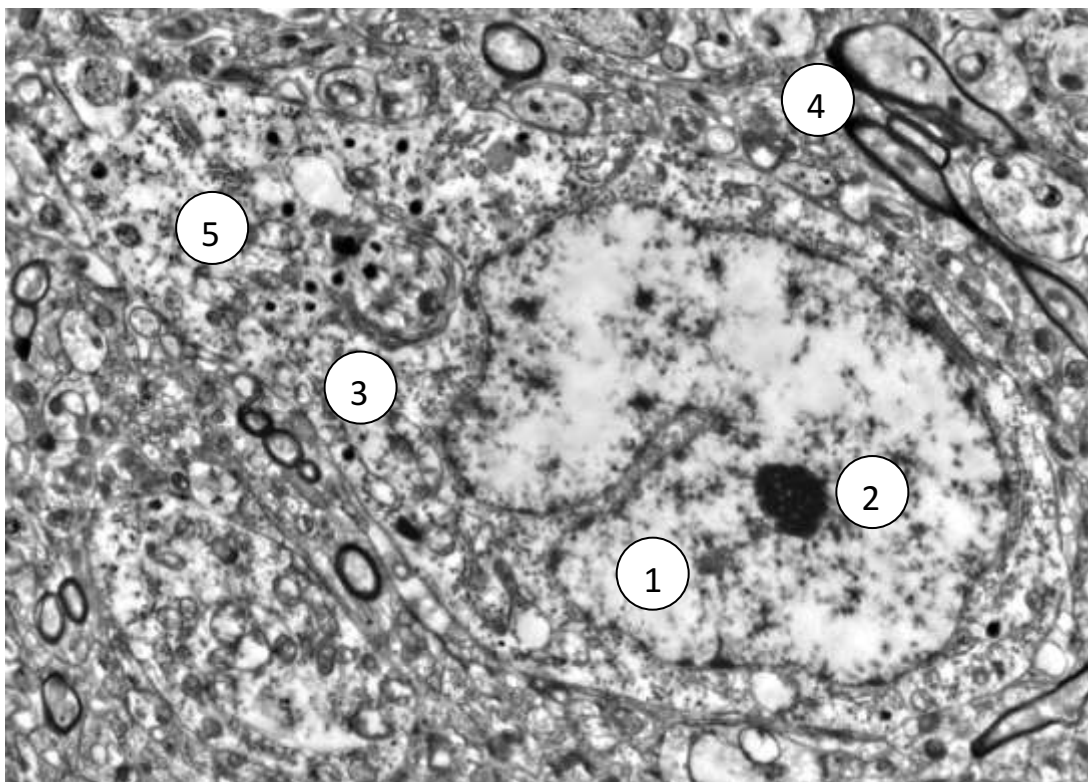


Рис. 5.15. Ультраструктурна організація нейросекреторної клітини НЯ гіпоталамуса старого щура о 02.00 год за стандартного освітлення. Електронна мікрофотографія. Зб. 12 000^x.

Примітки: 1 – неправильної форми електронноосвітлене ядро з інвагінаціями; 2 – велике ядерце; 3 – нейроплазма; 4 – секреторні гранули, зосереджені біля комплексу Гольджі; 5 – мітохондрії.

Електронно-мікроскопічні дослідження НЯ гіпоталамуса старих щурів при постійному освітленні показали, що о 14.00 год нейросекреторні клітини мають ядра з добре вираженими осміофільними ядерцями у каріоплазмі (рис. 5.16).

Контури каріолеми чітко інвагіновані, добре виражені ядерні пори, що збільшує площу поверхні і свідчить про більшу активність ядра клітини. Виявлено багато рибосом та гранул рибосомального типу біля каріолеми, які мігрують і виходять у цитоплазму. У такій клітині мітохондрії активно беруть участь у синтетичних процесах, тому можуть бути локально або тотально просвітлені (їх матрикс більш світлий ніж у інтактних), можуть втрачати кристи.

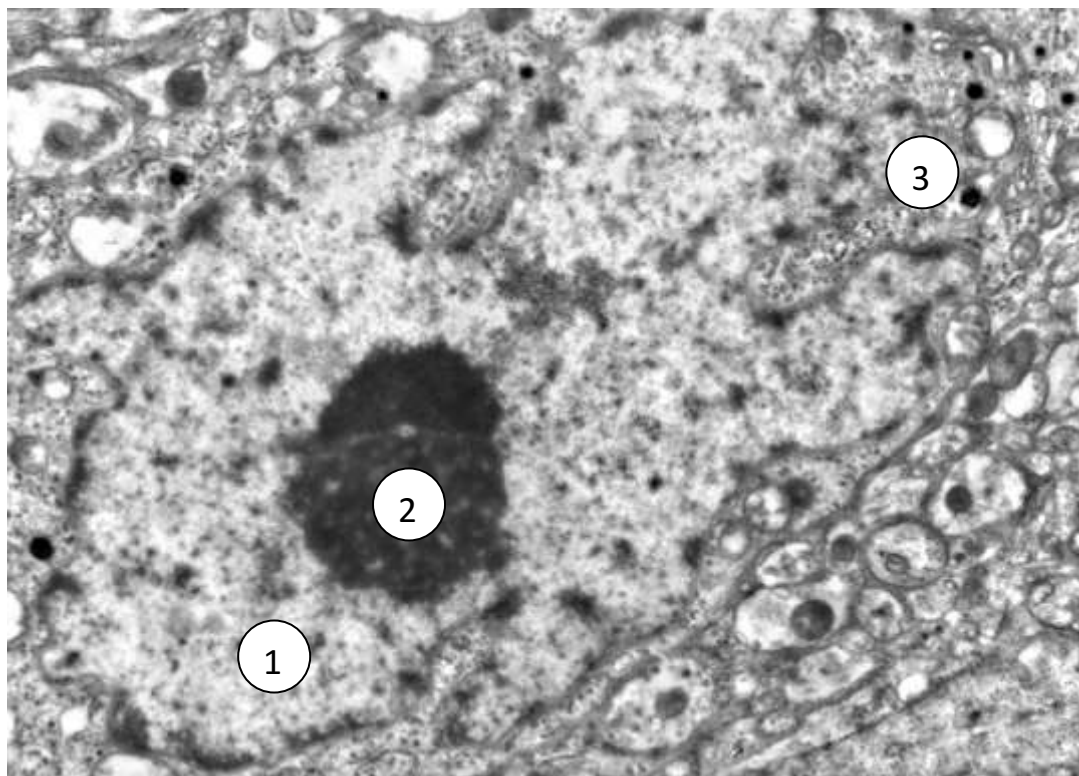


Рис. 5.16. Ультраструктура НСК НЯ гіпоталамуса старого щура о 14.00 год при цілодобовому освітленні. Електронна мікрофотографія. 36. 14 000^x.

Примітки: 1 – ядро нейроцита, 2 – велике осміюфільне ядерце, 3 – рибосоми з гранулами.

У клітині відбувається нагромадження гранул з подальшим їх виведенням. Наявні гормональні гранули, особливо біля комплексу Гольджі. За умов тривалої світлової стимуляції о 02.00 год субмікроскопічно в НЯ гіпоталамуса виявлені НСК, що мають ядра з нерівними контурами, у каріолемі зрідка спостерігаються ядерця (рис. 5.17).

Нейроплазма має підвищену електронну щільність, значно насичена рибосомами, полісомами та секреторними гранулами. Канали гранулярного ЕПР розширені та потовщені, що є проявом активності клітини. Помітний фрагмент комплексу Гольджі з малими гранулами поряд, що ймовірно незадовго синтезувались, і будуть спрямовані до аксональних відростків і накопичені в термінальних їх закінченнях (тільцях Херінга).

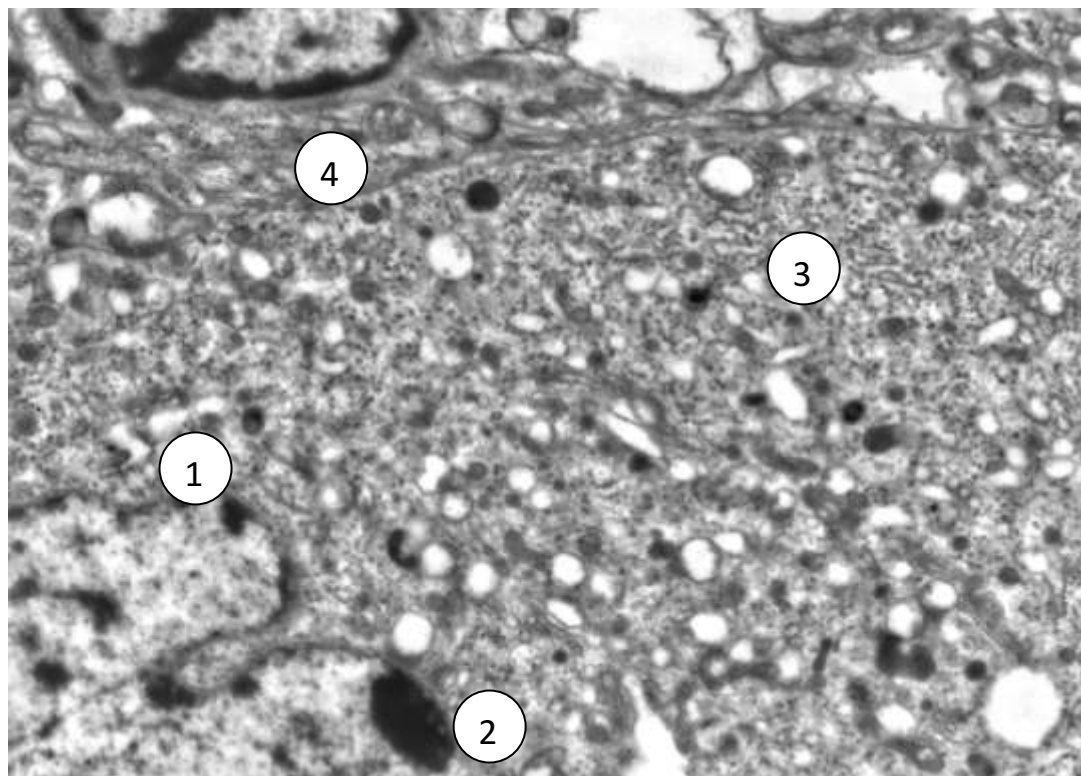


Рис. 5.17. Субмікроскопічна організація НСК НЯ гіпоталамуса о 02.00 год за умов світлового стресу. Електронна мікрофотографія. Зб. 16 000^x. Примітки: 1 – невелике ядро; 2 – ядерце; 3 – каналці ЕПР; 4 – нейро-секреторні гранули.

Такий ультраструктурний стан свідчить про подібність, порівняно з денним дослідженням, цієї серії та незначним зростанням щодо інтактної групи старих тварин, дослідження яким проводили о 02.00 год.

Отже, встановлені електронно-мікроскопічні перебудови нейронів досліджуваної ділянки гіпоталамуса можна розглядати як прояв зростання нейросекреторної активності, збільшення продукції нейросекрета нейронами НЯ гіпоталамуса. Ймовірно, що саме дисбаланс продукції біологічно активних речовин НСК НЯ гіпоталамуса старих щурів, зумовлений світловим стресом, призвів до виявлених змін на ультраструктурному рівні.

5.4. Ультраструктурна організація нейросекреторних клітин за умов світлового стресу та введення мелатоніну

Вивченням субмікроскопічної структури НЯ гіпоталамуса старих щурів, які отримували екзогенний МТ за умов тривалої тижневої експозиції о 14.00 год встановлено світлі НСК, які містили велике ядро, з пікнотичними змінами. Спостерігали інвагінації каріолеми (рис. 5.18). Також встановлено домінування еухроматину в ядрі. Збоку мітохондрій простежувалися гетерогенні зміни. Помітні збільшені каналці гранулярного ЕПР. Водночас у нейроплазмі спостерігається невелике число рибосом та небагато гормональних гранул.

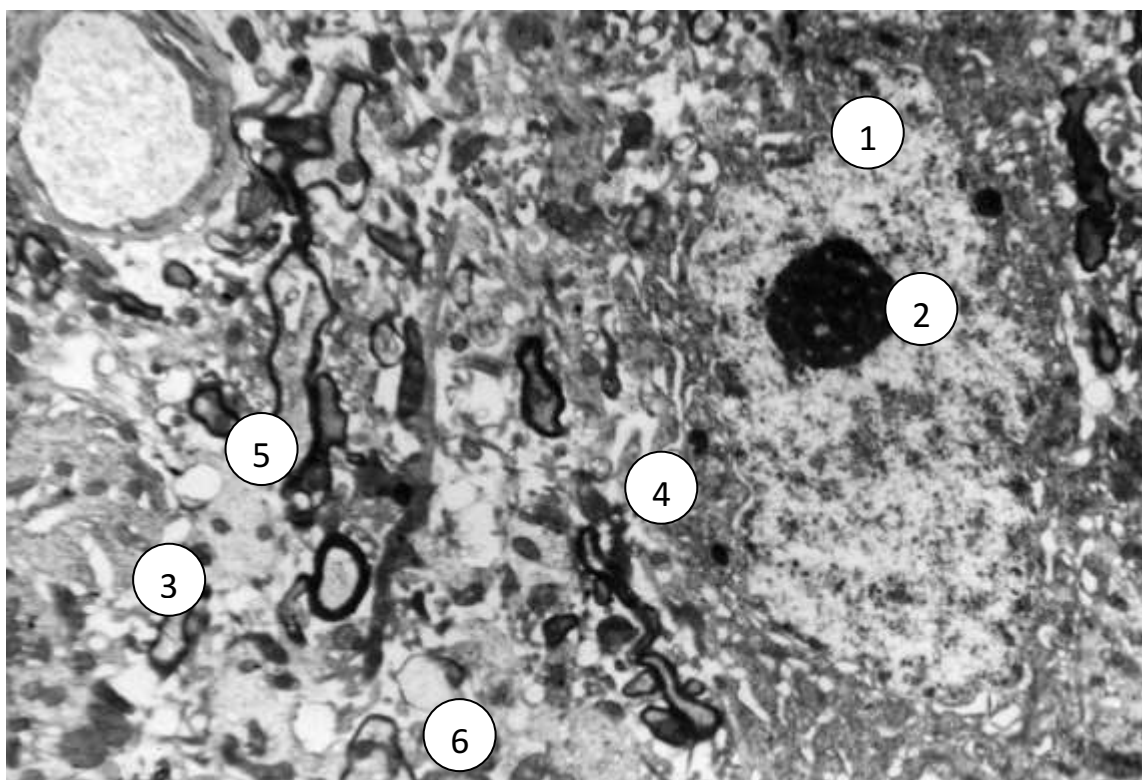


Рис. 5.18. Ультраструктура нейронів НЯ гіпоталамуса старого щура о 14.00 год при введенні МТ на фоні світлового стресу. Електронна мікрофотографія. Зб. 12 000^x.

Примітки: 1 – інвагінація каріолеми; 2 – ядерце; 3 – мітохондрії з пошкодженими кристами; 4 – каналці ЕПР; 5 – фрагмент комплексу Гольджі; 6 – секреторні гранули.

Електронно-мікроскопічні дослідження НСК НЯ гіпоталамуса старих тварин, яким вводили екзогенний МТ у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини за умов тривалої світлової експозиції дали можливість о 14.00 год виявити НСК темні та світлі, пікнотично змінені. Ці структури містили ядра неправильної форми, помітні маленькі ядерця. Щодо перинуклеарного простору, то він був збільшеним (рис. 5.19).

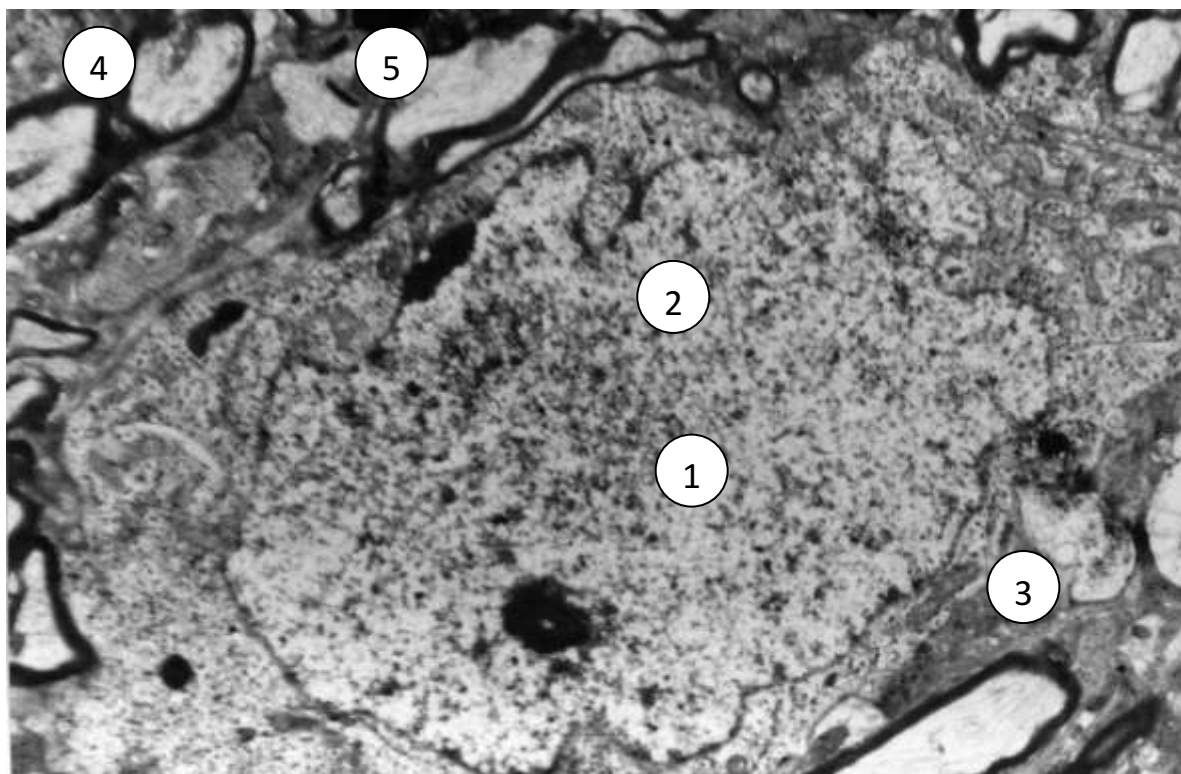


Рис. 5.19. Субмікроскопічна організація НЯ гіпоталамуса старого щура о 14.00 год за умов уведення МТ на фоні світлового стресу. Електронна мікрофотографія. Зб. х 18 000.

Примітки: 1 – ядро; 2 – інвагінації каріолеми; 3 – ЕПР; 4 – збільшені цистерни і каналця комплексу Гольджі; 5 – нейросекреторні гранули.

Необхідно відмітити, що НСК перебуває в «збудженому» стані. Достатньо розвиненим виявлено фрагмент гранулярного ЕПР. Також візуалізується невелике число немембранних органел – рибосом. Цистерни і каналці комплексу Гольджі збільшені в об'ємі, частково розширені і потовщені. Розміри гормональні гранул незначні, їх кількість мала, що можна

аргументувати як сповільнення їх синтезу чи реалізації. Така отримана картина демонструє напружений функціональний стан досліджуваного об'єкта.

Узагальнюючи матеріал розділу 5 необхідно констатувати, що тривалість фотоперіоду істотніше впливає на мофрометричну та денситометричну структуру нейронів НЯ, ніж суб'єдер ПШЯ гіпоталамуса старих щурів. Постійний світловий режим десинхронізує морфо-функціональну активність нейронів НЯ гіпоталамуса, змінює концентрацію РНК в їх ядрі, ядерці та цитоплазмі.

Уведення МТ старим тваринам, що перебували за умов постійного освітлення нормалізувало показники площі нейронів НЯ і концентрацію у них РНК. Водночас, МТ не корегував ритм активності нейронів НЯ, який залишався таким, як і при тривалому фотоперіоді та інверсним щодо старих тварин, які перебували за звичайного світлового режиму. Рівень концентрації РНК у нейронах НЯ гіпоталамуса о 02.00 год не зазнає вірогідних змін у групах порівняння, що, ймовірно, свідчить про залучення додаткових ендогенних механізмів, спрямованих на збереження функціональної активності нейронів у вказаний період, коли в нормі в організмі продукується найбільше МТ.

Електронно-мікроскопічні показники досліджуваних нейронів гіпоталамуса старих щурів за умов стандартного світлового режиму характеризувалися збільшеною активністю клітин в нічний проміжок часу порівняно з денним періодом. Утримування старих тварин за умов світлового стресу викликає більш виражені зміни морфо-функціонального стану нейронів НЯ гіпоталамуса, ніж за умов світлової депривації, зокрема це чітко простежувалося о 02.00 год.

Уведення екзогенного МТ у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини старим тваринам, що перебували за умов тривалого освітлення впродовж семи діб призвело до відносного покращання ультрацитоархітектонічного стану нейронів НЯ гіпоталамуса старих тварин, свідченням чому є поява

нейросекреторних гранул. Однак ультраструктура інших органел досліджуваного нейрона вказує на напружений стан, зумовлений тривалою світловою експозицією.

Матеріали розділу опубліковані в наступних працях:

1. Bulyk RY, Smetanyuk OV, Vlasova KV, Kryvchanska MI, Yosypenko VR, et al. Morphohistochemical alterations of neurons of the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus at different durations of the photoperiod and melatonin administration. Journal of medicine and life. 2021; (*індексується в Scopus*).
2. Сметанюк ОВ, Булик РЄ, Власова КВ, Волошин ВЛ. Морфо-функціональна активність нейронів надзорових ядер гіпоталамуса щурів під дією стресу. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2019;18(3):121-6. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-0847.18.3.2019.23>
3. Сметанюк ОВ, Булик РЄ, Булик ТС, Кривчанська МІ. Вплив світлової депривації на морфо-функціональний стан нейронів надзорових ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2020;19(4):61-7. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.4.74.2020.9>
4. Булик РЄ, Федонюк ЛЯ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Стрес-індуковані зміни морфо-функціонального стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2020;4:43-9. doi: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2020.v.i4.11756>
5. Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Вплив мелатоніну на стрес-зумовлені ультраструктурні перебудови нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Буковинський медичний вісник. 2021;25(3):25-32.
6. Bulyk RYe, Smetaniuk OV, Bulyk TS, Kryvchanska MI. Morphometric analysis of supraoptic neurons of the rat hypothalamic nuclei under conditions of prolonged illumination. J Educ Health Sport. 2021;11(10):215-20. doi: <https://doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.019>
7. Сметанюк О.В. Характер змін активності великоклітинних ядер гіпоталамуса щурів за модифікації фотоперіоду. Клінічна та

<https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.4.78.2021.0>

8. Сметанюк ОВ. Ультраструктурний стан нейросекреторних клітин супраоптичних ядер гіпоталамуса щурів за модифікацій фотоперіоду. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 101-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2020 Лют 10, 12, 17; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2020, с. 66.
9. Сметанюк ОВ. Добові варіації морфо-функціональної активності надзорних ядер гіпоталамуса щурів. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 102-ї підсумкової наук.-практ. конф. з міжнар. участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету; 2021 Лют 08, 10, 15; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2021, с. 69.
10. Власова КВ, Волков КС, Булик РЄ, Сметанюк ОВ. Ультраструктурні зміни нейронів надзорного ядра гіпоталамуса щурів при постійному освітленні. В: Небесна ЗМ, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень; 2019 Жов 10-11; Тернопіль. Тернопіль; 2019, с. 20-2.
11. Власова КВ, Булик РЄ, Сметанюк ОВ. Варіації цитометричних показників надзорних ядер гіпоталамуса за різної тривалості. В: Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології; 2019 Жов 17-18; Яремче; Яремче; 2019, с. 18-9.
12. Bulyk RYe, Vlasova KV, Smetaniuk OV. The hypothalamic supraoptic nuclei reaction on stress. В: Бойчук ТМ, Цигикало ОВ, Олійник ІЮ, редактори. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині; 2019 Жов 24-25; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2019, с. 45.

- 13.Сметанюк ОВ, Булик РЄ. Аналіз морфо-функціонального статусу надзорних ядер гіпоталамуса щурів у різні періоди доби. В: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Медичні та фармацевтичні науки: аналіз сучасності та прогноз майбутнього; 2020 Лис 13-14; Дніпро. Дніпро: Salitem; 2020, с. 26-9.
- 14.Булик РЄ, Власова КВ, Сметанюк ОВ. Морфо-функціональні особливості змін нейронів надзорних ядер гіпоталамуса щурів під дією світлової депривації. В: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики; 2020 Гру 25-26; Львів. Львів: Львівська медична спільнота; 2020, с. 77-80.
- 15.Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Вплив мелатоніну на ультраструктурну організацію нейронів надзорного ядра гіпоталамуса щурів при стресі. В: Матеріали VII Національного конгресу геронтологів і гериатрів України; 2021 Жов 6-8; Київ. Київ; 2021, с. 14.
- 16.Власова КВ, Волошин ВЛ, Сметанюк ОВ. Варіації цитометричних показників надзорних ядер гіпоталамуса щурів за постійного освітлення. В: Матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. Modern Science: Innovations and Prospects; 2021 Гру 5-7; Стокгольм, Швеція : Стокгольм; 2021.
- 17.Vlasova KV, Bulyk RYe, Davydenko IC, Yosypenko VR, Smetaniuk OV. Diurnal variations of cytometric parameters of hypothalamic supraoptic nucleus neurocytes in rats under stress conditions. In: *Conference proceedings Natural Science Readings*; 2019 May 30-31; Bratislava. Bratislava; 2019, p. 103-4.

РОЗДІЛ 6

**ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ЩІЛЬНОСТІ МЕЛАТОНІНОВИХ
РЕЦЕПТОРІВ У НАДЗОРОВОМУ ЯДРІ ГІПОТАЛАМУСА СТАРИХ
ЩУРІВ ЗА МОДИФІКАЦІЙ ФОТОПЕРІОДУ
ТА УВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ**

Вагомим критерієм залучення НЯ гіпоталамуса у часову організацію фізіологічних функцій є щільність розташування в них МТ-рецепторів. Спостереженнями, проведеними за стандартного світлового режиму у різні періоди доби, у нейронах НЯ гіпоталамуса встановлено чітке позитивне імуногістохімічне забарвлення у вигляді гранул різних розмірів та щільності, які концентруються переважно на периферії кожної клітини, що пояснюється трансмембранним розташуванням МТ-рецепторів 1А типу. Імуногістохімічного забарвлення ядер не визначається – вони фарбувалися виключно гематоксиліном і характеризувалися типовою для нейронів НЯ гіпоталамуса морфологією.

Нами виявлено, що о 02.00 год показник перебував у межах $0,483 \pm 0,0023$ в.о.опт.щільності (рис. 6.1). Водночас, о 14.00 год зменшується кількість позитивно забарвлених нейронів до рівня $0,459 \pm 0,0022$ в.о.опт.щільності у полі зору площею 1600 мкм^2 ($p=0,002$ за критерієм Ньюмена-Кейлса) (табл. 6.1).

Загалом, зменшення кількості нейронів нами не спостерігається, але виявлено зменшення оптичної густини специфічного забарвлення в них МТ-рецепторів до концентрації, яка нижча порогу чутливості застосованої імуногістохімічної методики, що нами розцінено як зменшення щільності МТ-рецепторів (рис. 6.2).

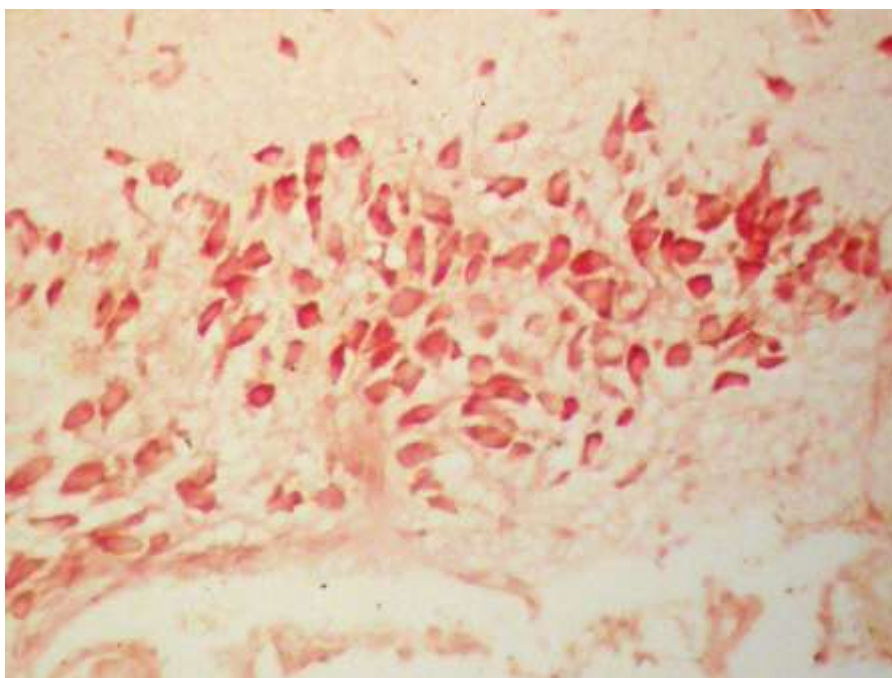


Рис. 6.1. Оптична густина специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура о 02.00 год. Мікрофотографія. 36. Об.40^х, Ок.10^х.

Примітка. На цьому та наступних рисунках розділу зображено імуногістохімічну методику з поліклональними антитілами до МТ-рецепторів 1А та стрептавідинбіотиною системою візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин). Дофарбовування клітинних ядер гематоксилином Майера.

Таблиця 6.1

Добові зміни оптичної густини специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура

Години доби	Оптична густина специфічного забарвлення (в.о.опт.щільності) (n=6)	Величина вірогідності (p) розбіжностей між групами дослідження за критерієм Ньюмена-Кейлса
02.00	0,483±0,0023	p=0,002*
14.00	0,459±0,0022	

Примітки: n – кількість тварин, * – вірогідність різниці порівняно з попереднім часовим інтервалом.

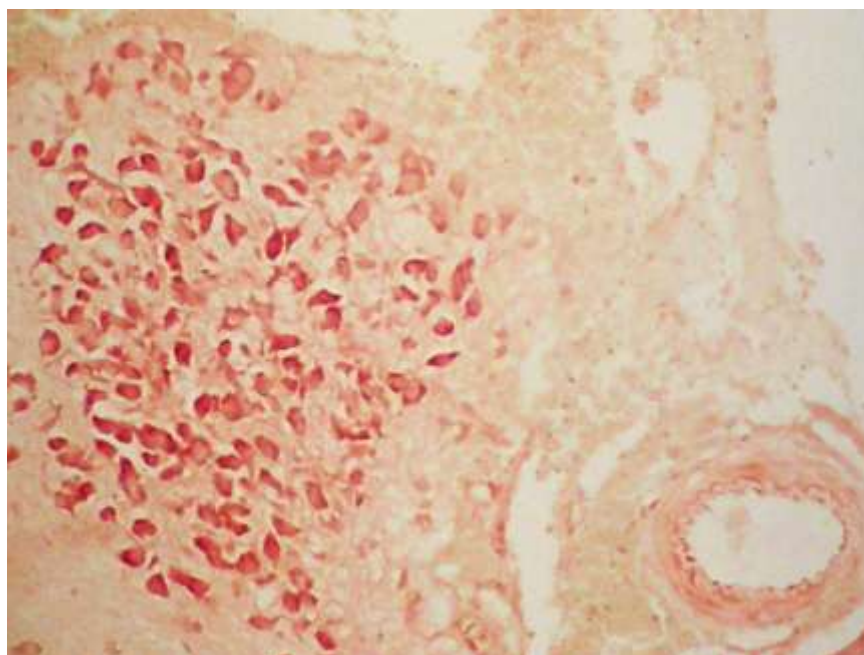


Рис. 6.2. Оптична густина специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура о 14.00 год. Мікрофотографія. Зб. Об.40^x, Ок.10^x.

За умов світлової депривації кількість позитивно забарвлених на МТ-рецептори 1А нейронів НЯ у полі зору площею 1600 мкм² становила: о 02.00 год – $0,499 \pm 0,0025$ в.о.опт.щільності (рис. 6.3). Порівняно з величиною у зразках, відібраних на дослідження о 14.00 год, істотної різниці не спостерігали. У цей часовий проміжок показник сягав $0,492 \pm 0,0020$ в.о.опт.щільності (рис. 6.4). Розбіжності за критерієм Ньюмена-Кейлса між вказаними групами дослідження невірні (p>0,05).

Однак, має місце зростання даного показника у досліджувані періоди порівняно з тваринами, які перебували за стандартного світлового режиму (табл. 6.2).

Щодо результатів мікроденситометричних досліджень імуногістохімічної оптичної густини специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса у тварин, яким моделювали світловий стрес, то вони вказують на вірогідне зниження значень порівняно з такими в інтактних тварин, хоча впродовж доби коливання показника в середньому не відрізнялися (див. табл. 6.2).

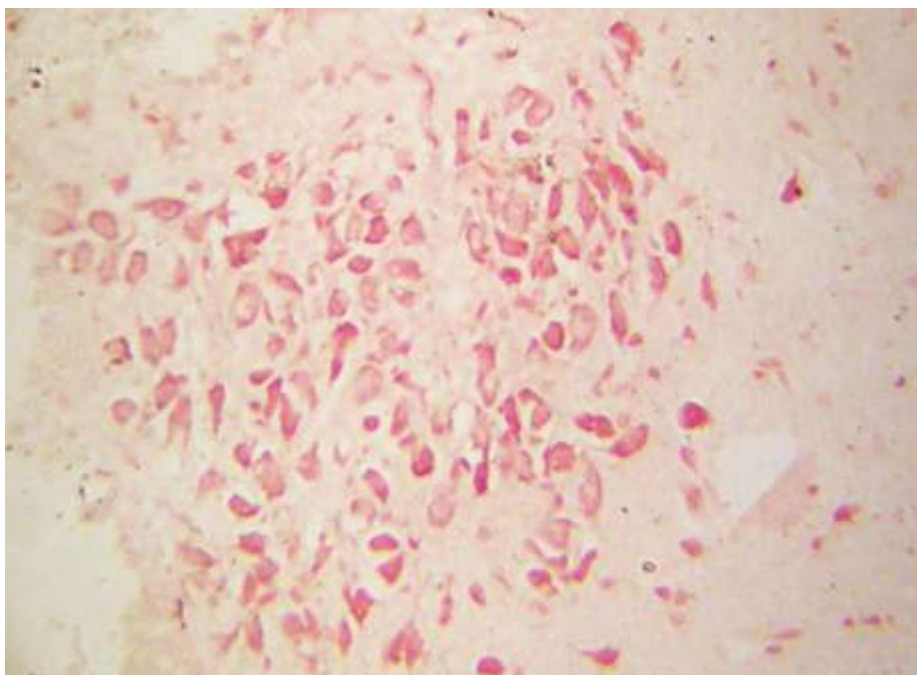


Рис. 6.3. Вплив постійної темряви на оптичну густину специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура о 02.00 год. Мікрофотографія. Зб. Об.40^x, Ок.10^x

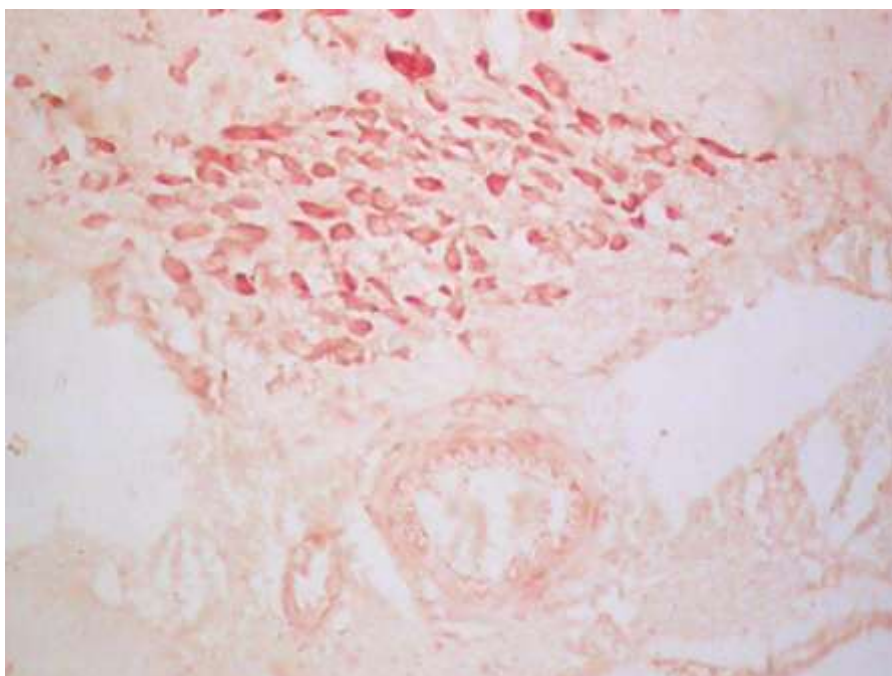


Рис. 6.4. Вплив світлової депривації на оптичну густину специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура о 14.00 год. Мікрофотографія. Зб. Об.40^x, Ок.10^x

Таблиця 6.2

**Оптична густина специфічного забарвлення на мелатонінові рецептори
1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старих щурів за умов модифікації
фотоперіоду ($\bar{x} \pm S_x$)**

Години доби	Оптична густина специфічного забарвлення (в.о.опт.щільності)		
	Інтактні (n=6)	Світлова депривація (n=6)	Світловий стрес (n=6)
02.00	0,483±0,0023	0,499±0,0025	0,214±0,0016
14.00	0,459±0,0022*	0,492±0,0020*	0,212±0,0020

Примітки: n – кількість тварин, * – вірогідність різниці ($p < 0,05$) порівняно з попереднім часовим інтервалом у межах групи.

Визначення показника о 02.00 год у тварин, що перебували за умов постійного освітлення, що він становить $0,214 \pm 0,0016$ в.о.опт. щільності (рис. 6.5).

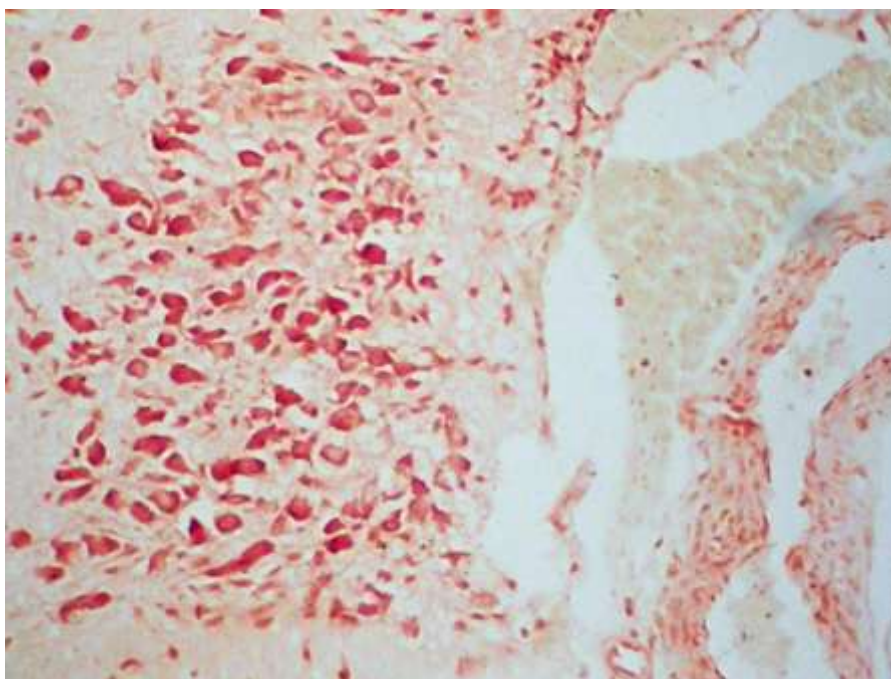


Рис. 6.5. Вплив постійного освітлення на оптичну густину специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура о 02.00 год. Мікрофотографія. 3б. Об.40^x, Ок.10^x

Аналізуючи отриманий показник з таким у зразках, відібраних на дослідження о 14.00 год нами вірогідної різниці не встановлено. У цей часовий проміжок оптична густина специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса перебувала у межах $0,212 \pm 0,0020$ о.о.щ. (рис. 6.6). Слід відмітити, що перебування старих щурів за умов тривалого постійного освітлення істотно знижує досліджуваний показник як о 14.00, так і 02.00 год порівняно з контрольними величинами (табл. 6.2).

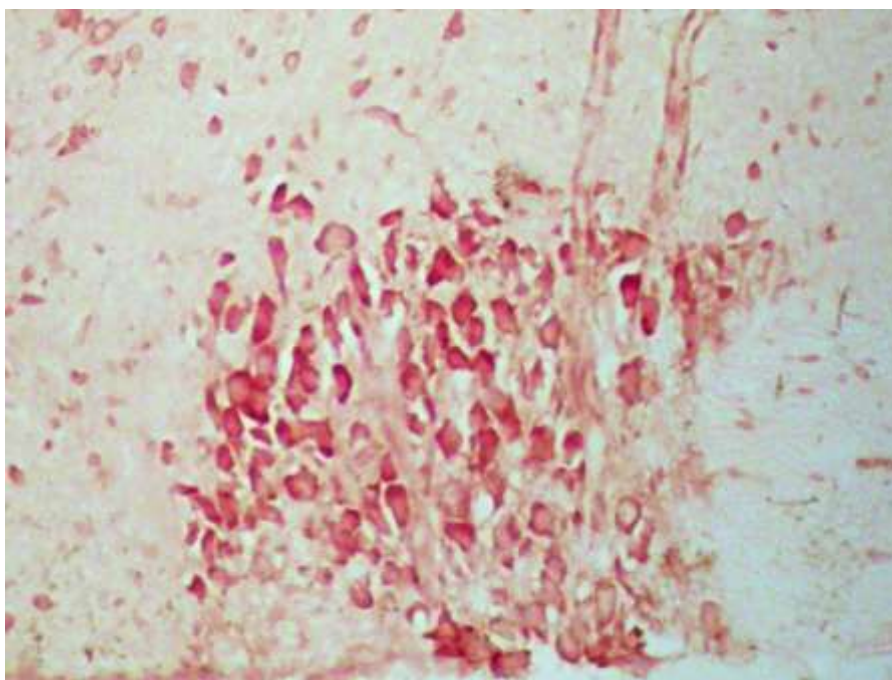


Рис. 6.6. Вплив постійного освітлення на оптичну густина специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура о 14.00 год. Мікрофотографія. 3б. Об.40^x, Ок.10^x

Відмінність в оптичній густині специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А за умов модифікації фотоперіоду (різної функціональної активності ШЗ щодо синтезу МТ) продемонстровано на рисунках розділу (див. рис. 6.3 – рис. 6.6).

Таким чином, якщо оптична густина специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старих щурів за умов стандартного освітлення характеризувалася чіткими добовими коливаннями,

то тривале освітлення і постійна темрява призвели до вираженого їх порушення. При світловому стресі оптична густина специфічного забарвлення досліджуваних структур вірогідно менша, ніж при світловій депривації. Крім того, максимальна кількість МТ-рецепторів у нейронах НЯ гіпоталамуса встановлена при постійній темряві о 02.00 год і становила $0,499 \pm 0,0025$ в.о.опт. щільності, а мінімальний показник – при світловому стресі о 14.00 год (табл. 6.2).

Препаратом, який використовували для корекції змін, викликаних тривалим перебуванням старих щурів за умов постійного освітлення, при визначенні оптичної густини специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса обрано МТ (Sigma, USA) у дозі 1,0 мкг/кг маси тіла тварини (див. рис. 6.7).

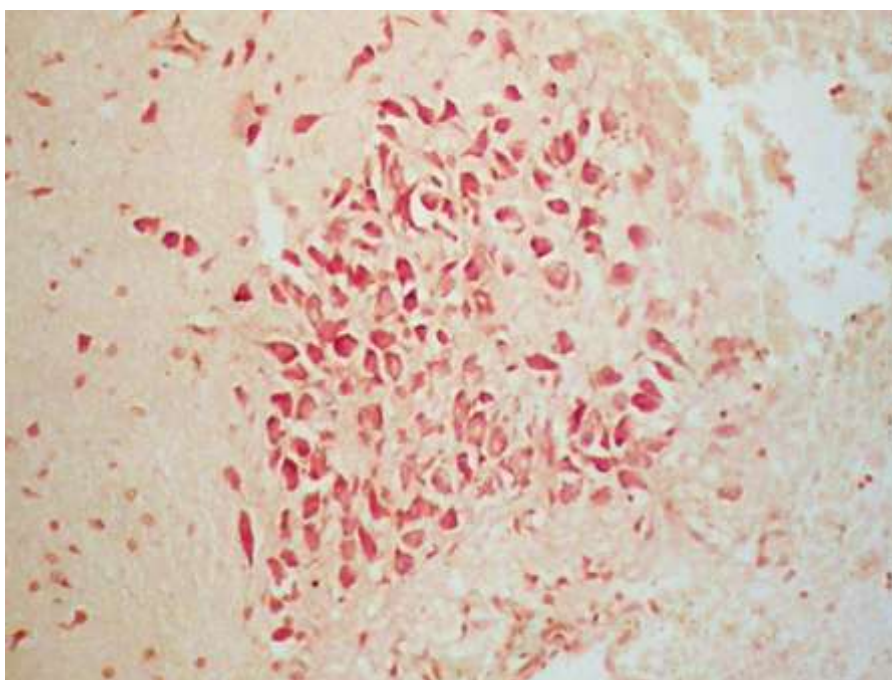


Рис. 6.7. Вплив МТ на оптичну густина специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура о 02.00 год. Мікрофотографія. Зб. Об.40^x, Ок.10^x

Ін'єкції МТ за умов постійного освітлення спричинили о 02.00 год зростання оптичної густини специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старих щурів порівняно з тваринами, які

знаходилися за умов постійного освітлення і без уведення препарату (див. рис. 6.7).

Імуногістохімічними дослідженнями о 14.00 год при уведенні препарату спостерігали вірогідне зменшення оптичної густини специфічного забарвлення досліджуваних структур до $0,321 \pm 0,0026$ в.о.опт. щільності у полі зору площею 1600 мкм^2 порівняно з такою о 02.00 год ($p < 0,001$ за критерієм Ньюмена-Кейлса) (рис. 6.8). Зокрема, кількість позитивно забарвлених на МТ-рецептори 1А нейронів НЯ була вищою у досліджуваних періодах доби щодо до такої у тварин, яким не вводили МТ на фоні світлового стресу (див. табл. 6.2).

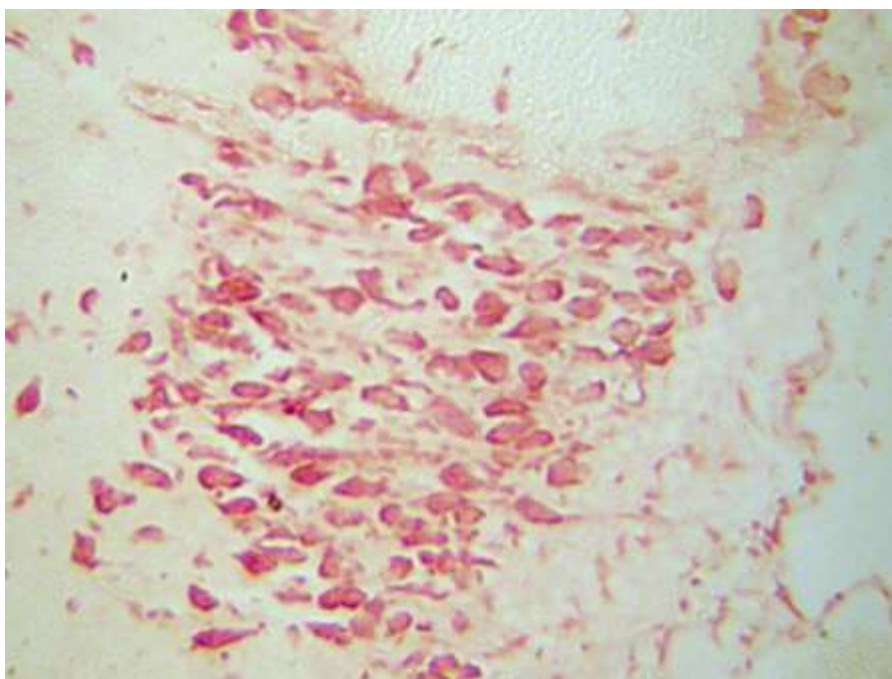


Рис. 6.8. Вплив МТ на оптичну густину специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старого щура о 14.00 год. Мікрофотографія. 3б. Об.40^x, Ок.10^x

Якщо в інтактній групі тварин число позитивно забарвлених на МТ-рецептори 1А нейронів НЯ у полі зору площею 1600 мкм^2 становило у нічний період (02.00 год) $0,483 \pm 0,0023$ в.о.опт. щільності, а в денний (14.00 год) –

0,464±0,0023 в.о.опт. щільності, то при застосуванні МТ на фоні тривалого освітлення кількість досліджуваних нейронів складає о 02.00 год – 0,412±0,0025 у. о. опт. щільності та о 14.00 год – 0,324±0,0027 у. о. опт. щільності відповідно (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Ефекти мелатоніну на оптичну густина специфічного забарвлення на мелатонінові рецептори 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старих щурів на фоні світлового стресу ($\bar{x} \pm S_x$)

Години доби	Оптична густина специфічного забарвлення (у. о. опт. щільності)		
	Інтактні (n=6)	Світловий стрес (n=6)	Світлова стрес + мелатонін (n=6)
02.00	0,483±0,0023	0,214±0,0016	0,408±0,0024
14.00	0,459±0,0022*	0,212±0,0020	0,321±0,0026*

Примітки: n – кількість тварин, * – вірогідність різниці ($p<0,05$) порівняно з попереднім часовим інтервалом у межах групи.

За критерієм Ньюмена-Кейлса між групами, зразки яких забирали для дослідження вдень, розбіжність вірогідна ($p<0,05$).

Отже, спираючись на матеріал розділу 6 можна стверджувати, що оптична густина специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса старих щурів підпорядкована циркадіанній організації. Найвищий рівень оптичної густини специфічного забарвлення спостерігається о 02.00 год, а о 14.00 год вона знижується. Модифікація фотоперіоду призвела до вираженого порушення добових коливань досліджуваної оптичної густини специфічного забарвлення. При постійному освітленні оптична густина специфічного забарвлення досліджуваних структур вірогідно менша, ніж при світловій депривації. Крім того, імуногістохімічне дослідження показало, що за умов світлового стресу порушується циркадіанний ритм функціонування МТ-рецепторів у нейронах

НЯ гіпоталамуса, що характеризується невірогідною різницею показників ($p > 0,05$) у досліджувані періоди доби. Водночас, при світловій депривації найбільший показник відзначається о 02.00 год, складаючи $0,499 \pm 0,0025$ в.од.опт. щільності. Тижневе уведення МТ на фоні тривалого освітлення проявляється тенденцією до нормалізації оптичної густини специфічного забарвлення на МТ-рецептори 1А у нейронах НЯ старих щурів, що особливо помітно у зразках, відібраних на дослідження о 02.00 год, коли показник перебував у межах $0,408 \pm 0,0024$ у. о. опт. щільності.

Матеріали розділу опубліковано:

Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Ефекти мелатоніну на щільність мелатонінових рецепторів у надзоровому ядрі гіпоталамуса щурів за умов стресу. Вісник проблем біології і медицини. 2021;3:245-8. doi: [10.29254/2077-4214-2021-3-161-245-248](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-3-161-245-248) [23].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єднуючим і координуючим центром нейроендокринної системи вважається частина проміжного мозку – гіпоталамус, який не тільки проводить нервові імпульси, а й секретує різноманітні фізіологічні речовини [24].

Важливим моментом у проблемі регуляції вегетативних функцій і метаболічних процесів є здатність регуляторних структур гіпоталамуса вже за лічені хвилини після дії стресора, зокрема інтенсивного освітлення, змінювати синтетичну активність низки нейрогормонів, що повинно сприяти узгодженню у формуванні поведінкових реакцій, ендокринних і вегетативних функцій організму, у тому числі стосовно різних фаз добового ритму [17].

Доведено, що при утримуванні щурів за умов звичайного світлового режиму (світло/темрява по 12 год) рівень МТ набував максимальних значень вночі (127,0 пг/мл), водночас тривале перебування тварин за умов постійного освітлення (24 год світло/ 0 год темрява) призвело до різкого зниження рівня гормону (7,4 пг/мл) [6].

У людей, як і у тварин, зміни фотоперіоду зумовлюють зміни тривалості нічного синтезу МТ, що, у свою чергу, перебудовує ендогенні ритми організму відповідно до змін навколишнього середовища, також тісно пов'язаними з тривалістю фотоперіода, як і нічна продукція МТ. Незважаючи на певні успіхи, нез'ясованими залишаються питання стосовно розкриття механізмів формування стрес-реакції і стресорних пошкоджень організму, пов'язаних з дисфункцією ШЗ. Не досліджено морфометричний та функціональний стан кортикотропін-релізінг-синтезуючих пдсПШЯ та ВП-продукуючих звсПШЯ гіпоталамуса за різної функціональної активності ШЗ.

З метою з'ясування значення фотоперіоду у функціонуванні вегетативного центру координації функцій – ПШЯ гіпоталамуса, ми виконали морфометричне спостереження за вказаними ядрами за стандартного режиму освітлення, тривалого освітлення та постійної темряви.

Функціонування пдсПШЯ гіпоталамуса щурів відзначається циркадіанною ритмічністю з підвищенням у денний, та зниженням у нічний проміжки спостереження. Свідченням цьому є вірогідно менша площа нейрона за рахунок зменшення площі ядра та цитоплазми, знижена концентрація РНК у цитоплазмі на тлі підвищення ЯЦС щодо денних показників. Аналіз даних етапу експерименту, проведеного вночі, у тварин, які перебували за умов світлової депривації доводить десинхроноз активності нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса та зсув найбільших величин площі структур нейрона з 14.00 на 02.00 год. Однак зменшення концентрації РНК в ядрі, ядерці та цитоплазмі нейротрансдуктора можна аргументувати присутністю в цьому періоді доби великої кількості у крові епіфізарного хронобіотика – МТ, який в якості стрес-лімітуючого чинника пригнічує синтез кортикотропін-рилізінг гормону пдсПШЯ гіпоталамуса щурів.

Не зважаючи на те, що постійне інтенсивне освітлення є вагомим стресором і пусковим фактором розвитку десинхронозу, у даному випадку це мало торкається суб'ядер пдсПШЯ гіпоталамуса. Одержані дані дозволяють припустити широкі межі пластичності досліджуваних НСК пдсПШЯ при утримуванні тварин за умов постійного освітлення впродовж тижня. Такої думки ми дійшли на основі відсутності вираженого підсилення функціональної активності суб'ядер та вірогідних відмінностей площі тіл нейронів, їх ядер, ядерця, цитоплазми у тварин, які знаходилися за світлових режимів 12.00С:12.00Т та 24.00С:00Т.

Аналізуючи показники денного і нічного спостереження при застосуванні МТ за умов світлового стресу варто звернути увагу на окремі коливання в параметрах функціонального стану нейронів пдсПШЯ гіпоталамуса. Зокрема, о 14.00 год у тварин площа нейрона збільшилася внаслідок домінуючого зростання площі ядра та цитоплазми. Якщо при нічному дослідженні відзначали вірогідне зменшення площі ядерця, то о 14.00 год площа ядерця була більшою щодо тварин, які перебували за умов 24.00С:00Т без уведення МТ.

Узагальнюючи отримані результати спостережень, проведених о 14.00 та 02.00 год слід зауважити, що уведення МТ за умов постійного освітлення вірогідно не змінювало циркадіанного ритму морфо-функціональної активності нейроендокринних трансдукторів – пдсПШЯ гіпоталамуса, який був подібним до такого у тварин, що перебували за умов режиму освітлення 12.00С:12.00Т та 24.00С:00Т.

Таку картину можна аргументувати тим, що стресорний вплив у світловий період доби супроводжується підвищенням рівня МТ у крові. Це, у свою чергу, забезпечує корегувальне пригнічення гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи з метою приведення гормонального статусу у відповідність до сили стресорного ефекту і розглядається як один з чинників стрес-лімітуючого механізму, що активується у відповідь на мобілізацію стрес-реалізуючої системи.

Поміж великоклітинних суб'єдер ПШЯ гіпоталамуса за об'єкт вивчення обрали саме заднє великоклітинне суб'ядро, що поділяють на присереднє суб'ядро, яке вміщує переважно окситоцин-синтезуючі нейрони, і задньолатеральне суб'ядро, яке вміщує ВП-синтезуючі нейрони. Беручи до уваги компактність розміщення наведених суб'єдер та той факт, що нейропептиди, які синтезуються цими суб'ядрами, беруть участь у реалізації нейроендокринної відповіді на зміну світлового режиму, у наших експериментах задньобічне великоклітинне суб'ядро позиціонували як єдину структуру.

На основі дослідження встановлено, що у тварин, які перебували за умов 12.00С:12.00Т спостерігається добова ритмічність морфо-функціональної активності суб'єдер звсПШЯ з найбільшими величинами о 14.00 год.

Утримування щурів за умов світлової депривації призводить до десинхронозу функціональної активності звсПШЯ гіпоталамуса та інверсії найбільших показників з денних на нічні години, що на нашу думку, можна вважати як вплив МТ, який у якості стрес-лімітуючого фактора гальмує синтез ВП нейронами звсПШЯ гіпоталамуса щурів-самців.

Морфо- та денситометричними вимірюваннями показників, що вказують на циркадіанні варіації та функціональну активність суб'єдер звсПШЯ у тварин, які зазнали світлового стресу виявлено згладженість відмінності між показниками о 14.00 та 02. 00 год. Не зважаючи на те, що при тривалому світловому режимі 24.00С:00Т о 14.00 год вірогідних різниць відносно контрольних значень не встановлено, о 02.00 год площа складових звсПШЯ гіпоталамуса була вірогідно вищою. Така картина дозволяє стверджувати, що світловий стрес призводить до десинхронозу з проявами змін морфометричних параметрів досліджуваних нейротрансдукторів ПШЯ гіпоталамуса реактивного характеру.

Застосування МТ (у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини) за світлового режиму 12.00С:12.00Т о 14.00 год викликає активацію синтетичних процесів у звсПШЯ гіпоталамуса та зростання площі його ядерця. Уведення МТ спричинило зменшення площі нейрона о 02.00 год, яке поєднувалося зі зниженням площі ядра та ядерця (з відповідними кореляційними коефіцієнтами) досліджуваного нейрона. Величини концентрації РНК в ядрі, ядерці та цитоплазмі нейрона, зменшення ЯЦС свідчили на користь пригнічення МТ нейрональних синтетичних процесів при спостереженнях, проведених уночі.

З метою корекції порушень, викликаних тривалим перебуванням щурів за умов світлового стресу, застосований МТ (у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини). Після введення гормону спостерігали тенденцію до нормалізації змін добового ритму морфо-функціональної активності нейротрансдукторів звсПШЯ гіпоталамуса, викликаних світловим стресом. Аналізуючи морфометричні параметри з величинами в щурів, що зазнали світлового стресу о 14.00 год встановлено вірогідне зростання площі тіла нейрона звсПШЯ гіпоталамуса на 12,2 %. Такий характер змін площі НСК зумовлений збільшенням площі ядра внаслідок зростання площі його ядерця на 19,4 % на тлі вірогідного зменшення питомого об'єму цитоплазми з одночасним зростанням питомого об'єму ядра структури. О 02.00 год площа тіла досліджуваного нейрона складає $86,80 \pm 1,584 \text{ мкм}^2$ і була нижчою від такої в

попередній проміжок спостереження. Зазнавала зниження і концентрація РНК в ядрі, ядерці та цитоплазмі. Проведенням кореляційного аналізу встановлено пряму залежність площі тіла нейрона від площі його ядра.

Оскільки більш виражені мофологічно-функціональні зміни нами виявлені при дослідженні нейронів НЯ гіпоталамуса старих щурів, ці структури надалі ми піддали детальному аналізу, оскільки вони є однією з найчутливіших мозкових структур, що сприймають і регулюють зміни стану внутрішнього середовища. Великоклітинні нейрони НЯ, в якості гуморального ефекторного елемента, є складовою фотоперіодичної системи. У гіпоталамо-гіпофізарній нейросекреторній системі ці НСК регулюють водно-сольовий обмін, осмотичний гомеостаз та сприймають сигнали від ноцирецепторів.

Водночас, аналізуючи дані анатомо-гістологічних джерел, мозкова організація цього ядра, ймовірно, може бути регульована, сприймаючи сигнали про інформацію зовнішнього середовища, від центрального водія ритму – НПЯ гіпоталамуса. Ритмоорганізуюча функція НПЯ модулюється ззовні датчиками часу, головний з яких – світло. Зворотню інформацію про часову організацію внутрішнього середовища організму НПЯ гіпоталамуса отримують через рецептори різноманітних гормонів.

Гормон ШЗ – МТ є хімічним сигналом темряви, універсальним ендogenousним адаптогеном, що підтримує баланс організму на певному рівні. За фізіологічного функціонування ШЗ, МТ циркулює в нічний час і кодує інформаційний сигнал часу та тривалості доби від НПЯ гіпоталамуса. Зворотній контроль ШЗ за діяльністю НПЯ реалізується через МТ- рецептори за рахунок зміни функцій часових генів [8, 29, 37, 139, 276, 300].

Як наслідок – складноорганізовані живі системи мають можливість підлаштовуватись до мінливих умов середовища [43].

НЯ гіпоталамуса щурів утворені компактним скупченням нейроцитів, що містять нейросекреторний матеріал локалізованих переважно у навколоядерній зоні, дрібні та середніх розмірів гранули в усьому об'ємі цитоплазми, цілком заповнені нейросекретом або пусті. Аналіз отриманих

морфо-функціональних даних свідчить про пряму пошкоджуючу дію пестицидів на нейроцити великоклітинних ядер гіпоталамуса та про їх істотний вплив на функціональну активність гіпоталамо-гіпофізарної системи.

У НЯ гіпоталамуса збільшується кількість клітин з пікнотичними ядрами. Одночасно в обох ядрах зростає кількість світлих клітин за рахунок нейроцитів, що мають багато нейросекреторного матеріалу. У нейронах НЯ відбувається спроба компенсувати функцію пошкоджених клітин, шляхом збільшення розмірів ядер нейроцитів та посилення синтезу нейросекреторного матеріалу [36].

У ранні терміни стресового впливу (на моделях іммобілізаційного і емоційно-больового стресів) Смірновим А. В. (2008) виявлено гістологічні та ультраструктурні зміни, які характеризувалися ознаками внутрішньо-клітинного і позаклітинного набряку, найбільш вираженого в астроцитах і НСК і збільшення функціональної активності більшості нейронів. При тривалому стресовому впливі поступово виявляли ознаки виснаження і пошкодження НСК [94].

За умов моделювання стану дегідратації виявляли оборотні гіпертрофічні зміни тіла, підвищення щільності синаптичних контактів [85].

При інфікуванні ран тварин НСК перебували (в пізні терміни спостережень) у стані «депонування» нейросекрета з ознаками дегенерації ультраструктурних компартментів та формуванням значних розмірів терміналей аксонів НСК, тілець Херінга, деякі клітини були з ознаками апоптозу.

При лікуванні терміналі аксонів НСК мали конусоподібну форму та функціонували без затримки екструзії секреторних гранул в гемоциркуляцію [86].

У дослідженнях, пов'язаних з сезонними і статевими особливостями вільно радикальних процесів і функціонального стану ВКЯ гіпоталамуса при хронічній кадмієвій інтоксикації було з'ясовано, що у обох статей нетривале введення токсичної речовини значно послаблює захисні реакції та

фізіологічні процеси, відбувається виснаження резервних джерел організму, як наслідок – організм втрачає велику кількість енергетичних запасів, тому відзначається досить чітка тенденція втрати ваги [41].

Відмічено найбільша функціональна активність ядер і ядерець НСК НЯ гіпоталамуса у інтактних тварин обох статей в осінній період, а зниження до мінімальних показників, при порівнянні всіх сезонів, в НЯ відбувається взимку. Статеві відмінності в активності ядер НЯ гіпоталамуса найбільш інтенсивно проявляються в зимову та літню пори року, при цьому, функціональна активність у самців вища, ніж у самок. Водночас, активність ядерець НЯ гіпоталамуса особливо проявляється взимку і восени, при цьому взимку є вища у самців, восени ж інтенсивніше функціонують ядерця самок [115].

Потанін М. Б. (2008) у своїй роботі класифікував гіпоталамічні структури, залежно від виявлених відмінностей у будові нейронів, складності організації та характеру нейронного оточення, на чотири групи: складноорганізовані «сильні» ядра з потенційно високою стійкістю до пошкодження (надперехресне, аркуатне, супрамамілярне і вентральна частина преамілярного ядра), «сильні» зі зниженою потенційної резистентністю (пришлуночкове і дорсоприсереднє), «слабкі» з високою резистентністю (надзорове і перивентрикулярне ядра) і «слабке» з низькою резистентністю (медіальне преоптичне ядро) [84]. На ультраструктурному рівні зміни в нейронах НЯ гіпоталамуса при стресі полягають, здебільшого, у зростанні числа мітохондрій, структурованості їх крист, зернистості матриксу, числа рибосом і елементів ЕПР. Ці зміни разом з ознаками виснаження секреторних гранул були більш виражені в щурів з високою стрес-реактивністю.

У статевозрілих особин щурів після двотижневого впливу а-токоферолом морфометрично та цитохімічно виявляються достовірні і різноспрямовані зміни функціональної активності НСК НЯ гіпоталамуса: у самців підвищення, а у самок ослаблення. Дисперсійний аналіз вказує на

виражений за силою вплив α -токоферолу на обсяг ядер і ядерцець НСК незалежно від статі тварин [84].

Аналіз спрямованості впливу природного та синтетичного антиоксидантів на нонапептидергічні нейросекреторні ядра гіпоталамуса корелює зі статтю тварин і відрізняється у НСК різних нейроендокринних центрів. Найбільш виражені статеві та сезонні відмінності в реакції НСК НЯ і ПШЯ характерні для дії α -токоферолу [62].

Сукупність даних, отриманих в експериментах *in vivo* та *in vitro* з використанням норадреналіну, дофаміну (ДА) і блокатора синтезу катехоламінів, свідчить про виведення ВП і опосередковано NO.

Як зниження, так і підвищення рівня катехоламінів у мозку призводить до посилення експресії білків апоптозу і nNOS у ВП-ергічних нейронах гіпоталамуса. Основною мішенню NO в регуляції апоптозу є антиапоптозний білок Bcl-2 [47]. Зниження рівня катехоламінів призводить до апоптозу ВП-ергічних нейронів. Активація ВП нейронів внаслідок водної депривації обереігає нейрони від апоптозу, викликаного порушенням катехоламінергічної іннервації.

Фізіологічні впливи, стрес і водна депривація тварин не призводять до руйнування нейронів, незважаючи на збільшення експресії сигнальних білків апоптозу.

Білки апоптозу проявляють модулюючий вплив на функціональну активність ВП- і ДА-ергічних нейронів. Bcl-2 посилює синтез ВП нейронами гіпоталамуса, впливаючи на активність транскрипційного фактора CREB. P53 надає активуючу дію на аксональний транспорт ВП внаслідок взаємодії з кіназами ERK1/2 сигнального каскаду. ERK1/2 сигнальний каскад надає активуючий вплив на експресію ВП нейронами гіпоталамуса, як на рівні синтезу ВП, активуючи транскрипційні фактори Elk1 і CREB, так і на рівні його виведення, беручи участь у регуляції експресії транспортного білка кінезину [77, 111].

За умов моделювання емоційно-больового стресу по Desiderata і при тривалому стресі виявлено вплив нонапептидергічної ГГНС на клітинний і тканинний гомеостаз міокарда, який проявляється через стимуляцію васкулогенезу та активності фібробластів, макрофагів, ендотеліоцитів і периваскулярних клітин і носить адаптивний характер [96].

За умов травматичних ушкоджень кон'юнктиви (у віддалені терміни спостережень) активація ГГНС тварин відбувалася на тлі блокування вивільнення нейросекрету в їх спільну гемоциркуляцію, і призводило до дефіциту даних адаптивних нейрогормонів у кровотоці.

Даний висновок ґрунтується на ультраструктурних дослідженнях НСК ВКЯ гіпоталамуса, які показали виражену деструкцію мітохондрій, потовщення каналців гранулярного ЕПР, редукцію диктіосом пластинчастого комплексу, зростання чисельності лізосом, аутофагосом ламелярних тілець і ліпосом. НСК з ознаками каріопікнозу і каріорексису, оточених гліальними макрофагальними елементами [42].

Моделювання хронічної алкогольної інтоксикації у щурів свідчить про розвиток цитокаріолітичного пошкодження великоклітинних нейронів НЯ гіпоталамуса. Морфометричні, гістохімічні, імуногістохімічні дослідження та математичний аналіз свідчать про дискоординацію між активністю ядерного і цитоплазматичного синтетичного апаратів, а також між синтезом і секрецією ВП. Морфологічні прояви пошкоджень нейронів поєднуються з високою активністю фактора ініціації апоптозу – каспаз-9. Після скасування вживання алкоголю не відбувається значущих оборотних змін у ВП-ергічних нейронах при високому рівні експресії каспаз-9 [113].

Встановлено, що гіпоталамус є основною структурою мозку, в якій формується вогнище стаціонарного збудження холінергічної природи, що характеризується не тільки властивостями підвищеної збудливості, а й здатністю до гальмування [103].

У темряві сигнали від НПЯ посилюють синтез і вивільнення норадреналіну із симпатичних закінчень. У свою чергу, цей нейромедіатор

збуджує рецептори на поверхні клітин ШЗ, стимулює синтез основного гормону – МТ [7]. Від ШЗ інформація про світловий режим навколишнього середовища надходить у внутрішнє середовище організму. На відміну від багатьох гормонів, дія МТ на клітинні структури залежить не тільки від його концентрації у крові і міжклітинному середовищі, а й від вихідного стану клітини [50].

МТ присутній практично у всіх біологічних рідинах, включаючи спинномозкову рідину, слину, жовч, синовіальну рідину, амніотичну рідину і грудне молоко. У деяких з цих рідин, концентрації МТ вище, ніж у крові [16, 56, 82, 83].

Секреторні елементи ШЗ – пінеалоцити є джерелом цілого ряду біологічно активних речовин індольної і пептидної природи, серед яких провідне значення надається МТ. Негативний вплив освітлення вночі підтверджується особливостями ритмічності біосинтезу індоламіну (МТ і 5-метокситриптофолу) ШЗ людини, характер якої залежить від сезонних змін тривалості світлової фази доби [30, 52, 89, 117, 142, 305].

Вважають, що у світлих пінеалоцитах відбувається трансформація триптофану в серотонін, а в темних пінеалоцитах утворюється МТ з серотоніну. У всіх видів ссавців продукція МТ регулюється норадреналіном, що звільняється з симпатичних нервових волокон у паренхіму ШЗ. Через β -адренорецептор норадреналін збільшує внутрішньоклітинну концентрацію цАМФ-залежної протеїнкінази А. У свою чергу, цАМФ-залежна протеїнкіназа А впливає на швидкість захоплення триптофану пінеалоцитами, а також на активність ферментів біосинтезу МТ. Цей шлях є критичним для регуляції *AANAT* (ферменту в ланцюзі біосинтезу МТ) для всіх видів [157].

У гризунів транскрипційна активація гена *AANAT* являється первинним механізмом для індукції біосинтезу МТ і призводить до помітних добових флуктуацій в *AANAT* іРНК. Під дією норадреналіну в пінеалоцитах гризунів відбувається залежне від протеїнкінази А фосфорилування транскрипцій-

ного фактора (т. з. елемент зв'язуючого протеїну) з подальшим зв'язуванням у ділянці промотора гена *AANAT* [230, 291].

Рецептори до МТ виявлені в різних ядрах гіпоталамуса, сітківці ока та тканинах нейрогенної та ін. природи [208, 232].

Численні клінічні та експериментальні дані вказують на ключову роль МТ в гомеостазі сну, так як і в регуляції основного циркадіанного ритму організму – циклу сон-неспанья.

Дисфункція може виникнути внаслідок порушення системи циркадіанного осцилятора або поліморфізму генів основних осциляторів, які призводять до змін довжини ритмів або порушень світлового сигналу, що надходить до НПЯ гіпоталамуса.

Електронно-мікроскопічні показники нейронів НЯ гіпоталамуса щурів за умов стандартного світлового режиму характеризувалися збільшеною активністю клітин у нічний проміжок часу порівняно з денним періодом.

Моделювання гіпер- та гіпофункції ШЗ виявили більш виражені порушення НСК НЯ гіпоталамуса за умов пригніченої функціональної активності ШЗ порівняно з підвищеною її функцією.

У тварин, які перебували впродовж семи діб за умов світлової стимуляції ультраструктурна організація НЯ гіпоталамуса о 14.00 год віддзеркалилася наявністю світлих НСК з набряковими явищами, які містять великі ядра округлої форми, маленькі ядерця та інвагінацію каріолеми. У їх каріоплазмі здебільшого виявляється еухроматин та наявні ділянки гетерохроматину.

У нейроплазмі нейронів НЯ гіпоталамуса встановлені деструктивні зміни органел: фрагментація і розширення каналців гранулярного ЕПР та цистерн комплексу Гольджі, майже повна відсутність пухирців, руйнування мітохондрій з утворенням вакуолей та локальним просвітленням гіалоплазми. У таких НСК вміст гормональних гранул незначний і свідчить про виснаження структурної одиниці.

У нічний період доби за умов цілодобового освітлення субмікроскопічно в НЯ гіпоталамуса спостерігали темні НСК з пікнотично зміненими ядрами та зменшеними ядерцями, погано вираженими ядерними порами. Нейроплазма підвищеної електронної щільності, нечітко контуровані мембранні органели.

Виявлено осередкове розширення каналців гранулярного ЕПР та цистерн комплексу Гольджі з утворенням вакуолеподібних структур. Певна частина мітохондрій вакуолізувалась, інші мають світлий матрикс і редуковані кристи, гранули гормону поодинокі. Описаний вище ультраструктурний стан свідчить про зниження функціональної активності структур з елементами набряку та деструкції.

Таким чином, виявлені ультрамікроскопічні зміни нейронів НЯ гіпоталамуса можна розглядати як розвиток десинхронозу, внаслідок зниження продукції гормону МТ ШЗ.

З метою корекції виявлених порушень з боку активності нейроцитів, спричинених тривалим перебуванням тварин за умов постійного освітлення нами використаний МТ. Насамперед, для чіткої диференціації ефектів епіфізарного гормону (розчин МТ в дозі 1,0 мг/кг) на активність досліджуваних структур окремій серії щурів проводили ін'єкції розчинника (1,0 мл 0,9 % розчину етанолу на фізіологічному розчині NaCl). Загалом, ін'єкції розчинника не спричиняли суттєвих зрушень функціонального стану нейроцитів тварин.

Електронно-мікроскопічними дослідженнями НЯ гіпоталамуса тварин, які отримували МТ за умов цілодобового освітлення о 14.00 год виявлено темні та світлі пікнотично змінені НСК з ядрами неправильної форми та маленькими ядерцями, збільшеним перинуклеарним простором. Фрагмент гранулярного ЕПР досить розвинений, візуалізується незначна кількість рибосом. Комплекс Гольджі збільшений, його цистерни і каналці частково потовщені і розширені. Гормональні гранули невеликих розмірів та їх мало, що пов'язуємо зі сповільненням синтезу або їх реалізацією.

Дослідженням ультраструктурної організації НЯ гіпоталамуса щурів, яким вводили МТ на фоні гіпофункції ШЗ о 02.00 год виявлено світлі НСК з великим пікнотично зміненим ядром та інвагінацією каріолеми. В ядрі переважає еухроматин. Виявлено гетерогенні зміни з боку мітохондрій. Канальці гранулярного ЕПР збільшені, у нейроплазмі мала кількість рибосом. Гормональних гранул небагато. Такий стан НСК відповідає функціональному виснаженню НЯ гіпоталамуса.

Застосування екзогенного МТ на фоні гіпофункції ШЗ призвело до відносного покращення стану нейронів НЯ гіпоталамуса про, що свідчить поява нейросекреторних гранул, проте ультраструктура інших органел нейрона свідчить про виснажений стан після впливу тривалого освітлення.

При утримуванні тварин за стандартного режиму освітлення ультраструктурна організація НЯ гіпоталамуса о 14.00 год характеризувалася наступним: виражені поодинокі інвагінації та ядра неправильної форми з неглибокими інвагінаціями каріолеми у більшості НСК, форма яких округло-овальна. В ядерному соці візуалізується щільне осміофільне ядерце та грудочки хроматину. У нейроплазмі щільно влаштовані канальні гранулярного ЕПР з невеликим просвітом, де простежується значна кількість рибосом та полісом, а також невелике число рівномірно розподілених гранул. Нейроплазма займає невеликий об'єм.

Спостерігаються різних розмірів секреторні гранули, що формуються біля комплексу Гольджі. Енергетичні «станції клітини» – мітохондрії невеликих розмірів, містять небагато крист, зі щільним матриксом. Помітно, що окремі мітохондрії перебувають в енергетично напруженому стані, здатні гіпертрофуватися та частково втрачати кристи або навіть і гинути. Однак, слід відмітити, подібний процес є фізіологічним і в нормі має циклічний перебіг. Нейроплазма НСК містить незначну кількість гормональних гранул, розсіяних у цитоплазмі. Така ультраструктурна організація НСК свідчить про їх невисоку функціональну активність у досліджуваному часовому проміжку.

Дослідженням субмікроскопічної будови НЯ гіпоталамуса за стандартних умов освітлення о 02.00 год встановлено, що НСК притаманні ядра з нерівною каріолемою, глибокими впинаннями. Такі інвагінації ядерної оболонки, у свою чергу, збільшують площу взаємодії ядра і цитоплазми.

При дослідженні комплексу Гольджі помітно, що диктіосоми розташовуються перинуклеарно, невеликих розмірів, їх цистерни неширокі, в яких формуються нейрогормональні гранули. При огляді на невеликому збільшенні електронного мікроскопа в окремих полях зору простежується, що невеликі осміофільні нейросекреторні гранули зосереджуються навколо комплексу Гольджі, а також в аксоні, що відходить від цієї клітини. Описана субмікроскопічна архітектоніка свідчить про активний функціональний стан великоклітинних НЯ гіпоталамуса під час нічного етапу експерименту.

Електронно-мікроскопічні дослідження НЯ гіпоталамуса при постійному освітленні показали, що о 14.00 год НСК мають ядра з добре вираженими осміофільними ядерцями у каріоплазмі. Контури каріолеми чітко інвагіновані, добре виражені ядерні пори, що збільшує площу поверхні і свідчить про більшу активність ядра клітини. Виявлено багато рибосом та гранул рибосомального типу біля каріолеми, які мігрують і виходять у цитоплазму. У такій клітині мітохондрії активно беруть участь у синтетичних процесах, тому можуть бути локально чи тотально просвітлені (їх матрикс світліший, ніж у інтактних), можуть втрачати кристи.

У клітині відбувається нагромадження гранул з подальшим їх виведенням. Наявні гормональні гранули, особливо біля комплексу Гольджі.

За умов тривалої світлової депривації о 02.00 год субмікроскопічно в НЯ гіпоталамуса виявлені НСК, що мають ядра з нерівними контурами, у каріолемі зрідка спостерігаються ядерця.

Нейроплазма має підвищену електронну щільність, значно насичена рибосомами, полісомами та секреторними гранулами. Канали гранулярного ЕПР розширені та потовщені, що є проявом активності клітини. Помітний фрагмент комплексу Гольджі з малими гранулами поряд, що ймовірно

недавно синтезувались, і будуть направлені у аксональні відростки і накопичені в термінальних їх закінченнях (тільцях Херінга).

Такий ультраструктурний стан свідчить про подібність порівняно з денним дослідженням цієї серії та незначним зростанням щодо інтактної групи старих тварин, дослідження яким проводили о 02.00 год.

Отже, встановлені електронно-мікроскопічні перебудови нейронів досліджуваної ділянки гіпоталамуса можна розглядати як прояв зростання нейросекреторної активності, збільшення продукції нейросекрета нейронами НЯ гіпоталамуса. Ймовірно, що саме дисбаланс продукції біологічно активних речовин НСК НЯ гіпоталамуса старих щурів, зумовлений світловим стресом, призвів до виявлених змін на ультраструктурному рівні.

Вивченням субмікроскопічної структури НЯ гіпоталамуса старих щурів, які отримували екзогенний МТ за умов тривалої тижневої експозиції о 14.00 год встановлено світлі НСК, які містили велике ядро, що було пікнотично змінене. Спостерігали інвагінації каріолеми. Також у ядрі встановлено домінування еухроматину. Збоку мітохондрій простежувалися гетерогенні зміни. Помітні збільшені каналці гранулярного ЕПР. Водночас у нейроплазмі спостерігалось невелике число рибосом та небагато гормональних гранул.

Електронно-мікроскопічні дослідження НСК НЯ гіпоталамуса старих тварин, яким вводили екзогенний МТ у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини, за умов тривалої світлової експозиції дали можливість о 14.00 год виявити пікнотично змінені темні та світлі НСК. Ці структури містили ядра неправильної форми з помітними маленькими ядерцями. Щодо перинуклеарного простору, то він був збільшеним.

Необхідно відмітити, що НСК перебуває в «збудженому» стані. Достатньо розвинутим виявився фрагмент гранулярного ЕПР. Також візуалізується невелике число немембранних органел – рибосом. Цистерни і каналці комплексу Гольджі збільшені в об'ємі, частково розширені і потовщені. Розміри гормональних гранул незначні, їх кількість мала, що

можна аргументувати як сповільнення їх синтезу чи реалізації. Така отримана картина демонструвала напружений функціональний стан досліджуваного об'єкта.

Оптична густина специфічного забарвлення МТ-рецепторів 1А у нейронах НЯ щурів гіпоталамуса підпорядкована циркадіанній організації. Найвищий рівень оптичної густини специфічного забарвлення спостерігається о 02.00 год, а о 14.00 год вона знижується. Модифікації фотоперіоду призвели до вираженого порушення добових коливань досліджуваної оптичної густини специфічного забарвлення. При світловому стресі оптична густина специфічного забарвлення досліджуваних структур вірогідно менша, ніж при світловій депривації. Крім того, імуногістохімічне дослідження показало, що за умов постійного освітлення порушується циркадіанний ритм функціонування МТ-рецепторів у нейронах НЯ гіпоталамуса, що характеризується невірогідною різницею показників ($p > 0,05$) у досліджувані періоди доби. Водночас, при світловій депривації найбільший показник відзначається о 02.00 год, складаючи $0,505 \pm 0,0026$ о.о. щ.

Тижневе уведення МТ на фоні тривалого освітлення проявляється тенденцією до нормалізації оптичної густини специфічного забарвлення на МТ-рецептори 1А у нейронах НЯ гіпоталамуса щурів, що особливо помітно у зразках, відібраних на дослідження о 02.00 год, коли показник перебував у межах $0,412 \pm 0,0025$ о.о.щ.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на основі експериментального дослідження пропонується нове вирішення науково-практичної задачі, яка полягає у встановленні морфологічного підґрунтя закономірностей вікової хроноритмічної організації вищого центру координації вегетативних функцій – пришлуночкових і надзорових ядер гіпоталамуса залежно від модифікацій фотоперіоду, що є необхідним для пізнання центральних механізмів циркадіанних ритмів головного мозку старих щурів.

1. Тривалість фотоперіоду істотніше впливає на морфометричну та денситометричну характеристики структур нейронів надзорових ядер, ніж суб'ядер пришлуночкового ядра гіпоталамуса старих щурів. Постійний світловий режим десинхронізує морфо-функціональну активність нейронів надзорових ядер гіпоталамуса, змінює концентрацію РНК в їх ядрі, ядерці та цитоплазмі.
2. Функціонування нейронів присередніх дрібноклітинних та задньобічних великоклітинних суб'ядер пришлуночкового ядра гіпоталамуса щурів відзначається циркадіанною ритмічністю. За умов світлової депривації проявляється десинхроноз активності досліджуваних НСК гіпоталамуса та зсув найбільших величин площі структур нейрона з 14.00 на 02.00 год. Відсутність вираженого підсилення функціональної активності присередніх дрібноклітинних суб'ядер та вірогідних відмінностей площі тіл нейронів, їх ядер, ядерця, цитоплазми, концентрації в них РНК, ЯЦС, питомих об'ємів ядер і цитоплазми у тварин, які знаходилися за світлових режимів 12.00С:12.00Т та 24.00С:00Т дозволяє припустити широкі межі пластичності досліджуваних НСК при утримуванні тварин за умов постійного освітлення впродовж тижня.
3. За світлового стресу в задньобічних великоклітинних суб'ядрах, уночі виявлено вірогідне збільшення площі тіла нейрона на 9,3 % щодо такої в інтактних старих тварин о 02.00 год. Така картина спричинена вірогідним підвищенням площі ядра на 16,1 % та ядерця нейрона – на 27,3 %. Постійне освітлення віддзеркалилося і вірогідним зростанням

концентрації РНК в ядрі на 5,5 %, ядерці – на 9,2 % та цитоплазмі – на 7,9 % стосовно групи попереднього часового інтервалу.

4. Електронно-мікроскопічні дослідження нейронів надзорових ядер гіпоталамуса старих щурів за умов стандартного світлового режиму характеризувалися збільшеною активністю клітин у нічний проміжок часу порівняно з денним періодом. Утримування старих тварин за умов світлового стресу викликає більш виражені зміни морфо-функціонального стану нейронів надзорових ядер гіпоталамуса, ніж за умов світлової депривації, зокрема це чітко простежувалося о 02.00 год.
5. Показано доцільність застосування мелатоніну (1,0 мг/кг маси тіла тварини) впродовж 7 діб за умов світлового стресу, що зумовлює підвищення компенсаторно-приспосувальних перетворень, відновлення циркадіанного ритму добової динаміки з тенденцією до нормалізації показників щільності рецепторів мелатоніну 1А і морфо-функціональної активності у надзоровому ядрі гіпоталамуса старих щурів. При застосуванні мелатоніну на фоні тривалого освітлення кількість позитивно забарвлених на мелатонінові рецептори 1А нейронів складає о 02.00 год – $0,412 \pm 0,0025$ у. о. опт. щільності та о 14.00 год – $0,324 \pm 0,0027$ у. о. опт. щільності відповідно і наближається до такої у контрольній групі старих щурів.
6. Уведення мелатоніну (1,0 мг/кг маси тіла тварини) старим щурам, що перебували за умов постійного освітлення нормалізувало показники площі нейронів НЯ і концентрацію у них РНК. Водночас, мелатонін не корегував ритм активності нейронів надзорового ядра, який залишався таким, як і при тривалому фотоперіоді та інверсним щодо старих тварин, які перебували за звичайного світлового режиму. Рівень концентрації РНК у нейронах НЯ гіпоталамуса о 02.00 год не зазнає вірогідних змін у групах порівняння, що, ймовірно, свідчить про залучення додаткових ендогенних механізмів, спрямованих на збереження функціональної активності нейронів у вказаний період, коли в нормі в організмі продукується найбільше мелатоніну.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамов АВ, Колесник ЮМ, Шаменко ВО. Функціональний стан вазопресинергічної системи гіпоталамуса при багатоденній дії переривчастої гіпоксичної гіпоксії. Клінічна та експериментальна патологія. 2018;17(3 Ч 2):9-15. doi: [10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.150](https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.150)
2. Абрамов АВ, Шаменко ВА. Сравнительная характеристика нейроэндокринного ответа крупноклеточных и мелкоклеточных вазопресинергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса на прерывистое действие гипоксической гипоксии. Клінічна та експериментальна патологія. 2019;18(4):3-9. doi:<https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVIII.4.70.2019.1>
3. Абрамов АВ, Шаменко ВА, Колесник ЮМ. Сравнительная характеристика реакции вазопресинергических нейронов супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса при прерывистом действии гипоксической гипоксии. Патологія. 2018;15(3):360-6. doi:<https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.3.151862>
4. Акарачкова ЕС, Царева ЕВ. Расстройства сна, связанные с циркадным ритмом. Стресс под контролем. 2019;1:9-19.
5. Антонюк-Щеглова ІА. Корекція порушеної мелатонінутворювальної функції епіфіза у літніх людей замісними дозами мелатоніну і пептидними препаратами епіфіза. Проблеми ендокринної патології. 2013;4:7-17.
6. Антонюк-Щеглова ІА. Мелатонінутворювальна функція епіфіза при старінні. Шляхи корекції [дисертація]. Київ; 2014. 340 с.
7. Арушанян ЭБ, Бейер ЭВ. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин – универсальный естественный адаптоген. Успехи физиологических наук. 2012;43(2):82-100.
8. Арушанян ЭБ, Попов АВ. Современные представления о роли супрахиазматических ядер гипоталамуса в организации суточного

периодизма физиологических функций. Успехи физиологических наук. 2011;42(4):39-58.

9. 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>

10. Анисимов ВН, Виноградова ИА. Световой режим, биоритмы и старение организма. Вестник эстетической медицины. 2011;10(1):42-51.

11. Анисимов ВН, Виноградова ИА, Букалев АВ, Попович ИГ, Забежинский МА, Панченко АВ, и др. Световой десинхроноз и риск злокачественных новообразований у лабораторных животных: состояние проблемы. Вопросы онкологии. 2014;60(2):15–27.

12. Бажанова ЕД. Апоптоз нейросекреторных клеток гипоталамуса при стрессе и старении: роль иммуномодуляторов. Российский физиологический журнал им. ИМ. Сеченова. 2012;98(4):542-50.

13. Баришнікова ОП, Власова КВ. Фотоперіодична залежність морфометричних показників супраоптичних ядер гіпоталамуса. ВІМСО Journal. 2019;2019:194.

14. Беляева ЕН, Батищева ГА, Чернов ЮН. Системные эффекты мелатонина в регуляции физиологических функций организма. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2013;12(3):675-8.

15. Бикалев АВ, Виноградова ИА. Влияние светового режима на заболеваемость и спонтанный онкогенез у крыс. Медицинский академический журнал. 2012;12(1):36–45.

16. Бойчук Т. М. Хроноритмологічні аспекти патогенної дії на організм малих доз важких металів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : спец. 14.03.04 “Патологічна фізіологія” / Т. М. Бойчук. Київ; 1999: 32 с.

17. Бойчук ТМ, Абрамов АВ, Булик РС. Ефекти світлової депривації на морфо-функціональний стан нейронів супрахізматичних ядер гіпоталамуса

щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2018;17(3 Ч 2):16-21. doi:10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.150

18. Бондаренко ЛО, Міщенко ТВ, Полторак ВВ, Сотник НМ. Хронобіологічні аспекти впливу мелатоніну на окремі складові метаболічного синдрому при гіпопінеалізмі. Проблеми ендокринної патології. 2015;3:85-93.

19. Бондаренко ЛА, Сергиенко ЛЮ, Геворкян АР, Сотник НН, Козак ВА, Черевко АН, и др. Длительное круглосуточное освещение как фактор ускоренного старения и преждевременной смерти. В: Сборник науч. трудов II Российского симпозиума с междунар. участием Световой режим, старение и рак; 2013 Окт 17-19; Петрозаводск. Петрозаводск; 2013, с. 23-31.

20. Боцюрко ВІ. Мелатонін – «гормон ночі» і не тільки ... Здоров'я України. Діабетологія. Тиреоїдологія. Метаболічні розлади. 2015;2: 20-4.

21. Букалєв АВ, Виноградова ИА. Роль эпифиза в организме. Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Серия: Естественные и технические науки. 2012;2:31-6.

22. Булгакова СВ, Романчук НП. Сон и старение: эндокринные и эпигенетические аспекты. Бюллетень науки и практики. 2020;6(8):65-96. doi: <https://doi.org/10.33619/2414-2948/57>

23. Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Ефекти мелатоніну на щільність мелатонінових рецепторів у надзоровому ядрі гіпоталамуса щурів за умов стресу. Вісник проблем біології і медицини. 2021;3:245-8. doi: [10.29254/2077-4214-2021-3-161-245-248](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-3-161-245-248).

24. Булик РЄ, Геруш ІВ, Пішак ВП, Роговий ЮЄ. Часова організація фізіологічних функцій у ссавців. Участь структур головного мозку. Буковинський медичний вісник. 2014;18(1):144-7. doi: <https://doi.org/10.24061/92146>

25. Булик РЄ, Заморський П, Пішак ВП. Участь пептидів шишкоподібної залози у забезпеченні функцій фотоперіодичної системи головного мозку та нирок (огляд літератури та власні дослідження).

Буковинський медичний вісник. 2012;16(3 Ч 2):67-71. doi: <https://doi.org/10.24061/223185>

26. Булик РЄ, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику нейронів паравентрикулярних ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2021;20(3):11-8. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.2>

27. Булик РЄ, Йосипенко ВР, Власова КВ. Вікові особливості морфометричного стану бічного передзорового ядра гіпоталамуса щурів на тлі різної тривалості фотоперіоду. Вісник проблем біології і медицини. 2021;2:197-200. doi: 10.29254/2077-4214-2021-2-160-197-200

28. Булик РЄ, Федонюк ЛЯ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Стрес-індуковані зміни морфо-функціонального стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2020;4:43-9. doi:<https://doi.org/10.11603/1811-2471.2020.v.i4.11756>

29. Бурачик АІ, Булик РЄ. Ефекти мелатоніну на ультраструктуру супрахіазматичних ядер гіпоталамуса щурів при світловій стимуляції. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(1):44-8.

30. Бурчаков ДИ. Суточный ритм секреции и метаболические эффекты мелатонина. Ожирение и метаболизм. 2015;12(1):46-51. doi:10.14341/ОМЕТ2015146-51

31. Бурчинский СГ. Циркадные ритмы, хронический стресс и фармакопрофилактика: новые возможности. Семейна медицина. 2015;4:44-6.

32. Васендин ДВ. Медико-биологические эффекты мелатонина: некоторые итоги и перспективы изучения. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2016;3:171-8.

33. Ветрилэ ЛА, Захарова ИА, Кудрин ВС, Клодт ПМ. Влияние антител к глутамату при интраназальном введении на содержание возбуждающих и тормозных аминокислот в гиппокампе и гипоталамусе крыс при

комбинированном стрессорном воздействии. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016;1:4-10.

34. Виноградова ИА, Илюха ВА, Хижкина ЕА, Узенбаева ЛБ, Ильина ТН, Букалев АВ, и др. Световое загрязнение, десинхроноз и старение: состояние проблемы и пути решения. Успехи геронтологии. 2014;27(2):265-8.

35. Власова КВ. Ультрамiкроскопiчна органiзацiя супраоптичного ядра гiпоталамуса щурiв за умов гiперiлюмiнацiї. Клiнiчна анатомiя та оперативна хiрургiя. 2015;14(4):87-90. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-0847.14.4.2015.19>

36. Волков КС. Морфологические изменения гипоталамо–нейро-гипофизарной секреторной системы при ожоговой травме и после применения антиоксидантов и энтеросорбентов [диссертация]. Киев; 1995. 331 с.

37. Геворкян АР, Губина-Вакулик ГИ. Динамика изменений морфо-функционального состояния суправиазматических ядер гипоталамуса при гипопинеализме. Клінічна та експериментальна патологія. 2018;17(3 Ч 2):27-34. doi:10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.153

38. Герасимов АВ, Логвинов СВ, Костюченко ВП. Морфологические изменения в эпифизе у крыс при длительном освещении ярким светом. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010;150(7):97-9.

39. Гоженко АІ, Гришко ЮМ. Добові ритми та їх дисбаланс, як один із механізмів порушення здоров'я сучасної людини (огляд літератури). Актуальные проблемы транспортной медицины. 2018;4:178-90. doi: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.2526928>

40. Гончарова НД, Маренин ВЮ, Оганян ТЭ, Шмалый АВ, Богатыренко ТН, Козина ЛС, и др. Стресс, старение, гипоталамо–гипофизарно-адреналовая система и надежность антиоксидантной ферментной защиты. Успехи геронтологии. 2008;21(4):548–54.

41. Гончарук ВД. Морфо-функціональне дослідження ремоделювання ядер ствола мозку у хворих з серцево-судинними захворюваннями : автореф. дисс. на соискание ученой степени докт. биол. наук : спец. 03.00.25

«Гистология, цитология, клеточная биология» / В. Д. Гончарук. Москва; 2008. 26 с.

42. Горбунов АА. Реактивность и пластичность тканей конъюнктивы в условиях замещения ее дефектов консервированным аллоперикардом (нейробиологические аспекты): автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология», 14.00.08 «Глазные болезни» / А. А. Горбунов. Саранск; 2008. 20 с.

43. Гостюхина АА. Особенности адаптивных реакций крыс при физических нагрузках в условиях световых десинхронозов [диссертация]. Томск; 2017. 156 с.

44. Гостюхина АА, Замощина ТА, Зайцев КВ, Гутор СС, Жукова ОБ, Светлик МВ, и др. Адаптивные реакции крыс после световых десинхронозов и физического переутомления. Бюллетень сибирской медицины. 2018;17(3):22-34. doi: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-22-34>

45. Губин ДГ, Вайнерт Д. Динамика временной организации в процессе старения. 1. Центральные и периферические механизмы. Успехи геронтологии. 2015;28(2):257-68.

46. Губин ДГ. Молекулярные механизмы циркадианных ритмов и принципы развития дисинхронизма. Успехи физиологических наук. 2013;44(4):65-87.

47. Дыгало НН, Шишкина ГТ. Белок, защищающий клетки от гибели, повышает психоэмоциональную устойчивость к стрессу. Успехи физиол. наук. 2013; 44(2):3-13.

48. Дубенко ФЄ, Реміняк ІВ, Бабкіна ЮА, Реміняк ЮК. Порушення циркадного ритму сну. НейроNews. 2020;2:28-33.

49. Жураківська ОЯ. Вікові морфологічні зміни вентромедіального ядра гіпоталамуса. Молодий вчений. 2014;5:154-7.

50. Заморский ИИ, Пишак ВП. Функциональная организация фотопериодической системы головного мозга. Успехи физиологических наук. 2003;34(4):37-53.

51. Заморский ИИ. Фотопериод как основной временной интегратор физиологических систем. Современные вопросы биомедицины. 2018;2(3):79-93.

52. Заморский ИИ, Сопова ИЮ. Участие мелатонинергической системы организма в механизмах немедленной адаптации к острой гипоксии при различном световом режиме. В: Сборник науч. трудов II Российского симпозиума с междунар. участием Световой режим, старение и рак; 2013 Окт 17-19; Петрозаводск. Петрозаводск; 2013, с. 108-12.

53. Заморский ИИ, Сопова ИЮ, Хавинсон ВХ. Влияние мелатонина и эпิตаламина на содержание продуктов белковой и липидной пероксидации в коре больших полушарий и гиппокампе мозга крыс в условиях острой гипоксии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012;154(7):59-61.

54. Заморский ИИ, Сопова ИЮ, Хавинсон ВХ. Влияние эпิตаламина и мелатонина на содержание продуктов пероксидации в мозге крыс при острой гипоксии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012;154(9):299-301.

55. Захаров АВ, Хивинцева ЕВ, Пятин ВФ, Сергеева МС, Антипов ОИ. Мелатонин – известные и новые области клинического применения. Журнал неврологии и психиатрии им. СС. Корсакова. 2017;117(4–2):74–8.

56. Захарчук ОІ, Пішак ВП, Кривчанська МІ. Біологічні ритми і сон. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: Медицина. 2013;2:145-9.

57. Земскова ЮА. Биоритмы и часы работы внутренних органов. Наука и современность. 2014;27:31-5.

58. Илюха ВА, Виноградова ИА, Хижкин ЕА, Ильина ТН, Узенбаева ЛБ, Лотош ТА, и др. Влияние постоянного и естественного освещения на физиологическое состояние крыс. Принципы экологии. 2012;1(1):29-41.

59. Ильина ТН, Баишникова ИВ, Виноградова ИА. Возрастные изменения содержания витаминов А и Е в органах крыс на фоне

модифицированного освещения и экзогенного мелатонина. Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2013;4:20-4.

60. Ильина ТН, Виноградова ИА, Хижкин ЕА, Илюха ВА, Узенбаева ЛБ, Баишникова ИВ, и др. Влияние освещения в пренатальный и постнатальный периоды на некоторые физиологические показатели самцов крыс. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2012;98(6):714-23.

61. Илюха ВА, Виноградова ИА, Хижкин ЕА, Ильина ТН, Узенбаева ЛБ, Лотош ТА, и др. Влияние постоянного и естественного освещения на физиологическое состояние крыс. Принципы экологии. 2012;1(1):29-41. doi: 10.15393/j1.art.2012.484

62. Калмыков АП. Влияние антиоксидантов на морфо-функциональное состояние нейроэндокринных центров гипоталамуса белых крыс: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук : спец. 03.00.13 «Физиология» / АП Калмыков. Новосибирск; 2005:23 с.

63. Караченцев ЮИ, Кравчун НА, редакторы. Пинеальная железа и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная система возрастные и хронобиологические аспекты. Харьков; С.А.М; 2013. 262 с.

64. Ковальзон ВМ, Долгих ВВ. Регуляция цикла бодрствование-сон. Неврологический журнал. 2016;6:316-22. doi:http://dx.doi.org/10.18821/1560-9545-2016-21-6-316-322

65. Ковальзон ВМ, Дорохов ВБ. Цикл бодрствование-сон и биоритмы человека при различных режимах чередования светлого и темного периода суток. Здоровье и образование в XXI веке. Серия Медицина. 2013;15:151-62.

66. Козлова АН, Стадников АА. О влиянии окситоцина на структурно-функциональную реорганизацию нейросекреторных клеток гипоталамуса в условиях комбинированного стресса. Оренбургский медицинский вестник. 2017;5(2):43-50.

67. Котельникова СВ. Нейроэндокринный гомеостаз в условиях токсического стресса при различных режимах освещенности [автореферат]. Астрахань; 2015. 43 с.

68. Кравченко ЕВ, Ольгомец ЛМ. Влияние изменений состояния нейромедиаторных и пептидергической систем мозга на циркадианные ритмы и поведение крыс. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2012;62(4):453-64.

69. Линькова НС. Пептическая регуляция экспрессии сигнальных молекул в пинеальной железе и тимусе при старении [автореферат]. Санкт-Петербург; 2014. 47 с.

70. Литвиненко ГИ, Шурлыгина АВ, Грицык ОБ, Мельникова ЕВ, Тендитник МВ. Влияние мелатонина на морфо-функциональные показатели эпифиза и органов иммунной системы у крыс при естественном световом режиме и круглосуточном освещении. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015;159(6):704-7.

71. Лотош ТА. Влияние постоянного освещения на показатели биологического возраста, продолжительность жизни и спонтанный онкогенез у крыс [автореферат]. Санкт-Петербург; 2012. 23 с.

72. Лотош ТА, Виноградова ИА, Илюха ВА, Хижкин ЕА. Влияние постоянного освещения на физиологические и биохимические показатели гомеостаза крыс в зависимости от времени начала воздействия. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2013;99(6):719-28.

73. Мамаев АН, Кудлай ДА. Статистические методы в медицине. Москва: Практическая медицина; 2021. 135 с.

74. Мамотенко АВ, Комісова ТЄ. Вплив світлового режиму на екстральний цикл самиць щурів. Збірник наукових праць Харківського національного педагогічного університету імені Г.С. Сковороди. Біологія і Валеологія. 2016;18:57-61. doi:<http://doi.org/10.5281/zenodo.167377>

75. Матвеева ЮП. Влияние годового цикла фотопериодизма на физиологические возрастные параметры и продолжительность жизни

лабораторных крыс в зависимости от сезона рождения [автореферат]. Петрозаводск; 2015. 24 с.

76. Миронова ВИ, Ракицкая ВВ, Пивина СГ, Ордян НЭ. Паттерны экспрессии кортиколиберина и вазопрессина в гипоталамусе самцов и самок крыс в модели посттравматического стрессового расстройства. В: Материалы XXII съезда Физиологического общества имени ИП. Павлова; 2013 Сен 16-20; Волгоград. Волгоград; 2013, с. 353-4.

77. Никитина ЛС. Механизмы влияния сигнальных белков апоптоза на функциональное состояние вазопрессинергических нейронов гипоталамуса : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук : спец. 03.03.01 «Физиология» / ЛС Никитина. СПб.; 2009: 21 с.

78. Оганесян ГА, Романова ИВ, Паскаренко НМ, Михрина АЛ. Динамика активности вазопрессинергической системы гипоталамуса в цикле «бодрствование-сон» у крыс Вистар. В: Материалы XXII съезда Физиологического общества имени ИП. Павлова; 2013 Сен 16-20; Волгоград. Волгоград; 2013, с. 392.

79. Панченко АВ, Губарева ЕА. Антисканцерогенные свойства мелатонина в условиях нарушения светового режима. В: Сборник науч. трудов II Российского симпозиума с междунар. участием Световой режим, старение и рак; 2013 Окт 17-19; Петрозаводск. Петрозаводск; 2013, с. 245-51.

80. Панченко АВ, Губарева АВ, Анисимов ВН. Роль циркадианных ритмов и «клеточных часов» в старении и развитии онкологических заболеваний. Успехи геронтологии. 2016;29(1):29–37.

81. Пилипенко ВМ. Роль гама-аміномасляної кислоти в етіопатогенезі дисфункції гіпоталамуса. Методи корекції та попередження нейромедіаторних порушень (огляд літератури та власні дані). Здоров'я України. Діабетологія. Тиреоїдологія. Метаболічні розлади. 2017;1:44-7.

82. Пішак ВП, Булик РЄ. Центральні механізми циркадіанних ритмів ссавців. Чернівці: Медуніверситет; 2009. 320 с.

83. Пішак ВП, Булик РЄ, Заморський П, Ткачук СС. Шишкоподібна залоза: патоморфологія, патологічна фізіологія, фармакологія: монографія. Чернівці: Медуніверситет; 2012. 264 с.

84. Потанин МБ. Морфологическая вариабельность гипоталамуса в обеспечении конституциональной стресс-реактивности (экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание ученой степени докт. биол. наук : спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология» / МБ Потанин. Волгоград; 2008. 21 с.

85. Пруцкова НП. Антидиуретический гормон: центральная регуляция секреции и механизм гидроосмотического эффекта: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук : 03.00.13 «Физиология» / НП Пруцкова. СПб.; 2006. 20 с.

86. Прудников АВ. Клиническая и морфо-функциональная характеристика репарации тканей гнойных ран в аспекте нейроэндокринной регуляции при лечении милиацилом : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 03.03.04 «Клеточная биология, цитология, гистология» : 14.01.17 «Хирургия» / АВ Прудников. Оренбург; 2013. 23 с.

87. Пшиченко ВВ. Чернышева МП. Системы синхронизации активности центральных и периферических Clock-механизмов: в фокусе гормональная система. В: Материалы XXII съезда Физиологического общества имени И.П. Павлова; 2013 Сен 16-20; Волгоград. Волгоград; 2013, с. 581-2.

88. Рапопорт СИ. Хрономедицина, циркадианные ритмы. Кому это нужно? Клиническая медицина. 2012;8:73-5.

89. Рапопорт СИ, Голиченко ВА, редакторы. Мелатонин: теория и практика. Москва: Медпрактика-М; 2009. 99 с.

90. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: Медиа Сфера; 2006. 312 с.

91. Сивухина ЕВ. Крупноклеточные ядра гипоталамуса при хронической алкогольной интоксикации (экспериментальное и клинико-морфологическое исследование): автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология», 14.00.15 «Патологическая анатомия» / ЕВ Сивухина. Волгоград; 2004. 20 с.

92. Сметанюк ОВ, Булик РЄ, Булик ТС, Кривчанська МІ. Вплив світлової депривації на морфо-функціональний стан нейронів надзорних ядер гіпоталамуса щурів. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2020;19(4):61-7. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.4.74.2020.9>

93. Сметанюк ОВ, Булик РЄ, Власова КВ, Волошин ВЛ. Морфо-функціональна активність нейронів надзорних ядер гіпоталамуса щурів під дією стресу. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2019;18(3):121-6. doi:<https://doi.org/10.24061/1727-0847.18.3.2019.23>

94. Сметанюк ОВ. Характер змін активності великоклітинних ядер гіпоталамуса щурів за модифікації фотоперіоду. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2021;20(4):87-92.

95. Смирнов АВ. Структурно-функциональные механизмы адаптации гипоталамуса и продолговатого мозга растущего организма к стрессовым воздействиям : автореф. дис. на соискание ученой степени докт. мед. наук : спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология» / А. В. Смирнов. Волгоград; 2008. 27 с.

96. Соловьев ИА, Добровольская ЕВ, Москалев АА. Генетический контроль циркадных ритмов и старение. *Генетика*. 2016;52(4):393-412.

97. Солодовников ВВ. Структурно-функциональные особенности сократительных и проводящих кардиомиоцитов крыс в аспекте гипоталамической нонапептидергической регуляции (экспериментально-гистологическое) исследование : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология» / В. В. Солодовников. Оренбург; 2009: 21 с.

98. Степанчук ВВ. Порухення циркадіанної організації хроноритмів вільнорадикального гомеостазу внаслідок одногодинного іммобілізаційного стресу та їх корекція фітомелатоніном. Клінічна та експериментальна патологія. 2018;17(3 Ч 2):119-24. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.169>

99. Тимофій ОВ. Патогенез порушень гіпоталамо-епіфізарних взаємовідносин, індукованих змінами фотоперіоду [дисертація]. Чернівці; 2016. 198 с.

100. Тимченко АН. Основы биоритмологии: учеб.-метод. пособ. Харьков; 2012. 148 с.

101. Френкель ЮД. NO-залежні механізми розладів окиснювального метаболізму головного мозку щурів при порушенні утворення мелатоніну [дисертація]. Миколаїв; 2015. 148 с.

102. Хавинсон ВХ. Единый механизм пептидной регуляции экспрессии генов и синтеза белков в живой природе. Вестник восстановительной медицины. 2017;1:60–2.

103. 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.

104. Хайдаров АК. Влияние холино-адаптивных веществ на электрическую активность гипоталамуса и сенсомоторной коры : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук : спец. 03.00.13 «Физиология человека и животных» / А. К Хайдаров. Душанбе; 2000. 22 с.

105. Хильков ТН, Матвеева ЮП, Айзиков ДЛ, Виноградова ИА. Влияние нарушения светового режима в антенатальный и постнатальный периоды на продолжительность жизни самок крыс. В: Сборник науч. трудов II Российского симпозиума с междунар. участием Световой режим, старение и рак; 2013 Окт 17-19; Петрозаводск. Петрозаводск; 2013, с. 308-12.

106. Хлебников ВВ. Возрастная модуляция фенотипической пластичности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при хроническом действии стрессоров [автореферат]. Волгоград; 2010. 26 с.

107. Хлебников ВВ, Кузнецов СЛ, Чернов ДА, Агрышков АМ, Ахмад А, Нор-Ашикин МНК, и др. Возрастные особенности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при хроническом гетеротипическом стрессе. Морфология. 2015;147(1):15-20.

108. Хужахметова ЛК, Беляева ММ, Теплый ДЛ, Бажанова ЕД. Роль α -токоферола и циклоферона в регуляции апоптоза нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса и пинеалоцитов при стрессе и старении. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2019;55(5):331-8. doi: 10.1134/S0044452919050097

109. Цфасман АЗ, Горохов ВД, Алпаев ДВ. Суточный ритм мелатонина при депривации ночного сна. Проблемы эндокринологии. 2013;59(2):40-4. doi:10.14341/probl201359240-44

110. Чеботар ЛД, Ларичева ОМ, Пшиченко ВВ. Органні ефекти мелатоніну. Миколаїв: Іліон; 2018. 235 с.

111. Чернышева МП. Циркадианные осцилляторы и гормоны. Цитология. 2013;55(11):761-77.

112. Черниговская ЕВ. Внутриклеточные механизмы регуляции биосинтеза вазопрессина: автореф. дис. на соискание ученой степени докт. биол. наук : 03.03.01 «Физиология» / Е. В. Черниговская. СПб.; 2010. 26 с.

113. Шаменко ВА. Морфогистохимическая характеристика нейронов супраоптического ядра гипоталамуса крыс при действии прерывистой гипоксии. Научный фонд "Биолог". 2014;4:29-32.

114. Шараевская МВ. Морфологические аспекты взаимодействия гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной и тиреоидной осей при хроническом стрессе [автореферат]. Волгоград; 2011. 25 с.

115. Шатило ВБ, Бондаренко ЕВ, Антонюк-Щеглова ИА. Особенности мелатонинообразующей функции эпифиза у больных пожилого возраста с гипертонической болезнью. Успехи геронтологии. 2010; 23 (4):539–42.

116. Швецова НГ. Сезонная динамика свободнорадикальных процессов и морфо-функционального состояния нейроэндокринной системы в норме и в условиях кадмиевой интоксикации: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук : 03.03.01 «Физиология» / Н. Г. Швецова. Астрахань; 2013. 20 с.

117. Юнаш ВД. Влияние светового режима и препаратов эпифиза на физическую работоспособность крыс при старении [автореферат]. Санкт-Петербург; 2011. 24 с.

118. Abeysuriya RG, Lockley SW, Robinson PA, Postnova S. A unified model of melatonin, 6-sulfatoxymelatonin, and sleep dynamics. J Pineal Res [Internet]. 2018 [cited 2021Jul29];64(4):e12474. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/am-pdf/10.1111/jpi.12474doi:10.1111/jpi.12474>

119. Adler P, Chiang CK, MayneJ, Ning Z, Zhang X, Xu B,et al.Aging Disrupts the Circadian Patterns of Protein Expression in the Murine Hippocampus. Front Aging Neurosci[Internet]. 2020[cited 2021Aug05];11:368. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6974521/pdf/fnagi-11-00368.pdfdoi:10.3389/fnagi.2019.00368>

120. Acosta-Rodríguez VA, Rijo-Ferreira F, Green CB, Takahashi JS.Importance of circadian timing for aging and longevity. Nat Commun [Internet]. 2021[cited 2021Jun22];12(1):2862. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8129076/pdf/41467_2021_Article_22922.pdfdoi:10.1038/s41467-021-22922-6

121. Albrecht U.Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks.Neuron. 2012;74(2):246-60. doi:10.1016/j.neuron.2012.04.006

122. Al-Safadi S, Al-Safadi A, Branchaud M, Rutherford S, Dayanandan A, Robinson B, et al.Stress-induced changes in the expression of the clock protein PERIOD1 in the rat limbic forebrain and hypothalamus: role of stress type, time of

day, and predictability. PLoS One[Internet]. 2014[cited 2021Aug02];9(10):e111166. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4206498/pdf/pon0111166.pdf> doi:10.1371/journal.pone.0111166

123. Anisimov VN, Vinogradova IA, Panchenko AV, Popovich IG, Zabezhinski MA. Light-atnight-induced circadian disruption, cancer and aging. *Curr Aging Sci*. 2012;5(3):170-7.doi:10.2174/1874609811205030002

124. ArutjunyanA, Kozina L, Milyutina Y, Korenevsky A, Stepanov M, Arutyunov V.Melatonin and pineal gland peptides are able to correct the impairment of reproductive cycles in rats. *Curr Aging Sci*. 2012;5(3):178-85. doi:10.2174/1874609811205030003

125. Ayyar VS, Sukumaran S.Circadian rhythms: influence on physiology, pharmacology, and therapeutic interventions. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2021;48(3):321-38. doi:10.1007/s10928-021-09751-2

126. Baloyannis S, Gordeladze J, editors.Hypothalamus in Health and Diseases. London:IntechOpen Limited; 2018. Chapters 3, Meira e Cruz M, Laranjo SM, Rocha I. Hypothalamic Control of Sleep-Wake Circadian Cycle. doi:10.5772/intechopen.79899

127. BassoA, Bello GD, Piacenza F, Giacconi R, Costarelli L, Malavolta M.Circadian rhythms of body temperature and locomotor activity in aging BALB/c mice: early and late life span predictors.Biogerontology. 2016;17(4):703-14. doi:10.1007/s10522-016-9635-y

128. Bedont JL,Blackshaw S.Constructing the suprachiasmatic nucleus: a watch maker's perspective on the central clock works. *Front Syst Neurosci* [Internet]. 2015[cited 2021Jun17];9:74. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4424844/pdf/fnsys-09-00074.pdf>doi:10.3389/fnsys.2015.00074

129. BedontJL, NewmanEA, BlackshawS.Patterning, specification, and differentiation in the developing hypothalamus.*Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2015;4(5):445-68. doi:10.1002/wdev.187

130. Bedont JL, Rohr KE, Bathini A, Hattar S, Blackshaw S, Sehgal A, et al. Asymmetric vasopressin signaling spatially organizes the master circadian clock. *J Comp Neurol*. 2018;526(13):2048-67. doi:10.1002/cne.24478
131. Begemann K, Neumann AM, Oster H. Regulation and function of extra-SCN circadian oscillators in the brain. *Acta Physiologica*[Internet]. 2020[cited 2021Jul11];229(1):e13446. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/apha.13446>doi: 10.1111/apha.13446
132. Ben-Hamo M, Larson TA, Duge LS, Sikkema C, Wilkinson CW, de la Iglesia HO, et al. Circadian Forced Desynchrony of the Master Clock Leads to Phenotypic Manifestation of Depression in Rats. *eNeuro*[Internet]. 2017[cited 2021Aug01];3(6):ENEURO.0237-16.2016. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5216685/pdf/ENEURO.0237-16.2016.pdf> doi:10.1523/ENEURO.0237-16.2016
133. Besing RC, Paul JR, Hablitz LM, Rogers CO, Johnson RL, Young ME, et al. Circadian rhythmicity of active GSK3 isoforms modulates molecular clock gene rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *J Biol Rhythms*. 2015;30(2):155-60. doi:10.1177/0748730415573167
134. Besing RC, Rogers CO, Paul JR, Hablitz LM, Johnson RL, McMahon LL, et al. GSK3 activity regulates rhythms in hippocampal clock gene expression and synaptic plasticity. *Hippocampus*. 2017;27(8):890-8. doi:10.1002/hipo.22739
135. Bollinger T, Schibler U. Circadian rhythms—from genes to physiology and disease. *Swiss Med Wkly*[Internet]. 2014[cited 2021Jul11];144: w13984. Available from: <https://smw.ch/article/doi/smw.2014.13984> doi:10.4414/smw.2014.13984
136. Bondarenko LA, Sotnik NN, Chagovets EM, Sergienko LY, Cherevko AN. Intensity of in vitro incorporation of 3H-melatonin in the thyroid gland of rabbits with pineal gland hypofunction. *Bull Exp Biol Med*. 2011;150(6):753-5. doi:10.1007/s10517-011-1241-z
137. Bonmati-Carrion MA, Arguelles-Prieto R, Martinez-Madrid MJ, Reiter R, Hardeland R, Rol MA, et al. Protecting the melatonin rhythm through circadian

healthy light exposure. *Int J Mol Sci.* 2014;15(12):23448-500. doi: 10.3390/ijms151223448

138. Brancaccio M, Enoki R, Mazuski CN, Jones J, Evans JA, Azzi A. Network-Mediated Encoding of Circadian Time: The Suprachiasmatic Nucleus (SCN) from Genes to Neurons to Circuits, and Back. *J Neurosci.* 2014;34(46):15192-9. doi:10.1523/JNEUROSCI.3233-14.2014

139. Brasil TFS, Lopes-Azevedo S, Belém-Filho IJA, Fortaleza EAT, Antunes-Rodrigues J, Corrêa FMA. The Dorsomedial Hypothalamus Is Involved in the Mediation of Autonomic and Neuroendocrine Responses to Restraint Stress. *Front Pharmacol [Internet].* 2020[cited 2021 Jul 29];10:1547. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6989482/pdf/fphar-10-01547.pdf> doi: 10.3389/fphar.2019.01547

140. Buijink MR, Ruiz MA G, Hernández RM, Cortés BR. The suprachiasmatic nucleus; a responsive clock regulating homeostasis by daily changing the setpoints of physiological parameters. *Auton Neurosci.* 2019;218:43-50. doi:10.1016/j.autneu.2019.02.001

141. Buijink MR, Michel S. A multi-level assessment of the bidirectional relationship between aging and the circadian clock. *J Neurochem.* 2021;157(1):73-94. doi:10.1111/jnc.15286

142. Buijs FN, León-Mercado L, Guzmán-Ruiz M, Guerrero-Vargas NN, Romo-Nava F, Buijs RM. The Circadian System: A Regulatory Feedback Network of Periphery and Brain. *Physiology (Bethesda).* 2016;31(3):170-81. doi:10.1152/physiol.00037.2015

143. Bulyk RYe, Abramov AV, Bulyk TS, Kryvchanska MI, Vlasova KV. The effects of melatonin on the activity of the c-fos gene in the structures of the hypothalamic paraventricular nucleus under prolonged lighting. *Regulatory Mechanisms in Biosystems.* 2018;9(2):131-4. doi:10.15421/021819

144. Bulyk RE, Vasilenko DA, Pishak VP, Timofey OV. Neurons of the Paraventricular Hypothalamic Nucleus Under Normal and Modified Illumination

Conditions: Immunohistochemical and Morphometric Parallels. *Neurophysiology*. 2012;44(1):26-32. doi:10.1007/s11062-012-9263-3

145. Bussi IL, Sanchez REA, de la Iglesia HO. Vasopressin Neurons: Master Integrators of Time and Homeostasis. *Trends Neurosci*. 2020;43(11):839-41. doi:10.1016/j.tins.2020.08.007

146. Chen R, Weitzner AS, McKennon LA, Fonken LK. Light at night during development in mice has modest effects on adulthood behavior and neuroimmune activation. *Behav Brain Res*[Internet]. 2021[cited 2021Jul10];405:113171. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166432821000589?via%3Dihubdoi:10.1016/j.bbr.2021.113171>

147. Cho YM, Ryu SH, Lee B R, Kim KH, Lee E, Choi J. Effects of artificial light at night on human health: A literature review of observational and experimental studies applied to exposure assessment. *Chronobiol Int*. 2015;32(9):1294-310. doi:10.3109/07420528.2015.1073158

148. Chun LE, Woodruff ER, Morton S, Hinds LR, Spencer RL. Variations in Phase and Amplitude of Rhythmic Clock Gene Expression across Prefrontal Cortex, Hippocampus, Amygdala, and Hypothalamic Paraventricular and Suprachiasmatic Nuclei of Male and Female Rats. *J Biol Rhythms*. 2015;30(5):417-36. doi:10.1177/0748730415598608

149. Cipolla-Neto J, do Amaral FG. Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocr Rev*. 2018;39(6):990-1028. doi:10.1210/er.2018-00084

150. Coomans CP, Ramkisoensing A, Meijer JH. The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock. *Front Neuroendocrinol*. 2015;37:29-42. doi:10.1016/j.yfrne.2014.11.002

151. Costa SSF, Robinson-Rechavi M, Ripperger JA. Single-cell transcriptomics allows novel insights into aging and circadian processes. *Brief Funct Genomics*. 2020;19(5-6):343-9. doi: 10.1093/bfpg/elaa014

152. Costa SSF, Ripperger JA. Impact of the circadian clock on the aging process. *Front Neurol*[Internet]. 2015[cited 2021Jul14];6:43. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4351613/pdf/fneur-06-00043.pdf>
doi: 10.3389/fneur.2015.00043

153. Deats SP, Adidharma W, Yan L. Hypothalamic dopaminergic neurons in an animal model of seasonal affective disorder. *Neurosci Lett*. 2015;602:17-21. doi:10.1016/j.neulet.2015.06.038

154. Deibel SH, Zelinski EL, Keeley RJ, Kovalchuk O, McDonald RJ. Epigenetic alterations in the suprachiasmatic nucleus and hippocampus contribute to age-related cognitive decline. *Oncotarget*. 2015;6(27):23181-203. doi:10.18632/oncotarget.4036

155. de Miera CS, Sage-Ciocca D, Simonneaux V, Pévet P, Monecke S. Melatonin-independent Photoperiodic Entrainment of the Circannual TSH Rhythm in the Pars Tuberalis of the European Hamster. *J Biol Rhythms*. 2018;33(3):302-17. doi:10.1177/0748730418766601

156. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Text with EEA relevance. *O. J. L* 276. 53, 20.10.2010:33–79.

157. Dorofeeva NA, Chernigovskaya EV, Nikitina LS, Glazova M. Effect of p53 inhibition by pifithrin-alfa on functional activity of vasopressin neurones in rat hypothalamus. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2013;99(8):901-16.

158. Erren TC, Reiter RJ. Melatonin: a universal time messenger. *Neuro Endocrinol Lett*. 2015;36(3):187-92.

159. Farajnia S, Deboer T, Rohling JHT, Meijer JH, Michel S. Aging of the suprachiasmatic clock. *Neuroscientist*. 2014;20(1):44-55. doi:10.1177/1073858413498936

160. Farajnia S, Michel S, Deboer T, van der Leest HT, Houben T, Rohling JHT. Evidence for neuronal desynchrony in the aged suprachiasmatic nucleus clock. *J Neurosci*. 2012;32(17):5891-9. doi:10.1523/JNEUROSCI.0469-12.2012

161. Fernandez F, Lu D, Ha P, Costacurta P, Chavez R, Heller HC, et al. Dysrhythmia in the suprachiasmatic nucleus inhibits memory processing. *Science*. 2014;346(6211):854-7. doi:10.1126/science.1259652
162. Finger AM, Dibner C, Kramer A. Coupled network of the circadian clocks: a driving force of rhythmic physiology. *FEBS Lett*. 2020;594(17):2734-69. doi: 10.1002/1873-3468.13898
163. Fonken LK, Aubrecht TG, Meléndez-Fernández OH, Weil ZM, Nelson RJ. Dim light at night disrupts molecular circadian rhythms and increases body weight. *J Biol Rhythms*. 2013;28(4):262-71. doi:10.1177/0748730413493862
164. Fonken LK, Nelson RJ. The Effects of Light at Night on Circadian Clocks and Metabolism. *Endocrine Reviews*. 2014;35(4):648–70. doi:10.1210/er.2013-1051
165. Foster RG. Sleep, circadian rhythms and health. *Interface Focus* [Internet]. 2020[cited 2021Jul30];10(3):20190098. Available from: [https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7202392/pdf/rsfs20190098.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7202392/pdf/rsfs20190098.pdf) doi: 10.1098/ rsfs.2019.0098
166. Foster RG, Kreitzman L. The rhythms of life: what your body clock means to you! *Exp Physiol*. 2014;99(4):599-606. doi:10.1113/expphysiol.2012.071118
167. Froy O. Circadian aspects of energy metabolism and aging. *Ageing Res Rev*. 2013;12(4):931-40. doi:10.1016/j.arr.2013.09.002
168. Froy O. Circadian rhythms, aging, and life span in mammals. *Physiology (Bethesda)*. 2011;26(4):225-35. doi:10.1152/physiol.00012.2011
169. Gall AJ, Shuboni DD, Yan L, Nunez AA, Smale L. Suprachiasmatic Nucleus and Subparaventricular Zone Lesions Disrupt Circadian Rhythmicity but Not Light-Induced Masking Behavior in Nile Grass Rats. *J Biol Rhythms*. 2016;31(2):170-81. doi:10.1177/0748730415626251
170. Garbazza C, Benedetti F. Genetic Factors Affecting Seasonality, Mood, and the Circadian Clock. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018[cited 2021Aug01];9:481. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6115502/pdf/fendo-09-00481.pdf> doi:10.3389/fendo.2018.00481

171. Gheban BA, Rosca IA, Crisan M. The morphological and functional characteristics of the pineal gland. *Med Pharm Rep.* 2019;92(3):226-34. doi:10.15386/mpr-1235
172. Girardet C, Becquet D, Blanchard MP, François-Bellan AM, Bosler O. Neuroglial and synaptic rearrangements associated with photic entrainment of the circadian clock in the suprachiasmatic nucleus. *Eur J Neurosci.* 2010;32(12):2133-42. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07520.x
173. Gizowski C, Trudel E, Bourque CW. Central and peripheral roles of vasopressin in the circadian defense of body hydration. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2017;31(6):535-46. doi:10.1016/j.beem.2017.11.001
174. Gizowski C, Zaelzer C, Bourque CW. Clock-driven vasopressin neurotransmission mediates anticipatory thirst prior to sleep. *Nature.* 2016;537(7622):685-8. doi:10.1038/nature19756
175. Gorman MR. Temporal organization of pineal melatonin signaling in mammals. *Mol Cell Endocrinol.* 2020;503:110687. doi:10.1016/j.mce.2019.110687
176. Grone BP, Chang D, Bourgin P, Cao V, Fernald RD, Heller HC, et al. Acute light exposure suppresses circadian rhythms in clock gene expression. *J Biol Rhythms.* 2011;26(1):78-81. doi:10.1177/0748730410388404
177. Halmos T, Suba I. Physiological and pathophysiological role of the circadian clock system. *Orv Hetil.* 2012;153(35):1370-9. doi:10.1556/oh.2012.29436
178. Hannay KM, Forger DB, Booth V. Seasonality and light phase-resetting in the mammalian circadian rhythm. *Sci Rep* [Internet]. 2020[cited 2021 Jul 18]; 10(1):19506. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-74002-2> doi:10.1038/s41598-020-74002-2
179. Haridas S, Kumar M, Manda K. Melatonin ameliorates chronic mild stress induced behavioral dysfunctions in mice. *Physiol Behav.* 2013;119:201-7. doi:10.1016/j.physbeh.2013.06.015
180. Hastings MH, Brancaccio M, Maywood ES. Circadian pacemaking in cells and circuits of the suprachiasmatic nucleus. *J Neuroendocrinol.* 2014;26(1):2-10. doi:10.1111/jne.12125

181. Hastings MH, Maywood ES, Brancaccio M. Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Nat Rev Neurosci.* 2018;19(8):453-69. doi:10.1038/s41583-018-0026-z
182. Hastings MH, Smyllie NJ, Patton AP. Molecular-genetic Manipulation of the Suprachiasmatic Nucleus Circadian Clock. *J Mol Biol.* 2020;432(12):3639-60. doi:10.1016/j.jmb.2020.01.019
183. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. *Compr Physiol.* 2016;6(2):603-21. doi:10.1002/cphy.c150015
184. Herzog ED, Hermansteyne T, Smyllie NJ, Hastings MH. Regulating the Suprachiasmatic Nucleus (SCN) Circadian Clockwork: Interplay between Cell-Autonomous and Circuit-Level Mechanisms. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2017 [cited 2021Jul18];9(1):a027706. Available from: [https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5204321/pdf/cshperspect-CIR-a027706.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5204321/pdf/cshperspect-CIR-a027706.pdf) doi:10.1101/cshperspect.a027706
185. Honma S. Development of the mammalian circadian clock. *Eur J Neurosci.* 2020;51(1):182-93. doi:10.1111/ejn.14318
186. Honma S. The mammalian circadian system: a hierarchical multi-oscillator structure for generating circadian rhythm. *J Physiol Sci.* 2018;68(3):207-19. doi:10.1007/s12576-018-0597-5
187. Honma S, Ono D, Suzuki Y, Inagaki N, Yoshikawa T, Nakamura W, et al. Suprachiasmatic nucleus: cellular clocks and networks. *Prog Brain Res.* 2012;199:129-41. doi:10.1016/B978-0-444-59427-3.00029-0
188. Hood S, Amir S. The aging clock: circadian rhythms and later life. *J Clin Invest.* 2017;127(2):437-46. doi:10.1172/JCI90328
189. Houdek P, Nováková M, Polidarová L, Sládek M, Sumová A. Melatonin is a redundant entraining signal in the rat circadian system. *Horm Behav.* 2016;83:1-5. doi:10.1016/j.yhbeh.2016.05.006
190. Husse J, Leliavski A, Tsang AH, Oster H, Eichele G. The light-dark cycle controls peripheral rhythmicity in mice with a genetically ablated

suprachiasmatic nucleus clock. *FASEB J.* 2014;28(11):4950-60. doi:10.1096/fj.14-256594

191. Jasnic N, Djordjevic J, Vujovic P, Lakic I, Djurasevic S, Cvijic G. The effect of vasopressin 1b receptor (V1bR) blockade on HPA axis activity in rats exposed to acute heat stress. *J Exp Biol.* 2013;216(Pt 12):2302-7. doi:10.1242/jeb.082842

192. Jenwitheesuk A, Nopparat C, Mukda S, Wongchitrat P, Govitrapong P. Melatonin regulates aging and neurodegeneration through energy metabolism, epigenetics, autophagy and circadian rhythm pathways. *Int J Mol Sci.* 2014;15(9):16848-84. doi:10.3390/ijms150916848

193. Jha PK, Bouâouda H, Kalsbeek A, Challet E. Distinct feedback actions of behavioural arousal to the master circadian clock in nocturnal and diurnal mammals. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;123:48-60. doi:10.1016/j.neubiorev.2020.12.011

194. Jockers R, Delagrange P, Dubocovich ML, Markus RP, Renault N, Tosini G, et al. Update on melatonin receptors: IUPHAR Review 20. *Br J Pharmacol.* 2016;173(18):2702-25. doi: 10.1111/bph.13536

195. Kalsbeek A, Fliers E, Hofman MA, Swaab DF, Buijs RM. Vasopressin and the output of the hypothalamic biological clock. *J Neuroendocrinol.* 2010;22(5):362-72. doi:10.1111/j.1365-2826.2010.01956.x

196. Kalsbeek A, van der Spek R, Lei J, Endert E, Buijs RM, Fliers E. Circadian rhythms in the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;349(1):20-9. doi: 10.1016/j.mce.2011.06.042

197. Kassi EN, Chrousos GP. The central CLOCK system and the stress axis in health and disease. *Hormones (Athens).* 2013;12(2):172-91. doi:10.14310/horm.2002.1402

198. Keijzer H, Smits MG, Duffy JF, Curfs LMG. Why the dim light melatonin onset (DLMO) should be measured before treatment of patients with circadian rhythm sleep disorders. *Sleep Med Rev.* 2014;18(4):333-9. doi:10.1016/j.smr.2013.12.001

199. Khodasevich D, Tsui S, Keung D, Skene DJ, Revell V, Martinez ME. Characterizing the modern light environment and its influence on circadian rhythms. *Proc Biol Sci*[Internet]. 2021[cited 2021Aug10]; 288(1955): 20210721. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8292753/pdf/rspb.2021.0721.pdf>doi:10.1098/rspb.2021.0721

200. Khomenko VG, Dikal MC, Kushniryk OV. Melatonin – as the pineal gland product in regulation of physiological functions of the organism. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2018;17(3):119-24. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.173>

201. 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 Aug04]; 9(3):e92959. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962469/pdf/pone.0092959.pdf> doi: 10.1371/journal.pone.0092959

202. Kim TW, Jeong JH, Hong SC. The Impact of Sleep and Circadian Disturbance on Hormones and Metabolism. *Int J Endocrinol*[Internet]. 2015[cited 2021Jul21];2015:ID591729. Available from: <https://downloads.hindawi.com/journals/ije/2015/591729.pdf>doi: 10.1155/2015/591729

203. Korf HW. Signaling pathways to and from the hypophysial pars tuberalis, an important center for the control of seasonal rhythms. *Gen Comp Endocrinol*. 2018;258:236-43. doi:10.1016/j.ygcen.2017.05.011

204. Koshimizu T, Nakamura K, Egashira N, Hiroyama M, Nonoguchi H, Tanoue A. Vasopressin V1a and V1b receptors: from molecules to physiological systems. *Physiol Rev*. 2012;92(4):1813-64. doi:10.1152/physrev.00035.2011

205. Kozaki T, Kubokawa A, Taketomi R, Hatae K. Effects of day-time exposure to different light intensities on light-induced melatonin suppression at night. *J Physiol Anthropol*[Internet]. 2015[cited 2021Jul17];34(1):27. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4491270/pdf/40101_2015_Article_67.pdf doi:10.1186/s40101-015-0067-1

206. Kozaki T, Kubokawa A, Taketomi R, Hatae K. Light-induced melatonin suppression at night after exposure to different wavelength composition of morning light. *Neurosci Lett*. 2016;616:1-4. doi:10.1016/j.neulet.2015.12.063
207. Kubišťová A, Spišská V, Petrželková L, Hrubcová L, Moravcová S, Maierová L, et al. Constant Light in Critical Postnatal Days Affects Circadian Rhythms in Locomotion and Gene Expression in the Suprachiasmatic Nucleus, Retina, and Pineal Gland Later in Life. *Biomedicines* [Internet]. 2020 [cited 2021Aug05];8(12):579. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7762254/pdf/biomedicines-08-00579.pdf> doi:10.3390/biomedicines8120579
208. Kwapis JL, Alaghband Y, Kramár EA, López AJ, Ciernia AV, White AO, et al. Epigenetic regulation of the circadian gene *Per1* contributes to age-related changes in hippocampal memory. *Nat Commun* [Internet]. 2018 [cited 2021Jun27]; 9(1):3323. doi: Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6102273/pdf/41467_2018_Article_5868.pdf doi: 10.1038/s41467-018-05868-0
209. Lacoste B, Angeloni D, Dominguez-Lopez S, Calderoni S, Mauro A, Fraschini F, et al. Anatomical and cellular localization of melatonin MT1 and MT2 receptors in the adult rat brain. *J Pineal Res*. 2015;58(4):397-417. doi:10.1111/jpi.12224
210. Landgraf D, Long JE, Proulx CD, Barandas R, Malinow R, Welsh DK. Genetic Disruption of Circadian Rhythms in the Suprachiasmatic Nucleus Causes Helplessness, Behavioral Despair, and Anxiety-like Behavior in Mice. *Biol Psychiatry*. 2016;80(11):827-35. doi:10.1016/j.biopsych.2016.03.1050
211. Landgraf D, McCarthy MJ, Welsh DK. Circadian clock and stress interactions in the molecular biology of psychiatric disorders. *Curr Psychiatry Rep* [Internet]. 2014 [cited 2021Aug03];16(10):483. Available from: <https://escholarship.org/uc/item/48j82570> doi: 10.1007/s11920-014-0483-7
212. Leach G, Ramanathan C, Langel J, Yan L. Responses of brain and behavior to changing day-length in the diurnal grass rat (*Arvicanthis niloticus*). *Neuroscience*. 2013;234:31-9. doi:10.1016/j.neuroscience.2013.01.002

213. Lee IT, Chang AS, Manandhar M, Shan Y, Fan J, Izumo M, et al. Neuromedin s-producing neurons act as essential pacemakers in the suprachiasmatic nucleus to couple clock neurons and dictate circadian rhythms. *Neuron*. 2015;85(5):1086-102. doi:10.1016/j.neuron.2015.02.006

214. LeGates TA, Fernandez DC, Hattar S. Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect. *Nat Rev Neurosci*. 2014;15(7):443-54. doi:10.1038/nrn3743

215. Lépinay J, Taragnat C, Dubois JP, Chesneau D, Jockers R, Delagrange P, et al. Negative regulation of melatonin secretion by melatonin receptors in ovine pinealocytes. *PLoS One* [Internet]. 2021[cited 2021Jul30];16(7):e0255249. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8320996/pdf/pone.0255249.pdf>doi:10.1371/journal.pone.0255249

216. Libert S, Bonkowski MS, Pointer K, Pletcher SD, Guarente L. Deviation of innate circadian period from 24 h reduces longevity in mice. *Aging Cell*. 2012;11(5):794-800. doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00846.x

217. Ling HH, Beaulé C, Chiang CK, Tian R, Figeys D, Cheng HYM. Time-of-day- and light-dependent expression of ubiquitin protein ligase E3 component N-recogin 4 (UBR4) in the suprachiasmatic nucleus circadian clock. *PLoS One* [Internet]. 2014 [cited 2021Jul10];9(8):e103103. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4118842/pdf/pone.0103103.pdf>doi:10.1371/journal.pone.0103103

218. Liu F, Chang HC. Physiological links of circadian clock and biological clock of aging. *Protein Cell*. 2017;8(7):477-88. doi:10.1007/s13238-016-0366-2

219. Logan RW, McClung CA. Rhythms of life: circadian disruption and brain disorders across the lifespan. *Nat Rev Neurosci*. 2019;20(1):49-65. doi:10.1038/s41583-018-0088-y

220. Lomakina YuV, Bulyk RYe. Correction by peptide bioregulators of micro-and ultramicroscopic changes in the pineal gland caused by stress under light deprivation. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2015;14(3):85-9. doi:<https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIV.3.53.2015.20>

221. Lopes-Azevedo S, Fortaleza EAT, Busnardo C, Scopinho AA, Matthiesen M, Antunes-Rodrigues J, et al. The Supraoptic Nucleus of the Hypothalamus Modulates Autonomic, Neuroendocrine, and Behavioral Responses to Acute Restraint Stress in Rats. *Neuroendocrinology*. 2020;110:10-22. doi:10.1159/000500160

222. Lovelock DF, Deak T. Acute stress imposed during adolescence has minimal effects on hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis sensitivity in adulthood in female Sprague Dawley rats. *Physiol Behav*[Internet]. 2020[cited 2021May30];213:112707. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6885129/pdf/nihms-1542929.pdf>doi: 10.1016/j.physbeh.2019.112707

223. Maejima T, Tsuno Y, Miyazaki S, Tsuneoka Y, Hasegawa E, Islam T, et al. GABA from vasopressin neurons regulates the time at which suprachiasmatic nucleus molecular clocks enable circadian behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* [Internet]. 2021 [cited 2021Aug01];118(6):e2010168118. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8017960/pdf/pnas.202010168.pdf> doi:10.1073/pnas.2010168118

224. Manchester LC, Coto-Montes A, Boga JA, Andersen LPH, Zhou Z, Galano A, et al. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *J Pineal Res*. 2015;59(4):403-19. doi: 10.1111/jpi.12267

225. Mattam U, Jagota A. Daily rhythms of serotonin metabolism and the expression of clock genes in suprachiasmatic nucleus of rotenone-induced Parkinson's disease male Wistar rat model and effect of melatonin administration. *Biogerontology*. 2015;16(1):109-23. doi: 10.1007/s10522-014-9541-0

226. Mattam U, Jagota A. Differential role of melatonin in restoration of age-induced alterations in daily rhythms of expression of various clock genes in suprachiasmatic nucleus of male Wistar rats. *Biogerontology*. 2014;15(3):257-68. doi:10.1007/s10522-014-9495-2

227. Mays JC, Kelly MC, Coon SL, Holtzclaw L, Rath MF, Kelley MW, et al. Single-cell RNA sequencing of the mammalian pineal gland identifies two pinealocyte subtypes and cell type-specific daily patterns of gene expression. *PLoS*

One[Internet]. 2018[cited 2021Aug03];13(10):e0205883. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6197868/pdf/pone.0205883.pdf> doi: 10.1371/journal.pone.0205883

228. McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, et al. Mechanisms of stress in the brain. *Nat Neurosci*. 2015;18(10):1353-63. doi:10.1038/nn.4086

229. McGowan NM, Coogan AN. Circadian and behavioural responses to shift work-like schedules of light/dark in the mouse. *Journal of Molecular Psychiatry* [Internet]. 2013[cited 2021Jul11];1:7. Available from: <https://jmolcularpsychiatry.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/2049-9256-1-7.pdf> doi: 10.1186/2049-9256-1-7

230. Mendoza J. Nighttime Light Hurts Mammalian Physiology: What Diurnal Rodent Models Are Telling Us. *Clocks Sleep*. 2021;3(2):236-50. doi:10.3390/clockssleep3020014

231. Mermet J, Yeung J, Naef F. Systems Chronobiology: Global Analysis of Gene Regulation in a 24-Hour Periodic World. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2017[cited 2021Jul13];9(3):a028720. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5334255/pdf/cshperspect-CIR-a028720.pdf> doi: 10.1101/cshperspect.a028720

232. Mieda M. Neural Mechanisms Underlying the Central Circadian Clock of the Suprachiasmatic Nucleus. *Brain Nerve*. 2020;72(11):1143-50. doi:10.11477/mf.1416201667

233. Mieda M. The central circadian clock of the suprachiasmatic nucleus as an ensemble of multiple oscillatory neurons. *Neurosci Res*. 2020;156:24-31. doi:10.1016/j.neures.2019.08.003

234. Milosavljevic N. How Does Light Regulate Mood and Behavioral State? *Clocks Sleep*. 2019;1(3):319-31. doi:10.3390/clockssleep1030027

235. Morris CJ, Aeschbach D, Scheer FA. Circadian system, sleep and endocrinology. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;349(1):91-104. doi:10.1016/j.mce.2011.09.003

236. Nader N, Chrousos GP, Kino T. Interactions of the circadian CLOCK system and the HPA axis. *Trends Endocrinol Metab.* 2010;21(5):277-86. doi:10.1016/j.tem.2009.12.011
237. Nagashima S, Osawa M, Matsuyama H, Ohoka W, Ahn A, Wakamura T. Bright-light exposure during daytime sleeping affects nocturnal melatonin secretion after simulated night work. *Chronobiol Int.* 2018;35(2):229-39. doi:10.1080/07420528.2017.1394321
238. Nagy AD, Iwamoto A, Kawai M, Goda R, Matsuo H, Otsuka T, et al. Melatonin adjusts the expression pattern of clock genes in the suprachiasmatic nucleus and induces antidepressant-like effect in a mouse model of seasonal affective disorder. *Chronobiol Int.* 2015;32(4):447-57. doi:10.3109/07420528.2014.992525
239. Nakatsuka H, Natsume K. Circadian rhythm modulates long-term potentiation induced at CA1 in rat hippocampal slices. *Neurosci Res.* 2014;80:1-9. doi:10.1016/j.neures.2013.12.007
240. Nicolaides NC, Charmandari E, Kino T, Chrousos GP. Stress-Related and Circadian Secretion and Target Tissue Actions of Glucocorticoids: Impact on Health. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2017[cited 2021 Jul 29];8:70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5408025/pdf/fendo-08-00070.pdf> doi:10.3389/fendo.2017.00070
241. Nicolaides NC, Charmandari E, Chrousos GP, Kino T. Circadian endocrine rhythms: the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and its actions. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;1318:71-80. doi:10.1111/nyas.12464
242. Nishide S, Honma S, Honma KI. Two coupled circadian oscillations regulate Bmal1-ELuc and Per2-SLR2 expression in the mouse suprachiasmatic nucleus. *Sci Rep* [Internet]. 2018[cited 2021 Jun 22];8(1):14765. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-32516-w.pdf> doi: 10.1038/s41598-018-32516-w

243. Okuliarova M, Molcan L, Zeman M. Decreased emotional reactivity of rats exposed to repeated phase shifts of light–dark cycle. *Physiology & Behavior*. 2016;156:16-23. doi:10.1016/j.physbeh.2016.01.003

244. Ono D, Honma KI, Honma S. Circadian and ultradian rhythms of clock gene expression in the suprachiasmatic nucleus of freely moving mice. *Sci Rep*. [Internet]. 2015[cited 2021Jun22];5(1):12310. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep12310.pdf>doi:10.1038/srep12310

245. Ono D, Honma KI, Honma S. GABAergic mechanisms in the suprachiasmatic nucleus that influence circadian rhythm. *J Neurochem*. 2021;157(1):31-41. doi:10.1111/jnc.15012

246. Ono D, Honma KI, Yanagawa Y, Yamanaka A, Honma S. GABA in the suprachiasmatic nucleus refines circadian output rhythms in mice. *Commun Biol* [Internet]. 2019[cited 2021Jun29];2:232. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6588595/pdf/42003_2019_Article_483.pdfdoi:10.1038/s42003-019-0483-6

247. Ono D, Honma S, Nakajima Y, Kuroda S, Enoki R, Honma KI. Dissociation of *Per1* and *Bmal1* circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus in parallel with behavioral outputs. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2017[cited 2021Aug02];114(18):E3699-E3708. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5422828/pdf/pnas.201613374.pdf>doi: 10.1073/pnas.1613374114

248. Ono D, Honma KI, Yanagawa Y, Yamanaka A, Honma S. Role of GABA in the regulation of the central circadian clock of the suprachiasmatic nucleus. *J Physiol Sci*. 2018;68(4):333-43. doi: 10.1007/s12576-018-0604-x

249. Ostrin LA. Ocular and systemic melatonin and the influence of light exposure. *Clin Exp Optom*. 2019;102(2):99-108. doi: 10.1111/cxo.12824

250. Pandi-Perumal SR, BaHammam AS, Brown GM, Spence DW, Bharti VK, Kaur C, et al. Melatonin antioxidative defense: therapeutical implications for aging and neurodegenerative processes. *Neurotox Res*. 2013;23(3):267-300. doi:10.1007/s12640-012-9337-4

251. Park N, Cheon S, Son GH, Cho S, Kim K. Chronic circadian disturbance by a shortened light-dark cycle increases mortality. *Neurobiol Aging*. 2012;33(6):1122. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2011.11.005
252. Partch CL, Green CB, Takahashi JS. Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends Cell Biol*. 2014;24(2):90-9. doi:10.1016/j.tcb.2013.07.002
253. Paschos GK, FitzGerald GA. Circadian clocks and metabolism: Implications for microbiome and aging. *Trends Genet*. 2017;33(10):760-69. doi:10.1016/j.tig.2017.07.010
254. Patke A, Young MW, Axelrod S. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020;21(2):67-84. doi:10.1038/s41580-019-0179-2
255. Patton AP, Hastings MH. The suprachiasmatic nucleus. *Curr Biol* [Internet]. 2018 [cited 2021 Aug 10];28(15):R816-22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982218308431?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.cub.2018.06.052
256. Pévet P. The internal time-giver role of melatonin. A key for our health. *Rev Neurol (Paris)*. 2014;170(11):646-52. doi:10.1016/j.neurol.2014.05.008
257. Pévet P, Challet E. Melatonin: both master clock output and internal time-giver in the circadian clocks network. *J Physiol Paris*. 2011;105(4-6):170-82. doi:10.1016/j.jphysparis.2011.07.001
258. Pshychenko VV, Chernov VS, Phrenkel DYu. Morphological and functional state of extraorganic bloodstream of pineal gland of rats under the chronic stress and illumination. *Deutscher wissenschaftsherold. German Science Herald*. 2016;2:3-5.
259. Pshychenko VV, Chernov VS, Phrenkel DYu. The status of extraorganic blood flow in pineal gland of rats under conditions of acute stress and twenty-four hour darkness. *Deutscher wissenschaftsherold. German Science Herald*. 2017;4:44-6.

260. Pfeffer M, Korf HW, Wicht H. Synchronizing effects of melatonin on diurnal and circadian rhythms. *Gen Comp Endocrinol*. 2018;258:215-21. doi:10.1016/j.ygcen.2017.05.013

261. Pfeffer M, Rauch A, Korf HW, von Gall C. The endogenous melatonin (MT) signal facilitates reentrainment of the circadian system to light-induced phase advances by acting upon MT2 receptors. *Chronobiol Int*. 2012;29(4):415-29. doi:10.3109/07420528.2012.667859

262. Rahman SA, Wright KP Jr, Lockley SW, Czeisler CA, Gronfier C. Characterizing the temporal Dynamics of Melatonin and Cortisol Changes in Response to Nocturnal Light Exposure. *Sci Rep*[Internet]. 2019[cited 2021Jul28]; 9(1):19720. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6928018/pdf/41598_2019_Article_54806.pdf doi: 10.1038/s41598-019-54806-7

263. Reiter RJ, Rosales-Corral S, Sharma R. Circadian disruption, melatonin rhythm perturbations and their contributions to chaotic physiology. *Adv Med Sci*. 2020;65(2):394-402. doi:10.1016/j.advms.2020.07.001

264. Rohr KE, Telega A, Savaglio A, Evans JA. Vasopressin regulates daily rhythms and circadian clock circuits in a manner influenced by sex. *Horm Behav*. 2021;127:104888. doi:10.1016/j.yhbeh.2020.104888

265. Rotondo F, Butz H, Syro LV, Yousef GM, Di Ieva A, Restrepo LM, et al. Arginine vasopressin (AVP): a review of its historical perspectives, current research and multifunctional role in the hypothalamo-hypophysial system. *Pituitary*. 2016;19(4):345-55. doi: 10.1007/s11102-015-0703-0

266. Ruby NF. Suppression of Circadian Timing and Its Impact on the Hippocampus. *Front Neurosci* [Internet]. 2021 [cited 2021Aug02];15:642376. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8060574/pdf/fnins-15-642376.pdf> doi:10.3389/fnins.2021.642376

267. Salter EW, Sunstrum JK, Matovic S, Inoue W. Chronic stress dampens excitatory synaptic gain in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J Physiol*. 2018;596(17):4157-72. doi:10.1113/JP275669

268. Salva MAQ, Hartley S. Mood disorders, circadian rhythms, melatonin and melatonin agonists. *J Cent Nerv Syst Dis.* 2012;4:15-26. doi:10.4137/JCNSD.S4103
269. Sellix MT, Evans JA, Leise TL, Castanon-Cervantes O, Hill DD, DeLisser P, et al. Aging differentially affects the re-entrainment response of central and peripheral circadian oscillators. *J Neurosci.* 2012;32(46):16193-202. doi:10.1523/jneurosci.3559-12.2012
270. Shamenko VO, Kadzharian YeV, Abramov AV. Intermittent hypobaric hypoxia and neuroendocrine reaction of the parvocellular neurons of the paraventricular hypothalamic nucleus. *Патологія.* 2019;16(3):334-8. doi: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.3.188834>
271. Shankar A, Williams CT. The darkness and the light: diurnal rodent models for seasonal affective disorder. *Dis Model Mech*[Internet]. 2021[cited 2021Jun11];14(1):dmm047217. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7859703/> doi: 10.1242/dmm.047217
272. Sharma R, Sahota P, Thakkar MM. Melatonin promotes sleep in mice by inhibiting orexin neurons in the perifornical lateral hypothalamus. *J Pineal Res.* 2018;65(2):e12498. doi:10.1111/jpi.12498
273. ShekharS, Hall JE, Klubo-Gwiedzinska J. The Hypothalamic Pituitary Thyroid Axis and Sleep. *Curr Opin Endocr Metab Res.* 2021;17:8-14. doi:10.1016/j.coemr.2020.10.002
274. Shilovsky GA, Putyatina TS, Morgunova GV, Seliverstov AV, Ashapkin VV, Sorokina EV, et al. A Crosstalk between the Biorhythms and Gatekeepers of Longevity: Dual Role of Glycogen Synthase Kinase-3. *Biochemistry (Mosc).* 2021;86(4):433-48. doi:10.1134/S0006297921040052
275. Silver R, Kriegsfeld LJ. Circadian rhythms have broad implications for understanding brain and behavior. *Eur J Neurosci.* 2014;39(11):1866-80. doi: 10.1111/ejn.12593

276. Sivukhina EV, Jirikowski GF. Magnocellular hypothalamic system and its interaction with the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Steroids*. 2016;111:21-8. doi: 10.1016/j.steroids.2016.01.008
277. Smyllie NJ, Chesham JE, Hamnett R, Maywood ES, Hastings MH. Temporally chimeric mice reveal flexibility of circadian period-setting in the suprachiasmatic nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113(13):3657-62. doi:10.1073/pnas.1511351113
278. Snider KH, Sullivan KA, Obrietan K. Circadian Regulation of Hippocampal-Dependent Memory: Circuits, Synapses, and Molecular Mechanisms. *Neural Plast* [Internet]. 2018[cited 2021Jun29];2018:7292540. Available from: <https://downloads.hindawi.com/journals/np/2018/7292540.pdf>doi: 10.1155/2018/7292540
279. Stauch B, Johansson LC, Cherezov V. Structural insights into melatonin receptors. *FEBS J*. 2020;287(8):1496-510. doi:10.1111/febs.15128
280. Takahashi JS. Molecular components of the circadian clock in mammals. *Diabetes Obes Metab*. 2015;17(Suppl 0 1):6-11. doi:10.1111/ dom.12514
281. Takahashi JS. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat Rev Genet*. 2017;18(3):164-79. doi:10.1038/nrg.2016.150
282. Tan DX, Xu B, Zhou X, Reiter RJ. Pineal Calcification, Melatonin Production, Aging, Associated Health Consequences and Rejuvenation of the Pineal Gland. *Molecules*[Internet]. 2018[cited 2021Aug15];23(2):301. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6017004/pdf/molecules-23-00301.pdf> doi:10.3390/molecules23020301
283. Tapia-Osorio A, Salgado-Delgado R, Angeles-Castellanos M, Escobar C. Disruption of circadian rhythms due to chronic constant light leads to depressive and anxiety-like behaviors in the rat. *Behav Brain Res*. 2013;252:1-9. doi:10.1016/j.bbr.2013.05.028
284. Tonon AC, Pilz LK, Markus RP, Hidalgo MP, Elisabetsky E. Melatonin and Depression: A Translational Perspective From Animal Models to Clinical Studies. *Front Psychiatry*[Internet]. 2021[cited 2021Jul15];12:638981. Available

from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8060443/pdf/fpsyt-12-638981.pdf> doi: 10.3389/fpsyt.2021.638981

285. Tonsfeldt KJ, Chappell PE. Clocks on top: the role of the circadian clock in the hypothalamic and pituitary regulation of endocrine physiology. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;349(1):3-12. doi: 10.1016/j.mce.2011.07.003

286. Touitou Y. Light at night pollution of the internal clock, a public health issue. *Bull Acad Natl Med.* 2015;199(7):1081-98.

287. Touitou Y, Reinberg A, Touitou D. Association between light at night, melatonin secretion, sleep deprivation, and the internal clock: Health impacts and mechanisms of circadian disruption. *Life Sci.* 2017;173:94-106. doi:10.1016/j.lfs.2017.02.008

288. Trivedi AK, Kumar V. Melatonin: an internal signal for daily and seasonal timing. *Indian J Exp Biol.* 2014;52(5):425-37.

289. Trudel E, Bourque CW. Central clock excites vasopressin neurons by waking osmosensory afferents during late sleep. *Nat Neurosci.* 2010;13(4):467-74. doi:10.1038/nn.2503

290. Trudel E, Bourque CW. Circadian modulation of osmoregulated firing in rat supraoptic nucleus neurones. *J Neuroendocrinol.* 2012;24(4):577-86. doi: 10.1111/j.1365-2826.2012.02298.x

291. Tsang AH, Johanna L Barclay, Henrik Oster. Interactions between endocrine and circadian systems. *J Mol Endocrinol* [Internet]. 2014[cited 2021 Aug11];52(1):R1-R16. Available from: <https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/52/1/R1.xml> doi:10.1530/jme-13-0118

292. Tse MT. Blocking vasopressin receptors reduces jet lag. *Nat Rev Drug Discov.* 2013;12(12):903. doi:10.1038/nrd4180

293. Tsigos C, Kyrou I, Kassi E, Chrousos GP. Stress: Endocrine Physiology and Pathophysiology [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText Com Inc; 2020 [cited 2021 Jul 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278995/>

294. Tso CF, Simon T, Greenlaw AC, Puri T, Mieda M, Herzog ED. Astrocytes Regulate Daily Rhythms in the Suprachiasmatic Nucleus and Behavior. *Curr Biol*. 2017;27(7):1055-61. doi:10.1016/j.cub.2017.02.037
295. Vadnie CA, McClung CA. Circadian Rhythm Disturbances in Mood Disorders: Insights into the Role of the Suprachiasmatic Nucleus. *Neural Plast* [Internet]. 2017 [cited 2021Jun16];2017:1504507. Available from: <https://downloads.hindawi.com/journals/np/2017/1504507.pdf>doi:10.1155/2017/1504507
296. Vinogradova IA, Anisimov VN, Bukalev AV, Ilyukha VA, Khizhkin EA, Lotosh TA, et al. Circadian disruption induced by light-at-night accelerates aging and promotes tumorigenesis in young but not in old rats. *Aging (Albany NY)*. 2010;2(2):82-92. doi:10.18632/aging.100120
297. 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
298. Wen S, Ma D, Zhao M, Xie L, Wu Q, Gou L, et al. Spatiotemporal single-cell analysis of gene expression in the mouse suprachiasmatic nucleus. *Nat Neurosci*. 2020;23(3):456-67. doi:10.1038/s41593-020-0586-x
299. Welz PS, Benitah SA. Molecular Connections Between Circadian Clocks and Aging. *J Mol Biol*. 2020;432(12):3661-79. doi:10.1016/j.jmb.2019.12.036
300. Wood S, Loudon A. Clocks for all seasons: unwinding the roles and mechanisms of circadian and interval timers in the hypothalamus and pituitary. *J Endocrinol* [Internet]. 2014 [cited 2021Jul27];222(2):R39-R59. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4104039/pdf/JOE140141.pdf> doi:10.1530/JOE-14-0141
301. Yamaguchi Y. Arginine vasopressin signaling in the suprachiasmatic nucleus on the resilience of circadian clock to jet lag. *Neurosci Res*. 2018;129:57-61. doi:10.1016/j.neures.2017.10.007
302. Yamaguchi Y, Suzuki T, Mizoro Y, Kori H, Okada K, Chen Y, et al. Mice genetically deficient in vasopressin V1a and V1b receptors are resistant to jet lag. *Science*. 2013;342(6154):85-90. doi:10.1126/science.1238599

303. Yan L, Smale L, Nunez AA. Circadian and photic modulation of daily rhythms in diurnal mammals. *Eur J Neurosci.* 2020;51(1):551-66. doi:10.1111/ejn.14172
304. Van Drunen R, Eckel-Mahan K. Circadian Rhythms of the Hypothalamus: From Function to Physiology. *Clocks Sleep.* 2021;3(1):189-226. doi:10.3390/clockssleep3010012
305. 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
306. Vinogradova I, Anisimov V. Melatonin prevents the development of metabolic syndrome in male rats exposed to different light/dark regimens. *Biogerontology.* 2013;14:401-9. doi:10.1007/s10522-013-9437-4
307. Vlasova KV, Bulyk RYe. Circadian dynamics of optic density of melatonin receptors in the neurons of hypothalamic supraoptic nucleus in rats under altered photoperiod. *Актуальні проблеми сучасної медицини.* 2019;19(3):117-20. doi:https://doi.org/10.31718/2077-1096.19.3.117
308. Zamorskii II. Effect of melatonin on the activity of marker enzymes in the neuronal plasmatic membranes under conditions of acute hypoxia and varying photoperiodic duration. *Клінічна та експериментальна патологія.* 2013;12(4):52-4.
309. Zhang L, Lin QL, Lu L, Yang CC, Li YL, Sun FL, et al. Tissue-specific modification of clock methylation in aging mice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013;17(14):1874-80.
310. Zhao J, Warman GR, Cheeseman JF. The functional changes of the circadian system organization in aging. *Ageing Res Rev.* 2019;52:64-71. doi:10.1016/j.arr.2019.04.006
311. Zisapel N. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation. *Br J Pharmacol.* 2018;175(16):3190-9. doi:10.1111/bph.14116

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

- **НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ:**
 - Публікації в наукових фахових виданнях України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук і доктора філософії
1. Сметанюк ОВ, Булик РЄ, Власова КВ, Волошин ВЛ. Морфо-функціональна активність нейронів надзорових ядер гіпоталамуса щурів під дією стресу. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2019;18(3):121-6. <https://doi.org/10.24061/1727-0847.18.3.2019.23>
 2. Сметанюк ОВ, Булик РЄ, Булик ТС, Кривчанська МІ. Вплив світлової депривації на морфо-функціональний стан нейронів надзорових ядер гіпоталамуса щурів. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2020;19(4):61-7. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.4.74.2020.9>
 3. Булик РЄ, Федонюк ЛЯ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Стрес-індуковані зміни морфо-функціонального стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2020;4:43-9. <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2020.v.i4.11756>
 4. Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Вплив мелатоніну на стрес-зумовлені ультраструктурні перебудови нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. *Буковинський медичний вісник*. 2021;25(3):25-32. <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.4>
 5. Булик РЄ, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику нейронів паравентрикулярних ядер гіпоталамуса щурів. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2021;20(3):11-8. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.2>

6. Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ, Власова КВ, Кривчанська МІ. Ефекти мелатоніну на щільність мелатонінових рецепторів у надзорному ядрі гіпоталамуса щурів за умов стресу. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021;3:245-8. [10.29254/2077-4214-2021-3-161-245-248](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-3-161-245-248)
 7. Сметанюк ОВ. Характер змін активності великоклітинних ядер гіпоталамуса щурів за модифікації фотоперіоду. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2021;20(4):87-92. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.4.78.2021.0>
- **Публікації основних результатів дисертації у зарубіжних спеціалізованих виданнях**
8. Bulyk RYe, Smetaniuk OV, Bulyk TS, Kryvchanska MI. Morphometric analysis of supraoptic neurons of the rat hypothalamic nuclei under conditions of prolonged illumination. *J Educ Health Sport*. 2021;11(10):215-20. <https://doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.019>
 9. Bulyk RY, Smetanyuk OV, Vlasova KV, Kryvchanska MI, Yosypenko VR, et al. Morphohistochemical alterations of neurons of the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus at different durations of the photoperiod and melatonin administration. *Journal of Medicine and Life*. 2021;14(6):810–5. <https://doi.org/10.25122/jml-2021-0220>. *Scopus*
- **НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ:**
10. Сметанюк ОВ. Ультраструктурний стан нейросекреторних клітин супраоптичних ядер гіпоталамуса щурів за модифікацій фотоперіоду. В: Бойчук ТМ, Івашук ОІ, Безрук ВВ, редактори. *Матеріали 101-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»*; 2020 Лют 10, 12, 17; Чернівці. Чернівці: БДМУ; 2020, с. 66.

- 11.Сметанюк ОВ. Добові варіації морфо-функціональної активності надзорних ядер гіпоталамуса щурів. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. *Матеріали 102-ї підсумкової наук.-практ. конф. з міжнар. участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету*; 2021 Лют 08, 10, 15; Чернівці. Чернівці: БДМУ; 2021, с. 69.
- 12.Власова КВ, Волков КС, Булик РЄ, Сметанюк ОВ. Ультраструктурні зміни нейронів надзорного ядра гіпоталамуса щурів при постійному освітленні. В: Небесна ЗМ, редактор. *Матеріали наук.-практ. конф. Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень*; 2019 Жов 10-11; Тернопіль. Тернопіль: ТНМУ; 2019, с. 20-2.
- 13.Власова КВ, Булик РЄ, Сметанюк ОВ. Варіації цитометричних показників надзорних ядер гіпоталамуса за різної тривалості. В: *Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології*; 2019 Жов 17-18; Яремче; Яремче: ІФНМУ; 2019, с. 18-9.
- 14.Bulyk RYe, Vlasova KV, Smetaniuk OV. The hypothalamic supraoptic nuclei reaction on stress. В: Бойчук ТМ, Цигикало ОВ, Олійник ІЮ, редактори. *Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині*; 2019 Жов 24-25; Чернівці. Чернівці: БДМУ; 2019, с. 45.
- 15.Сметанюк ОВ, Булик РЄ. Аналіз морфо-функціонального статусу надзорних ядер гіпоталамуса щурів у різні періоди доби. В: *Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Медичні та фармацевтичні науки: аналіз сучасності та прогноз майбутнього*; 2020 Лис 13-14; Дніпро. Дніпро: Salutem; 2020, с. 26-9.
- 16.Булик РЄ, Власова КВ, Сметанюк ОВ. Морфо-функціональні особливості змін нейронів надзорних ядер гіпоталамуса щурів під дією світлової депривації. В: *Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики*;

- 2020 Гру 25-26; Львів. Львів: Львівська медична спільнота; 2020, с. 77-80.
- 17.Булик РЄ, Булик ТС, Сметанюк ОВ. Вплив мелатоніну на ультраструктурну організацію нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів при стресі. В: *Матеріали VII Національного конгресу геронтологів і геріатрів України*; 2021 Жов 6-8; Київ. Київ; 2021, с. 14.
- 18.Власова КВ, Волошин ВЛ, Сметанюк ОВ. Варіації цитометричних показників надзорних ядер гіпоталамуса щурів за постійного освітлення. В: *Матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. Modern Science: Innovations and Prospects*; 2021 Гру 5-7; Стокгольм, Швеція : Стокгольм; 2021, с. 90-2.
- 19.Vlasova KV, Bulyk RYe, Davydenko IC, Yosypenko VR, Smetaniuk OV. Diurnal variations of cytometric parameters of hypothalamic supraoptic nucleus neurocytes in rats under stress conditions. In: Conference proceedings *Natural Science Readings*; 2019 May 30-31; Bratislava. Bratislava; 2019, p. 103-4.

Додаток Б

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. 101-а підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (Чернівці: БДМУ; 10, 12, 17.02.2020 р.)
(Сметанюк ОВ. *Ультраструктурний стан нейросекреторних клітин супраоптичних ядер гіпоталамуса щурів за модифікацій фотоперіоду*).
Форма участі – виступ на секційному засіданні.
2. 102-а підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (Чернівці: БДМУ; 8, 10, 15.02.2021 р.)
(Сметанюк ОВ. *Добові варіації морфо-функціональної активності надзорових ядер гіпоталамуса щурів*).
Форма участі – виступ на секційному засіданні.
3. Міжнародна науково-практична конференція «*Natural Science Readings*» (Bratislava; 30-31.05.2019 р.)
(Smetaniuk OV, Vlasova KV, Bulyk RYe, Davydenko IC, Yosypenko VR. *Diurnal variations of cytometric parameters of hypothalamic supraoptic nucleus neurocytes in rats under stress conditions*).
Форма участі – заочна.
4. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень» (Тернопіль: ТНМУ; 10-11.10.2019 р.)
(Сметанюк ОВ, Власова КВ, Волков КС, Булик РЄ, *Ультраструктурні зміни нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів при постійному освітленні*)

Форма участі – виступ на секційному засіданні.

5. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології» (Яремче: ІФНМУ; 17-18.10.2019 р.)

(Сметанюк ОВ, Власова КВ, Булик РЄ, Варіації цитометричних показників надзорових ядер гіпоталамуса за різної тривалості)

Форма участі – виступ на секційному засіданні.

6. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині» (Чернівці: БДМУ; 24-25.10.2019 р.)

(Smetaniuk OV, Bulyk RYe, Vlasova KV. The hypothalamic supraoptic nuclei reaction on stress).

Форма участі – виступ на секційному засіданні.

7. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Медичні та фармацевтичні науки: аналіз сучасності та прогноз майбутнього» (Дніпро: Salutem; 13-14.11.2020 р.)

(Сметанюк ОВ, Булик РЄ. Аналіз морфо-функціонального статусу надзорових ядер гіпоталамуса щурів у різні періоди доби).

Форма участі – заочна.

8. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики» (Львів: Львівська медична спільнота; 25-26.12.2020 р.)

(Сметанюк ОВ, Булик РЄ. Морфо-функціональні особливості змін нейронів надзорових ядер гіпоталамуса щурів під дією світлової депривації).

Форма участі – заочна.

9. VII Національний конгрес геронтологів і гериатрів України (Київ; 6-8.10.2021 р.).

(Сметанюк ОВ, Булик РЄ, Булик ТС. Вплив мелатоніну на ультра-

структурну організацію нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів при стресі)

Форма участі – виступ на секційному засіданні.

10. III міжнародна науково-практична конференція «Modern Science: Innovations and Prospects» (Швеція: Стокгольм; 5-7.12.2021 р.).

(Сметанюк ОВ, Власова КВ, Волошин ВЛ. Варіації цитометричних показників надзорних ядер гіпоталамуса щурів за постійного освітлення)

Форма участі – заочна.

Додаток В

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Буковинського державного медичного університету

д.мед.н., професор Олександр ІВАЩУК

" 16 " 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: матеріали дисертаційної роботи "Вікові аспекти структурно-функціонального стану велико клітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах".

2. Установа-розробник: Буковинський державний медичний університет, кафедра медичної біології та генетики.

Розробник: аспірант Сметанюк Олексій Васильович.

3. Джерело інформації:

1. Булик Р.Є., Булик Т.С., Сметанюк О.В. Вплив мелатоніну на стрес-зумовлені ультраструктурні перебудови нейронів надзорного ядра гіпоталамуса щурів. Буковинський медичний вісник. 2021; 25, №3(99):25-32.
2. Bulyk R.Ye., Smetaniuk O.V., Bulyk T.S., Kryvchanska M.I. Morphometric analysis of supraoptic neurons of the rat hypothalamic nuclei under conditions of prolonged illumination. Journal of Education, Health and Sport. 2021;11(10):215-220.
3. Булик Р.Є., Сметанюк О.В., Власова К.В., Кривчанська М.І. Вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику нейронів паравентрикулярних ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2021; 20, 3 (77): 11-18.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету.

5. Термін впровадження: 2021-2022 роки та надалі.

6. Форми впровадження: введено у навчальний процес - у матеріали лекцій та практичних занять з гістології, цитології та ембріології, а також у наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 4 від 16.11.2021р.)

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету, доктор медичних наук, професор

Олександр ЦИГИКАЛО

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Буковинського державного медичного університету

д.мед.н., професор  Олександр ІВАЩУК
" 02 " 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: матеріали дисертаційної роботи "Вікові аспекти структурно-функціонального стану велико клітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах".

2. Установа-розробник: Буковинський державний медичний університет, кафедра медичної біології та генетики.

Розробник: аспірант Сметанюк Олексій Васильович.

3. Джерело інформації:

1. Сметанюк О.В., Булик Р.Є., Власова К.В., Волошин В.Л. Морфофункціональна активність нейронів над зорових ядер гіпоталамуса щурів під дією стресу. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2019; 18(3):121-126. DOI:10.24061/1727-0847.18.3.2019.23

2. Сметанюк О.В., Булик Р.Є., Булик Т.С., Кривчанська М.І. Вплив світлової депривації на морфофункціональний стан нейронів надзорних ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2020; 19(4): 61-67.

3. Булик Р.Є., Федонюк Л.Я., Булик Т.С., Сметанюк О.В. Стрес-індуковані зміни морфофункціонального стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2020; 4:43-49.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини імені М.Г. Туркевича Буковинського державного медичного університету.

5. Термін впровадження: 2021-2022 роки та надалі.

6. Форми впровадження: у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини, а також у наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 24 від 02.11.2021р.)

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри анатомії людини
імені М.Г. Туркевича Буковинського
державного медичного університету,
доктор медичних наук, професор



Віктор КРИВЕЦЬКИЙ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Буковинського державного медичного університету
д.мед.н., професор Олександр ІВАЩУК
“ 10 ” 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** матеріали дисертаційної роботи “Вікові аспекти структурно-функціонального стану велико клітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах”.
 - 2. Установа-розробник:** Буковинський державний медичний університет, кафедра медичної біології та генетики.
Розробник: аспірант Сметанюк Олексій Васильович.
 - 3. Джерело інформації:**
 1. Сметанюк О.В., Булик Р.Є., Булик Т.С., Кривчанська М.І. Вплив світлової депривації на морфофункціональний стан нейронів надзорових ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2020; 19(4): 61-67.
 2. Булик Р.Є., Булик Т. С., Сметанюк О.В., Власова К.В., Кривчанська М.І. Ефекти мелатоніну на щільність мелатонінових рецепторів у надзоровому ядрі гіпоталамуса щурів за умов стресу. Вісник проблем біології і медицини. 2021; 3(161): 245-248.
 3. Булик Р.Є., Булик Т.С., Сметанюк. О.В. Вплив мелатоніну на стрес-зумовлені ультраструктурні перебудови нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Буковинський медичний вісник. 2021; 25, №3(99):25-32.
 - 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету.
 - 5. Термін впровадження:** 2021-2022 роки та надалі.
 - 6. Форми впровадження:** введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії.
- Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 10 від 10.02. 2021р.)

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри анатомії,
клінічної анатомії та оперативної хірургії
Буковинського державного медичного університету,
доктор медичних наук, професор



Олександр СЛОБОДЯН

ЗАТВЕРДЖУЮ



Проректор з наукової роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
д.мед.н., професор *Власенко* Олег ВЛАСЕНКО
2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: матеріали дисертаційної роботи “Вікові аспекти структурно-функціонального стану велико клітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах”.

2. Установа-розробник: Буковинський державний медичний університет, кафедра медичної біології та генетики.

Розробник: аспірант Сметанюк Олексій Васильович.

3. Джерело інформації:

1. Булик Р.Є., Федонюк Л.Я., Булик Т.С., Сметанюк О.В. Стрес-індуковані зміни морфофункціонального стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2020; 4:43-49.

2. Булик Р.Є., Булик Т.С., Сметанюк О.В. Вплив мелатоніну на стрес-зумовлені ультраструктурні перебудови нейронів надзорового ядра гіпоталамуса щурів. Буковинський медичний вісник. 2021; 25, №3(99):25-32.

3. Bulyk R.Ye., Smetaniuk O.V., Bulyk T.S., Kryvchanska M.I. Morphometric analysis of supraoptic neurons of the rat hypothalamic nuclei under conditions of prolonged illumination. Journal of Education, Health and Sport. 2021;11(10):215-220.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра оперативної хірургії та клінічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

5. Термін впровадження: вересень - листопад 2021 року.

6. Форми впровадження: введено у навчальний процес - у матеріали лекцій та практичних занять з оперативної хірургії та клінічної анатомії, а також у наукову роботу кафедри.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри оперативної хірургії та клінічної анатомії.

Протокол № 11 від 14 грудня 2021 року

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри оперативної хірургії
та клінічної анатомії Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова,
доктор медичних наук, професор

Володимир ПІВТОРАК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Івано-Франківського національного
медичного університету
д.мед.н. професор Ігор ВАКАЛЮК
2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: матеріали дисертаційної роботи "Вікові аспекти структурно-функціонального стану велико клітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах".

2. Установа-розробник: Буковинський державний медичний університет, кафедра медичної біології та генетики.

Розробник: аспірант Сметанюк Олександр Васильович.

3. Джерело інформації:

1. Сметанюк О.В., Булик Р.С., Булик Т.С., Кривчанська М.І. Вплив світлової депривації на морфофункціональний стан нейронів надзорових ядер гіпоталамуса шурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2020; 19(4): 61-67.

2. Булик Р.С., Федонюк Л.Я., Булик Т.С., Сметанюк О.В. Стрес-індуковані зміни морфофункціонального стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса шурів. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2020; 4:43-49.

3. Булик Р.С., Булик Т.С., Сметанюк О.В. Вплив мелатоніну на стрес-зумовлені ультраструктурні перебудови нейронів надзорового ядра гіпоталамуса шурів. Буковинський медичний вісник. 2021; 25, №3(99):25-32.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету.

5. Термін впровадження: 2021-2022 роки та надалі.

6. Форми впровадження: у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини, а також у наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 3 від 07.10.2021 р.)

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри анатомії людини
Івано-Франківського національного
медичного університету,
доктор медичних наук, професор



Оксана ПОПАДИНЕЦЬ

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького
Член-кореспондент НАМН України
професор  М.Р. ГЖЕГОЦЬКИЙ
2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали дисертаційної роботи “Вікові аспекти структурно-функціонального стану великоклітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах”.
2. **Установа-розробник:** Буковинський державний медичний університет, кафедра медичної біології та генетики.
Розробник: аспірант Сметанюк Олексій Васильович.
3. **Джерело інформації:**
 1. Булик Р.Є., Федонюк Л.Я., Булик Т.С., Сметанюк О.В. Стрес-індуковані зміни морфофункціонального стану нейронів надзорного ядра гіпоталамуса щурів. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2020; 4:43-49.
 2. Булик Р.Є., Булик Т.С., Сметанюк О.В. Вплив мелатоніну на стрес-зумовлені ультраструктурні перебудови нейронів надзорного ядра гіпоталамуса щурів. Буковинський медичний вісник. 2021; 25, №3(99):25-32.
 3. Bulyk R.Ye., Smetaniuk O.V., Bulyk T.S., Kryvchanska M.I. Morphometric analysis of supraoptic neurons of the rat hypothalamic nuclei under conditions of prolonged illumination. Journal of Education, Health and Sport. 2021;11(10):215-220.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
5. **Термін впровадження:** 2021-2022 роки та надалі.
6. **Форми впровадження:** введено у навчальний процес - у матеріали лекцій та практичних занять з нормальної анатомії, а також у наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 9А від 06.04. 2022р.)

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри нормальної анатомії
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького,
доктор медичних наук, професор



Л.Р. МАТЕШУК-ВАЦЕБА

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я.Горбачевського

д.біол.н., професор Іван КЛІЩ

„ 30 „ XІ 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: матеріали дисертаційної роботи “Вікові аспекти структурно-функціонального стану велико клітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах”.
2. Установа-розробник: Буковинський державний медичний університет, кафедра медичної біології та генетики.
Розробник: аспірант Сметанюк Олексій Васильович.
3. Джерело інформації:
 1. Сметанюк О.В., Булик Р.Є., Власова К.В., Волошин В.Л. Морфофункціональна активність нейронів над зорових ядер гіпоталамуса шурів під дією стресу. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2019; 18(3):121-126. DOI:10.24061/1727-0847.18.3.2019.23
 2. Сметанюк О.В., Булик Р.Є., Булик Т.С., Кривчанська М.І. Вплив світлової депривації на морфофункціональний стан нейронів надзорових ядер гіпоталамуса шурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2020; 19(4): 61-67.
 3. Булик Р.Є., Сметанюк О.В., Власова К.В., Кривчанська М.І. Вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику нейронів паравентрикулярних ядер гіпоталамуса шурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2021; 20, 3 (77): 11-18.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського.
5. Термін впровадження: 2021-2022 роки та надалі.
6. Форми впровадження: у матеріали лекцій та практичних занять з нормальної анатомії, а також у наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 10 від 30. XІ. 2021р.)

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри анатомії людини
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я.Горбачевського,
доктор медичних наук, професор

Ілля ГЕРАСИМЮК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Заступник директора з наукової роботи
навчально-наукового центру
«Інститут біології та медицини» Київського
національного університету імені Тараса Шевченка
д.біол.н., професор  Олександр КОРОТКИЙ
“01”  2021 р.


АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** матеріали дисертаційної роботи “Вікові аспекти структурно-функціонального стану велико клітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах”.
- 2. Установа-розробник:** Буковинський державний медичний університет, кафедра медичної біології та генетики.
Розробник: аспірант Сметанюк Олексій Васильович.
- 3. Джерело інформації:**
 - 3.1 Bulyk R.Ye., Smetaniuk O.V., Bulyk T.S., Kryvchanska M.I. Morphometric analysis of supraoptic neurons of the rat hypothalamic nuclei under conditions of prolonged illumination. Journal of Education, Health and Sport. 2021;11(10):215-220.
 - 3.2 Булик Р.Є., Сметанюк О.В., Власова К.В., Кривчанська М.І. Вплив різного режиму освітлення на морфометричну характеристику нейронів паравентрикулярних ядер гіпоталамуса щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2021; 20, 3 (77): 11-18.
 - 3.3 Булик Р.Є., Булик Т. С., Сметанюк О.В., Власова К.В., Кривчанська М.І. Ефекти мелатоніну на щільність мелатонінових рецепторів у надзоровому ядрі гіпоталамуса щурів за умов стресу. Вісник проблем біології і медицини. 2021; 3(161): 245-248.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра клінічної медицини навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.
- 5. Термін впровадження:** 2021-2022 роки та надалі.
- 6. Форми впровадження:** введено у навчальний процес - у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини, а також у наукову роботу кафедри.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри клінічної медицини
навчально-наукового центру
«Інститут біології та медицини»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка,
доктор медичних наук, професор



Олександр МАЄВСЬКИЙ