

# ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКИХ ЯДЕР ГИПОТАЛАМУСА ПРИ ГИПОПИНЕАЛИЗМЕ

А. Р. Геворкян<sup>1</sup>, Г. И. Губина-Вакулик<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Государственное учреждение "Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины", Харьков;

<sup>2</sup>Харьковский национальный медицинский университет

**Цель работы** - изучить каким образом изменение светового режима, обусловленного длительной световой экспозицией в ночное время суток, влияет на морфофункциональные характеристики СХЯ гипоталамуса. **Материалы и методы.** Работа выполнена на 20 молодых половозрелых кроликах-самцах (возраст 4-5 месяцев), которых содержали в условиях круглосуточного освещения в течение 5 месяцев: днем - естественный свет, ночью - электрическое освещение с использованием лампы накаливания мощностью 100 Вт. Интенсивность освещения в клетках колебалась от 30 до 40 люкс. Контрольных животных содержали в условиях естественной смены дня и ночи. Участок головного мозга, прилегающий к *hiasma opticus*, фиксировали в 10 % формалине, микропрепараты окрашивали гематоксилином-эозином и галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. На компьютерных изображениях (AxioStar ("Zeiss", ФРГ) микропрепаратов определяли площадь крупных нейронов СХЯ и их ядер. На микропрепаратах, окрашенных по Эйнарсону на суммарные нуклеиновые кислоты, определяли оптическую плотность ядер и цитоплазмы нейронов СХЯ, а также плоидность их ядер. **Результаты.** Изучение гистоструктуры СХЯ гипоталамуса у интактных животных показало, что нейроны сформированы группами клеток неправильной формы и имеют цитологические признаки умеренной активности: некоторые нейроны с эухромным ядром, но большинство с ядром средней степени гетерохромности с просматриваемым ядрышком. Цитоплазма в большинстве клеток с большим содержанием РНК. Нейрофиль мелкочаистый и хорошо окрашен галлоцианином, что является свидетельством высокого содержания РНК в отростках нейронов. Между нейронами большое количество глиоцитов. Через 1 месяц круглосуточного освещения нейронов СХЯ стало меньше, они приобрели округлую форму. Наблюдается разнообразие клеток: одни темные с едва просматриваемым ядром, другие - светлее с расширенной цитоплазмой, что, вероятно, является следствием увеличения площади эндоплазматического ретикулума, где синтезируются, а потом выводятся в кровообращение нейропептиды. Увеличение световой экспозиции до 5 месяцев привело к тому, что нейроны СХЯ гипоталамуса становятся мельче и темнее, с ядром, которое почти не просматривается. Возле нейронов появляются микроглиальные инфильтраты. Увеличивается количество нейронов с пикнотичными ядрами. Результаты цитометрии нейронов СХЯ гипоталамуса показали, что у кроликов основных групп в динамике развития патологического процесса наблюдается постепенно нарастающее во времени уменьшение площади сохраняющихся нейронов, которая через 1 месяц после начала световой экспозиции составляет 78,8 % ( $P < 0,001$ ), через 3 месяца 67,8 % ( $P < 0,001$ ) и через 5 месяцев 57,6 % ( $P < 0,001$ ) от средней площади нейронов СХЯ в группе контроля. Таким образом, в конце эксперимента нейроны СХЯ становятся почти вдвое меньше, чем у животных контрольной группы. Уменьшение размеров клеток происходит за счет уменьшения площади и ядер, и цитоплазмы. Эти данные свидетельствуют о значительном снижении морфофункциональной активности нейронов СХЯ. Была рассчитана плоидность (С) нейронов СХЯ. Выявилось, что С у интактных животных составляла  $(8,4 \pm 1,1)$ , т.е. полиплоидия свойственна нейронам СХЯ. Через 1 месяц круглосуточного освещения этот показатель составлял  $(6,2 \pm 0,5)$ , через 3 месяца -  $(5,2 \pm 0,9)$ , а через 5 месяцев -  $(4,0 \pm 0,4)$ . Учитывая факт уменьшения количества нейронов СХЯ на протяжении длительной световой экспозиции, можно предположить, что первыми погибают наиболее морфофункционально активные, с более высоким уровнем плоидности. Оставшиеся нейроны имели уменьшенную площадь собственно клетки, ядра и цитоплазмы. При определении на микропрепаратах, окрашенных по Эйнарсону, ядра оставшихся нейронов имели

**Ключевые слова:** гипоталамус, супрахиазматические ядра, круглосуточное освещение, десинхроноз, гипопинеализм.

Клиническая и экспериментальная патология Т.17, №3 (65), Ч.2.-С.27-34.

DOI:10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.153

E-mail: argevorkyan0709@gmail.com

уменьшенную оптическую плотность, особенно в конце эксперимента, т.е., очевидно, в них формировалась повышенная эухромность для компенсаторного повышения морфофункциональной активности. Обнаружение уменьшенной оптической плотности цитоплазмы оставшихся нейронов СХЯ может быть объяснено тем, что в группе животных, находящихся под влиянием круглосуточного света, особенно на последнем сроке, в СХЯ остались морфофункционально менее активные нейроны по сравнению с нейронами контрольной группы. **Вывод.** На фоне длительного освещения (даже низкой интенсивности) СХЯ атрофируются с уменьшением количества нейронов (убылью максимально полиплоидных нейронов) и компенсаторной гиперактивностью оставшихся нейронов.

**Ключові слова:**  
особливості  
імунної реакції,  
цитостатична  
терапія,  
профілактика,  
ускладнення.

Клінічна та  
експериментальна  
патологія Т.17, №3  
(65), Ч.2.-С.27-34.

#### ДИНАМІКА ЗМІН МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СУПРАХІАЗМАТИЧНИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА ПРИ ГІПОПІНЕАЛІЗМІ

А. Р. Гєворкян, Г. І. Губіна-Вакулік

**Мета роботи** - вивчити, яким чином зміна світлового режиму, а саме тривала світлова експозиція в нічний час доби, впливає на морфофункціональні характеристики СХЯ гіпоталамуса. **Матеріали та методи.** Робота виконана на 20 молодих статевозрілих кролях-самцях (вік 4-5 місяців), яких утримували в умовах цілодобового освітлення протягом 5 місяців: вдень природне світло, вночі електричне освітлення з використанням ламп розжарювання потужністю 100 Вт. Інтенсивність освітлення в клітках коливалася від 30 до 40 люкс. Контрольних тварин утримували в умовах природної зміни дня і ночі. Ділянку головного мозку, що прилягає до *hiasma opticus*, фіксували в 10% формаліні, мікропрепарати фарбували гематоксиліном-еозином і галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном. На комп'ютерних відображеннях (AxioStar ("Zeiss", ФРН) мікропрепаратів визначали площувеликих нейронів СХЯ та їх ядер. На мікропрепаратах, забарвлених за Ейнарсоном на сумарні нуклеїнові кислоти, визначали оптичну щільність ядер і цитоплазми нейронів СХЯ, а також плоїдність їх ядер. **Результати.** Нейрони СХЯ сформовані групами клітин неправильної форми і мають цитологічні ознаки помірної активності: деякі нейрони з еухромним ядром, але більшість з ядром середнього ступеня гетерохромності, ядрця яких видно. Цитоплазма в більшості клітин з великим вмістом РНК. Нейропіль дрібночарунковий і добре пофарбований галоціаніном, що є свідченням високого вмісту РНК в відростках нейронів. Між нейронами велика кількість гліоцитів. Через 1 місяць цілодобового освітлення нейронів СХЯ стало менше, вони набули округлу форму. Спостерігається різноманітність клітин: одні - темні з ядром, яке важко розгледіти, інші - світліші, з розширеною цитоплазмою, що, ймовірно, є наслідком збільшення площі, що займає ендоплазматичний ретикулум, в якому синтезуються, а потім виводяться до кровообігу нейропептиди. Подовження світлової експозиції до 5 місяців призвело до того, що нейрони СХЯ гіпоталамуса стають дрібнішими й темнішими, з ядром, яке майже не проглядається. Біля нейронів з'являються мікрогліальні інфільтрати. Збільшується кількість нейронів з пікнотичними ядрами. Результати цитометрії нейронів СХЯ гіпоталамуса показали, що у кролів основних груп в динаміці розвитку патологічного процесу спостерігається поступове, наростаюче у часі зменшення площі нейронів, яка через 1 місяць після початку світлової експозиції становить 78,8 % ( $P < 0,001$ ), через 3 місяці 67,8 % ( $P < 0,001$ ) і через 5 місяців 57,6 % ( $P < 0,001$ ) від середньої площі нейронів СХЯ в групі контролю. Таким чином, наприкінці експерименту нейрони СХЯ стають майже вдвічі меншими, ніж у тварин контрольної групи. Зменшення розмірів клітин відбувається за рахунок зменшення площі і ядер, і цитоплазми. Ці дані свідчать про значне пригнічення морфофункціональної активності нейронів СХЯ. Була розрахована плоїдність (С) нейронів СХЯ. Виявилося, що С у інтактних тварин становила  $(8,4 \pm 1,1)$ , тобто поліплоїдія притаманна нейронам СХЯ. Через 1 місяць цілодобового освітлення цей показник становив  $(6,2 \pm 0,5)$ , через 3 місяці  $(5,2 \pm 0,9)$ , а через 5 місяців  $(4,0 \pm 0,4)$ . З огляду на факт зменшення кількості нейронів СХЯ протягом тривалої світлової експозиції, можна припустити, що першими гинуть найбільш морфофункціонально активні, з більш високим рівнем плоїдності. Решта нейронів мали зменшену площу власне клітини, тобто і ядра, і цитоплазми. При визначенні на мікропрепаратах, забарвлених за Ейнарсоном, ядра нейронів, що залишилися, мали зменшену оптичну щільність, особливо в кінці експерименту,

тобто, очевидно, в них формувалася підвищена еухромність для компенсаторного підвищення морфофункціональної активності. Виявлення зменшеної оптичної щільності цитоплазми нейронів СХЯ, що залишилися, може бути пояснено тим, що в групі тварин, що знаходяться під впливом цілодобового світла, особливо в останньому терміні, в СХЯ залишилися морфофункціонально менш активні нейрони в порівнянні з нейронами контрольної групи. **Висновок.** На тлі тривалого освітлення (навіть низької інтенсивності) СХЯ атрофуються зі зменшенням кількості нейронів (в першу чергу, максимально поліплоїдних нейронів) і компенсаторною гіперактивністю нейронів, що залишилися.

#### DYNAMICS OF CHANGES IN THE MORPHOFUNCTIONAL CONDITION OF SUPRACHIASMATIC NUCLEI OF HYPOTHALAMUS IN HYPOPINEALISM

A. R. Gevorkyan, G. I. Gubina-Vakulik

**Objective.** To study how the change in the light regime, due to prolonged light exposure at night, affects the morpho-functional characteristics of the hypothalamus SCN. **Materials and methods.** The work was performed on 20 young adult male rabbits (age 4-5 months), which were kept in the conditions of round-the-clock lighting for 5 months: in the daytime - natural light, at night - electric lighting using incandescent lamps with a power of 100 W. The intensity of illumination in cells ranged from 30 to 40 lux. The control animals were kept under natural conditions of day and night. The brain region, adjacent to *hiasma opticus*, was fixed in 10% formalin, the microscopic preparations were stained with hematoxylin-eosin and gallocyanin-chromic alum according to Einarsson. On computer images (AxioStar ("Zeiss", FRG) of micropreparations, the area of large SCN neurons and their nucleus was determined. On the micropreparations stained by Einarsson for total nucleic acids were used to determine the optical density of the nuclei and cytoplasm of SCN neurons, as well as the ploidy of their nuclei. **Results.** A study of the histological structure of the SCN of hypothalamus in intact animals showed that neurons are formed by the groups of irregularly shaped cells and have cytological signs of moderate activity: some neurons with an euchromic nucleus, but the majority - with a nucleus of medium degree of heterochromicity with a visible nucleolus. Cytoplasm is with a high content of RNA in most cells. Neurophil is fine-meshed and well colored with gallocyanin, which is an evidence of a high RNA content in neuronal outgrowths. Between the neurons is a large number of gliocytes. After 1 month of round-the-clock lighting the SCN neurons became less, they acquired a rounded shape. There is a variety of cells: some dark with a barely visible nucleus, others lighter with an enlarged cytoplasm, which is probably a consequence of an increase in the area of the endoplasmic reticulum, where neuropeptides are synthesized and then released into the circulation. The increase in light exposure to 5 months led to the fact that the SCN neurons of the hypothalamus become smaller and darker, with a nucleus that is almost invisible. Near the neurons appear microglial infiltrates. The number of neurons with pycnotic nuclei increases. The results of cytometry of the SCN neurons of hypothalamus showed that in rabbits of the main groups there is a gradual decreasing area of the remaining neurons that in 1 month after the beginning of the light exposure is 78.8% ( $P < 0.001$ ), in 3 months - 67, 8% ( $P < 0.001$ ), and after 5 months - 57.6% ( $P < 0.001$ ) from the average area of the SCN neurons in the control group. Thus, at the end of the experiment, the SCN neurons become almost half as large as in the control group animals. The decrease in the size of cells occurs due to the reduction of the area and nuclei, and cytoplasm. These data indicate a significant decrease in the morphofunctional activity of SCN neurons. The ploidy (C) of the SCN neurons was calculated. It was found that C in intact animals was  $(8.4 \pm 1.1)$ , i.e. polyploidy is characteristic of the SCN neurons. After 1 month of round-the-clock lighting this indicator was  $(6.2 \pm 0.5)$ , after 3 months -  $(5.2 \pm 0.9)$ , and after 5 months -  $(4.0 \pm 0.4)$ . Considering the fact of the decreasing of number of SCN neurons during a long light exposure, it can be assumed that the most morphofunctionally active, with a higher level of ploidy, die first. The remaining neurons had a reduced area of the actual cell, nucleus and cytoplasm. In the determination on Einarsson-stained microscopic preparations, the nuclei of the remaining neurons had a reduced optical density, especially at the end of the experiment, i.e., obviously, increased euchromicity was formed in them for compensatory rise of morphofunctional activity. The detection of a reduced optical density of the cytoplasm of the remaining SCN neurons can be explained by the fact that in the group of animals under the influence of round-the-clock light, especially at the last term, in the

#### Key words:

hypothalamus, suprachiasmatic nucleus, round-the-clock lighting, desynchronization, hypopinealism.

Clinical and experimental pathology. Vol.17, №3 (65), P.2- P.27-34.

*SCN remained morfofunctionally less active neurons compared with the neurons of the control group. Conclusion. Against the background of prolonged illumination (even low intensity), SCN is atrophied with a decrease in the number of neurons (the maximumally polyploid neurons were destructed) and compensatory hyperactivity of the remaining neurons.*

## Введение

Все млекопитающие (включая человека) подвержены влиянию многочисленных ритмов, среди которых наиболее важным представляется суточный ритм, в основе которого ведущая роль принадлежит изменению светового режима в разное время суток. Все циркадианные ритмы поддерживаются центральными часами, расположенными в супрахиазматических ядрах (СХЯ) переднего гипоталамуса [1].

Известно, что световой сигнал воспринимается глазами и в виде нервного импульса по зрительным нервам передается по ретино-гипоталамическому пути в СХЯ гипоталамуса. Получая через нервные пути информацию об освещенности внешней среды в течение суток, пинеальная железа в дальнейшем преобразует ее в гуморальные стимулы. Гормоном, доносящим информацию о ритмах, генерируемых СХЯ, до органов и тканей, является мелатонин [2].

Пейсмеркерная активность СХЯ имеет четкую суточную динамику, основным регулятором которой является уровень освещенности. Цикл свет/темнота вызывает сдвиг фазы циркадного осциллятора в СХЯ таким образом, что генерируемые им колебания синхронизируются с циклом освещенности. Сигналы, исходящие от СХЯ, изменяют динамику гормональной секреции желез внутренней секреции посредством как прямого влияния на эндокринные центры самого гипоталамуса, так и в результате изменения активности пинеальной железы [1,2].

В норме пинеальная железа обнаруживает выраженный суточный ритм: максимальную активность ночью (в отсутствие света), а минимальную - днем. На нейронах-пейсмеркерах СХЯ обнаружены рецепторы к мелатонину в достаточно высокой плотности, а суточная регуляция плотности рецепторов к мелатонину в СХЯ гипоталамуса регулируется освещенностью [3]. Механизм влияния мелатонина на биоритмы состоит в модификации активности ДНК, отвечающей за синтез РНК клетками СХЯ, а также в связывании с собственными рецепторами на органах-мишенях. Известно, что в темноте поступающие от СХЯ электрические сигналы стимулируют синтез и выделение из нервных симпатических окончаний норадреналина, который, взаимодействуя с  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторами мембран пинеалочитов, индуцирует выработку мелатонина. Свет, наоборот, угнетает активность нейронов СХЯ [4], и поэтому днем синтез мелатонина в пинеальной железе, не получающей стимулирующих сигналов, резко уменьшается [5].

Таким образом, вся система эпифиз-СХЯ имеет замкнутый, циклический вид. Эти два нейроэндокринных образования мозга, взаимодействуя между собой, оказывают влияние на функциональную активность друг друга, а сам характер взаимодействия определяет-

ся режимом освещения, зависящим от времени суток. Согласно этому принципу, с одной стороны, повышается адаптивная способность организма к различным по временной организации условиям среды, а с другой - в этом принципе заложено и патологическое начало, т.к. при определенных условиях (в частности, при изменении фотопериода) приводит к десинхронизации внутренних циклических процессов и может быть причиной патологии [1-5].

Несмотря на большой массив литературных данных, имеются противоречивые сведения относительно влияния стресс-индуцированных нарушений функционирования пинеальной железы: есть ссылки как на активацию, так и на торможение или полное отсутствие реакции со стороны мелатонинобразующей функции железы при стрессе в зависимости от вида, а также интенсивности действия раздражителя (фактора), а также времени суток его использования. Имеются данные, что при удалении эпифиза большинство циркадных ритмов сохраняется, в то время как разрушение СХЯ приводит к исчезновению практически всех известных суточных ритмов [6].

## Цель работы

Изучить каким образом изменение светового режима, обусловленного длительной световой экспозицией в ночное время суток, влияет на морфофункциональные характеристики СХЯ гипоталамуса.

## Материал и методы исследования

Работа выполнена на 20 молодых половозрелых кроликах-самцах (возраст 4-5 месяцев). Животных содержали в стандартных условиях вивария.

У экспериментальных животных моделировали гипопинеализм путем содержания их в течение 5 месяцев в условиях круглосуточного освещения: днем - естественный солнечный свет, ночью - электрическое освещение с использованием ламп накаливания мощностью 100 Вт. Интенсивность освещения в клетках колебалась от 30 до 40 люкс (Люксметр Ю-117). Контрольных животных содержали в условиях естественной смены дня и ночи.

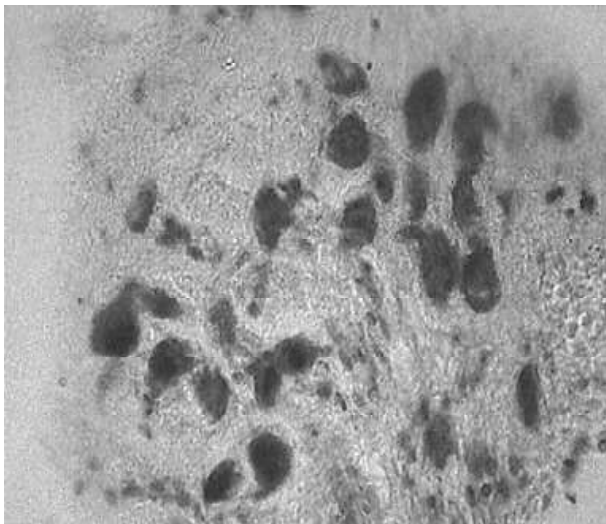
Выведение всех животных из эксперимента согласно условиям эвтаназии, указанных в методических рекомендациях МЗ Украины и общих этических принципов проведения экспериментов на животных согласно положениям "Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которых использовали для экспериментальных и иных целей" [7].

Участок головного мозга, прилегающий к *hiasma opticus*, фиксировали в 10 % формалине, заливали в парафин, после чего изготавливали микропрепараты толщиной не более 5 мкм. Микропрепараты окрашивали гематоксилином-эозином, галлоцианин-хромовыми

квасцами по Эйнарсону [8]. Полученные микропрепараты изучали с помощью микроскопа Axiostar ("Zeiss", Германия), имеющего цифровую фотокамеру, используя программу "ВидеоТест" (Санкт-Петербург, Россия). На компьютерных изображениях определяли площадь крупных нейронов и ядер СХЯ. На компьютерных изображениях на микропрепаратах, окрашенных галлоцианин-хромовыми квасцами (окраска на суммарные нуклеиновые кислоты), определяли оптическую плотность ядер и цитоплазмы нейронов СХЯ [9], а также плоидность (С) их ядер [10]. Статистическая обработка данных проведена с использованием критерия t Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

Изучение гистоструктуры СХЯ гипоталамуса у интактных кроликов показало, что нейроны СХЯ гипоталамуса у этого вида животных сформированы группами клеток неправильной формы с аксонным бугорком, которые имеют цитологические признаки умеренной активности: некоторые нейроны - с эухромным ядром, но большинство их имеют ядро средней степе-



**Рисунок 1.** СХЯ гипоталамуса молодого половозрелого кролика, которого содержали в условиях естественной смены дня и ночи. Интактный контроль. Окрашивание галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Ув. х 400.

Увеличение длительности световой экспозиции до 5 месяцев способствовало тому, что нейроны СХЯ гипоталамуса становятся мельче, темнее, с ядром, которое почти не просматривается. Возле нейронов СХЯ появляются микроглиальные инфильтраты (рис. 3).

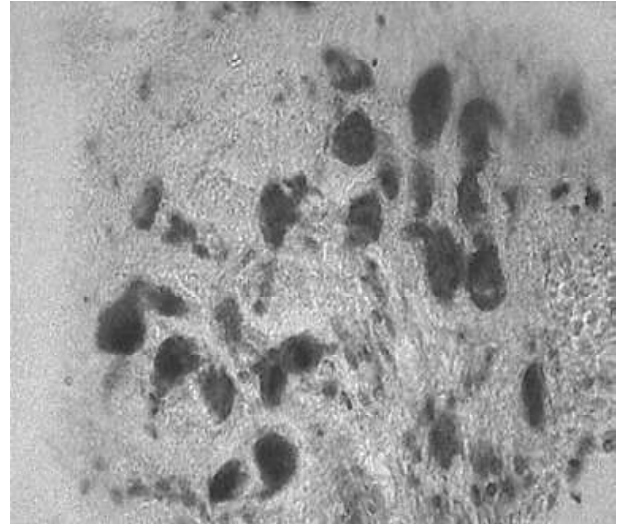
Обращает на себя внимание тот факт, что у подопытных животных увеличивается количество нейронов с пикнотическими ядрами и дистрофическими изменениями, которые, как правило, предшествуют гибели этих клеток.

Динамика изменений морфометрических показателей СХЯ гипоталамуса у кроликов, которых содержали в условиях длительной световой экспозиции в ночное время суток, приведены в таблице.

Данные морфометрического анализа нейронов СХЯ гипоталамуса у кроликов с гипопинеализмом,

ни гетерохромности, однако ядрышки просматриваются. Цитоплазма темная у большинства клеток. Около ядер присутствует "тигроидное вещество", что позволяет судить о наличии достаточно большого количества РНК в цитоплазме. Нейропиль мелкоячеистый и хорошо окрашен галлоцианином, что свидетельствует о высоком содержании РНК в отростках нейронов СХЯ. Между нейронами - большое количество как микро-, так и макроглиоцитов (рис. 1).

У кроликов, которых содержали в условиях круглосуточного освещения на протяжении 1 месяца, нейронов СХЯ стало меньше, они приобрели округлую форму. Наблюдается разнообразие клеток: одни из них - темные, с ядром, которое просматривается с трудом (интенсивно окрашено), отсутствуют концентрированные РНК-содержащие структуры ("тигроидное вещество"), а другие клетки - светлее, с расширенной цитоплазмой, что, вероятно, следует рассматривать как следствие увеличения площади, которое занимает эндоплазматический ретикулум и в котором синтезируются, а потом выводятся в кровообращение пептидные нейрогормоны (рис. 2).



**Рисунок 2.** СХЯ гипоталамуса кролика через 1 месяц содержания в условиях круглосуточного освещения. Окрашивание галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Ув. х 400.

индуцированным длительным круглосуточным освещением, указывают на то, что в динамике развития патологического процесса наблюдаются постепенно нарастающее во времени уменьшение площади сохраняющихся нейронов СХЯ, которая через 1 месяц после начала световой экспозиции составляет 78,8 % ( $P < 0,001$ ), через 3 месяца - 67,8 % ( $P < 0,001$ ) и через 5 месяцев - 57,6 % ( $P < 0,001$ ) (см. табл.).

Иначе говоря, в конце эксперимента нейроны СХЯ становятся почти вдвое меньше, чем у животных, которых все это время содержали в условиях естественной смены дня и ночи.

Результаты цитометрии показали, что уменьшение размеров клеток происходит за счет уменьшения площади и ядер, и цитоплазмы. Так, площадь ядер через 1 месяц после начала эксперимента составляла 64,5 % ( $P$

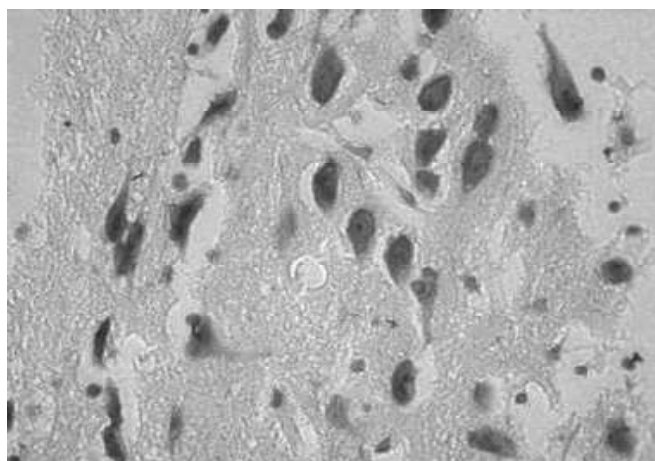


Рисунок 3. СХЯ гипоталамуса кролика через 5 месяцев содержания в условиях круглосуточного освещения. Окрашивание галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Ув. х 400.

Таблица

Влияние длительного круглосуточного освещения на показатели морфофункционального состояния СХЯ гипоталамуса у кроликов, n = 30

Группа	Стат. показ.	Площадь нейронов, мкм <sup>2</sup>	Площадь ядер, мкм <sup>2</sup>	Площадь цитоплазмы, мкм <sup>2</sup>	Оптическая плотность ядер, усл. ед.	Оптическая плотность цитоплазмы, усл. ед.
I Контроль	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	130,36±9,80	37,74±2,09	92,62±4,76	0,315±0,005	0,265±0,005
II Круглосуточное освещение 1 мес.	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ P <sub>I-II</sub>	102,77±4,74 < 0,001	24,36±1,57 < 0,001	78,17±3,77 < 0,05	0,254±0,002 < 0,001	0,204±0,002 < 0,001
III Круглосуточное освещение 3 мес.	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ P <sub>I-III</sub>	88,36±4,41 < 0,001	22,81±1,96 < 0,001	65,55±4,28 < 0,001	0,226±0,003 < 0,001	0,183±0,002 < 0,001
IV Круглосуточное освещение 5 мес.	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ P <sub>I-IV</sub>	75,17±3,66 < 0,001	21,96±1,21 < 0,001	53,22±3,79 < 0,001	0,185±0,005 < 0,001	0,168±0,004 < 0,001

Примечание: n – количество объектов исследований на микропрепаратах; P – значимость изменений показателей относительно контроля.

< 0,001), через 3 месяца - 60,4 % (P < 0,001), а через 5 месяцев - 58,8 % (P < 0,001) относительно контроля.

Динамика изменений площади цитоплазмы выглядела следующим образом: через 1 месяц она составляла 84,4 % (P < 0,05), через 3 месяца - 61,0 % (P < 0,001), а через 5 месяцев - 57,5 % (P < 0,001). Эти данные свидетельствуют о значительном подавлении морфофункциональной активности нейронов СХЯ гипоталамуса, которое происходит параллельно с ранее выявленными процессами в пинеальной железе в этих же условиях [11].

При изучении динамики изменений морфофункционального состояния СХЯ гипоталамуса установлены также характерные изменения оптической плотности ядер и цитоплазмы этих нейронов, а именно: наблюдается постепенное уменьшение оптической плотности как ядер, так и цитоплазмы, что свидетельствует об уменьшении плотности размещения рибосом в цитоплазме и хроматина в ядре (см. табл.).

Для трактовки полученных результатов мы посчитали необходимым рассчитать плоидность (С) нейронов СХЯ. Обнаружилось, что С у интактных животных составляла (8,4 ± 1,1), т.е. полиплоидия свойственна нейронам СХЯ. У животных после круглосуточного освещения через 1 месяц этот показатель составлял (6,2 ± 0,5), через 3 месяца - (5,2 ± 0,9), а через 5 месяцев - (4,0 ± 0,4). Учитывая факт уменьшения количества нейронов СХЯ на протяжении длительной световой экспозиции (что, вероятно, осуществляется путем апоптоза), можно предположить, что первыми погибают наиболее морфофункционально активные, с более высоким уровнем плоидности. Оставшиеся нейроны имели уменьшенную площадь собственно клетки, ядра и цитоплазмы. При определении на микропрепаратах, окрашенных по Эйнарсону, ядра оставшихся нейронов имели уменьшенную оптическую плотность, особенно в конце эксперимента, т.е., очевидно, в них формировалась повышенная эухромность для компенсаторного

повышения морфофункциональной активности. Обнаружение уменьшенной оптической плотности цитоплазмы оставшихся нейронов СХЯ может быть объяснено тем, что в группе животных, находящихся под влиянием круглосуточного света, особенно на последнем сроке, в СХЯ остались морфофункционально менее активные нейроны по сравнению с нейронами контрольной группы.

Полученные данные свидетельствуют об атрофии СХЯ в связи с длительным круглосуточным освещением. Каждый отдельный нейрон, который остался как функционирующий, через 5 месяцев имеет признаки уменьшения плоидности, уменьшения общей морфофункциональной нагрузки.

Таким образом, длительное круглосуточное освещение следует рассматривать как негативный фактор, который вызывает деструктивные изменения нейронов СХЯ гипоталамуса вплоть до их гибели.

Полученные нами данные существенно отличаются от описанных в научной литературе при изучении функционального состояния СХЯ гипоталамуса у животных, стрессированных в условиях естественной смены дня и ночи. На основании этих данных сложилось впечатление о том, что при стрессе в условиях естественного светового режима СХЯ гипоталамуса развиваются минимальные изменения, указывающие на их резистентность к стрессорному повреждению [12]. Именно поэтому с сохранением активности СХЯ гипоталамуса связывают основные механизмы резистентности при стрессе, а именно, СХЯ относят к стресс-лимитирующей системе. С другой стороны, В. П. Пишак и Р. Е. Булык [4] при длительности круглосуточного освещения в течение 7 дней наблюдали увеличение содержания нуклеиновых кислот в ядре и цитоплазме. А в настоящем эксперименте уже через 1 мес. установки режима круглосуточного освещения отмечено уменьшение плоидности ядер нейронов на фоне, очевидно, апоптотической гибели более крупных, более морфофункционально активных нейронов.

В наших публикациях по результатам поставленного эксперимента показано, что в крови животных основной группы очень сильно снижено содержание основного стресс-лимитирующего гормона мелатонина [11], который в других условиях оказывает свое влияние, в том числе и через СХЯ гипоталамуса, благодаря наличию большого количества специфических рецепторов.

### Вывод

На фоне длительного освещения (даже низкой интенсивности) СХЯ атрофируются и стресс-лимитирующая система мозга становится заторможенной, что, как следствие, может привести к чересчур высокой активности стресс-реализующей системы и ее ускоренной "изношенности".

### Перспективы дальнейших исследований

Будут продолжены исследования по данной научной тематике.

### Список литературы

1. Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol.* 2010;72:517-49. doi: 10.1146/annurev-physiol-021909-135821
2. Posadzki PP, Bajpai R, Kyaw BM, Roberts NJ, Brzezinski A, Christopoulos GI, et al. Melatonin and health: an umbrella review of health outcomes and biological mechanisms of action. *BMC Med.* 2018;16(1):18. doi: 10.1186/s12916-017-1000-8
3. Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJ, Zisapel N, Cardinali DP. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol.* 2008;85(3):335-53. doi: 10.1016/j.pneurobio.2008.04.001
4. Пишак ВП, Булик РЕ. Центральні механізми циркадіанних ритмів ссавців. Чернівці: Медуніверситет; 2009. 318 с.
5. Бондаренко ЛА. Мелатонин в жизни человека. В: Караченцев ЮИ, редактор. 100 избранных лекций по эндокринологии. Вып. 2. Харьков: С.А.М.; 2015, с. 761-776.
6. Чернилевский ВЕ. Участие биоритмов организма в процессах развития и старения. В: Сборник статей. Доклады МОИП. Секция геронтологии. Т. 41. Москва; 2008, с. 123-139.
7. Резніков ОГ. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. *Ендокринологія.* 2003;8(1): 142-5.
8. Меркулов ГА. Курс патогистологической техники. Ленинград: Медицина; 1969. 423 с.
9. Ташке К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию. Бухарест: Академия наук Румынии; 1980. 167 с.
10. Автандилов ГГ. Основы количественной патологической анатомии. Москва: Медицина; 2002. 240 с.
11. Бондаренко ЛА, Губина-Вакулик ГИ, Сотник НН, Геворкян АР. Влияние постоянного освещения на суточный ритм мелатонина и структуру пинеальной железы у кроликов. *Проблемы эндокринной патологии.* 2005;4:38-45.
12. Потанин МБ. Морфологическая вариабельность гипоталамуса в обеспечении конституциональной стресс-реактивности (экспериментальное исследование) [диссертация] Волгоград; 2008. 239 с.

### References

1. Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol.* 2010;72:517-49. doi: 10.1146/annurev-physiol-021909-135821
2. Posadzki PP, Bajpai R, Kyaw BM, Roberts NJ, Brzezinski A, Christopoulos GI, et al. Melatonin and health: an umbrella review of health outcomes and biological mechanisms of action. *BMC Med.* 2018;16(1):18. doi: 10.1186/s12916-017-1000-8
3. Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJ, Zisapel N, Cardinali DP. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol.* 2008;85(3):335-53. doi: 10.1016/j.pneurobio.2008.04.001
4. Pishak VP, Bulyk RYe. Tsentral'ni mekhanizmy tsyrkadіannikh rytmvіv ssavtsiv [Central mechanisms of circadian rhythms of mammals]. Chernivtsi: Meduniversitytet; 2009. 318 p. (in Ukrainian).
5. Bondarenko LA. Melatonin v zhizni cheloveka [Melatonin in human life]. V: Karatsentsev YuI, redaktor. 100 izbrannykh lektsiy po endokrinologii. Vyp. 2. Khar'kov: S.A.M.; 2015, p. 761-776. (in Russian).
6. Chernilevskiy VE. Uchastie bioritmov organizma v protsessakh razvitiya i stareniya [Participation of biorhythms of an organism in the processes of development and aging]. V: Sbornik statey. Doklady MOIP. Sektsiya gerontologii. T. 41. Moscow; 2008, p. 123-139. (in Russian).
7. Reznikov OH. Zahal'ni etychni pryntsyipy eksperymentiv na tvarynakh [General ethical principles of experiments on animals]. *Endokrynologiya.* 2003;8(1): 142-5. (in Ukrainian).
8. Merkulov GA. Kurs patogistologicheskoy tekhniki [Course of pathohistological techniques]. Leningrad: Meditsina; 1969. 423 p. (in Russian).
9. Tashke K. Vvedenie v kolichestvennyuyu tsito-

gistologicheskuyu morfologiyu [Introduction to quantitative cytohistological morphology]. Bukharest: Akademiya nauk Rumynii; 1980. 167 p. (in Russian).

10. Avtandilov GG. Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii [Fundamentals of quantitative pathological anatomy]. Moscow: Meditsina; 2002. 240 p. (in Russian).

11. Bondarenko LA, Gubina-Vakulik GI, Sotnik NN, Gevorkyan AR. Vliyanie postoyannogo osveshcheniya na sutochnyy ritm

melatonina i strukturu pineal'noy zhelezy u krolikov [The effect of constant illumination on the daily rhythm of melatonin and the structure of the pineal gland in rabbits]. Problems of endocrine pathology. 2005;4:38-45. (in Ukrainian).

12. Potanin MB. Morfologicheskaya variabel'nost' gipotalamusa v obespechenii konstitutsional'noy stress-reaktivnosti (eksperimental'noe issledovanie) [Morphological variability of the hypothalamus in providing constitutional stress-reactivity (experimental study)] [dissertatsiya]. Volgograd; 2008. 239 p. (in Russian).

### Відомості про авторів:

Геворкян А.Р. - к.біол. н., старший науковий співробітник лабораторії патогістології, ДУ "Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України"

Губіна-Вакулік Г.І. - д. мед. н., професор, професор кафедри патологічної анатомії, Харківський національний медичний університет

### Сведения об авторах:

Геворкян А. Р. - к.биол.н., старший научный сотрудник лаборатории патогистологии, ГУ "Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины"

Губина-Вакулік Г. И. - д. мед.н., профессор, профессор кафедры патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет

### Information about authors:

Gevorkyan A. R. - candidate of Biological Sciences, senior researcher of the pathohistology laboratory, the State Institution " V. Ya. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of National Academy of Medical Sciences of Ukraine

Gubina-Vakulik G. I. - doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Pathological anatomy, Kharkov National Medical University

*Стаття надійшла до редакції 12.08.2018*

*Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький*

*© А.Р. Геворкян, Г.И. Губина-Вакулік, 2018*