

chronic hypoxia. The study was conducted on hearts of rat embryos obtained after intraperitoneal administration of sodium nitrite at a dose of 50 mg/kg daily to pregnant females from day 10 to day 20 of gestation. The material was analyzed using transmission electron microscopy in 12 topographical regions of the myocardium. Hypoxia was found to impair sarcomere formation, lead to disorganization of myofibrils, and cause mitochondrial damage. Starting from day 17 of development, progressive destruction of contractile structures was observed, including fragmentation of myofibrils, disruption of intercalated discs, and disintegration of filaments. The most pronounced changes were detected in the intramural and subendocardial zones of the ventricles. In the atrial myocardium, chronic hypoxia does not lead to the destruction of myofibrils and does not significantly affect the ontogenetic dynamics of their accumulation until the 17th day of embryogenesis. During further prenatal development, there is a significant inhibition of sarcomerogenesis and a restriction of myofibril ordering in the sarcoplasm of typical atrial cardiomyocytes, which is accompanied by the formation of defective intercalated discs and spatial disintegration of myofibrils with mitochondria.

Chronic prenatal hypoxia leads to inhibition of sarcomerogenesis and disorientation of myofibrils against the background of crystallosis and swelling of mitochondria of typical cardiomyocytes mainly in the subendocardial zone of both ventricles and the interventricular septum. Starting from the 17th day of prenatal ontogenesis, the effect of chronic hypoxia is accompanied by fragmentation of newly formed myofibrils, dissociation of sarcomeres, splitting of telophagms and intercalated discs in the intramural and subepicardial zones of both ventricles.

Key words: chronic prenatal hypoxia, rats, cardiomyocytes, myofibrillogenesis, electron microscopy.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Tverdokhlib I. V.: <https://orcid.org/0000-0002-8672-3773>^{AF}

Kobeza P. A.: <https://orcid.org/0000-0003-1113-4007>^{BCDE}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Kobeza Pavlo Anatoliyovych / Кобеза Павло Анатолійович

Dnipro State Medical University / Дніпровський державний медичний університет,

Ukraine, 49044, Dnipro, 9 Volodymyr Vernadsky str. / Адреса: Україна, 49044, м. Дніпро, вул. Володимира

Вернадського 9

Tel.: +380933591336 / Тел.: +380933591336

E-mail: kobeza.pavel@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 26.04.2025 / Стаття надійшла 26.04.2025 року
Accepted 15.08.2025 / Стаття прийнята до друку 15.08.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-432-442

UDC 612.826.4:612.017.2

Fedorciak I. V., Bulyk R. Ye., Smetaniuk O. V.

MELATONIN EFFECTS ON THE STATE OF NEURONS IN THE HYPOTHALAMUS PARAVENTRICULAR NUCLEI OF RATS UNDER CONSTANT ILLUMINATION

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

bulyk@bsmu.edu.ua

One of the key links in the formation of the brain's neuroendocrine adaptation to stress is the hypothalamic paraventricular nuclei, which determine the reactivity of all parts of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system and ensure the development of adaptive responses to the formation of the body's resistance to stress factors, in particular prolonged illumination. In view of this, it is important to determine the effects of melatonin on the morphodensitometric parameters of the medial parvocellular subnuclei of the rat's hypothalamic paraventricular nuclei under light stress. The study was performed on 36 male outbred white rats aged 24-27 months, divided into 3 groups. Quantitative parameters of the area of neurons, their nuclei and nucleoli, and RNA content in the cytoplasm of cells, their nuclei and nucleoli were obtained in a semi-automatic mode using licensed software. Based on the studies, it was found that the morphodensitometric parameters of the medial parvocellular subnuclei of the rat's hypothalamic paraventricular nuclei at 14:00 were significantly higher than during the night observation period (2:00). The administration of melatonin against the background of constant illumination did not significantly change the dynamics of the activity of the studied structures, which remained higher during the daytime observation period and was similar to that of animals under the conditions of 12.00L:12.00D and 24.00L:00D. This picture can be argued by the fact that stressful exposure during the light period of the day is accompanied by an increase in the level of mel-

atonin in the blood. This provides a corrective suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in order to bring the hormonal status in line with the strength of the stressor effect and is considered one of the factors of the stress-limiting mechanism activated in response to the mobilization of the stress-realizing system.

Key words: *paraventricular nucleus, constant illumination, melatonin.*

Connection of the publication with planned research works.

The research is performed following the approved research projects of the department of medical biology and genetics of Bukovinian State Medical University: "Morphofunctional and biochemical basis of dysfunction of neurosecretory structures of cerebrum, endocrine glands and hepatorenal system of rats in experimental pathology, in age-related aspect, and approaches of its correction" (state registration number 0119U101346) and "Morphofunctional reorganization of the structures of nervous and endocrine systems at different stages of postnatal ontogenesis, and biochemical mechanisms of metabolism of signal molecules, the condition of oxidant and antioxidant systems in experimental pathology and under the influence of glutathione and melatonin (experimental research)" (state registration number 0124U002513).

Introduction.

Hypothalamus is a higher subcortical center providing the support of homeostasis as well as integration of autonomic, emotional and motor components of adaptive behaviour [1-3]. Its paraventricular nuclei have a complex cellular organization and contain magnocellular and parvocellular subnuclei, the neurons of which vary not solely in size and efferent innervation, but also in the spectrum of synthesized neuropeptides [4, 5]. These exact peculiarities define an important role of paraventricular nuclei of hypothalamus in not just endocrine regulation of tropic function of the anterior pituitary but also in mediation of organism's neuroendocrine response to stress of various origins [6, 7]. During studying of stress responses and the action of stress-limiting factors (melatonin in particular) it is important to research the aforementioned subpopulations of neurons of paraventricular nuclei of hypothalamus synthesizing stress-releasing hormones which initiate organism's sensory response [8]. The principal peptides showing combined effect in the regulation of the secretion of ACTH are corticotrophin-releasing hormone (CRH) and vasopressin. CRH-immunoreactive tag was noticed mainly in paramedian parvocellular subnucleus, while vasopressin immunoreactive tag – in posterolateral magnocellular subnucleus [3, 9].

In a broad spectrum of the parameters of the environment photoperiodism is considered a reliable and consistent synchronization factor for homeothermic [10]. Disruption of lighting regime (constant light or constant darkness) is one of stress factors causing desynchronization [11, 12]. Nowadays the effect of melatonin (hormone secreted by pituitary gland) is actively studied. This hormone was proved to possess adaptogenic, biorhythmogenic, hypnotic, geroprotective, immunostimulatory, and antioxidant effect. At the same time, despite the large number of publications devoted to the study of the structural and functional state of these hypothalamic structures in response to stress, the effect of melatonin on the morphodensitometric state of the medial parvocellular subnuclei of the paraventricular

nuclei of the hypothalamus in old rats under light stress remains unclear.

The aim of the study.

To determine the effects of melatonin on the morphodensitometric parameters of the medial parvocellular subnuclei of the paraventricular nuclei of the hypothalamus in aged rats under the influence of light-induced stress at different times of the day.

Object and research methods.

The experiment was conducted on 36 male outbred white rats aged 24-27 months. The animals were divided into three groups, each of which consisted of 2 subgroups (6 animals each). The rats from the first group (intact) were kept for 14 days under normal light conditions (12-hour illumination, 12-hour darkness, LD, the light was on from 8:00 till 20:00, the level of illumination in the animal cages provided by fluorescent lamps was 500 lx). The animals from the second group were kept under constant illumination (24 hours) for 14 days (LL, induction of hyperfunction of pineal gland). The rats in the third group were kept under the same conditions as the ones in the second group. At 19:00 they were given daily intraperitoneal injections of melatonin (Sigma, USA, degree of purification – 99,5%) at a dose of 1,5 mg/kg, in 1,0 ml of solvent (0,9% ethanol solution in saline) (LL + melatonin).

After completing the 14-day experiment the animals were withdrawn from the experiment the following day at 14:00 and 2:00 by means of euthanasia through decapitation under sodium barbital anesthesia (40,0 mg/kg intraperitoneally). The chosen timing of the experiment was determined by different functioning of thyroid gland during the chosen times of the day. The brains of animals were immediately removed and fixed for 20 hours at a room temperature in 10.0% formalin solution in 0.1 M phosphate buffer (pH 7,2). Later, after conducting a standard procedure of dehydration and impregnation with chloroform and paraffin, the brains were put into paraffin.

In order to study the morphometric characteristics of rat hypothalamic neurons, histological sections 7 µm thick were deparaffinized in xylene, rehydrated in descending concentrations of ethanol (100%, 96%, 70%), and then washed three times in distilled water and stained for 48 hours according to Einarson in a solution of gallocyanin-chromium alum, which allowed the detection of nucleic acids (RNA) in the studied neurons. Subsequently, the sections were washed three times in distilled water, dehydrated in ascending concentrations of ethanol (70%, 96%, 100%), xylene, and placed in Canadian balsam.

Morphometric analysis of rat hypothalamic neurons was performed using a VIDAS-386 series computerized digital image analysis system (Kontron Elektronik, Germany) in the visible spectrum. The image obtained on the AXIOSKOP microscope using a COHU-4922 series video camera (COHU Inc., США) was entered into the VIDAS-386 series digital image analysis computer system (Kontron Elektronik, Germany). Image analysis was

performed in semi-automatic mode using the VIDAS-2.5 application package (Kontron Elektronik, Germany): the boundaries of the neuron body, as well as its nucleus and nucleolus, were determined interactively.

The scientific research was carried out in compliance with the main provisions of the Law of Ukraine No. 3447-IV 'On the Protection of Animals from Cruelty,' the Council of Europe Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (18.03.1986), Directive 2010/63/EU of the European Union, as well as decrees of the Ministry of Health of Ukraine No. 690 of 23.09.2009 and No. 944 of 14.12.2009, and decree of the Ministry of Education and Science of Ukraine No. 249 of 01.03.2012.

The experimental data were processed on personal computers using the package of applied and statistical software VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Germany) and EXCEL-2010 (Microsoft Corp., USA). For all indicators, the arithmetic mean of the sample ($\bar{x}$), its variance and the mean error (S_x) were calculated. In order to establish the reliability of the differences in the experimental results in the experimental and control groups of rats, the Student's t-coefficient (t) was determined. After that, the probability of difference in sample values (p) and the confidence interval of the mean were found using Student's distribution tables. Values $p < 0.05$ were considered substantial.

Research results and their discussion.

The variations of morpo- and densitometric parameters of medial parvocellular subnucleus of paraventricular nucleus of hypothalamus. In the samples taken during the day the area of the neuron's body was between $60,71 \pm 0,736 \mu\text{m}^2$, nucleus – $34,54 \pm 0,563 \mu\text{m}^2$, nucleolus – $5,15 \pm 0,143 \mu\text{m}^2$, cytoplasm – $26,17 \pm 0,347 \mu\text{m}^2$. During the observation conducted at 14:00 the specific volume of the nucleus was $57,69 \pm 0,940\%$ and cytoplasm – $42,31 \pm 0,564\%$ from the general volume of the studied neuron of medial parvocellular subnucleus of paraventricular nucleus of hypothalamus of rats. Regarding the nucleocytoplasmic ratio of the neurosecretory cell, this indicator was within the range of 1.36 ± 0.021 units during this period of the day. When determining the concentration of RNA in the components of a neuron, it was established that in the nucleus it was 0.182 ± 0.0014 OD units, in the nucleolus – 0.296 ± 0.0020 OD units, and in the cytoplasm – 0.131 ± 0.0010 OD units.

Analysis of the morphometric parameters obtained at 2:00 shows a probable decrease in the area of the neuron body by 9.3%, which was due to a decrease in the area of its nucleus by 6.9% and cytoplasm by 12.5% compared to the values in samples taken for study at 14:00. At the same time, the nucleus-cytoplasm ratio was 1.44 ± 0.018 units, it increased by 6.2% relative to the value at 14:00. The decrease in the area of the studied neurosecretory cell was reflected in a reliable decrease in the concentration of RNA in the cytoplasm by 3.1%, while the concentration of RNA in the nucleus and nucleolus of the hypothalamic neuron did not change significantly compared to intact animals in the previous time period.

To draw conclusion out of the aforementioned information, it was revealed by means of morpo- and densitometric analysis that under the conditions of LD illumination there is an increase of morpo functional activity of neurotransducers of hypothalamus – medi-

al parvocellular subnuclei of paraventricular nucleus – during the day (14:00).

Circadian fluctuations of day and night are one of the leading activators of the periodicity of daily rhythms of organs and systems in mammals. It has been proven that melatonin is a biorhythmogenic hormone, more than 80% of which is synthesized by the pineal gland (epiphysis of the brain). Constant darkness (light deprivation) stimulates, and prolonged illumination inhibits the synthesis of melatonin by the pineal gland, and thus these factors cause desynchronization of the circadian pacemaker – the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus. In order to establish the location of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus of rats in ensuring temporal organization, we used morphometric and densitometric studies to analyze these structures under constant illumination, as well as the administration of melatonin under conditions of light stress.

In order to study the effect of constant lighting on the morpho-functional organization of the studied structures, the next stage of the experiment was conducted by simulating light-induced stress by keeping the experimental rats under LL lighting conditions for 14 days. At 14:00, we did not detect any substantial changes in the morphometric parameters of the hypothalamic neurotransducers of animals under light stress conditions. A tendency towards an increase in the size of the neuron body, its nucleus and cytoplasm was noted, but without significant changes in these indicators compared to those in the LD group of rats. No significant differences in the nuclear-cytoplasmic ratio, specific volumes of the nucleus and cytoplasm were observed in relation to the specified comparison group.

Regarding the RNA concentration in the studied neuron structures, it is necessary to point out its significant increase only in the nucleolus of the neurosecretory cell which at 14:00 was $0,303 \pm 0,0023$ OD units and was 2.5% higher than the values for rats in LD group.

At 2:00 no significant differences were found between the area of the neuron and its structures relative to the values under a standard lighting regime. A similar pattern was also observed at 14:00. In the cytoplasm and nucleus of neurosecretory cells of the median parvocellular subnuclei of the paraventricular nuclei of the hypothalamus, the RNA concentration did not undergo significant changes, while in the nucleolus it was 2.8% relative to the value for rats in the LD group.

Prolonged light-induced stress has led to a probable increase in the neuron body area by 7.4% at 14:00 due to an increase in the cytoplasm area by 14.1% compared to the indicator at 02:00. Calculation of the nuclear-cytoplasmic ratio in the paracentral parvocellular subnuclei of the hypothalamic paraventricular nuclei at 2:00 revealed that it remained within the range of 1.46 ± 0.030 and indicated a probable increase (by 13.2%) compared to the values in the samples taken for study at 14:00.

In summary, analysis of the data from this stage, including circadian variations in hypothalamic neuron activity under light-induced stress, revealed no significant differences compared to the values in intact rats. Although prolonged intense lighting is a powerful stressor and trigger for the development of desynchronization, in this situation, it does not significantly affect the neurosecretory cells of the paraventricular nuclei of the hypothalamus in animals.

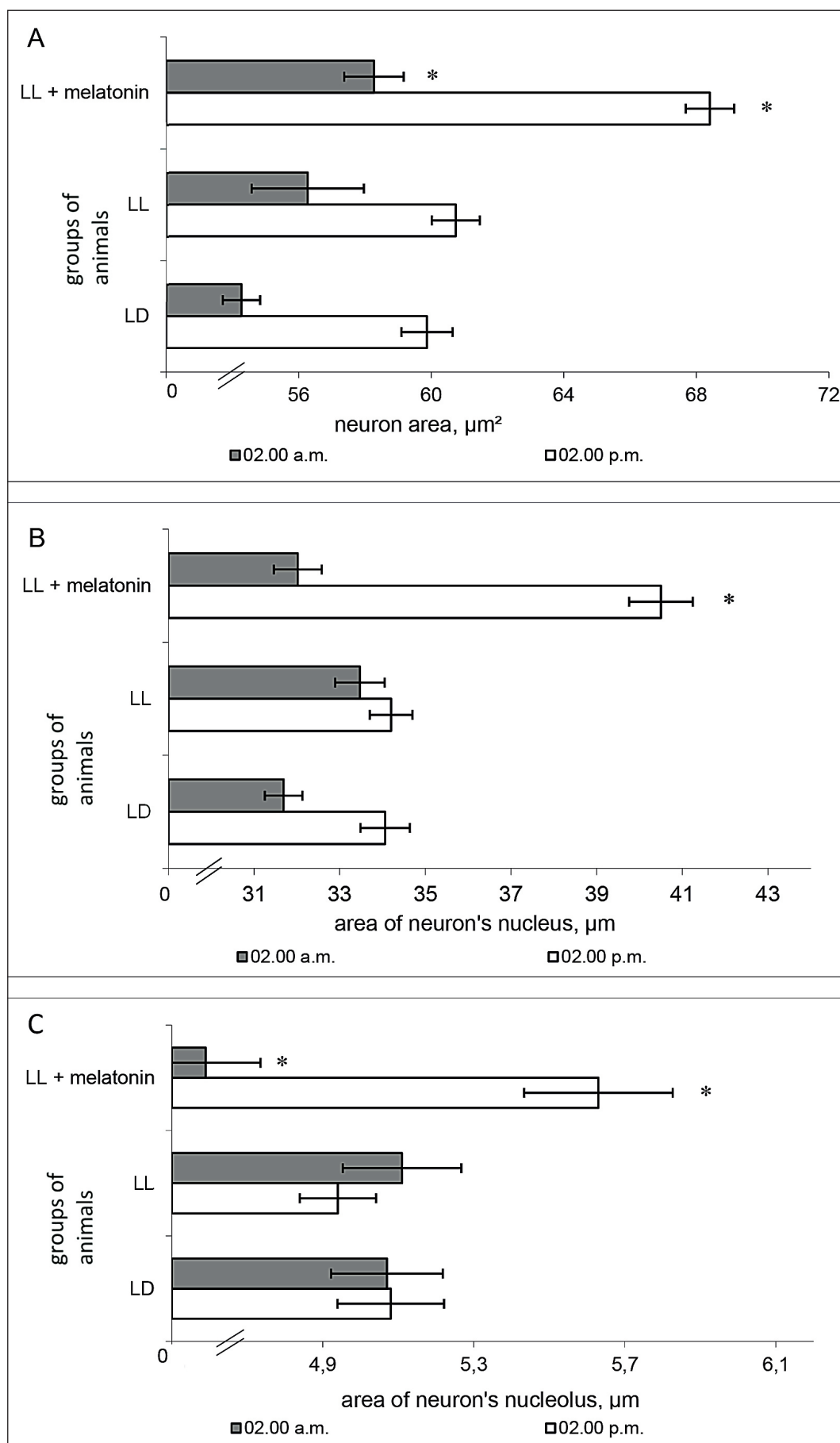


Figure – Daily variations in the mean values of the body area (A), nucleus (B), and nucleolus (C) of neurons of the medial parvocellular sub-nucleus of the hypothalamic paraventricular nucleus in light-stressed animals after melatonin administration.

During modelling of the light-induced stress, melatonin injection caused significant variations in the morphometric parameters of the components of the components of the neuron of the paraventricular nucleus of the hypothalamus at 14:00. Thus, the neuron area was $69,37 \pm 0,938 \mu\text{m}^2$, and the cytoplasm was $-28,30 \pm 0,410 \mu\text{m}^2$. These values substantially exceeded the analogous ones in rats that did not receive melatonin injections under light-induced stress conditions (by 12.7% and 5.1% respectively).

Measurement of RNA concentration in the neuronal structures of the studied neurons of the paraventricular nucleus of the hypothalamus showed that during the day its content in the nucleus was 0.120 ± 0.0013 OD units, in the nucleolus – 0.199 ± 0.0019 OD units, and in the cytoplasm – 0.083 ± 0.0010 OD units, which was significantly lower than that in rats exposed to light-induced stress without melatonin administration. Under conditions of simulated light-induced stress and melatonin administration at 02:00, we observed a significant decrease in the area of the neuron, its nucleus and cytoplasm compared to the previous time interval (fig.).

At the same time, a decrease in RNA concentration in the nucleus by 20.2% and in the cytoplasm by 22.1% was observed in rats under prolonged light exposure. During this period, the nuclear-cytoplasmic ratio was within the range of 1.23 ± 0.017 units, which was 16.5% lower than in rats exposed to light-induced stress. Thus, melatonin injections under light-induced stress at 2:00 cause inhibition of the functional activity of the subnuclei of the paraventricular nucleus of the hypothalamus in old rats.

When analysing the indicators of daytime and nighttime observation during melatonin administration under conditions of light-induced stress, it is worth paying attention to individual fluctuations in the parameters of the functional state of the subnuclei of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. In particular, at 14:00, the neuron area in animals increased by 17.4% due to an increase in the area of the nucleus (by 26.4%) and cytoplasm (by 6.4%). While the night-time study showed a marked decrease in the area of the nucleolus by 10.2% against the background of an increase in the volume of the cytoplasm by 15.1%, at 14:00, the nucleolus area was $5.71 \pm 0.199 \mu\text{m}^2$ and was 14.0% larger than in ani-

mals kept under constant 24-hour illumination without melatonin administration.

Overall, after the analysis of 14:00 and 02:00 observations it was revealed that melatonin administration during constant illumination did not lead to significant changes in the dynamics of the morpho-functional activity of neuroendocrine transducers – medial parvocellular subnuclei of the paraventricular nuclei of the hypothalamus, which remained higher during the daytime observation period and was similar to that in animals kept under 12-hour illumination and 12-hour darkness and 24-hour illumination. This pattern can be explained by the fact that stress during the light-induced period of the day is accompanied by an increase in blood melatonin levels [13, 14]. This, in turn, provides corrective suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in order to bring the hormonal status in line with the strength of the stress effect and is considered one of the factors of the stress-limiting mechanism activated in response to the activation of the stress-response system [15-17].

Conclusions.

1. Under conditions of constant illumination (24-hour), the morphometric and densitometric parameters of the medial parvocellular subnuclei of the paraventricular nuclei of the hypothalamus in old rats reach their highest values during the daytime observation period (14:00) compared to the nighttime (02:00).

2. The administration of melatonin against a background of constant illumination did not significantly alter the dynamics of activity in the structures under study, which remained higher during the daytime observation period and was similar to that in animals kept under 12-hour illumination and 12-hour darkness and 24-hour illumination conditions.

Prospects for further research.

In the future, it is planned to investigate the morpho-functional state of the posterior magnocellular subnuclei of the paraventricular nuclei of the hypothalamus in old rats under different photoperiods to gain a deeper understanding of the mechanisms of involvement of brain structures in the regulation of neuroendocrine processes in the context of ageing.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-432-442

УДК 612.826.4:612.017.2

Федоряк І. В., Булик Р. Є., Сметанюк О. В.

ЕФЕКТИ МЕЛАТОНІНУ НА СТАН НЕЙРОНІВ ПРИШЛУНОЧКОВИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ ЗА ПОСТІЙНОГО ОСВІТЛЕННЯ

Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна)

bulyk@bsmu.edu.ua

Однією з ключових ланок формування нейроендокринної адаптації мозку на стрес є пришлуночкові ядра гіпоталамуса, які визначають реактивність усіх ланок гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи і забезпечують розвиток адаптаційних реакцій на формування резистентності організму до дії стресових чинників, зокрема тривалого освітлення. З огляду на це важливим є з'ясування ефектів мелатоніну на морфоденситометричні параметри присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса щурів за світлового стресу. Дослідження виконано на 36 самцях безпородних білих щурів віком 24-27 міс, поділених на 3 групи. Кількісні параметри площі нейронів, їхніх ядер та ядерця, вмісту РНК у цитоплазмі клітин, їхніх ядрах і ядерцях отримували в напівавтоматичному режимі за допомогою ліцензованого програмного забезпечення. На підставі проведених досліджень встановлено, що морфоденситометричні параметри присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса щурів о 14.00 год були вірогідно вищими, ніж при нічному період спостереження (02.00

год). Уведення мелатоніну на фоні постійного освітлення вірогідно не змінювало динаміку активності досліджуваних структур, яка залишалася вищою в денний період спостереження і була подібною до такої 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 мелатоніну в крові. Це, у свою чергу, забезпечує корегувальне пригнічення гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи з метою приведення гормонального статусу у відповідність до сили стресорного ефекту і розглядається як один з чинників стрес-лімітувального механізму, що активується у відповідь на мобілізацію стрес-реалізуючої системи.

Ключові слова: пришлуночкове ядро, тривале освітлення, мелатонін.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дослідження виконані в рамках затверджених тем науково-дослідних робіт кафедри медичної біології та генетики Буковинського державного медичного університету «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» (державний реєстраційний номер 0119U101346) та «Морфофункціональні перебудови структур нервової та ендокринної систем у різні періоди постнатального онтогенезу та біохімічні механізми метаболізму сигнальних молекул, стан оксидантної та антиоксидантної систем за умов експериментальних патологій і впливу глутатіону та мелатоніну (експериментальне дослідження)» (державний реєстраційний номер 0124U002513).

Вступ.

Вищим підкірковим центром, що забезпечує інтеграцію вегетативних, емоційних та моторних компонентів адаптивної поведінки, а також основним центром підтримки гомеостазу є гіпоталамус [1-3]. Його пришлуночкові ядра мають складну клітинну організацію і містять великоклітинні та дрібноклітинні суб'ядра, нейрони яких різняться не тільки розмірами та еферентною іннервацією, а й спектром синтезованих нейропептидів [4, 5]. Саме ці особливості визначають важливу роль пришлуночкових ядер гіпоталамуса не тільки в ендокринній регуляції тропної функції аденогіпофіза, а й у реалізації нейроендокринної відповіді організму на стрес різного генезу [6, 7]. При вивченні стресових реакцій і дії стрес-лімітувальних факторів (зокрема, мелатоніну) важливими є дослідження зазначених субпопуляцій нейронів пришлуночкових ядер гіпоталамуса, що синтезують стрес-рилізінг гормони, які ініціюють стресорні реакції організму [8]. Провідними пептидами, що виявляють спільний ефект у регуляції секреції АКТГ, є кортикотропін-рилізінг гормон (КРГ) і вазопресин (ВП). КРГ-імунореактивна мітка виявлена здебільшого в присередньому дрібноклітинному суб'ядрі, а ВП-імунореактивна мітка – у задньобічному великоклітинному суб'ядрі [3, 9].

Поміж широкого спектру параметрів середовища фотоперіодизм є надійним і стабільним синхронізувальним фактором для гомойотермних організмів [10]. Порушення режиму освітлення (тривале освітлення, постійна темрява) є одним з стресових чинників, який спричиняє десинхроноз [11, 12]. На даний час продовжується активне вивчення ефектів мелатоніну – гормону шишкоподібної залози. Доведено його адаптогенну, біоритмогенну, снодійну, ге-

ропротективну, імуностимулювальну, антиоксидатну дії. При цьому, незважаючи на велику кількість публікацій, присвячених вивченню структурно-функціонального стану вказаних гіпоталамічних структур у відповідь на стрес, нез'ясованим залишається вплив мелатоніну на морфоденситометричний стан присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів за світлового стресу.

Мета дослідження.

З'ясувати ефекти мелатоніну на морфо-денситометричні параметри присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів за світлового стресу у різні періоди доби.

Об'єкт і методи дослідження.

Роботу виконано на 36 самцях безпородних білих щурів віком 24-27 міс. Тварин поділено на три групи, кожна з яких складалася з двох підгруп (у кожній по шість тварин). Щури першої групи (інтактні) перебували 14 діб в умовах звичайного світлового режиму (світло/темрява 12.00С: 12.00Т, по 12 год, LD, освітлення з 08.00 до 20.00, рівень освітленості люмінесцентними лампами в клітках із тваринами становив 500 лк). Тварини другої групи перебували впродовж 14 діб в умовах постійної освітленості (LL, індукція гіпофункції шишкоподібної залози). Щури третьої групи знаходилися за умов експерименту, як і щури групи №2. Їм щоденно о 19.00 год інтраперитонеально вводили мелатонін (Sigma, США, ступінь очищення – 99,5%) у дозі 1,5 мг/кг, у 1,0 мл розчинника (0,9% розчин етанолу на фіз. розчині) (LL+мелатонін).

Після закінчення 14-денного експерименту наступного дня о 14.00 і о 02.00 год під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг інтраперитонеально) проводили виведення тварин з експерименту шляхом одномоментної декапітації. Обрані терміни проведення експерименту зумовлені різною функціональною активністю шишкоподібної залози у вказані часові періоди доби. Згодом негайно вилучали мозок тварин і на 20 годин при кімнатній температурі поміщали в 10,0% розчин формаліну у 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,2). У подальшому, після проведення стандартної процедури зневоднення і просочення хлороформом та парафіном, мозок заливали в парафін.

З метою вивчення морфометричних характеристик нейронів гіпоталамуса щурів гістологічні зрізи завтовшки 7 мкм депарафінували в ксилолі, здійснювали регідrataцію в низхідних концентраціях етанолу (100%, 96%, 70%), а у подальшому тричі відмивали у дистильованій воді і впродовж 48 год забарвлювали за Ейнарсоном у розчині галоціанін-хромових галунів, що дозволило виявити нуклеїнові кислоти (РНК) у досліджуваних нейронах. Згодом зрізи тричі відмивали у дистильованій воді, дегідрували у висхідних

концентраціях етанолу (70%, 96%, 100%), ксилолі та поміщали у канадський бальзам.

Морфометричний аналіз нейронів гіпоталамуса щурів проводили звикористанням комп'ютерної системи цифрового аналізу зображення серії VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) у видимому спектрі. Зображення, отримане на мікроскопі AXIOSKOP, за допомогою відеокамери серії COHU-4922 (COHU Inc., США) заносили в комп'ютерну систему цифрового аналізу зображення серії VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Аналіз зображення здійснювали у напівавтоматичному режимі з використанням пакету прикладних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина): інтерактивно визначали межі тіла нейрона, а також його ядра й ядерця.

Наукові дослідження виконані з дотриманням основних положень Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (від 18.03.1986 р.), Директиви Європейського Союзу 2010/63/EU та наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р. і наказу МОН № 249 від 01.03.2012 р.

Експериментальні дані обробляли на персональних комп'ютерах за допомогою пакету прикладних та статистичних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина), а також EXCEL-2010 (Microsoft Corp., США). Для всіх показників проводили розрахунок значення як середньої арифметичної вибірки ($\bar{x}$), так її дисперсії і помилки середньої (S_x). З метою встановлення вірогідності відмінностей результатів експерименту в дослідних і контрольних групах щурів визначали коефіцієнт Стюдента (t). Після цього знаходили вірогідність відмінності значення вибірок (p) і довірчий інтервал середньої, застосовуючи таблиці розподілу Стюдента. Вірогідними вважали значення, для яких $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

Упродовж періодів спостереження нами виявлено варіації морфо- та денситометричних параметрів присереднього дрібноклітинного суб'ядра приشلучкового ядра гіпоталамуса. У зразках, відібраних у денний період площа тіла нейрона перебувала у межах $60,71 \pm 0,736$ мкм², ядра – $34,54 \pm 0,563$ мкм², ядерця – $5,15 \pm 0,143$ мкм², цитоплазми – $26,17 \pm 0,347$ мкм². Під час спостереження, проведеного о 14.00 год питомих об'єм ядра становив $57,69 \pm 0,940\%$, а цитоплазми – $42,31 \pm 0,564\%$ від загального об'єму досліджуваного нейрона присереднього дрібноклітинного суб'ядра приشلучкового ядра гіпоталамуса щурів. Щодо ядерно-цитоплазматичного співвідношення нейросекреторної клітини, то у цьому проміжку доби показник перебував у межах $1,36 \pm 0,021$ од. При визначенні концентрації РНК у компонентах нейрона встановлено, що в ядрі вона становила $0,182 \pm 0,0014$ о.о.щ., ядерці – $0,296 \pm 0,0020$ о.о.щ., цитоплазмі – $0,131 \pm 0,0010$ о.о.щ.

При аналізі морфометричних параметрів, отриманих о 02.00 год показано вірогідне зниження площі тіла нейрона на 9,3%, що зумовлено зменшенням площі його ядра на 6,9% і цитоплазми на 12,5% щодо величин у зразках, які відібрані на дослідження о 14.00 год. Водночас ядерно-цитоплазматичне співвідношення становило $1,44 \pm 0,018$ од. та вірогідно

зросло на 6,2% відносно величини о 14.00 год. Зменшення площі досліджуваної нейросекреторної клітини віддзеркалилося вірогідним зниженням концентрації РНК у цитоплазмі на 3,1%, при цьому концентрація РНК в ядрі і ядерці нейрона гіпоталамуса вірогідно не змінювалася відносно інтактних тварин попереднього часового проміжку.

Узагальнюючи викладене, можна дійти проміжного висновку, що за режиму освітлення LD, шляхом морфо- та денситометричного аналізу виявлено зростання морфологічної активності нейротрансдукторів гіпоталамуса – присередніх дрібноклітинних суб'ядер приشلучкового ядра у денний період спостереження (14.00 год).

Вагоме місце серед провідних активаторів періодичності добових ритмів органів і систем у ссавців посідають циркадіанні коливання дня і ночі. Доведено, що біоритмогенним гормоном є мелатонін, понад 80% якого синтезується шишкоподібною залозою (епіфізом мозку). Постійна темрява (світлова депривація) стимулює, а тривале освітлення, пригнічує синтез мелатоніну шишкоподібною залозою, а, отже, і спричиняють десинхроноз циркадіанного пейсмеєра – надзорових ядер гіпоталамуса. З метою встановлення місця нейронів присередніх дрібноклітинних суб'ядер приشلучкового ядра гіпоталамуса щурів у забезпеченні часової організації нами використані морфо- та денситометричне дослідження для аналізу вказаних структур за постійного освітлення, а також уведення мелатоніну за умов світлового стресу.

Задля вивчення впливу постійного освітлення на морфо-функціональну організацію досліджуваних структур, наступний етап експерименту проводили моделюючи світловий стрес шляхом утримування дослідних щурів за світлового режиму LL впродовж 14 діб. О 14.00 год вірогідних змін морфометричних параметрів нейротрансдукторів гіпоталамуса тварин, що перебували за умов світлового стресу нами не виявлено. Відмічено тенденцію до зростання розмірів тіла нейрона, його ядра та цитоплазми, однак без істотних змін цих показників щодо таких у щурів групи LD. Не спостерігали і вірогідної відмінності ядерно-цитоплазматичного співвідношення, питомих об'ємів ядра та цитоплазми відносно вказаної групи порівняння.

Щодо концентрації РНК у досліджуваних структурах нейрона, необхідно вказати на її вірогідне зростання тільки в ядерці нейросекреторної клітини, яка о 14.00 год становила $0,303 \pm 0,0023$ о.о.щ. та на 2,5% була більшою за показники щурів групи LD.

О 02.00 год вірогідних відмінностей між площею нейрона та його структур щодо величин при стандартному режимі освітлення, не встановлено. Подібну картину спостерігали також о 14.00 год, у цитоплазмі та ядрі нейросекреторних клітин присередніх дрібноклітинних суб'ядер приشلучкових ядер гіпоталамуса показник концентрації РНК не зазнавав істотних змін, водночас у ядерці він був меншим на 2,8% щодо величини у щурів групи LD.

Тривалий світловий стрес призвів до вірогідного підвищення площі тіла нейрона на 7,4% о 14.00 год внаслідок збільшення площі цитоплазми на 14,1% щодо показника о 02.00 год. Обчислення ядерно-цитоплазматичного співвідношення в присередніх дрібноклітинних

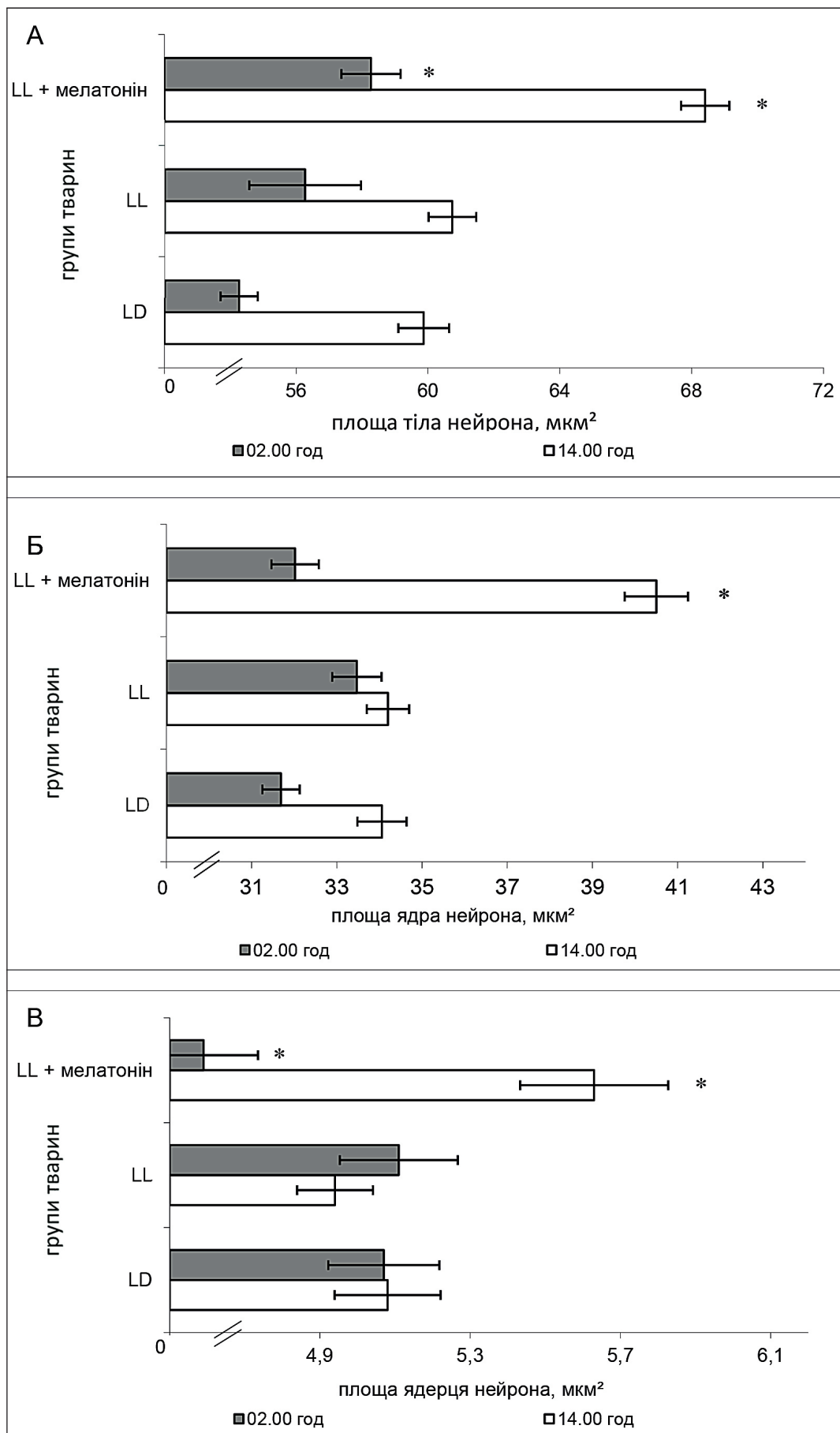


Рисунок – Добові варіації середніх значень площі тіла (А), ядра (Б) та ядерця (В) нейрона медіального дрібноклітинного суб'ядра припущоночкового ядра гіпоталамуса стресованих світлом тварин після застосування мелатоніну.

суб'ядрах пришлуночкових ядер гіпоталамуса о 02.00 год спостереження встановлено, що воно перебувало у межах $1,46 \pm 0,030\%$ і вказувало на вірогідне збільшення (на $13,2\%$) щодо величин у зразках, відібраних для дослідження о 14.00 год.

Таким чином, підсумовуючи одержані результати проведеного етапу експерименту, аналізуючи циркадіанні коливання та ритмічність функціонування досліджуваних нейронів гіпоталамуса щурів, які перебували за умов світлового стресу, нами не встановлено істотних розбіжностей порівняно з величинами в інтактних щурів. І хоча тривале інтенсивне освітлення є потужним стресовим і пусковим фактором розвитку десинхронізації, це, у даній ситуації, не значно торкається нейросекреторних клітин пришлуночкових ядер гіпоталамуса тварин.

За моделювання світлового стресу ін'єкції мелатоніну викликали вірогідні варіації морфометричних показників складових нейрона пришлуночкового ядра гіпоталамуса о 14.00 год. Так, площа нейрона становила $69,37 \pm 0,938$ мкм², цитоплазми – $28,30 \pm 0,410$ мкм². Вказані величини вірогідно перевищували аналогічні у щурів, яким не виконували ін'єкції мелатоніну за умов світлового стресу (на $12,7\%$ та $5,1\%$ відповідно).

Визначення концентрації РНК у структурах досліджуваних нейронів пришлуночкового ядра гіпоталамуса показало, що вдень в ядрі її уміст склав $0,120 \pm 0,0013$ о.о.щ., в ядерці – $0,199 \pm 0,0019$ о.о.щ., у цитоплазмі – $0,083 \pm 0,0010$ о.о.щ. і був вірогідно менший від такого у щурів, що зазнали світлового стресу без застосування мелатоніну. За умов моделювання світлового стресу та застосування мелатоніну о 02.00 год нами відмічено вірогідне зниження площі нейрона, його ядра ядерця і цитоплазми щодо попереднього часового інтервалу (рис.).

Водночас спостерігали зменшення концентрації РНК у ядрі на $20,2\%$ і цитоплазмі – на $22,1\%$ щодо щурів, які перебували за тривалої світлової експозиції. У зазначений проміжок доби ядерно-цитоплазматичне співвідношення перебувало у межах $1,23 \pm 0,017$ од., і було меншим на $16,5\%$ від величини у щурів, які зазнали впливу світлового стресу. Таким чином, ін'єкції мелатоніну за умов світлового стресу о 02.00 год викликають гальмування функціональної активності суб'ядер пришлуночкового ядра гіпоталамуса старих щурів.

Аналізуючи показники денного і нічного спостереження при застосуванні мелатоніну за умов світлового стресу варто звернути увагу на окремі коливання в параметрах функціонального стану суб'ядер пришлу-

ночкового ядра гіпоталамуса. Зокрема, о 14.00 год у тварин площа нейрона збільшилася на $17,4\%$ внаслідок зростання площі ядра (на $26,4\%$) та цитоплазми (на $6,4\%$). Якщо при нічному дослідженні відзначали вірогідне зменшення площі ядерця на $10,2\%$ на тлі зростання об'єму цитоплазми на $15,1\%$, то о 14.00 год площа ядерця становила $5,71 \pm 0,199$ мкм² і була на $14,0\%$ більшою щодо тварин, які перебували за умов 24.00C:00T без уведення мелатоніну.

Узагальнюючи отримані результати спостережень, проведених о 14.00 та 02.00 год слід зауважити, що уведення мелатоніну на фоні постійного освітлення вірогідно не змінювали динаміку морфо-функціональної активності нейроендокринних трансдукторів – медіальних дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса, яка залишалася вищою в денний період спостереження і була подібною до такої у тварин, що перебували за умов режиму освітлення 12.00C:12.00T та 24.00C:00T. Таку картину можна аргументувати тим, що стресорний вплив у світловий період доби супроводжується підвищенням рівня мелатоніну в крові [13, 14]. 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-лімітувального механізму, що активується у відповідь на мобілізацію стрес-реалізуючої системи [15-17].

Висновки.

1. За умов постійного освітлення (24.00C:00T) морфо- та денситометричні параметри присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів найбільших значень сягають у денний період спостереження (14.00) порівняно з нічним (02.00).

2. Уведення мелатоніну на фоні постійного освітлення вірогідно не змінювало динаміку активності досліджуваних структур, яка залишалася вищою в денний період спостереження і була подібною до такої у тварин, що перебували за умов режиму освітлення 12.00C:12.00T та 24.00C:00T.

Перспективи подальших досліджень.

У подальшому планується з'ясовувати морфо-функціональний стан задньобічних великоклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів за різної тривалості фотоперіоду для глибшого пізнання механізмів залучення мозкових структур у регуляцію нейроендокринних процесів у віковому аспекті.

References / Література

1. Drogovoz SM, Derymedvid' LV, Seredyn's'ka NM, Luk'yanchuk VD, Shtroblya MV, Panfilova AL, et al. Circadian Rhythms: Physiological and Pathophysiological Aspects. 2024;54:175-81. Neurophysiology. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11062-024-09949-3>.
2. Wu H, Dunnett S, Ho YS, Chang RC. The role of sleep deprivation and circadian rhythm disruption as risk factors of Alzheimer's disease. Front Neuroendocrinol. 2019;54:100764. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100764>.
3. Fedoriak I, Bulyk R. Changes in morphodensitometric parameters of the paraventricular nucleus of the hypothalamus in rats under stress of different durations. Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine. 2025;2(56):163-8. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-4260.XV.2.56.2025.22>.
4. Cai ZJ. Hypothalamic aging and hormones. Vitam Horm. 2021;115:15-37. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2020.12.002>.
5. Grzęda E, Ziarniak K, Sliwowska JH. The paraventricular nucleus of the hypothalamus – the concertmaster of autonomic control. Focus on blood pressure regulation. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2023;83(1):34-44. DOI: <https://doi.org/10.55782/ane-2023-004>.
6. Gan L, Cookson MR, Petrucelli L, La Spada AR. Converging pathways in neurodegeneration, from genetics to mechanisms. Nat Neurosci. 2018;21(10):1300-9. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0237-7>.
7. Sasaki R, Asami T, Takaishi M, Nakamura R, Roppongi T, Yoshimi A, et al. Smaller hypothalamic subregion with paraventricular nucleus in patients with panic disorder. Brain Imaging Behav. 2024;18(4):701-9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11682-023-00834-x>.

8. Begemann K, Neumann AM, Oster H. Regulation and function of extra-SCN circadian oscillators in the brain. *Acta Physiol (Oxf)* 2020;229:e13446. DOI: <https://doi.org/10.1111/apha.13446>.
9. Kalsbeek A, Buijs RM. Organization of the neuroendocrine and autonomic hypothalamic paraventricular nucleus. *Handb Clin Neurol* 2021;180:45-63. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820107-7.00004-5>.
10. Tähkämö L, Partonen T, Pesonen AK. Systematic review of light exposure impact on human circadian rhythm. *Chronobiol Int* 2019;36(2):151-70. DOI: <https://doi.org/10.1080/07420528.2018.1527773>.
11. Ota SM, Kong X, Hut R, Suchecki D, Meerlo P. The impact of stress and stress hormones on endogenous clocks and circadian rhythms. *Front Neuroendocrinol* 2021;63:100931. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100931>.
12. Yan M, Lv X, Zhang S, Song Z, Hu B, Qing X, et al. Alleviation of inflammation in paraventricular nucleus and sympathetic outflow by melatonin efficiently repairs endplate porosities and attenuates spinal hyperalgesia. *Int Immunopharmacol*. 2025;149:114213. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2025.114213>.
13. Yu Q, Guo Q, Jin S, Gao C, Zheng P, Li DP, et al. Melatonin suppresses sympathetic vasomotor tone through enhancing GABA(A) receptor activity in the hypothalamus. *Front Physiol*. 2023;14:1166246. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1166246>.
14. Menhas S, Lin D, Zhu S, Hayat S, Aftab T, Liu W, et al. Melatonin as a multifaceted stress protector in rice: Mechanisms, synergies, and knowledge gaps. *J Plant Physiol*. 2025;312:154577. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2025.154577>.
15. Kalsbeek A, Buijs RM. Organization of the neuroendocrine and autonomic hypothalamic paraventricular nucleus. *Handb Clin Neurol* 2021;180:45-63. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820107-7.00004-5>.
16. Watanabe J, Takayanagi Y, Yoshida M, Hattori T, Saito M, Kohno K, et al. Conditional ablation of vasopressin-synthesizing neurons in transgenic rats. *J Neuroendocrinol*. 2021;33(12):e13057. DOI: <https://doi.org/10.1111/jne.13057>.
17. Kostin A, Suntsova N, Kumar S, Gvilia I. Chemogenetic inhibition of corticotropin releasing hormone neurons in the paraventricular nucleus attenuates traumatic stress-induced deficit of NREM sleep, but not REM sleep in mice. *Stress*. 2025;28(1):2465393. DOI: <https://doi.org/10.1080/10253890.2025.2465393>.

ЕФЕКТИ МЕЛАТОНІНУ НА СТАН НЕЙРОНІВ ПРИШЛУНОЧКОВИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ ЗА ПОСТІЙНОГО ОСВІТЛЕННЯ

Федоряк І. В., Булик Р. Є., Сметанюк О. В.

Резюме. Однією з ключових ланок формування нейроендокринної адаптації мозку на стрес є пришлуночкові ядра гіпоталамуса, які визначають реактивність усіх ланок гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи і забезпечують розвиток адаптаційних реакцій на формування резистентності організму до стресу. Порушення режиму освітлення (тривале освітлення, постійна темрява) є одним з стресових чинників, який спричиняє дисбаланс синтезу мелатоніну та розвиток десинхронізації. Водночас, нез'ясованим залишається вплив мелатоніну на морфоденситометричний стан присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів за світлового стресу.

Мета даного дослідження полягала у з'ясуванні ефектів мелатоніну на морфоденситометричні параметри присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкового ядра гіпоталамуса старих щурів за світлового стресу у різні періоди доби.

Експеримент проведено на самцях безпородних білих щурів віком 24-27 міс. Тварин поділено на три групи, кожна з яких складалася з двох підгруп (у кожній по шість тварин). Щури першої групи (інтактні) перебували 14 днів в умовах звичайного світлового режиму (світло/темрява 12.00С: 12.00Т, по 12 год, LD, освітлення з 08.00 до 20.00, рівень освітленості люмінесцентними лампами в клітках із тваринами становив 500 лк). Тварини другої групи перебували впродовж 14 днів в умовах постійної освітленості (LL, індукція гіпофункції шишкоподібної залози). Щури третьої групи знаходилися за умов експерименту, як і щури групи №2. Їм щоденно о 19.00 год інтраперитонеально вводили мелатонін (Sigma, США, ступінь очищення – 99,5%) у дозі 1,5 мг/кг, у 1,0 мл розчинника (0,9% розчин етанолу на фіз. розчині) (LL+мелатонін). Забір біоматеріалу здійснювався о 14.00 год і о 02.00 год. Обрані терміни проведення експерименту зумовлені різною функціональною активністю шишкоподібної залози у вказані часові періоди доби. Морфоденситометричний аналіз нейронів гіпоталамуса щурів проводили з використанням комп'ютерної системи цифрового аналізу зображення серії VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) у видимому спектрі. Кількісні параметри площі нейронів, їхніх ядер та ядерця, вмісту РНК у цитоплазмі клітин, їхніх ядрах і ядерцях отримували в напівавтоматичному режимі за допомогою ліцензованого програмного забезпечення.

На підставі проведених досліджень встановлено, що морфоденситометричні параметри присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса щурів о 14.00 год були вірогідно вищими, ніж при нічному період спостереження (02.00 год). Уведення мелатоніну на фоні постійного освітлення вірогідно не змінювало динаміку активності досліджуваних структур, яка залишалася вищою в денний період спостереження і була подібною до такої у тварин, що перебували за умов режиму освітлення 12.00С:12.00Т та 24.00С:00Т. О 14.00 год площа нейрона становила $69,37 \pm 0,938$ мкм², цитоплазми – $28,30 \pm 0,410$ мкм². Вказані величини вірогідно перевищували аналогічні у щурів, яким не виконували ін'єкції мелатоніну за умов світлового стресу (на 12,7% та 5,1% відповідно). Визначення концентрації РНК у структурах досліджуваних нейронів пришлуночкового ядра гіпоталамуса показало, що вдень в ядрі її вміст склав $0,120 \pm 0,0013$ о.о.щ., в ядерці – $0,199 \pm 0,0019$ о.о.щ., у цитоплазмі – $0,083 \pm 0,0010$ о.о.щ. Таку картину можна аргументувати тим, що стресорний вплив у світловий період доби супроводжується підвищенням рівня мелатоніну в 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-лімітувального механізму, що активується у відповідь на мобілізацію стрес-реалізуючої системи.

Ключові слова: пришлуночкове ядро, тривале освітлення, мелатонін.

MELATONIN EFFECTS ON THE STATE OF NEURONS IN THE HYPOTHALAMUS PARAVENTRICULAR NUCLEI OF RATS UNDER CONSTANT ILLUMINATION

Fedoriak I. V., Bulyk R. Ye., Smetaniuk O. V.

Abstract. One of the key links in the formation of neuroendocrine adaptation of the brain to stress is the hypothalamus paraventricular nuclei, which determine the reactivity of all parts of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system and ensure the development of adaptive responses to the formation of stress resistance. Disturbance of the lighting regimen (prolonged lighting, constant darkness) is one of the stress factors that causes an imbalance in melatonin synthesis and the development of desynchronization. At the same time, the effect of melatonin on the morphodensitometric state of the medial parvocellular subnuclei of the hypothalamic paraventricular nuclei of old rats under light stress remains unclear.

The aim of the study was to determine the effects of melatonin on the morphodensitometric parameters of the medial parvocellular subnuclei of the hypothalamic paraventricular nucleus of old rats under light stress in different periods of the day.

The experiment was carried out on male outbred white rats aged 24-27 months. Animals were randomly assigned to three groups, each comprising two subgroups of six rats. The first group (intact control) was maintained for 14 days under standard light conditions (12L:12D cycle, lights on from 08:00 to 20:00, illumination level 500 lux at cage level with fluorescent lamps). The second group was exposed to constant illumination for 14 days (LL, model of pineal hypofunction). The third group was kept under the same LL conditions but additionally received intraperitoneal injections of melatonin (Sigma, USA, purity – 99.5%) at 19:00 at a dose of 1.5 mg/kg, in 1.0 ml of solvent (0.9% ethanol solution in saline) (LL+melatonin). The tissues were collected at 14:00 and at 2:00. The chosen time of the experiment was due to the different functional activity of the pineal gland at the indicated time periods of the day. Morphodensitometric analysis of rat hypothalamic neurons was performed using a computer system for digital image analysis of the VIDAS-386 series (Kontron Elektronik, Germany) in the visible spectrum. Quantitative parameters of the area of neurons, their nuclei and nucleoli, RNA content in the cytoplasm of cells, their nuclei and nucleoli were obtained in a semi-automatic mode using licensed software.

Based on the studies, it was found that the morphodensitometric parameters of the median parvocellular subnuclei of the hypothalamic paraventricular nuclei of rats at 14:00 were significantly higher than during the night observation period (2:00). The administration of melatonin against a background of constant illumination did not significantly alter the activity dynamics of the studied structures, which remained higher during the daytime observation period and was similar to that in animals kept under a 12:00L:12:00D and 24:00L:00D lighting regime. At 14:00, the area of the neuron was $69.37 \pm 0.938 \mu\text{m}^2$, and that of the cytoplasm was $28.30 \pm 0.410 \mu\text{m}^2$. These values significantly exceeded those in rats that did not receive melatonin injections under light stress conditions (by 12.7% and 5.1%, respectively). Assessment of RNA concentration in the structures of the studied neurons of the paraventricular nucleus of the hypothalamus showed that during the day its content in the nucleus was 0.120 ± 0.0013 OD units, in the nucleolus – 0.199 ± 0.0019 OD units, and in the cytoplasm – 0.083 ± 0.0010 OD units. This picture can be explained by the fact that stress during daylight hours is accompanied by an increase in melatonin levels in the blood. This, in turn, provides corrective suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in order to bring the hormonal status in line with the strength of the stress effect and is considered one of the factors of the stress-limiting mechanism activated in response to the engagement of the stress-response system.

Key words: paraventricular nucleus, constant illumination, melatonin.

ORCID and contributionship: / ORCID автора та його внесок до статті:

Fedoriak I. V.: <https://orcid.org/0009-0007-2462-8264>^{BCD}

Bulyk R. Ye.: <https://orcid.org/0000-0003-0651-534X>^{EF}

Smetaniuk O. V.: <https://orcid.org/0000-0002-8985-2650>^A

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори декларують відсутність конфлікту інтересів

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Bulyk Roman Yevgenovych / Булик Роман Євгенович

Bukovinian State Medical University / Буковинський державний медичний університет

Ukraine, 58002, Chernivtsi, 2 Teatralna Square / Адреса: Україна, 58002, м. Чернівці, пл. Театральна 2

Tel.: +380950410043 / Тел.: +380950410043

E-mail: bulyk@bsmu.edu.ua

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 18.04.2025 / Стаття надійшла 18.04.2025 року
Accepted 13.08.2025 / Стаття прийнята до друку 13.08.2025 року