

Міністерство охорони здоров'я України  
Буковинський державний медичний університет

# **БУКОВИНСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ВІСНИК**

Український науково-практичний журнал

Заснований у лютому 1997 року

Видається 4 рази на рік

*Включений до Ulrichsweb™ Global Serials Directory, наукометричних і спеціалізованих баз даних Google Scholar (США), Index Copernicus International (Польща), Scientific Indexing Services (США), Infobase Index (Індія), Ukrainian research & Academy Network (URAN), НБУ ім. Вернадського, "Джерело"*

## **ТОМ 25, № 3 (99)**

---

# **2021**

**Редакційна колегія:**

головний редактор Т.М. Бойчук,  
О.Б. Беліков, О.С. Годованець, І.І. Заморський,  
О.І. Іващук (перший заступник головного редактора),  
Т.О. Ілащук, А.Г. Іфтодій, Г.Д. Коваль, О.К. Колоскова,  
В.В. Кривецький (заступник головного редактора),  
В.В. Максим'юк, Т.В. Мохорт, Н.В. Пашковська, Л.П. Сидорчук,  
С.В. Сокольник, В.К. Ташук (відповідальний секретар), С.С. Ткачук,  
О.І. Федів (відповідальний секретар), О.В. Цигикало

**Наукові рецензенти:**

проф. Т.О. Ілащук, проф. А.Г. Іфтодій, проф. О.В. Цигикало

Чернівці: БДМУ, 2021

Редакційна рада:

К.М. Амосова (Київ), В.В. Бойко (Харків),  
А.І. Гоженко (Одеса), В.М. Запорожан (Одеса),  
В.М. Коваленко (Київ), З.М. Митник (Київ),  
В.І. Паньків (Київ), В.П. Черних (Харків),  
Герхард Дамман (Швейцарія),  
Збігнев Копанські (Польща),  
Дірк Брутцерт (Бельгія),  
Раду Крістіан Дабіша (Румунія)  
Віктор Ботнару (Респ. Молдова)

Рекомендовано до друку та до поширення через мережу Інтернет рішенням вченої ради  
Буковинського державного медичного університету  
(протокол № 1 від 26.08.2021 року)

Буковинський медичний вісник  
(Бук. мед. вісник) – науково-  
практичний журнал, що рецензується  
Bukovinian Medical Herald  
(Buk. Med. Herald)  
Заснований у лютому 1997 р. Видається 4  
рази на рік  
Founded in February, 1997 Published four  
times annually  
Мова видання: українська, російська,  
англійська  
Сфера розповсюдження загальнодержавна,  
зарубіжна  
Свідоцтво про державну реєстрацію: серія  
КВ №15684-4156 ПР від 21.09.2009

Наказом  
Міністерства освіти і науки України  
від 17 березня 2020 року № 409 журнал  
“Буковинський медичний вісник”  
включено до категорії "Б" (медичні  
спеціальності – 222) переліку наукових  
фахових видань України  
Адреса редакції: 58002, Чернівці,  
пл. Театральна, 2  
Тел.: (0372) 55-37-54,  
52-40-78  
Факс: (0372) 55-37-54  
e-mail: bmh@bsmu.edu.ua  
Адреса електронної версії журналу в  
Internet: <http://www.bsmu.edu.ua>

**ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА СТРЕС-ЗУМОВЛЕНІ УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ПЕРЕБУДОВИ НЕЙРОНІВ НАДЗОРОВОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ****Р.Є. Булик, Т.С. Булик, О.В. Сметанюк**

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Ключові слова:** надзорове ядро, ультраструктурний стан, іммобілізаційний стрес, мелатонін.

Буковинський медичний вісник. 2021. Т.25, № 3 (99). С. 25-32.

**DOI:** 10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.4

**E-mail:** bulyk@bsmu.edu.ua

**Мета дослідження** – з'ясувати вплив мелатоніну на ультраструктурний стан надзорових ядер гіпоталамуса щурів, що перебували за умов іммобілізаційного стресу.

**Матеріал і методи.** Експерименти проведені на нелінійних самцях білих щурів масою 200–220 г. Тварин розподілено на 3 серії досліджень, у кожній з яких забір біоматеріалу здійснювався о 14.00 і о 02.00 год із застосуванням електронно-мікроскопічного дослідження. Тривалий іммобілізаційний стрес (ІС) моделювали шляхом утримання щурів у спеціальних пластикових клітках-пеналах упродовж 6 год щоденно 7 діб поспіль. Мелатонін (Sigma, США, ступінь очищення – 99,5%) у дозі 0,5 мг/кг, у 1,0 мл розчинника (0,9% розчин етанолу на фіз. розчині) вводили щоденно в/очеревинно.

**Результати.** При утримуванні тварин за стандартного режиму освітлення ультраструктурна організація нейронів надзорового ядра (НЯ) гіпоталамуса о 14.00 год свідчить про їх невисоку функціональну активність, порівняно з дослідженнями, проведеними о 02.00 год. Тривале перебування щурів за умов ІС віддзеркалилося істотною перебудовою ультраструктурної організації нейронів НЯ гіпоталамуса. Встановлені зміни можна розглядати як прояв пригнічення нейросекреторної активності, зменшення продукції нейросекрета нейронами гіпоталамуса. Ін'єкції мелатоніну на тлі ІС призвели до відносної нормалізації ультраструктурного стану нейронів НЯ гіпоталамуса тварин. Зокрема, дослідженнями о 02.00 год встановлено світлі нейросекреторні клітини, які містили велике, пікнотично змінене ядро. Спостерігали інвагінації каріолеми, домінування еухроматину в ядрі. Простежувалися гетерогенні зміни мітохондрій. Помітні збільшені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (ЕПС). Водночас у нейроплазмі помітні невелике число рибосом та небагато гормональних гранул. Вказана картина нейросекреторних клітин віддзеркалює відносне покращання їх електронно-мікроскопічного стану, свідченням чому є поява нейросекреторних гранул. Однак ультраструктура інших органел досліджуваних нейронів вказує на виснажений стан, зумовлений тривалою іммобілізацією тварин.

**Висновки.** 1. У тварин, що перебували в умовах стандартного фотоперіоду, у нічний період експерименту структурна організація нейронів надзорового ядра гіпоталамуса віддзеркалює вираженість внутрішньоклітинних синтезувальних процесів о 02.00 год. Удень відзначається зниження активності досліджуваних структур. 2. В умовах іммобілізаційного стресу ультраструктурна організація вказаних нейронів надзорового ядра гіпоталамуса свідчить про виражені порушення реактивного характеру з ознаками зниження функціональної спроможності структур та явищами набряку і деструкції впродовж періоду спостережень. 3. Ін'єкції мелатоніну на тлі іммобілізаційного стресу призвели до відносного покращання ультраструктурного стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса тварин, свідченням чому є поява нейросекреторних гранул. Однак ультраструктура інших органел досліджуваних нейронів вказує на виснажений стан, зумовлений тривалою іммобілізацією тварин.

**ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА СТРЕСС-ОБУСЛОВЛЕННЫЕ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ НЕЙРОНОВ СУПРАОПТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС****Р.Е. Булык, Т.С. Булык, А.В. Сметанюк**

**Ключевые слова:**

**Цель исследования** – изучить влияние мелатонина на ультраструктурное

**Оригінальні дослідження**

*супраоптическое ядро, ультраструктурное состояние, иммобилизационный стресс, мелатонин.*

*Буковинский медицинский вестник. 2021. Т25, № 3 (99). С. 25-32.*

*состояние супраоптического ядра гипоталамуса крыс, находившихся в условиях иммобилизационного стресса.*

**Материал и методы.** Эксперименты проведены на нелинейных самцах белых крыс массой 200-220 г. Животные разделены на 3 серии исследований, в каждой из которых забор биоматериала осуществлялся в 14.00 и в 02.00 ч с применением электронно-микроскопического исследования. Длительный иммобилизационный стресс (ИС) моделировали путем содержания крыс в специальных пластиковых клетках-пеналах в течение 6 ч ежедневно на протяжении 7 суток. Мелатонин (Sigma, США, степень очистки – 99,5%) в дозе 0,5 мг/кг, в 1,0 мл растворителя (0,9% раствор этанола на физ. растворе) вводили ежедневно, внутривентриально.

**Результаты.** При содержании животных в условиях стандартного режима освещения ультраструктурная организация супраоптического ядра (СОЯ) гипоталамуса в 14.00 свидетельствует об их невысокой функциональной активности по сравнению с исследованиями, проведенными в 02.00 ч. Длительное пребывание крыс в условиях ИС отразилось существенной перестройкой ультраструктурной организации СОЯ гипоталамуса. Установленные изменения можно рассматривать как проявление угнетения нейросекреторной активности, уменьшение продукции нейросекрета нейронами гипоталамуса. Инъекции мелатонина на фоне ИС привели к относительной нормализации ультраструктурного состояния нейронов СОЯ гипоталамуса животных. В частности, исследованиями в 02.00 ч установлено светлые нейросекреторные клетки, содержащие крупное ядро, оно было пикнотически изменено. Наблюдалась инвагинация кариолемы, доминирование эухроматина в ядре. У митохондрий наблюдались гетерогенные изменения. Заметно увеличены канальцы гранулярного эндоплазматического ретикулума. В то же время в нейроплазме заметны небольшое число рибосом и немного гормональных гранул. Указанная картина нейросекреторных клеток отражает относительное улучшение их электронно-микроскопического состояния, свидетельством чему является появление нейросекреторных гранул. Однако ультраструктура других органелл исследуемых нейронов указывает на истощенное состояние, обусловленное длительной иммобилизацией.

**Выводы.** 1. У животных, находившихся в условиях стандартного фотопериода в ночное время эксперимента, структурная организация нейронов супраоптического ядра гипоталамуса отражает выраженность внутриклеточных синтезирующих процессов в 02.00 ч. Днем отмечается снижение активности исследуемых структур. 2. В условиях иммобилизационного стресса ультраструктурная организация указанных нейронов свидетельствует о выраженных нарушениях реактивного характера с признаками снижения функциональной способности структур и явлениями отека и деструкции в течение периода наблюдений. 3. Инъекции мелатонина на фоне иммобилизационного стресса привели к относительному улучшению ультраструктурного состояния нейронов супраоптического ядра гипоталамуса животных, свидетельством чему является появление нейросекреторных гранул. Однако ультраструктура других органелл исследуемых нейронов указывает на истощенное состояние, обусловленное длительной иммобилизацией.

---

**THE INFLUENCE OF MELATONIN ON STRESS-INDUCED ULTRAMICROSCOPIC CHANGES OF THE NEURONS OF THE SUPRAOPTIC NUCLEI OF THE RAT HYPOTHALAMUS**

**R.Ye. Bulyk, T.S. Bulyk, O.V. Smetaniuk**

**Key words:** *supraoptic nucleus, ultrastructural state, immobilization stress, melatonin.*

**The aim:** *to study the effect of melatonin on the ultrastructural state of the supraoptic nuclei of the hypothalamus of rats under immobilization stress.*

**Materials and methods.** *The experiments were performed on non-linear male white rats weighing 200-220 g. The animals were divided into 3 study series, in each of*

*Bukovinian Medical Herald.*  
2021. V.25, № 3 (99). P. 25-32.

which the biomaterial was collected at 2 p.m. and at 2 a.m. using electron microscopic method. Long immobilization stress was simulated by keeping rats in special plastic penal cages for 6 hours daily for 7 consecutive days. Melatonin (Sigma, USA, 99.5% purification degree) at a dose of 0.5 mg/kg, in 1.0 ml of solvent (0.9% ethanol solution on physiologic saline) was injected daily, intraperitoneally.

**Results.** When the animals were kept under the standard light regime, the ultrastructural organization of the hypothalamic nuclei at 2 p.m. indicated their low functional activity in comparison with the studies carried out at 2 a.m. Prolonged exposure of rats to immobilization stress was reflected in a significant rearrangement of the ultrastructural organization of supraoptic nuclei of the hypothalamus. The established changes can be considered as a manifestation of neurosecretory activity suppression, a decrease in neurosecretase production by hypothalamic neurons. Melatonin injections against the background of immobilization stress resulted in relative normalization of ultrastructural state of neurons of supraoptic nuclei of the hypothalamus of animals. In particular, studies at 2 a.m. revealed light neurosecretory cells containing a large nucleus, it was pyknotically altered. Karyolema invaginations, euchromatin dominance in the nucleus were observed. Heterogeneous changes were observed on the part of mitochondria. Enlarged tubules of granular endoplasmic reticulum were seen. At the same time, a small number of ribosomes and few hormonal granules were noticeable in neuroplasm. The mentioned picture of neurosecretory cells reflects a relative improvement in their electron microscopic state, which is evidenced by the appearance of neurosecretory granules. However, the ultrastructure of other organelles of the studied neurons indicates a depleted state caused by prolonged immobilization.

**Conclusions.** 1. In animals under standard photoperiod conditions, the structural organization of supraoptic neurons of the hypothalamic nuclei during the nighttime of the experiment reflects the intensity of intracellular synthesizing processes (at 2 a.m.). A decrease in the activity of the structures under study is noted during the daytime. 2. Under immobilization stress, the ultrastructural organization of the above neurons indicates a pronounced disturbance of reactive nature with the signs of decreased functional ability of the structures and the phenomena of edema and destruction during the period of observation. 3. Melatonin injections against the background of immobilization stress led to a relative improvement in the ultrastructural state of the animals' hypothalamic nuclei neurons, which is evidenced by the appearance of neurosecretory granules. However, the ultrastructure of other organelles of the studied neurons indicated a depleted state caused by prolonged immobilization.

**Вступ.** Рухова активність є важливою властивістю тварин і людини, однією з умов їх нормального існування і розвитку. Обмеження рухової активності (гіпокінезія, або іммобілізація) – потужний стресорний фактор, який викликає різноманітні патологічні процеси [1].

На життєдіяльність всіх організмів також впливають біологічні ритми (біоритми) – (білядобові, сезонні тощо) коливання інтенсивності та характеру тих або інших біологічних процесів і явищ, які сприяють пристосуванню організмів до циклічних змін навколишнього середовища. На сьогоднішня біоритмічність визнана однією з основних властивостей всіх живих організмів. Вона є важливим механізмом регуляції функцій, які забезпечують здатність організмів підтримувати гомеостаз та пристосовуватися до змін навколишнього середовища [2, 3].

Чергування циркадіанного (білядобового) циклу дня і ночі – найбільш важливий регулятор різноманітних фізіологічних ритмів у всіх живих організмів [4]. Винахід понад ста років тому

електрики і штучного освітлення кардинально змінив як світловий режим, так і тривалість впливу світла, зокрема на людину. Вплив світла в нічний час, часто названий світловим забрудненням, збільшився і став суттєвою частиною сучасного способу життя, що супроводжується низкою серйозних розладів поведінки і стану здоров'я.

Основним ритмоводієм функцій організму вважають нейроендокринну мозкову структуру – шишкоподібну залозу (епіфіз мозку), яка виявлена у всіх хребетних. Разом з надперехресним ядром (НПЯ) гіпоталамуса, ця залоза входить до системи так званого біологічного годинника організму, що відіграє ключову роль у механізмах «відліку внутрішнього часу» [5, 6]. При цьому СХЯ гіпоталамуса виконує роль центрального осцилятора, що регулює підлаштування ритмів обміну речовин і енергії до ритмів освітленості як до екзогенного джерела енергії [7].

Кодування інформації про світловий режим здійснюється за допомогою основного гормону шишкоподібної залози – мелатоніну. Впливаючи на

## Оригінальні дослідження

функціональну активність гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової та статевої систем, мелатонін бере участь у регуляції циркадних і сезонних ритмів. Показано, що секреція мелатоніну підпорядкована чітким добовим варіаціям з мінімальним значенням вдень і максимумом близько 02.00 год [8]. Порушення світлового режиму (тривале освітлення, постійна темрява) є визначальним стресором, що призводить до розвитку десинхронізації [9].

Гіпоталамус, як вищий підкірковий центр автономної (вегетативної) нервової системи, має потужний регуляторний вплив на всі життєвоважливі функції організму, зокрема і на підтримання гомеостатичної рівноваги живої системи, яка порушується внаслідок дії стресорів – іммобілізації, постійного освітлення тощо [1, 10]. У зв'язку з важливою роллю великоклітинних нейросекреторних надзорних ядер гіпоталамуса в реалізації адаптаційних можливостей організму актуальним є вивчення характеру їх ультраструктурних змін при впливі на організм експериментальних тварин іммобілізаційного стресу та ефектів мелатоніну [11].

**Мета дослідження** – з'ясувати вплив іммобілізаційного стресу на морфофункціональний стан надзорних ядер гіпоталамуса щурів.

**Матеріал і методи.** Експерименти проведені на нелінійних самцях білих щурів масою 200–220 г. Експериментальні тварини розподілені на 3 серії досліджень, у кожній з яких забір біоматеріалу здійснювався о 14.00 і 02.00 год. Обрані терміни проведення експерименту зумовлені різною функціональною активністю шишкоподібної залози у вказані часові періоди доби.

Тварини I серії (контрольна група) перебували сім діб за умов стандартного світлового режиму (світло з 08.00 до 20.00 год, освітленість люмінесцентними лампами на рівні кліток 500 Лк). Щурам II серії, які знаходилися за тих же умов освітлення, що тварини I серії, моделювали тривалий іммобілізаційний стрес шляхом їх утримання впродовж 6 год у спеціальних пластикових клітках-пеналах щоденно сім діб поспіль. Тварини III серії знаходилися за умов експерименту, як і щури II серії. Їм щоденно о 19.00 год в/очеревинно вводили мелатонін (Sigma, США, ступінь очищення – 99,5%) у дозі 0,5 мг/кг, у 1,0 мл розчинника (0,9% розчин етанолу на фізіологічному розчині).

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).

Для електронно-мікроскопічного дослідження нейронів НЯ гіпоталамуса забір матеріалу проводили згідно із загальноприйнятими правилами [12]. Для дослідження з гіпоталамуса вирізали тонку, суцільну пластинку товщиною 1-1,5 мм, яка охоплювала НЯ.

Матеріал фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду, який готували на фосфатному буфері Міллонга з активною реакцією середовища рН 7,2-7,4. Фіксований матеріал переносили у буферний розчин і промивали протягом 30 хв. Після цього впродовж 60 хв здійснювали постфіксацію матеріалу, використовуючи для цього 1% розчин чотириокису осмію на буфері Міллонга. Далі проводили дегідратацію матеріалу в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол відповідно до загальноприйнятої методики [12]. Дослідження в нічний період доби проводили при слабкому (2 лк) червоному світлі, яке практично не впливає на біосинтез мелатоніну шишкоподібною залозою.

Комісія з питань біомедичної етики Буковинського державного медичного університету встановила, що всі етапи експерименту проведені з дотриманням основних положень Ухвали Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (від 18.03.1986 р.), Директиви ЄС № 609 (від 24.11.1986 р.) і Наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. та законам України.

**Результати дослідження та їх обговорення.** При утриманні 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 в більшості нейросекреторних клітин, форма яких овальна. В ядерному соку візуалізується щільне осміофільне ядро та грудочки хроматину (рис. 1). У нейроплазмі щільно влаштовані каналці гранулярної ЕПС з невеликим просвітом, де простежується значна кількість рибосом та полісом, а також невелике число рівномірно розподілених гранул. Нейроплазма займає невеликий об'єм.

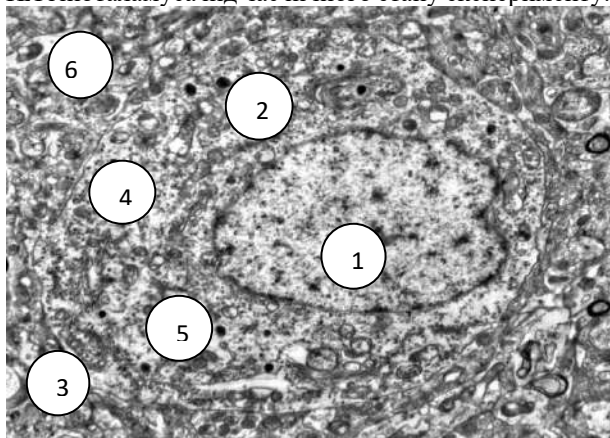
Спостерігаються різних розмірів секреторні гранули, що формуються біля комплексу Гольджі. «Енергетичні станції» клітини – мітохондрії – невеликих розмірів, містять небагато крист, зі щільним матриксом. Помітно, що окремі мітохондрії перебувають в енергетично напруженому стані, здатні гіпертрофуватися та частково втрачати кристи або навіть і гинути. Однак слід відзначити, подібний процес є фізіологічним і в нормі має циклічний перебіг. Нейроплазма нейросекреторних клітин містить незначну кількість гормональних гранул, розсіяних по цитоплазмі. Така ультраструктурна організація нейросекреторних клітин свідчить про їх невисоку функціональну активність у досліджуваному часовому проміжку (див. рис. 1).

Дослідженням субмікроскопічної будови НЯ гіпоталамуса за стандартних умов освітлення о 02.00 год встановлено, що нейросекреторним клітинам притаманні ядра з нерівною каріолемою,

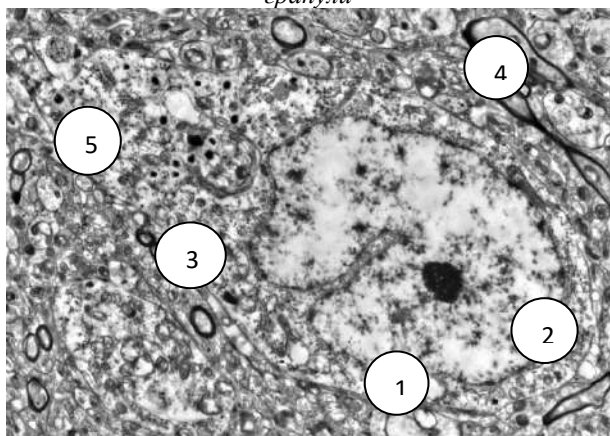
глибокими впинаннями. Такі інвагінації ядерної оболонки, у свою чергу, збільшують площу взаємодії ядра і цитоплазми (рис. 2).

При дослідженні комплексу Гольджі помітно, що диктіосоми розташовуються перинуклеарно, невеликих розмірів, їх цистерни неширокі, у них формуються нейрогормональні гранули. При огляді на невеликому збільшенні електронного мікроскопа в окремих полях зору простежуються невеликі осміофільні нейросекреторні гранули, зосереджені навколо комплексу Гольджі, а також в аксоні, що відходить від цієї клітини (див. рис. 2).

Описана субмікроскопічна архітектоніка свідчить про активний функціональний стан великоклітинну НЯ гіпоталамуса під час нічного етапу експерименту.



**Рис. 1.** Субмікроскопічна організація нейросекреторної клітини НЯ гіпоталамуса тварини о 14.00 год за стандартного освітлення (36. x 12 000): 1 – ядро з інвагінаціями, неправильної форми; 2 – нейроплазма електроннощільна; 3 – мітохондрії з невеликою кількістю крист; 4 – канальні гранулярного ендоплазматичного ретикулума; 5 – комплекс Гольджі; 6 – секреторні гранули



**Рис. 2.** Ультраструктурна організація нейросекреторної клітини НЯ гіпоталамуса щура о 02.00 год за стандартного освітлення (36. x 12 000): 1 – неправильної форми електроннощільне ядро з інвагінаціями; 2 – велике ядрце; 3 – нейроплазма; 4 – секреторні гранули, зосереджені біля комплексу Гольджі; 5 – мітохондрії

Перебування щурів впродовж семи діб за умов ІС віддзеркалилося істотною перебудовою ультраструктурної організації НЯ гіпоталамуса, а саме о 14.00 год помітні світлі нейросекреторні клітини з явищами набряку, що характеризуються округлою формою великими ядрами, інвагінацією каріолеми та малого розміру ядерцями (рис. 3).

При електронно-мікроскопічному дослідженні в каріоплазмі виявлено незначні ділянки гетерохроматину, проте здебільшого простежується еухроматин. Водночас у нейроплазмі нейронів НЯ гіпоталамуса констатовано явища деструкції органел, фрагментація і розширення каналців гранулярної ЕПС та цистерн комплексу Гольджі. Привертала увагу майже повна відсутність пухирців (везикул).

Така картина поєднувалася з руйнуванням і мітохондрій, що супроводжувалося формуванням вакуолей. Слід вказати і на виражене локальне просвітлення гіалоплазми та незначний уміст гормональних гранул у таких нейросекреторних клітинах. Це свідчить про виснаження структурної одиниці (див. рис. 3).

За умов утримування тварин в умовах ІС ультраструктурна організація НЯ гіпоталамуса під час нічного етапу експерименту супроводжувалася наступними змінами. У полі зору візуалізуються темні нейросекреторні клітини з пікнотично зміненими ядрами. Їх ядерця менших розмірів, мають нерівні контури, погано виражені пори в каріолемі (рис. 4).

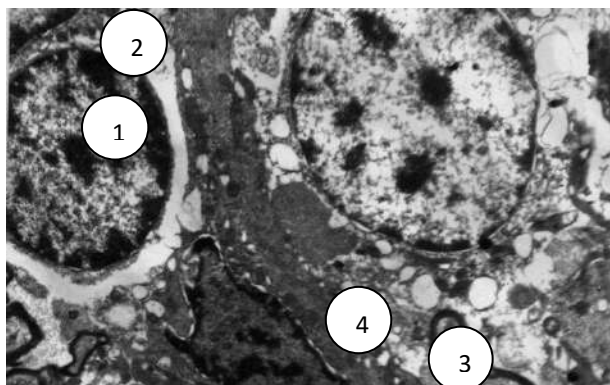
Нечіткими були контури мембранних органел, а нейроплазма характеризувалася підвищенням електронної щільності. При спостереженні каналців гранулярної ЕПС та цистерн комплексу Гольджі встановлено їх осередкове розширення, з формуванням вакуолеподібних структур. При огляді двомембранних органел встановлено, що частина мітохондрій має світлий матрикс і редуковані кристи, а інша частина вакуолізувалася. Помітні лише поодинокі секреторні гранули з гормоном (див. рис. 4). Викладена субмікроскопічна картина вказує на зниження функціональної спроможності структур з явищами набряку та деструкції.

Отже, встановлені електронно-мікроскопічні ознаки перебудови нейронів досліджуваної ділянки гіпоталамуса можна розглядати як прояв пригнічення нейросекреторної активності, зменшення продукції нейросекрета нейронами НЯ гіпоталамуса. Ймовірно, що саме дисбаланс продукції біологічно активних речовин нейросекреторними клітинами НЯ гіпоталамуса щурів, зумовлений іммобілізаційним стресом, призвів до виявлених змін на ультраструктурному рівні.

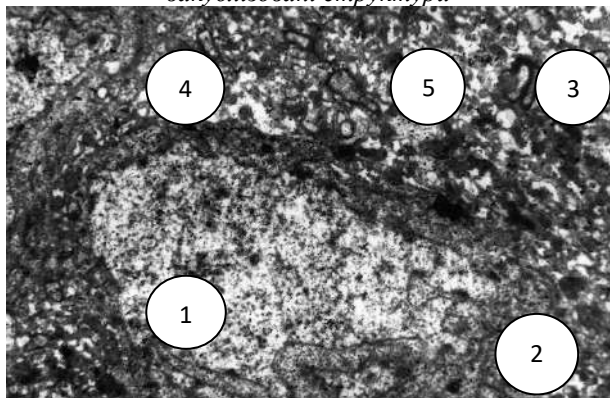
Електронно-мікроскопічні дослідження нейросекреторних клітин НЯ гіпоталамуса тварин, яким вводили екзогенний мелатонін за умов тривалого ІС, дали можливість о 14.00 год виявити темні та світлі нейросекреторні клітини, пікнотично змінені. Ці структури містили ядра неправильної форми, помітні маленькі ядерця. Щодо перинуклеарного простору, то він був збільшеним (рис. 5).



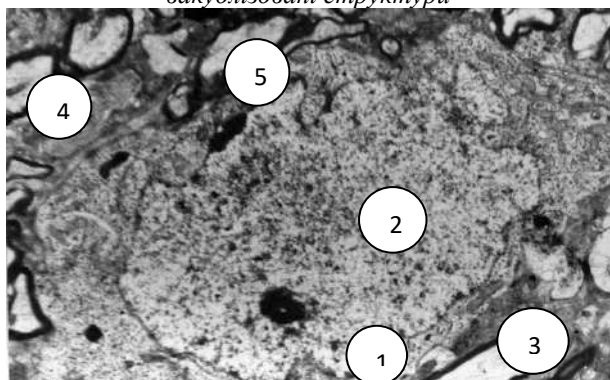




**Рис. 3.** Субмікроскопічна організація нейронів НЯ гіпоталамуса щурів о 14.00 год за умов іммобілізаційного стресу (Зб. x 14 000): 1 – інвагінація каріолеми нейроцита; 2 – розширені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулума; 3 – деструкція комплексу Гольджі; 4 – вакуолізовані структури



**Рис. 4.** Ультраструктура нейросекреторної клітини НЯ гіпоталамуса о 02.00 год за умов іммобілізаційного стресу (Зб. x 18 000): 1 – еухроматинове ядро темного нейроцита; 2 – електронно-щільна гіалоплазма; 3 – деструкція комплексу Гольджі; 4 – розширені каналні гранулярного ендоплазматичного ретикулума; 5 – вакуолізовані структури

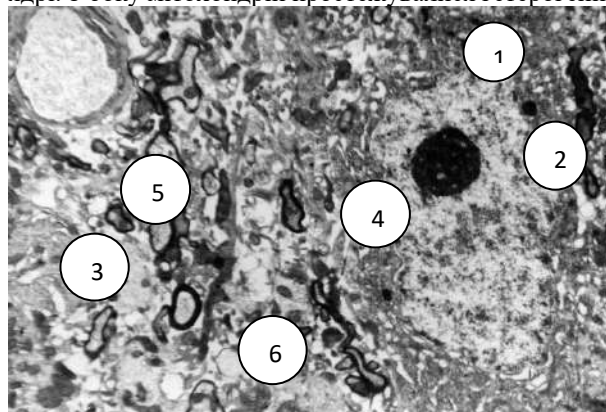


**Рис. 5.** Субмікроскопічна організація НЯ гіпоталамуса о 14.00 год за умов введення мелатоніну на тлі іммобілізаційного стресу (Зб. x 18 000): 1 – ядро; 2 – інвагінації каріолеми; 3 – ендоплазматичний ретикулум; 4 – збільшені цистерни і каналця комплексу Гольджі; 5 – нейросекреторні гранули

Необхідно відзначити, що нейросекреторна клітина перебуває в «збудженому» стані. Достатньо розвинутий виявлений фрагмент гранулярної ЕПС. Також візуалізується невелике число немембранних органел – рибосом. Цистерни і каналці комплексу Гольджі збільшені в об'ємі, частково розширені і потовщені. Розміри секреторних гранул незначні, їх кількість мала, що можна аргументувати як сповільнення їх синтезу чи реалізації. Така отримана картина демонструвала напружений функціональний стан досліджуваного об'єкта (див. рис. 5).

Під час вивчення субмікроскопічної структури НЯ гіпоталамуса щурів, які отримували екзогенний мелатонін за умов тривалого ІС, о 02.00 год встановлено світлі нейросекреторні клітини, які містили велике ядро, воно було пікнотично змінене. Спостерігали інвагінації каріолеми (рис. 6).

Також встановлено домінування еухроматину в ядрі. З боку мітохондрій простежувалися гетерогенні



**Рис. 6.** Ультраструктура нейронів НЯ о 02.00 год при введенні мелатоніну на тлі іммобілізаційного стресу (Зб. x 12 000): 1 – інвагінація каріолеми; 2 – ядрце; 3 – мітохондрії з пошкодженими кристами; 4 – каналці ендоплазматичного ретикулума; 5 – фрагмент комплексу Гольджі; 6 – секреторні гранули

зміни. Помітні збільшені каналці гранулярної ЕПС. Водночас у нейроплазмі спостерігалось невелике число рибосом та небагато гормональних гранул. Вказана картина нейросекреторних клітин віддзеркалює функціональне виснаження НЯ гіпоталамуса.

**Висновки.** 1. У тварин, що перебували в умовах стандартного фотоперіоду, у нічний період експерименту структурна організація нейронів надзорового ядра гіпоталамуса віддзеркалює вираженість внутрішньоклітинних синтезувальних процесів о 02.00 год. Удень відзначається зниження активності досліджуваних структур. 2. В умовах іммобілізаційного стресу ультраструктурна організація вказаних нейронів надзорового ядра гіпоталамуса свідчить про виражені порушення реактивного характеру з ознаками зниження функціональної спроможності структур та явищами набряку і деструкції впродовж періоду спостережень. 3. Ін'єкції мелатоніну на тлі іммобілізаційного стресу

## Оригінальні дослідження

привели до відносного покращання ультраструктурного стану нейронів надзорового ядра гіпоталамуса тварин, свідченням чому є поява нейросекреторних гранул. Однак ультраструктура інших органел досліджуваних нейронів вказує на виснажений стан, зумовлений тривалою іммобілізацією тварин.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому планується досліджувати вплив екзогенного мелатоніну (гормону шишкоподібної залози) на морфофункціональну активність нейронів надзорних ядер гіпоталамуса для глибшого пізнання механізмів участі вказаних структур у регуляції нейроендокринних процесів при стресі і стрес-реактивності організму залежно від тривалості фотоперіоду.

## Список літератури

1. Koptev MM, Vynnyk NI. Morphological substantiation for acute immobilization stress-related disorders of adaptation mechanisms. *Wiad Lek.* 2017;70(4):767-70.
2. Бондаренко ЛА, Губина-Вакулик ГИ, Геворкян АР. Пинеальная железа и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная система: возрастные и хронобиологические аспекты. Харьков; 2013. 264 с.
3. Заморский ИИ, Сопова ИЮ, Хавинсон ВХ. Влияние мелатонина и эпителиamina на содержание продуктов белковой и липидной перекисидации в коре больших полушарий и гиппокампе мозга крыс в условиях острой гипоксии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2012;154(7):59-61.
4. 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 Jun 22];9(3):e92959. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962469/pdf/pone.0092959.pdf> doi: 10.1371/journal.pone.0092959.
5. Bedont JL, Blackshaw S. Constructing the suprachiasmatic nucleus: a watchmaker's perspective on the central clockworks. *Front Syst Neurosci.* 2015;9:74. DOI: 10.3389/fnsys.2015.00074.
6. Fernandez F, Lu D, Ha P, Costacurta P, Chavez R, Heller HC, et al. Circadian rhythm. Dysrhythmia in the suprachiasmatic nucleus inhibits memory processing. *Science.* 2014;346(6211):854-7. DOI: 10.1126/science.1259652.
7. 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.
8. Хавинсон ВХ, Линькова НС, Кветной ИМ, Кветная ТВ, Полякова ВО, Корф Х. Молекулярно-клеточные механизмы пептидной регуляции синтеза мелатонина в культуре пинеалоцитов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2012;153(2):223-6.
9. Арушанян ЭБ, Щетинин ЕВ. Мелатонин как универсальный модулятор любых патологических процессов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016;60(1):79-88. DOI: 10.25557/0031-2991.2016.01.79-88.
10. Bedont JL, Newman EA, Blackshaw S. Patterning, specification, and differentiation in the developing hypothalamus. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2015;4(5):445-68. DOI: 10.1002/wdev.187.
11. 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(1-2):10-22. DOI: 10.1159/000500160.
12. Wang JL, Lim AS, Chiang WY, Hsieh WH, Lo MT, Schneider JA, et al. Suprachiasmatic neuron numbers and rest-activity circadian rhythms in older humans. *Ann Neurol.* 2015;78(2):317-22. DOI: 10.1002/ana.24432.

## References

1. Koptev MM, Vynnyk NI. Morphological substantiation for acute immobilization stress-related disorders of adaptation mechanisms. *Wiad Lek.* 2017;70(4):767-70.
2. Bondarenko LA, Gubina-Vakulik GI, Gevorkyan AR. Pineal'naya zheleza i gipotalamo-gipofizarno-tireoidnaya sistema: vozrastnye i khronobiologicheskie aspekty [The pineal gland and the hypothalamic-pituitary-thyroid system: age and chronobiological aspects]. Kharkov; 2013. 264 p. (in Russian).
3. Zamorskiy II, Sopova IYu, Khavinson VKh. Vliyaniye melatonina i epitalamina na sodержanie produktov belkovoy i lipidnoy peroksidatsii v kore bol'shikh polushariy i gippokampe mozga kryis v usloviyakh ostroy gipoksii [Influence of melatonin and epitalamin on the content of protein and lipid peroxidation products in the cerebral cortex and hippocampus of rats under conditions of acute hypoxia]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2012;154(7):59-61. (in Russian).
4. 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 Jun 22];9(3):e92959. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962469/pdf/pone.0092959.pdf> DOI: 10.1371/journal.pone.0092959.
5. Bedont JL, Blackshaw S. Constructing the suprachiasmatic nucleus: a watchmaker's perspective on the central clockworks. *Front Syst Neurosci.* 2015;9:74. DOI: 10.3389/fnsys.2015.00074.
6. Fernandez F, Lu D, Ha P, Costacurta P, Chavez R, Heller HC, et al. Circadian rhythm. Dysrhythmia in the suprachiasmatic nucleus inhibits memory processing. *Science.* 2014;346(6211):854-7. DOI: 10.1126/science.1259652.
7. 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.
8. Khavinson VKh, Lin'kova NS, Kvetnoy IM, Kvetnaya TV, Polyakova VO, Korf Kh. Molekulyarno-kletochnye mekhanizmy peptidnoy regulyatsii sinteza melatonina v kul'ture pinealotsitov [Molecular cell mechanisms of peptide regulation of melatonin synthesis in pinealocyte culture]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2012;153(2):223-6. (in Russian).
9. Arushanyan EB, Shchetinin EV. Melatonin kak universal'nyy modulyator lyubykh patologicheskikh protsessov [Melatonin as a universal modulator of any pathological processes]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2016;60(1):79-88. DOI: 10.25557/0031-2991.2016.01.79-88. (in Russian).
10. Bedont JL, Newman EA, Blackshaw S. Patterning, specification, and differentiation in the developing hypothalamus. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2015;4(5):445-68. DOI: 10.1002/wdev.187.
11. 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(1-2):10-22. DOI: 10.1159/000500160 .

12. Wang JL, Lim AS, Chiang WY, Hsieh WH, Lo MT, Schneider JA, et al. Suprachiasmatic neuron numbers and rest-activity circadian rhythms in older humans. *Ann Neurol*. 2015;78(2):317-22. DOI: 10.1002/ana.24432.

#### **Відомості про авторів**

Булик Р.Є. – д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри медичної біології та генетики Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці.

Булик Т.С. – канд. мед. наук, доцент кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці.

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

#### **Сведения об авторах**

Булык Р.Е. – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской биологии и генетики Буковинского государственного медицинского университета, г. Черновцы.

Булык Т.С. – канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии Буковинского государственного медицинского университета, г. Черновцы.

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

#### **Information about the authors**

Bulyk R.Ye. – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Medical Biology and Genetics, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Bulyk T.S. – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Smetaniuk O.V. – Assistant Professor, Department of Medical Biology and Genetics, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

*Надійшла до редакції 20.07.21*

*Рецензент – проф. Цигикало О.В.*

*© Р.Є. Булик, Т.С. Булик, О.В. Сметанюк, 2021*