

wall and the distal ileum was performed with a monopolar electric knife, in the control (II) group, a scalpel blade was used to dissect the tissue.

Investigations of changes that occurred in the area of influence of the monopolar electric knife and scalpel blade were performed by macroscopic evaluation and pathomorphological examination using light microscopy.

The study found that the use of an electric scalpel prolongs the wound regeneration process, which has a negative effect, as it usually leads to excessive growth of granulation tissue, and creates the preconditions for the formation of pathological scars. Therefore, the use of high-frequency current as a method of skin dissection is one of the factors in the formation of keloid scars. Disturbances of microcirculation in histological preparations obtained from the ileum of experimental group (I) indicate the negative impact of high-frequency current. Such disorders in the regeneration process can lead to complications in the postoperative period – failure of the anastomotic sutures or the formation of stenosis. The obtained results give grounds to assert that the effect of a high-frequency short-wave electric scalpel on the biological tissues of experimental animals was negative, and its effectiveness at different stages of surgery is quite low.

**Key words:** monopolar electric knife, high-frequency current, laboratory animals, microcirculation disorders.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.*

*Стаття надійшла 25.01.2021 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-197-200

УДК 611.814.1.068:591.44:599.323.452

*Булик Р. Є., Йосипенко В. Р., Власова К. В.*

## **ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ МОРФОМЕТРИЧНОГО СТАНУ БІЧНОГО ПЕРЕДЗОРОВОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ НА ТЛІ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ**

**Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці)**

**v.yosypenko@bsmu.edu.ua**

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри медичної біології та генетики “Морфофункціональне 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” державний реєстраційний номер 0119U101346.

**Вступ.** Для всіх живих організмів, починаючи від одноклітинних організмів, рослин і закінчуючи людьми властиві циркадіанні ритми [1]. Циркадіанні ритми – еволюційно вироблений механізм, що дозволяє організмам адаптуватися до циклічних змін зовнішнього середовища, пов'язаних з обертанням Землі навколо своєї осі (зміна дня і ночі) [2]. На сьогодні встановлено наявність циркадіанних ритмів рухової активності, температури тіла та шкіри, частоти пульсу і дихання, кров'яного тиску, діурезу тощо [3]. Ритм сну і неспання – один із найважливіших циркадіанних ритмів у організмі людини [1].

Сон регулюється гомеостатичними та циркадіанними процесами, що залучають різні нейронні структури, серед яких важливою є гіпоталамічна регуляція. Доведено, що у гіпоталамусі розташовано кілька нейропептид-продукуючих нейронів, що беруть участь у регуляції циклу сон-неспання. Ключову роль для ініціювання та підтримання сну відіграє бічне передзорове ядро (БПЯ) гіпоталамуса [4]. Нейрони цього ядра містять нейромедіатори галанін і гамма-аміномасляну кислоту, що забезпечують інгібуючу іннервацію основних моноамінових систем головного мозку, які визначають період неспання [5].

Гормон шишкоподібної залози – мелатонін і меншою мірою фізична та соціальна активність є важливими факторами для синхронізації циркадіанного ритму з 24-годинним днем. Секреція мелатоніну підпорядковується циркадіанному ритму, зі збільшен-

ням його концентрації протягом ночі [6] та зниженням в денний період доби [7]. Наявність добового ритму продукції мелатоніну є маркером нормальної роботи циркадіанної системи ендогенних біоритмів і їх синхронізації зі зміною дня і ночі [8] та регуляції циклу сон-неспання [9]. В результаті порушень циркадіанних ритмів виникає неузгодженість між періодом сну і фізичним/соціальним 24-годинним циклом навколишнього середовища, що може проявлятися безсонням вночі та сонливістю протягом дня [10]. Сьогодні поширеність порушень сну у людській популяції сягає 80-95%. Щорічно нестачу сну відчувають від 1/3 до 1/2 населення, а в 10-15% людей безсоння – клінічно значуща проблема, яка знижує якість життя [11].

Поряд з численними фізіологічними змінами при старінні, змінюється і сон. Вікові зміни сну включають в себе зниження тривалості нічного сну, збільшення частоти засинання вдень, збільшення кількості нічних пробуджень і часу, проведеного без сну протягом ночі, зниження фази повільнохвильового сну [12].

**Мета дослідження** полягала у з'ясуванні впливу різного режиму освітлення на морфометричну характеристику бічного передзорового ядра гіпоталамуса зрілих і старих щурів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти проведені на 72 статевозрілих та старих білих нелінійних щурах-самцях. Всі піддослідні тварини поділені на шість серій (по дванадцять щурів), кожна з яких, у свою чергу, складалася з двох груп (по шість тварин).

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

**Таблиця 1 – Окремі морфометричні показники бічного передзорового ядра гіпоталамуса щурів за стандартного світлового режиму**

Показник	Години доби	Зрілі щури	Старі щури
Середній об'єм нейронів (мкм <sup>3</sup> )	14.00	1148±12,9	1007±11,6 p<0,001
	02.00	1151±12,1	1011±10,2 p<0,001
Середній об'єм ядер нейронів (мкм <sup>3</sup> )	14.00	424±10,2	422±10,7
	02.00	426±10,0	425±10,2
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення в нейронах	14.00	0,369±0,0028	0,419±0,0031 p<0,001
	02.00	0,370±0,0025	0,420±0,0034 p<0,001
Середня кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм <sup>2</sup> )	14.00	24±0,3	16±0,2 p<0,001
	02.00	23±0,4	16±0,3 p<0,001

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

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

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

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

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

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

Враховуючи циклічність синтезу мелатоніну забір матеріалу здійснювали з 12-годинним інтервалом (о 14.00 та о 02.00 год.), здійснюючи одномоментну декапітацію під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно). Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

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

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

Статистичне опрацювання отриманих результатів проводили за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми PAST. З метою перевірки на нормальність розподілу застосовували критерій

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

**Результати дослідження та їх обговорення.** При стандартному вирізуванні шматочків головного мозку, коли перший зріз проходив через передню частину перехрестя оптичного нерва, а другий зріз – через задню частину перехрестя оптичного нерва, в готових гістологічних препаратах завжди спостерігали характерну закономірність: тоді, коли в зріз регулярно потрапляли обидва надзорні ядра, то бічне передзорове ядро гіпоталамуса в гістологічний зріз потрапляло або одне (праве чи ліве), або було видно одне ядро в зоні його найбільшого діаметру, а інше ядро було розрізано тангенціально. Це дозволяє стверджувати, що розташування БПЯ не є абсолютно симетричним, обидва ядра без сумніву присутні по одному в кожній півкулі головного мозку, але одно з них знаходиться трохи попередю іншого.

Бічне передзорове ядро (його фрагмент) на гістологічних зрізах завжди мало кулясту або овальну форму. При забарвленні гематоксилином і еозином великих збільшеннях було видно, що нейрони БПЯ гіпоталамуса мали темнозабарвлене ядро овальної або полігональної форми, часто з гострими кутами, а цитоплазма, навпаки була світлою, майже прозорою. На додаток, щільність розташування нейронів в окремо взятому БПЯ гіпоталамуса також була рівномірною – в центрі чи на периферії.

Отже, враховуючи вищеповані властивості БПЯ гіпоталамуса та його нейронів, найбільш доречним вважали вимірювання об'єму нейрона та його ядра, з наступним обрахуванням ядерно-цитоплазматичного співвідношення, а з урахуванням відмічених особливостей щодо кількості нейронів на одиниці площі БПЯ гіпоталамуса підраховували також і цей показник. Середні дані (середня арифметична та її похибка) щодо вказаних морфометричних показників за стандартного режиму освітлення (12.00С:12.00Т) наведені в **таблиці 1**.

З наведених у **таблиці 1** даних видно, що при стандартному режимі освітлення в різні години доби експерименту по зазначених показників розбіжностей у середніх тенденціях не виявлено.

Водночас, існує різниця між зрілими та старими щурами, за виключенням середнього об'єму ядер. Зокрема, у старих щурів у середньому зменшується загальний об'єм нейронів, за рахунок чого зростає ядерно-цитоплазматичне співвідношення. Крім того, необхідно вказати на суттєве зниження (близько 30%) в старих щурів у порівнянні зі зрілими щурами середньої кількості нейронів на одиницю площі 10000 мкм<sup>2</sup> гістологічного зрізу (100x100 мкм<sup>2</sup>).

За умов світлової депривації (00.00С:24.00Т) всі тенденції, що описані для щурів, які знаходилися за звичайного світлового режиму збереглися (табл. 2).

Відмінностей у середніх тенденціях у щурів, яких утримували за умов цілодобової темряви у порівнянні зі щурами, які перебували за стандартного світлового режиму не виявлено ( $p > 0,05$ ).

Вказані тенденції збереглися і за умов світлової стимуляції (табл. 3).

**Висновки.** Проведені гістологічні дослідження бічного передзорового ядра гіпоталамуса показали, що у старих щурів у порівнянні зі зрілими щурами зменшується кількість нейронів (близько 30%) на одиницю площі гістологічного зрізу, знижується об'єм нейронів за рахунок зменшення об'єму їх цитоплазми з відповідним зростанням показника ядерно-цитоплазматичного співвідношення (ядерно-цитоплазматичного коефіцієнту). Водночас, зазначені показники не реагували ні на умови освітлення, ні на час доби, коли моделювалися відповідні умови експерименту.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому планується дослідити вплив гормону шишкоподібної залози – мелатоніну в якості експериментальної терапії для корекції морфометричних відхилень бічного передзорового ядра гіпоталамуса зрілих і старих щурів, викликаних зміною режиму освітлення.

**Таблиця 2 – Окремі морфометричні показники бічного передзорового ядра гіпоталамуса щурів за умов світлової депривації**

Показник	Години доби	Зрілі щури	Старі щури
Середній об'єм нейронів (мкм <sup>3</sup> )	14.00	1143±12,6	1002±11,1 $p < 0,001$
	02.00	1145±12,4	1010±10,3 $p < 0,001$
Середній об'єм ядер нейронів (мкм <sup>3</sup> )	14.00	423±10,5	420±10,9
	02.00	424±10,3	423±10,5
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення в нейронах	14.00	0,370±0,0027	0,419±0,0032 $p < 0,001$
	02.00	0,370±0,0026	0,419±0,0029 $p < 0,001$
Середня кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм <sup>2</sup> )	14.00	22±0,6	15±0,3 $p < 0,001$
	02.00	22±0,6	16±0,4 $p < 0,001$

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

**Таблиця 3 – Окремі морфометричні показники бічного передзорового ядра гіпоталамуса щурів за умов світлової стимуляції**

Показник	Години доби	Зрілі щури	Старі щури
Середній об'єм нейронів (мкм <sup>3</sup> )	14.00	1152±12,7	1006±11,0 $p < 0,001$
	02.00	1150±12,7	1004±10,9 $p < 0,001$
Середній об'єм ядер нейронів (мкм <sup>3</sup> )	14.00	422±10,6	423±10,0
	02.00	425±10,3	424±10,6
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення в нейронах	14.00	0,366±0,0029	0,420±0,0021 $p < 0,001$
	02.00	0,369±0,0021	0,422±0,0022 $p < 0,001$
Середня кількість нейронів на стандартній площині гістологічного зрізу (100x100 мкм <sup>2</sup> )	14.00	25±0,5	15±0,4 $p < 0,001$
	02.00	23±0,3	17±0,4 $p < 0,001$

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

### Література

- Baron KG, Reid KJ. Circadian Misalignment and Health. *Int Rev Psychiatry*. 2014;26(2):139-54. doi: 10.3109/09540261.2014.911149.
- Chaulin AM, Duplyakova PD, Duplyakov DV. Tsirkadnye ritmy serdechnykh tropinov: mekhanizmy i klinicheskoe znachenie. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal*. 2020;25(3):62-9. doi: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-4061>. [in Russian].
- Zakharchuk OI. Vzaiemoz'iazok rozladiv khronostruktury tsyrkadiannykh rytmiv ta porushen' tsyклу "son-nespannia". *Molodyy vcheny*. 2014;10:94-7. [in Ukrainian].
- Meira e Cruz M, Laranjo SM, Rocha I. Hypothalamus in Health and Diseases. London: Intech Open; 2018. Chapter 3, Hypothalamic Control of Sleep-Wake Circadian Cycle; p. 31-45. doi: 10.5772/intechopen.79899.
- Kroeger D, Absi G, Gagliardi C, Bandaru SS, Madara JC, Ferrari LL, et al. Galanin neurons in the ventrolateral preoptic area promote sleep and heat loss in mice. *Nat Commun [Internet]*. 2018 [cited 2021 Mar 31]; 9(1):4129. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-018-06590-7>. doi: 10.1038/s41467-018-06590-7.
- Kostenko EV, Manevich TM, Razumov NA. Desinkhronoz kak odin iz vazhneyshikh faktorov voznikoveniya i razvitiya tserebrovaskulyarnykh zabolevaniy. *Lechebnoe delo*. 2013;2:104-16. [in Russian].
- Pishak VP, Bulyk RYe, Kryvchanska MI, Gromyk OO, Pishak OV. Osnovni fiziologichni vlastyosti melatoninu. *Intehratyva Antropolohiya*. 2015;1:32-8. [in Ukrainian].
- Aulamazyan EK, Evsyukova II, Yarmolinskaya MI. Rol' melatonina v razvitii gestatsionnogo sakharnogo diabeta. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2018;67(1):85-91. doi: <https://doi.org/10.17816/JOWD67185-91>. [in Russian].
- Berdina ON, Madaeva IM, Rychkova LV. Ozhirenie i narusheniya tsirkadnykh ritmov sna i bodrstvovaniya: tochki soprikosnoveniya i perspektivy terapii. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020;5(1):21-30. doi: <https://doi.org/10.29413/ABS.2020-5.1.3>. [in Russian].
- Akarachkova EC, Tsareva EV. Rasstroystva sna, svyazannye s tsirkadnym ritmom. *Stress pod kontrolem*. 2019;1:9-19. [in Russian].
- Ryznychuk MO, Pishak, VP. Ozhyrinnia: rol' desynkhronozu ta henetychnykh chynnykiv u mekhanizmakh yoho rozvytku. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2017;8(1):23-9. doi: <https://doi.org/10.15421/021705>. [in Ukrainian].
- Bulgakova S, Romanchuk N. Son i starenie: endokrinnye i epigeneticheskie aspekty. *Byulleten' nauki i priktiki*. 2020;6(8):65-96. doi: 10.33619/2414-2948/57/08. [in Russian].

### ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ МОРФОМЕТРИЧНОГО СТАНУ БІЧНОГО ПЕРЕДЗОРОВОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ НА ТЛІ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ

Булик Р. Є., Йосипенко В. Р., Власова К. В.

**Резюме.** Сон – складний фізіологічний процес, що регулюється гомеостатичними та циркадіанними процесами, які залучають різні нейронні структури. Ключову роль у регуляції циклу сон-неспанння відіграє бічне передзорове ядро гіпоталамуса. У статті наводиться аналіз результатів власних гістологічних та морфометричних досліджень нейронів бічного передзорового ядра гіпоталамуса зрілих і старих щурів в умовах різної тривалості фотоперіоду. Розташування бічного передзорового ядра гіпоталамуса не є абсолютно симетричним, обидва ядра без сумніву присутні по одному в кожній півкулі головного мозку, але одно з них знаходиться трохи попереду іншого. Ядро на зрізах мало кулясту чи овальну форму, а нейрони були однотипними як в центрі так і на периферії ядра. При забарвленні гематоксиліном і еозином на великих збільшеннях було видно, що нейрони бічного передзорового ядра гіпоталамуса мали темно забарвлене ядро овальної або полігональної форми, часто з гострими кутами, а цитоплазма, навпаки була світлою, майже прозорою. Дані морфометричної характеристики вказують, що в досліджуваних показниках (середній об'єм нейроцита, середній об'єм ядер нейроцитів, ядерно-цитоплазматичне співвідношення в нейроцитах та середня кількість нейроцитів на стандартній площині гістологічного зрізу) чітких розбіжностей у середніх тенденціях не виявлено. Це дозволяє стверджувати, що вони істотно не реагують на зміни умови освітлення та час доби, коли проводився експеримент, що потребує більш глибокого пошуку та вивчення морфологічних методів дослідження, що здатні виявити реакцію нейронів бічного передзорового ядра гіпоталамуса на зміни режиму освітлення. Водночас, привертає увагу той факт, що у старих щурів у порівнянні зі зрілими щурами зменшується кількість нейронів (близько 30%) на одиницю площі гістологічного зрізу, знижується об'єм нейронів за рахунок зменшення об'єму їх цитоплазми з відповідним зростанням ядерно-цитоплазматичного співвідношення (ядерно-цитоплазматичного коефіцієнту).

**Ключові слова:** цикл сон-неспанння, бічне передзорове ядро гіпоталамуса, циркадіанні ритми, фотоперіод.

### AGE SPECIFICS OF THE MORPHOMETRIC STATE OF LATERAL PREOPTIC NUCLEUS OF THE HYPOTHALAMUS UNDER DIFFERENT DURATION OF PHOTOPERIOD

Bulyk R. Ye., Yosypenko V. R., Vlasova K. V.

**Abstract.** Sleep is a complex physiological process regulated by homeostatic and circadian processes that involve various neural structures. The lateral preoptic nucleus of the hypothalamus plays a key role in the regulation of the sleep-wake cycle. The article analyzes the results of own histological and morphometric studies of neurons of the lateral preoptic nucleus of the hypothalamus of mature and old rats in conditions of different duration of the photoperiod. The location of the lateral preoptic nucleus of the hypothalamus is not completely symmetrical, both nuclei are undoubtedly present one in each hemisphere of the brain, but one of them is slightly in front of the other. The nucleus in the sections had a spherical or oval shape, and the neurons were of the same type both in the center and on the periphery of the nucleus. By stained with hematoxylin and eosin at high magnifications, it was seen that the neurons of the lateral preoptic nucleus of the hypothalamus had a dark oval or polygonal nucleus, often with acute angles, and the cytoplasm, in contrast, was light, almost transparent. Morphometric data indicate that the studied parameters (mean neurocyte volume, mean neurocyte nucleus volume, the nuclear-cytoplasmic ratio in neurocytes, and mean neurocyte count in the standard plane of the histological section) did not show clear differences in mean trends. This suggests that they do not respond significantly to changes in lighting conditions and time of day when the experiment was conducted, which requires a deeper search and study of morphological methods that can detect the response of neurons of lateral preoptic nucleus of the hypothalamus to changes in lighting. At the same time, it is noteworthy that in older rats compared to mature rats the number of neurons (about 30%) per unit area of the histological section decreases, the volume of neurons reduces by reducing the volume of their cytoplasm with a corresponding increase in nuclear-cytoplasmic ratio (nuclear-cytoplasmic coefficient).

**Key words:** sleep-wake cycle, lateral preoptic nucleus of the hypothalamus, circadian rhythms, photoperiod.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.*

*Стаття надійшла 19.12.2020 року*