

**ЕФЕКТИ МЕЛАТОНІНУ НА ЩІЛЬНІСТЬ МЕЛАТОНІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ  
У НАДЗОРОВОМУ ЯДРІ ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ**

Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна)

bulyk@bsmu.edu.ua

В організмі ссавців провідна роль епіфізарного гормону – мелатоніну полягає у регуляції циклічних фізіологічних процесів. Актуальним є дослідження мелатонінових рецепторів у структурах гіпоталамуса, залучених в реалізації адаптаційних можливостей організму при впливі стресових чинників. Метою дослідження було оцінити вплив мелатоніну на щільність мелатонінових рецепторів типу 1А у нейронах надзорового ядра гіпоталамуса щурів при іммобілізаційному стресі. Експерименти проведені на нелінійних самцях білих щурів. Іммобілізаційний стрес моделювали шляхом утримання щурів у пластикових клітках-пеналах впродовж 6 год щоденно 7 днів поспіль. Мелатонін (Sigma, USA) вводили внутрішньоочеревинно впродовж 7 днів на фоні іммобілізаційного стресу. Тварин поділено на 3 серії, у кожній з яких забір біоматеріалу здійснювався о 14.00 і о 02.00 год із застосуванням імуногістохімічних, денситометричних та статистичних методів дослідження. Результати проведеного дослідження продемонстрували, що щільність рецепторів до мелатоніну типу 1А у нейронах надзорового ядра гіпоталамуса щурів характеризується чітким циркадіанним ритмом, з найвищими показниками о 02.00, тоді як о 14.00 вона знижується. У тварин, які перебували за іммобілізаційного стресу оптична густина специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів типу 1А вірогідно менша щодо контролю. Ін'єкції мелатоніну за умов іммобілізаційного стресу спричинили зростання показника у нейронах надзорових ядер гіпоталамуса щурів, особливо о 02.00 год, порівняно з тваринами, які знаходилися за тривалої іммобілізації без введення препарату.

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

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри медичної біології та генетики "Морфофункціональне і біохімічне обґрунтування дисфункції нейросекреторних структур головного мозку й ендокринних залоз та гепаторенальної системи щурів при експериментальній патології, у віковому аспекті та шляхи її корекції", номер державної реєстрації 0119U101346.

**Вступ.** Одним з компонентів здорового способу життя є постійна рухова активність. Рух – невід'ємна складова живої матерії, обмеження рухової активності є потужним стрес-фактором. В умовах нестачі руху виникає дисинхроноз, порушується ритмічна діяльність систем організму.

На життєдіяльність всіх організмів на Землі також впливають біологічні ритми. На даний час біоритмічність визнана однією із основних властивостей всіх живих організмів. Вона є важливим механізмом регуляції функцій, які забезпечують здатність організмів підтримувати гомеостаз та пристосовуватися до змін

навколишнього середовища [1, 2]. Невід'ємною складовою живої матерії є рух, обмеження рухової активності – це потужний стрес-фактор. В умовах нестачі руху виникає дисинхроноз, порушується ритмічна діяльність систем організму.

Чергування циркадіанного (білядобового) циклу дня і ночі – найбільш важливий регулятор різноманітних фізіологічних ритмів у всіх живих організмів [3]. Основним ритмоводієм функції організму вважають нейроендокринну мозкову структуру – шишкоподібну залозу (епіфіз мозку), яка виявлена у всіх хребетних. Разом з супрахізматичним ядром (СХЯ) гіпоталамуса, ця залоза входить в систему т. з. біологічного годинника організму, що відіграє ключову роль у механізмах «відліку внутрішнього часу» [4, 5]. При цьому СХЯ гіпоталамуса виконує роль центрального осцилятора, що регулює підлаштування ритмів обміну речовин і енергії до ритмів освітленості як до екзогенного джерела енергії [6, 7].

Кодування інформації про світловий режим здійснюється за допомогою основного гормону шишкоподібної залози – мелатоніну [1, 6]. Впливаючи на функціональну активність гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової та статевої систем, мелатонін бере участь в регуляції циркадіанних і сезонних ритмів. Показано, що секреція мелатоніну підпорядкована чітким добовим варіаціям з мінімальним значенням вдень і максимумом близько 02.00 год [8, 9].

Гіпоталамус, як вищий підкірковий центр автономної (вегетативної) нервової системи, має потужний регулювальний вплив на всі життєвоважливі функції організму, у т. ч., і на підтримання гомеостатичної рівноваги живої системи, яка порушується в результаті діяльності стресорів, зокрема іммобілізації [10, 11]. У зв'язку з важливою роллю великоклітинних нейросекреторних надзорових ядер (НЯ) гіпоталамуса в реалізації адаптаційних можливостей організму актуальним є вивчення щільності мелатонінових рецепторів типу 1А у цих структурах при впливі на організм експериментальних тварин іммобілізаційного стресу та ефектів мелатоніну [12].

**Мета дослідження** – з'ясувати вплив іммобілізаційного стресу на щільність мелатонінових рецепторів типу 1А у нейронах надзорового ядра гіпоталамуса щурів та ефекти екзогенного мелатоніну.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти проведені на статевозрілих білих нелінійних щурах-самцях. Піддослідні тварини розподілені на три серії, кожна з яких, у свою чергу, складалася з двох підгруп (по шість тварин). Тварини 1-ої серії (контрольна група) перебували 7 днів за умов стандартного світлового режиму (світло з 08.00 до 20.00 год, освітленість люмінесцентними лампами на рівні кліток 500 Лк). Щурам 2-ої серії, які знаходилися за тих же умов освітлення, що тварини 1-ої серії, моделювали тривалий іммобі-

лізаційний стрес шляхом їх утримання впродовж 6 год у спеціальних пластикових клітках-пеналах щоденно 7 діб поспіль. Третю серію склали щури, яким впродовж семи діб на фоні іммобілізаційного стресу внутрішньоочередово вводили мелатонін (Sigma, USA) у дозі 0,5 мг/кг маси тіла щура.

Для виявлення циркадних відмінностей у щільності мелатонінових рецепторів типу 1A по завершенню семиденного експерименту, наступного дня о 14.00 і 02.00 год виводили тварин з дослідження, здійснюючи одномоментну декапітацію під етамінловим наркозом (40,0 мг/кг, внутрішньоочередово). Усі етапи експерименту проведено 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 законами України.

Видалений головний мозок фіксували в нейтральному забуференому 10% розчині формаліну протягом 22-24 годин. Перед зануренням у розчин формаліну робили невеликі розрізи у м'якій оболонці мозку для кращого просякнення тканин мозку формаліном. Далі, з зафіксованої тканини головного мозку щурів пластинами вирізали шматочки товщиною близько одного міліметра, коли перший зріз проходив через передню частину перехрестя оптичного нерва, а другий зріз – через задню частину перехрестя оптичного нерва. Вирізані пластини тканини мозку зневоднювали у висхідній батареї спиртів та заливали в парафін при 58°C. На санному мікромомі робили серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Далі на зрізах виконували імуногістохімічні методики у відповідності до протоколів, наданих виробником. Зокрема, застосували первинні антитіла проти рецепторів до мелатоніну типу 1A (Abcam). Візуалізацію первинних антитіл проводили полімерною системою Dako із барвником діамінобензидином (дає коричневе забарвлення місць розташування досліджуваних антигенів) за допомогою мікроскопу Delta Optical Evolution 100 (планхроматичні об'єктиви) та цифрової камери Olympus SP550UZ.

На цифрових копіях зображень оцінку інтенсивності забарвлення здійснювали методом комп'ютерної мікроденситометрії. Для цього за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми ImageJ v1.48 спочатку мікросондовим методом отримували комп'ютерну величину яскравості забарвлення у 8-бітній системі

**Таблиця – Оптична густина специфічного забарвлення на мелатонінові рецептори 1A у нейронах надзорних ядер щурів за умов постійного освітлення та уведення мелатоніну ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Години доби	Оптична густина специфічного забарвлення (в.о.опт. щільності)		
	контроль (n=6)	Іммобілізаційний стрес (n=6)	Іммобілізаційний стрес + мелатонін (n=6)
02.00	0,489±0,0023	0,217±0,0016	0,411±0,0024
14.00	0,465±0,0022*	0,215±0,0020	0,324±0,0025*

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

аналізу, а потім ці величини шляхом логарифмічного перетворення переводили у величину відносної оптичної густини (у в.од.опт.густини), в діапазоні від 0 (абсолютна прозорість) до 1 (абсолютна непрозорість).

**Обробка даних.** Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми PAST. Застосовували попередню перевірку на нормальність розподілу за критерієм Вілкі-Хана-Шапіро. Для всіх статистичних вибірок згідно з цим критерієм гіпотеза про нормальність розподілу не відхилялася, тому використовували параметричні методи статистичного аналізу: обчислення середньої арифметичної та її похибки ( $M \pm m$ ), непарний двобічний критерій Стьюдента. Разом з тим, враховуючи порівняно невелику чисельність у статистичних вибірках для підвищення надійності результатів перевірки розбіжностей між групами дослідження у середніх тенденціях додатково застосовували критерій Манна-Вітні.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Вагомим критерієм залучення НЯ гіпоталамуса у часову організацію фізіологічних функцій є щільність розташування мелатонінових рецепторів у них. 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 концентрувалися переважно по периферії кожної клітини, що пояснюється трансмембранним розташуванням мелатонінових рецепторів 1A типу. Імуногістохімічного забарвлення ядер не спостерігали – вони фарбувалися виключно гематоксиліном і характеризувалися типовою для нейронів НЯ морфологією. Нами виявлено, що о 02.00 год показник перебував у межах 0,489±0,0023 в.о.опт. щільності. Водночас, о 14.00 год зменшувалася кількість позитивно забарвлених нейронів до рівня 0,465±0,0022 в.о.опт. щільності у полі зору площею 1600 мкм<sup>2</sup> (p=0,002 за критерієм Ньюмена-Кейлса) (**табл.**).

У цілому, зменшення кількості нейронів нами не спостерігалось, але виявлено зменшення оптичної густини специфічного забарвлення в них мелатонінових рецепторів до концентрації, яка нижча порогу чутливості застосованої імуногістохімічної методики, що нами розцінено як зменшення щільності мелатонінових рецепторів.

Щодо результатів мікроденситометричних досліджень оптичної густини специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів 1A у нейронах НЯ в тварин, які перебували за умов іммобілізаційного стресу, то вони вказують на вірогідне зниження значень порівняно з такими в контрольній групі тварин, хоча впродовж доби коливання показника в середньому вірогідно не відрізнялися. У тварин, що перебували за умов іммобілізаційного стресу, о 02.00 год показник становив 0,217±0,0016 в.о.опт. щільності (**табл.**).

Порівнюючи 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 мелатонінових рецепторів 1A у нейронах НЯ гіпоталамуса перебувала у межах 0,215±0,0020 в.о.опт. щільності. Слід відміти-

ти, що перебування щурів за умов іммобілізаційного стресу істотно знижує досліджуваний показник як о 14.00, так і 02.00 год порівняно з контрольними величинами (табл.).

Таким чином, якщо оптична густина специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів 1A у нейронах НЯ гіпоталамуса щурів за стандартного світлового режиму характеризувалася чіткими добовими коливаннями, то утримування тварин за умов іммобілізаційного стресу призвело до вираженого їх порушення. У тварин, які перебували за тривалої іммобілізації оптична густина специфічного забарвлення досліджуваних структур вірогідно менша щодо контролю. Крім того, мінімальна кількість мелатонінових рецепторів у нейронах НЯ гіпоталамуса встановлена при тривалій іммобілізації саме о 14.00 год і становила  $0,215 \pm 0,0020$  в.о.опт. щільності (табл.).

Препаратом, який використовували для корекції змін, викликаних тривалим перебуванням щурів за умов іммобілізаційного стресу, при визначенні оптичної густини специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів 1A у нейронах НЯ гіпоталамуса щурів обрано мелатонін (Sigma, USA) у дозі 0,5 мкг/кг маси тіла тварини.

Ін'єкції мелатоніну за умов іммобілізаційного стресу спричинили о 02.00 год зростання оптичної густини специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів 1A у нейронах НЯ гіпоталамуса щурів порівняно з тваринами, які знаходилися за тривалої іммобілізації без уведення препарату (табл.).

Імуногістохімічними дослідженнями о 14.00 год при уведенні препарату спостерігали вірогідне зменшення оптичної густини специфічного забарвлення досліджуваних структур до  $0,324 \pm 0,0025$  в.о.опт. щільності у полі зору площею  $1600 \text{ мкм}^2$  порівняно з такою о 02.00 год ( $p < 0,001$  за критерієм Ньюмена-Кейлса). Зокрема, кількість позитивно забарвлених на мелатонінові рецептори 1A нейронів НЯ була вищою у досліджуваних періодах доби щодо такої у тварин, яким не вводили мелатонін на фоні іммобілізаційного стресу (табл.).

Якщо в контрольній групі тварин кількість позитивно забарвлених на мелатонінові рецептори 1A нейронів НЯ у полі зору площею  $1600 \text{ мкм}^2$  становила у нічний період (02.00 год)  $0,489 \pm 0,0023$  в.о.опт. щільності, а в денний (14.00 год) –  $0,465 \pm 0,0022$  в.о.опт. щільності, то при застосуванні мелатоніну на фоні іммобілізаційного стресу кількість досліджуваних нейронів складала о 02.00 год –  $0,411 \pm 0,0024$  в.о.опт. щільності та о 14.00 год –  $0,324 \pm 0,0025$ , в.о.опт. щільності відповідно (табл.). За критерієм Ньюмена-Кейлса між групами, зразки яких забирали для дослідження вдень, розбіжність вірогідна ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, тижневе уведення мелатоніну на фоні іммобілізаційного стресу проявлялося тенденцією до нормалізації оптичної густини специфічного забарвлення на мелатонінові рецептори 1A у нейронах надзорних ядер гіпоталамуса щурів, що особливо помітно у зразках, відібраних на дослідження о 02.00 год, коли показник перебував у межах  $0,411 \pm 0,0024$  в.о.опт. щільності.

#### Висновки.

1. Щільність рецепторів до мелатоніну типу 1A у нейронах надзорного ядра гіпоталамуса характеризується чітким циркадіанним ритмом, з найвищими показниками о 02.00, тоді як о 14.00 вона знижується.

2. У тварин, які перебували за іммобілізаційного стресу оптична густина специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів типу 1A вірогідно менша щодо контролю, зокрема о 14.00 год становила  $0,215 \pm 0,0020$  в.о.опт. щільності.

3. Ін'єкції мелатоніну в дозі 0,5 мг/кг спричинили вірогідне підвищення середніх величин щільності рецепторів до мелатоніну типу 1A у нейронах надзорного ядра гіпоталамуса.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому планується дослідити вплив світлового стресу на морфометричну характеристику нейронів надзорного ядра гіпоталамуса та проаналізувати щільність рецепторів до мелатоніну типу 1A у вказаних мозкових структурах при світловій стимуляції.

#### Література

- Bondarenko LA, Gubina-Vakulik GI, Gevorkyan AR. Pineal'naya zhelezha i gipotalamo-gipofizarno-tireoidnaya sistema: vozrastnye i khronobiologicheskie aspekty. Khar'kov: S.A.M.; 2013. 264 s. [in Russian].
- Zamorskiy II, Sopova IYu, Khavinson VKh. Vliyaniye melatonina i epitalamina na sodержaniye produktov belkovoy i lipidnoy peroksidatsii v kore bol'shikh polushariy i gippokampe mozga kryis v usloviyakh ostroy gipoksii. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2012;154(7):59-61. [in Russian].
- 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 2019 Sep 14];9(3):e92959. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962469/pdf/pone.0092959.pdf>. DOI: 10.1371/journal.pone.0092959.
- Bedont JL, Blackshaw S. Constructing the suprachiasmatic nucleus: a watchmaker's perspective on the central clockworks. Front Syst Neurosci [Internet]. 2015 [cited 2019 Sep 11];9:74. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4424844/pdf/fnsys-09-00074.pdf>. DOI: 10.3389/fnsys.2015.00074.
- 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.
- Venegas C, Garcia 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.
- 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.
- Arushanian EB, Schetinina EV. Melatonin kak universal'nyy modulyator lyubikh patologicheskikh protsessov. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. 2016;60(1):79-88. DOI: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2016.01.79-88>. [in Russian].
- Khavinson VKh, Lin'kova NS, Kvetnoy IM, Kvetnaya TV, Polyakova VO, Korf Kh. Molekulyarno-kletochnye mekhanizmy peptidnoy regulyatsii sinteza melatonina v kul'ture pinealotsitov. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2012;153(2):223-6. [in Russian].
- Koptev MM, Vynnyk NI. Morphological substantiation for acute immobilization stress-related disorders of adaptation mechanisms. Wiadomosci Lekarskie 2017;70(4):767-770. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29064803/>.
- 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.
- 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.

## ЕФЕКТИ МЕЛАТОНІНУ НА ЩІЛЬНІСТЬ МЕЛАТОНІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ У НАДЗОРОВОМУ ЯДРІ ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ

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

**Резюме.** Вступ. В організмі ссавців провідна роль епіфізарного гормону мелатоніну полягає у регуляції циклічних фізіологічних процесів. У реалізації клітинної відповіді беруть участь його рецептори і сайти зв'язування. Обмеження рухової активності (гіпокінезія, або іммобілізація) – потужний стресорний фактор, який порушує ритмічність перебігу фізіологічних процесів і викликає десинхроноз.

**Мета** – з'ясування впливу іммобілізаційного стресу на щільність мелатонінових рецепторів типу 1А у нейронах надзорового ядра гіпоталамуса щурів та ефектів екзогенного мелатоніну.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти проведені на нелінійних самцях білих щурів, масою 200–220 г. Іммобілізаційний стрес моделювали шляхом утримання щурів у пластикових клітках-пеналах впродовж 6 год щоденно 7 днів поспіль. Мелатонін (Sigma, USA) вводили в/очеревинно впродовж 7 днів на фоні іммобілізаційного стресу. Тварин поділено на 3 серії, у кожній з яких забір біоматеріалу здійснювався о 14.00 і о 02.00 год із застосуванням імуногістохімічних, денситометричних та статистичних методів дослідження.

**Результати.** У тварин, які перебували за тривалої іммобілізації оптична густина специфічного забарвлення досліджуваних структур вірогідно менша щодо контролю. Ін'єкції мелатоніну за умов іммобілізаційного стресу спричинили зростання показника у нейронах надзорових ядер гіпоталамуса щурів, особливо о 02.00 год, порівняно з тваринами, які знаходилися за тривалої іммобілізації без уведення препарату.

**Висновки.** Щільність рецепторів до мелатоніну типу 1А у нейронах надзорового ядра гіпоталамуса характеризується чітким циркадіанним ритмом, з найвищими показниками о 02.00, тоді як о 14.00 вона знижується. У тварин, які перебували за іммобілізаційного стресу оптична густина специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів типу 1А вірогідно менша щодо контролю. Ін'єкції мелатоніну спричинили вірогідне підвищення середніх величин щільності рецепторів до мелатоніну типу 1А у нейронах надзорового ядра гіпоталамуса тварин.

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

## EFFECTS OF MELATONIN ON MELATONIN RECEPTOR DENSITY IN THE SUPRACHIASMATIC NUCLEUS OF RAT HYPOTHALAMUS UNDER STRESS CONDITIONS

Bulyk R. E., Bulyk T. S., Smetanyuk O. V., Vlasova K. V., Kryvchanska M. I.

**Abstract. Introduction.** In mammals, the epiphyseal hormone melatonin plays a key role in the regulation of cyclic physiological processes. Its receptors and binding sites are involved in cellular response. Limitation of motor activity (hypokinesia or immobilization) is a powerful stressor factor that causes desynchronization.

**The aim** is to elucidate the effect of immobilization stress on melatonin type 1A receptor density in rat hypothalamic suprachiasmatic nucleus neurons and the effects of exogenous melatonin.

**Materials and methods.** Experiments were performed on nonlinear male white rats weighing 200–220 g. Immobilization stress was simulated by keeping rats in plastic penal cages for 6 hours daily for 7 consecutive days. Melatonin (Sigma, USA) was administered by peritoneal injection for 7 days against the background of immobilization stress. Animals were divided into 3 series, in each of which biomaterial was collected at 2 p.m. and at 2 a.m. using immunohistochemical, densitometric and statistical methods of investigation.

**Results.** In animals under long immobilization, the optical density of specific staining of the studied structures was significantly lower than that of the control series. Melatonin injections under immobilization stress caused the index increase in rat hypothalamic SN neurons especially at 2 a.m. in comparison with animals kept under long immobilization without drug administration.

**Conclusions.** The melatonin type 1A receptor density in neurons of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus has a clear circadian rhythm, with the highest values at 2 a.m., whereas at 2 p.m. it decreases. In animals subjected to immobilization stress, the optical density of specific staining for melatonin type 1A receptors was significantly lower than in controls. Injection of melatonin caused significant increase in mean values of melatonin receptor density to melatonin type 1A in SN neurons of animals' hypothalamus.

**Keywords:** suprachiasmatic nucleus, immobilization stress, melatonin.

### ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Bulyk R. E.: 0000-0003-0651-534X<sup>AEF</sup>

Bulyk T. S.: 0000-0002-3721-8738<sup>A</sup>

Smetanyuk O. V.: 0000-0002-8985-2650<sup>BD</sup>

Vlasova K. V.: 0000-0002-8969-105X<sup>C</sup>

Kryvchanska M. I.: 0000-0003-3425-8125<sup>E</sup>

### Конфлікт інтересів:

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Булик Роман Євгенович

Буковинський державний медичний університет

Адреса: Україна, 58002, м. Чернівці, Театральна площа 2

Тел.: +380372533021

E-mail: bulyk@bsmu.edu.ua

А – концепція роботи та дизайн, В – збір та аналіз даних, С – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Білаш С. М.

Стаття надійшла 07.02.2021 року

Стаття прийнята до друку 11.08.2021 року