

Експериментальні дослідження

УДК 617.735-02:616.839.1-092.9-091.8

Вплив курсового введення мелатоніну на морфофункціональні зміни в зоровому нерві експериментальних тварин із гіпопінеалізмом

О. В. Недзвецька¹, докт. мед. наук, професор; У. А. Пастух², асистент;
О. В. Кузьмина де Гутарра³, канд. мед. наук, лікар; І. В. Пастух⁴, канд. мед. наук, доцент;
І. А. Соболева², докт. мед. наук, професор; Н. М. Сотник⁵, канд. біол. наук., наук. співробітник

¹ Харківська медична академія післядипломної освіти

² Харківський національний медичний університет

³ КНП «Міська клінічна лікарня № 14 ім. проф. Л.Л. Гіршмана» ХМР

⁴ Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

⁵ ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»

Харків (Україна)

Актуальність. Розвиток атрофії зорового нерву (АЗН) можна очікувати при гіпопінеалізмі (ГП), який супроводжується дистрофічними змінами в сітківці.

Метою є визначення впливу курсового введення гормону мелатоніну (М) на морфофункціональні зміни в зоровому нерві (ЗН) кролів, що перебувають в умовах тривалого цілодобового освітлення (ЦО) з формуванням ГП.

Матеріал і методи. Проведене експериментальне дослідження в групах: 1) ГЦО – група з 32 кролів з функціональним ГП в умовах ЦО; 2) ГЦО+М – 29 кроликів в умовах ЦО безпосередньо перед виведенням з експерименту отримували курс ін'єкцій М протягом 14 діб. 3) Група контролю (ГК) – 23 інтактні тварини в умовах природної зміни дня та ночі. Залежно від терміну експерименту у кожній групі були виділені підгрупи: 1-2 міс., 3-5 міс., 8-12 міс., 18-19 міс., 26-28 міс. Концентрацію М в крові досліджували імуноферментним методом. Проводили комплексне морфологічне та морфометричне дослідження препаратів ЗН.

Результати. Нічна концентрація М у крові тварин трималась в 6 разів нижчою, ніж контрольна. У тварин в умовах ЦО реєструються до 12 місяців дисциркуляторні розлади у ЗН. Демієлінізація в ЗН була зафіксована з 3-5 місяця експерименту. Перебування тварин в умовах ЦО до 28 місяців супроводжується розвитком склеротичних та атрофічних процесів в ЗН. Морфометрично у підгрупах ГЦО26-28 та ГЦО+М26-28 достовірно зменшуються показники середньої відносної площі судин ($2,01 \pm 0,15$ та $1,93 \pm 0,15\%$), порівняно з ГК26-28 ($3,20 \pm 0,13\%$, $p < 0,05$). Показники середньої відносної площі периваскулярної сполучної тканини у підгрупах ГЦО26-28 та ГЦО+М26-28 ($4,80 \pm 0,15\%$ та $4,61 \pm 0,17\%$) вище показника підгрупи ГК26-28 ($3,40 \pm 0,14$, $p < 0,05$). Середній діаметр пучків нервових волокон у підгрупах ГЦО26-28 та ГЦО+М26-28 ($2,51 \pm 0,09 \times 10^{-6}$ м та $2,73 \pm 0,10 \times 10^{-6}$ м) були меншими за ГК26-28 ($3,85 \pm 0,14 \times 10^{-6}$ м; $p < 0,05$).

Заключення. Виявлені такі морфологічні прояви, як демієлінізація та витончення пучків нервових волокон ЗН у поєднанні із запуснінням судин ЗН, потовщенням судинної стінки та розростанням сполучної тканини свідчать про розвиток склеротичної АЗН на фоні вираженого дефіциту М. Курсове введення тваринам М мало протинабрякову дію в ранніх термінах експерименту (до 5 місяців), поки не відбувалися незворотні зміни в ЗН. У тварин з довготривалим гіпопінеалізмом курсове введення М не впливало на розвиток процесів АЗН.

Ключові слова:

зоровий нерв, атрофія зорового нерву, цілодобове освітлення, гіпопінеалізм, мелатонін, морфофункціональні зміни

Актуальність. Атрофія зорового нерва (АЗН) розвивається внаслідок таких патологічних процесів, як дегенеративні порушення, здавлення або пошкодження зорового нерва (ЗН), запалення ЗН, набряк тощо. Висхідна АЗН розвивається як антероградна дегенерація, що виникає внаслідок пошкодження елементів сітківки чи аксонів ЗН. Дегенерація просувається вгору в напрямку до латерального колінчастого тіла й верхнього горбка. Патоморфологічно АЗН проявля-

ється втратою дрібних кровоносних судин, витонченням і розпадом нервових волокон, реактивним гліозом і фіброзом [1, 2, 3]. Однією з причин висхідної АЗН може бути гіпопінеалізм, що супроводжується атеросклеротичними та дистрофічними змінами в сітчастій оболонці на фоні дефіциту гормону мелатоніну [4].

© Недзвецька О. В., Пастух У. А., Кузьмина де Гутарра О. В., Пастух І. В., Соболева І. А., Сотник Н. М., 2023

Продукція гормону мелатоніну пінеальною залозою людини і хребетних тварин становить близько 80% усього мелатоніну у циркулюючому кровотоку. Нервові імпульси від сітківки в разі чергування впливу світла вдень і темряви вночі досягають структур центральної нервової системи та забезпечують ритм продукції мелатоніну епіфізом і формування циркадних ритмів [5–8]. Крім епіфіза, відомо вироблення мелатоніну ентохромафінними клітинами шлунково-кишкового тракту [9], фоторецепторами сітківки [10, 11] та епітелієм циліарного тіла [12]. Як у пінеальній залозі, так і в тканинах ока синтез і вивільнення мелатоніну мають циркадну ритмічність із найвищими рівнями в темряві та найнижчими рівнями на світлі [6, 8, 13–15].

Установлено, що мелатонін бере участь у таких фізіологічних процесах в оці, як оновлення фоторецепторів у сітківці [16, 17], вироблення внутрішньоочної рідини та модуляція внутрішньоочного тиску [18], загоєння ран на поверхні ока [19], антиоксидантна дія в кришталику [20]. Рецептори мелатоніну виявляються в усіх тканинах ока, включаючи рогівку, кришталік, циліарне тіло, сітківку, судинну оболонку та склеру [21].

Штучне освітлення в сучасному світі значно подовжує світловий період протягом доби й, отже, зменшує період продукції мелатоніну в темряві, що загалом впливає на біологічні ритми людини та призводить до хронічних порушень фізіологічних процесів. Навіть короткочасний вплив яскравого світла вночі може порушити циркадні ритми. Стійке зниження продукції мелатоніну супроводжується розвитком метаболічного синдрому [22], призводить до порушення вільнорадикального процесу в клітині, до патологічних змін у різних тканинах [23–25].

Експериментальні дослідження щодо впливу цілодобового освітлення (ЦО) на тваринах виявили формування гіпопінеалізму зі значним зниженням продукції гормону мелатоніну. Установлено, що за тривалого ЦО розвиваються дистрофічні морфофункціональні зміни епіфіза та щитовидної залози, виражена дисліпідемія, що лежить в основі розвитку атеросклерозу [23, 25]. Раніше ми встановили, що в кроликів, які довго перебували в умовах ЦО, розвивалися атеросклеротичні й дистрофічні порушення в сітчастій оболонці [4], у судинах і тканині циліарного тіла, а також гліоз у зоні аналога Шлемова каналу [26].

Грунтуючись на вищевикладеному, можна вважати актуальним вивчення особливостей морфофункціональних змін у ЗН кроликів, що перебувають в умовах тривалого ЦО з формуванням гіпопінеалізму, і впливу на ці зміни курсового введення гормону мелатоніну.

Мета дослідження – визначення впливу курсового введення гормону мелатоніну на морфофункціональні зміни в ЗН кроликів, що перебувають в умовах тривалого цілодобового освітлення з формуванням гіпопінеалізму.

Матеріал і методи

Експериментальне дослідження проведено на базі віварію ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України». Під час виконання роботи враховували положення Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV (Київ, 2006).

Експериментальні тварини були поділені на три групи. Перша група – група цілодобового освітлення (ГЦО) – 32 кролики (64 ока) з функціональним гіпопінеалізмом, для формування якого тварин поміщали в умови цілодобового освітлення (ЦО) [23, 27]. Протягом дня у віварії було звичайне сонячне світло, а вночі – електричне освітлення з використанням ламп розжарювання потужністю 100 Вт. Інтенсивність освітлення в клітинах вимірювали за допомогою люксметра «Ю-117» і становила 30–40 люкс. Друга група (ГЦО+М) – 29 кроликів (58 очей), які знаходилися в умовах ЦО, але перед виведенням з експерименту (евтаназія) отримували мелатонін (Sigma, США) внутрішньом'язово з розрахунку 2,5 мг/кг маси тіла на добу. Мелатонін вводили протягом 14 діб наприкінці світлової фази доби (за одну годину до настання темряви). Третя група – група контролю (ГК) – 23 інтактні тварини (46 очей), які перебували в умовах природної зміни дня та ночі.

Залежно від терміну виведення тварин з експерименту в кожній групі виділено підгрупи (табл. 1). Наприклад, ГЦО1-2 – підгрупа з групи цілодобового освітлення, тварини якої виведені з експерименту шляхом евтаназії через 1–2 місяці після початку експерименту. Контрольні підгрупи перебували в умовах віварію такі самі терміни, як і підгрупи із ЦО.

Концентрацію мелатоніну в крові тварин визначали імуноферментним методом із використанням стандартних наборів (ELISA kit IBL, Hamburg, Germany). Дослідження проводили на фотометрі StatFax 303 Plus (фірма AwarenessTechnology INC, USA).

Контрольних і піддослідних тварин виводили з експерименту під наркозом (тіопентал натрію) згідно з умовами евтаназії, які подано в методичних рекомендаціях МОЗ України [28].

Енуклейовані очні яблука тварин фіксували в розчині нейтрального формаліну, після чого піддавали стандартній гістологічній проводці, заливали парафіном. Серійні зрізи товщиною 4–5×10-6 м забарвлювали гематоксиліном з еозином, аніліновим синім та кислим фуксином за Маллорі й пікрофуксином за Ван Гізон (для виявлення компонентів сполучної тканини) з подальшою оглядовою мікроскопією для оцінювання загального стану ЗН, а також із подальшим проведенням морфометричного дослідження [29, 30]. Гістологічні й морфометричні дослідження проводили на

Таблиця 1. Кількісне розподілення експериментальних тварин по групах і підгрупах

Група цілодобового освітлення (ГЦО)		Група цілодобового освітлення, тварини якої отримували мелатонін (ГЦО+М)		Група контролю (ГК)	
Підгрупи за терміном експерименту	Кількість кроликів (очей), абс.	Підгрупи за терміном експерименту	Кількість кроликів (очей), абс.	Підгрупи за терміном експерименту	Кількість кроликів (очей), абс.
ГЦО ₁₋₂	8 (16)	ГЦО+М ₁₋₂	5 (10)	ГК ₁₋₂	5 (10)
ГЦО ₃₋₅	9 (18)	ГЦО+М ₃₋₅	9 (18)	ГК ₃₋₅	5 (10)
ГЦО ₈₋₁₂	5 (10)	ГЦО+М ₈₋₁₂	5 (10)	ГК ₈₋₁₂	5 (10)
ГЦО ₁₈₋₁₉	5 (10)	ГЦО+М ₁₈₋₁₉	5 (10)	ГК ₁₈₋₁₉	4 (8)
ГЦО ₂₆₋₂₈	5 (10)	ГЦО+М ₂₆₋₂₈	5 (10)	ГК ₂₆₋₂₈	4 (8)
Всього	23 (46)		29 (58)		23 (46)

мікроскопі Olympus BX-41 із використанням програм Olympus DP-Soft (Version 3:1) і Microsoft Excel [31]. Морфометричний аналіз проводили методом «полів» [32].

Отримані в результаті проведеного морфометричного дослідження цифрові дані опрацьовували методами математичної статистики з використанням елементів варіаційного й альтернативного аналізів. У разі використання методів альтернативної та варіаційної статистики обчислювали середню арифметичну – M , помилку середньої арифметичної – m , ступінь дисперсії, середньоквадратичне відхилення, імовірність розходження між середніми арифметичними в різні терміни експерименту. Імовірність різниці між двома середніми при малих вибірках визначали за таблицею Стьюдента з дотриманням умови (n_1+n_2-2). [33]. Під час визначення ступеня ймовірності допускали точність $p<0,05$.

Результати дослідження

Денна концентрація мелатоніну в крові тварин через місяць перебування в умовах ЦО (група ГЦО та група ГЦО+М до введення мелатоніну) знижувалася до $(29,12\pm 5,85)$ pmol/l, що достовірно нижче за контрольний рівень $(54,41\pm 6,15)$ pmol/l, ($p<0,05$). Нічна концентрація мелатоніну в крові тварин уже через 1 місяць експерименту знижувалася майже в 6 разів до $(62,26\pm 5,27)$ pmol/l, порівняно з контрольною групою $(369,45\pm 14,35)$ pmol/l, ($p<0,005$), і залишалася зниженою в наступні терміни експерименту (табл. 2).

Через 1–2 місяці експерименту в підгрупах ГЦО1-2 та ГЦО+М1-2 спостерігаються розлади кровоповнення в інтраорбітальній частині ЗН. Виявляється дилатація й розширення судин оболонки ЗН (рис. 1 – див. 3 стор. обкладинки), по ходу судин у периваскулярних просторах спостерігається рясне скупчення набрякового екстравазату, який подекуди призводить до відриву стінки капіляра від прилеглих тканин (рис. 2 – див. 3 стор. обкладинки). Середня відносна площа судин (СВПС) в інтраорбітальній частині ЗН тварин підгрупи ГЦО+М1-2 становила $(3,49\pm 0,18)\%$ (табл. 3), що значимо відрізнялося від показника під-

Таблиця 2. Рівень мелатоніну в крові тварин у різні терміни експерименту ($M\pm m$)

Групи тварин	Рівень мелатоніну в крові тварин (pmol/l) у різний час доби	
	День	Ніч
Група контролю	$54,41\pm$	$369,45\pm$
ГЦО ₁₋₂	$34,52\pm 5,28^*$	$66,23\pm$
ГЦО ₃₋₅	$29,12\pm 5,85^*$	$62,26\pm$
ГЦО ₈₋₁₂	$28,61\pm 4,22^*$	$60,53\pm$
ГЦО ₁₈₋₁₉	$32,22\pm 5,49^*$	$58,31\pm 6,21^*$
ГЦО ₂₆₋₂₈	$30,31\pm 4,87^*$	$59,42\pm 5,63^*$

Примітка: * – рівень значущості різниці між показниками порівняно з групою контролю ($p<0,05$); ГЦО – група при цілодобовому освітленні; $M\pm m$ – середнє арифметичне \pm помилка середнього арифметичного.

групи ГЦО1-2 $(3,94\pm 0,19)\%$, ($p<0,05$) і не відрізнялося від показника підгрупи ГК1-2 $(3,32\pm 0,12)\%$, ($p>0,05$). Середня відносна площа периваскулярної сполучної тканини (СВПСТ) у підгрупі ГЦО+М1-2 становить $(2,31\pm 0,13)\%$ (табл. 3) і не відрізняється від показників підгруп ГК1-2 та ГЦО1-2 $(2,30\pm 0,12)\%$ і $(2,20\pm 0,19)\%$ відповідно ($p>0,05$). Показник середнього діаметра пучків нервових волокон (СДПНВ) у підгрупі ГЦО+М1-2 становив $(4,37\pm 0,14)\times 10^{-6}$ м, значимо нижчий за аналогічний показник у підгрупі ГЦО1-2 $(4,89\pm 0,11)\times 10^{-6}$ м, ($p<0,05$) і статистично не відрізнявся від ГК $(4,32\pm 0,11)\times 10^{-6}$ м, ($p>0,05$).

Через 3–5 місяців експерименту в підгрупах ГЦО3-5 і ГЦО+М3-5 також виявляються ознаки виражених дисциркуляторних розладів у ЗН у вигляді дилатації та повнокровності судин мікроциркуляторного русла (МЦР), різкого набряку периваскулярних просторів (рис. 3 – див. 3 стор. обкладинки), скупчення вазогенного екстравазату в субменінгеальних просторах зі стисненням тканини нервового волокна по периферії з подальшим розпадом мієлінової оболонки

Таблиця 3. Морфометричні показники інтраорбітальної частини зорового нерва контрольної й експериментальних груп у різні терміни цілодобового освітлення та після курсового введення мелатоніну (M±m)

Підгрупи	Середній діаметр пучків нервових волокон (СДПНВ) ($\times 10^{-6}$ м)	Середня відносна площа судин (СВПС) (%)	Середня відносна площа периваскулярної сполучної тканини (СВПСТ) (%)
ГК ₁₋₂	4,32±0,11	3,32±0,12	2,30±0,12
ГЦО ₁₋₂	4,89±0,11 ^a	3,94±0,19 ^a	2,20±0,19
ГЦО+М ₁₋₂	4,37±0,14 ^d	3,49±0,18 ^d	2,31±0,13
ГК ₃₋₅	4,38±0,13	3,51±0,14	2,35±0,13
ГЦО ₃₋₅	4,77±0,12	4,87±0,12 ^{a, b}	2,91±0,14 ^{a, b, c}
ГЦО+М ₃₋₅	4,31±0,13 ^d	4,12±0,17 ^{a, b, d}	2,40±0,12 ^d
ГК ₈₋₁₂	4,24±0,14	3,49±0,18	3,50±0,12
ГЦО ₈₋₁₂	3,17±0,11 ^{a, b, c}	3,65±0,17 ^b	4,30±0,13 ^{a, b, c}
ГЦО+М ₈₋₁₂	3,13±0,14 ^{a, b, c}	3,58±0,16 ^b	4,31±0,14 ^{a, b, c}
ГК ₁₈₋₁₉	3,89±0,11 ^b	3,23±0,17	3,50±0,15
ГЦО ₁₈₋₁₉	2,73±0,11 ^{a, b, c}	2,56±0,14 ^{a, b, c}	4,60±0,17 ^{a, b}
ГЦО+М ₁₈₋₁₉	2,83±0,12 ^{a, b, c}	2,67±0,12 ^{a, b, c}	4,51±0,15 ^a
ГК ₂₆₋₂₈	3,85±0,14	3,20±0,13	3,40±0,14
ГЦО ₂₆₋₂₈	2,51±0,09 ^{a, c}	2,01±0,15 ^{a, b, c}	4,80±0,15 ^{a, c}
ГЦО+М ₂₆₋₂₈	2,73±0,10 ^{a, c}	1,93±0,15 ^{a, b, c}	4,61±0,17 ^{a, c}

Примітка: M±m – середнє арифметичне ± помилка середнього арифметичного; ^a– різниця між двома середніми значима порівняно з ГК того самого терміну спостереження (p<0,05); ^b– різниця між двома середніми значима порівняно з попереднім періодом експериментального дослідження (p<0,05); ^c– різниця між двома середніми значима порівняно з підгрупою ГЦО₁₋₂ (p<0,05); ^d– різниця між двома середніми значима порівняно з підгрупою ГЦО того самого терміну спостереження (p<0,05).

в цій зоні (рис. 4 – див. 3 стор. обкладинки). Повнокровність судин зумовлює значиме збільшення показника СВПС в інтраорбітальній частині ЗН у підгрупі ГЦО3-5 (4,87±0,12)% порівняно з ГК3-5 (3,51±0,14)%, (p<0,05). Цей показник зменшувався в підгрупі ГЦО+М3-5 (4,12±0,17)%, (p<0,05) після курсу мелатоніну. У підгрупі ГЦО+М3-5 показник СВПСТ становить (2,4±0,12)% і значимо не змінений порівняно з показником ГК3-5 (2,35±0,13)%, (p>0,05), але значимо нижчий за показник ГЦО3-5 (2,91±0,14)%, (p<0,05) (табл. 3). Показник СДПНВ у підгрупі ГЦО+М3-5 становив (4,31±0,13) $\times 10^{-6}$ м, значимо нижчий за аналогічний показник у підгрупі ГЦО3-5 (4,77±0,12) $\times 10^{-6}$ м, (p<0,05) і статистично не відрізнявся від контрольного показника (4,38±0,13) $\times 10^{-6}$ м, (p>0,05) (табл. 3).

У тварин підгруп ГЦО8-12 і ГЦО+М8-12 в інтраорбітальній частині ЗН зменшується виразність дисциркуляторних розладів, судини менш повнокровні, що також підтверджується даними морфометрії: показник СВПС становить (3,58±0,16)% (табл. 3), що значимо нижче за значення аналогічного показника тварин попереднього терміну дослідження в підгрупі ГЦО+М3-5 (4,12±0,17)%, p<0,05 і статистично подібно до показників підгруп ГК8-12 і ГЦО8-12 (3,49±0,18)% і (3,65±0,17)% відповідно (p>0,05).

Периваскулярні простори нервового волокна розширено за рахунок новоутворення сполучної тканини. Явища периваскулярного склерозу в підгрупі ГЦО+М8-12 підтверджуються достовірним збільшенням показника СВПСТ до (4,31±0,14)%, порівняно з тваринами попереднього терміну експерименту в підгрупі ГЦО+М3-5 (2,40±0,12)%, (p<0,05), і відсутністю відмінності від показника підгрупи ГЦО8-12 (4,30±0,13)%, (p>0,05) (табл. 3). Показник СДПНВ у підгрупі ГЦО+М8-12 становив (3,13±0,14) $\times 10^{-6}$ м, значимо нижчий за аналогічний показник у підгрупі ГК8-12 (4,24±0,14) $\times 10^{-6}$ м, (p<0,05) і статистично не відрізнявся від показника ГЦО8-12 (3,17±0,11) $\times 10^{-6}$ м, (p>0,05) (табл. 3).

У тварин підгрупи ГЦО+М18-19 в інтраорбітальній частині ЗН відзначається редукція судинного русла, про що свідчить значиме зменшення показника СВПС до (2,67±0,12)% порівняно з тваринами підгрупи ГК18-19 (3,23±0,17)% (p<0,05) (табл. 3). Виявляється розширення периваскулярних просторів за рахунок новоутворення в них сполучної тканини. Показник СВПСТ у підгрупі ГЦО+М18-19 становить (4,51±0,15)%, що достовірно більше за показник контрольної підгрупи (3,50±0,15)%, (p<0,05) і не відрізняється від аналогічного показника підгрупи ГЦО18-19 (4,60±0,17)% (p>0,5). Показник СДПНВ

у підгрупі ГЦО+М18-19 $(2,83 \pm 0,12) \times 10^{-6}$ м значимо менший за контрольний $(3,89 \pm 0,11) \times 10^{-6}$ м, ($p < 0,05$) і не відрізнявся статистично від показника підгрупи ГЦО18-19 $(2,73 \pm 0,11) \times 10^{-6}$ м, ($p > 0,05$) (табл. 3).

Через 26–28 місяців експерименту із ЦО в підгрупі ГЦО+М26-28 виявляється редукція судин МЦР в інтраорбітальній частині ЗН, про що свідчить значиме зменшення показника СВПС до $(1,93 \pm 0,15)\%$ порівняно з тваринами контрольної підгрупи ГК26-28 $(3,20 \pm 0,13)\%$, ($p < 0,05$) (табл. 3). Периваскулярні простори в ЗН різко розширені за рахунок склерозу, заповнені фуксинофільною (у разі фарбування за Ван Гізеном) сполучною тканиною (рис. 5 – див. 3 стор. обкладинки). Показник СВППСТ у групі ГЦО+М26-28 становить $(4,61 \pm 0,17)\%$, що більше за показник підгрупи ГК26-28 $(3,40 \pm 0,14)\%$ ($p < 0,05$) і подібно до показника ГЦО26-28 $(4,80 \pm 0,15)\%$, ($p > 0,05$) (табл. 3). Показник СДПНВ у підгрупі ГЦО+М26-28 $(2,73 \pm 0,10) \times 10^{-6}$ м значимо менший за контрольний показник $(3,85 \pm 0,14) \times 10^{-6}$ м, ($p < 0,05$) і не відрізнявся статистично від показника підгрупи ГЦО26-28 $(2,51 \pm 0,09) \times 10^{-6}$ м, ($p > 0,05$) (табл. 3).

Обговорення

Проблема пролонгованого періоду перебування сучасних людей в умовах штучного освітлення в темний час доби є актуальною, у зв'язку з тим що внаслідок скорочення темного періоду доби зменшується активність пінеальної залози, продукція мелатоніну, що, у свою чергу, супроводжується порушеннями циркадних ритмів людини, антиоксидантної системи організму, у якій мелатонін відіграє провідну роль, розвитком метаболічного синдрому тощо [5–8].

Орган зору викликає особливий інтерес у ракурсі порушень циркадних ритмів і порушень продукції мелатоніну. По-перше, під впливом квантів світла сітківка та ЗН є провідниками нервових імпульсів до структур центральної нервової системи й, зокрема, до пінеальної залози. По-друге, встановлено вироблення мелатоніну фоторецепторами сітківки [10, 11] та епітелієм циліарного тіла [12], а рецептори мелатоніну виявлені в циліарному тілі, сітківці, судинній оболонці та склері, у рогівці й кришталіку [21]. Усі ці дані свідчать про те, що функція та структура органу зору тісно пов'язані з продукцією мелатоніну.

Експериментальна модель гіпопінеалізму, запропонована в ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», ґрунтується на тому, що цілодобове освітлення знижує функцію пінеальної залози як головного постачальника гормону мелатоніну. Підтвердженням гіпопінеалізму в кроликів у цьому експерименті було зниження продукції гормону мелатоніну й морфологічні зміни в пінеальній залозі зі значним зменшенням кількості пінеалоцитів [23, 25, 27]. Виявлено ранні атеросклеротичні зміни в судинах усього організму кроликів та ознаки прискороного старіння пінеальної залози [27]. Проведені нами раніше дослідження органу зору в кроликів з та-

кого експерименту показали наявність дистрофічних змін у сітківці й хоріоїдеї [4] та дистрофічні зміни в циліарному тілі й райдужці [26].

Отримані нами результати в сукупності з ендокринологічними дослідженнями дали змогу припустити можливість розвитку атрофії зорового нерва в кроликів із гіпопінеалізмом.

Проведене нами дослідження виявило зниження нічної концентрації мелатоніну в крові кроликів майже в 6 разів порівняно з контролем уже через 1–2 місяці експерименту. Денна продукція мелатоніну знизилася майже удвічі. Подальше зниження продукції мелатоніну протягом усього експерименту було незначним. Цей факт потребує подальших досліджень. Можна припустити, що на фоні пригнічення діяльності пінеальної залози могли частково активізуватися ентерохромафінні клітини шлунково-кишкового тракту кроликів або інші компенсаторні процеси щодо продукції мелатоніну [9].

Морфологічне дослідження дало змогу встановити, що як у тварин із функціональним гіпопінеалізмом на фоні ЦО, так і у тварин, які перед виведенням з експерименту в різні терміни отримали курсове введення гормону мелатоніну, відбувалися подібні, але з деякими розбіжностями зміни в інтраорбітальній частині ЗН.

У термінах до 5 місяців перебування тварин в умовах ЦО реєструються дисциркуляторні розлади у вигляді дилатації та значної повнокровності судин оболонок ЗН. У периваскулярних просторах спостерігається такий виражений набряк, що подекуди доходить до відриву капілярної стінки від прилеглих тканин. Через 8–12 місяців ЦО дисциркуляторні порушення поступово зменшуються. Перебування тварин в умовах ЦО до 28 місяців із низьким рівнем гормону мелатоніну протягом усього експерименту супроводжується тим, що дисциркуляторні порушення в ЗН замінюються склеротичними й атрофічними процесами, спостерігаються масивний склероз периваскулярних просторів, різке потовщення стінки судин, також витончення пучків нервових волокон. Оболонки ЗН нерівномірно потовщені, фуксинофільні, що свідчить про їх склероз. Протягом усього експерименту зміни в інтраорбітальній частині ЗН, які проявлялися на фоні дефіциту мелатоніну, були значимо більшими, ніж геронтологічні зміни ЗН у кроликів контрольних підгруп.

Демієлінізація в ЗН зафіксована з 3–5 місяця експерименту, тривала в пізніші терміни як у підгрупах із ЦО, які не отримували курс мелатоніну, так і в підгрупах, які отримували мелатонін. Демієлінізацію ЗН у контрольних тварин не виявили.

Курсове введення гормону мелатоніну тваринам із гіпопінеалізмом мало певний вплив на морфофункціональний стан інтраорбітальної частини ЗН переважно в ранні терміни експерименту. Дисциркуляторні порушення через 1–5 місяців експерименту під впливом курсу мелатоніну були менш виражені порівняно з групою тварин, які перебували в умовах ЦО, але ін'єкцій

мелатоніну не одержували. Про це свідчить значиме зменшення під впливом мелатоніну таких кількісних показників, як середня відносна площа судин і середній діаметр пучків нервових волокон ЗН, потовщення яких у цей термін пояснюється набряком. Через 3–5 місяців ЦО курсове введення М супроводжувалося також зменшенням показника середньої відносної площі периваскулярної сполучної тканини, збільшення якого до цих термінів експерименту також пов'язувалося з реактивним набряком.

У пізні терміни спостереження тварин із гіпопінеалізмом на фоні ЦО (12–28 місяців) курсове введення мелатоніну не супроводжувалося значимими змінами судинних показників, що характеризують судинний склероз, і показника товщини пучків нервових волокон ЗН, порівняно з підгрупами, які не отримували мелатоніну.

У тварин, що перебували в умовах ЦО, як і в підгрупах тварин, які отримували мелатонін на фоні ЦО, у пізні терміни експерименту (12–28 місяців) наростали відмінності від показників контрольних підгруп. Значимо зменшувалися показники середньої відносної площі судин ЗН через запустіння та облітерацію судин і збільшувалися показники середньої відносної площі периваскулярної сполучної тканини.

Отже, виявлені такі морфологічні прояви, як демієлінізація та витончення пучків нервових волокон ЗН у поєднанні із запустінням і облітерацією судин ЗН, потовщенням судинної стінки й розростанням сполучної тканини, свідчать про розвиток склеротичної атрофії ЗН на тлі вираженого дефіциту гормону мелатоніну в умовах цілодобового освітлення. На підставі отриманих раніше нами даних про дистрофічні зміни в сітківці кроликів із такого самого експерименту [4] можна припустити висхідну АЗН. Дані про дисциркуляторній дистрофічні порушення в цилиарному тілі та райдужці, а також дані про розростання сполучної тканини в зоні аналога Шлемового каналу в очах тих самих кроликів, у яких вивчали стан зорового нерва [26], дають змогу припустити порушення гідродинаміки ока й розвиток глаукомної атрофії ЗН. Ці дані корелюють із дослідженнями про участь мелатоніну в регуляції внутрішньоочного тиску й у розвитку глаукоми [18]. Подальші дослідження допоможуть уточнити патоморфологічну сутність АЗН, що пов'язана з гіпопінеалізмом.

Уведення гормону М кроликам, що перебували в умовах ЦО, мало на меті пошук способу медикаментозної корекції гіпопінеалізму та змін у зоровому нерві. Курсове введення гормону мелатоніну протягом 14 днів кроликам перед виведенням з експерименту із ЦО мало протинабрякову дію в ранніх термінах експерименту (до 5 місяців), поки, очевидно, не відбувалися незворотні зміни в ЗН. У тварин зі стійким вираженим гіпопінеалізмом на тлі тривалого (до 28 місяців) перебування в умовах ЦО курсове введення мелатоніну не впливало на розвиток процесів АЗН. Можна припустити, що введення мелатоніну тваринам протягом усього

експерименту із ЦО могло бути більш ефективним у профілактиці АЗН, що потребує дослідження.

Література

1. **Quigley HA, Anderson DR.** The histologic basis of optic disk pallor in experimental optic atrophy. *Am J Ophthalmol.* 1977;83(5):709-17.
2. **Жабоедов ГД, Скрипник РЛ.** Поражения зрительного нерва. Киев: Здоровье; 2006. 472 с.
3. **Li HJ, Sun ZL, Yang XT, Zhu L, Feng DF.** Exploring Optic Nerve Axon Regeneration. *Curr Neuropharmacol.* 2017; 15(6):861-73.
4. **Недзвецькая ОВ, Колот АВ, Бондаренко ЛА.** Изучение морфологических изменений сетчатки глаза при экспериментальном гипопинеализме. *Офтальмология. Восточная Европа.* 2015; 2(25):35-40.
5. **Wetterberg L.** Light and biological rhythms in man. *J Intern Med.* 1994; 235(1):5-19.
6. **Korf HW, Schomerus C, Stehle JH.** The pineal organ, its hormone melatonin, and the photoneuroendocrine system. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 1998; 146:1-100.
7. **Brainard GC, Hanifin JP, Greeson JM, et al.** Action spectrum for melatonin regulation in humans: evidence for a novel circadian photoreceptor. *J Neurosci.* 2001; 21:6405-12.
8. **Gooley JJ, Rajaratnam SM, Brainard GC, et al.** Spectral responses of the human circadian system depend on the irradiance and duration of exposure to light. *Sci Transl Med.* 2010; 2:31-3.
9. **Reiter RJ.** The pineal gland and melatonin in relation to aging: A summary of the theories and the data. *Exp. Gerontol.* 1995; 30:199-212.
10. **Wiechmann AF, Bok D, Horwitz J.** Melatonin-binding in the frog retina: autoradiographic and biochemical analysis. *Invest Ophthalmol.* 1986; 27:153-63.
11. **Cahill GM, Besharse JC.** Light-sensitive melatonin synthesis by Xenopus photoreceptors after destruction of the inner retina. *Vis Neurosci.* 1992; 8:487-90.
12. **Martin XD, Malina HZ, Brennan MC, et al.** The ciliary body – the third organ found to synthesize indoleamines in humans. *Eur J Ophthalmol.* 1992; 2:67-72.
13. **Hamm HE, Menaker M.** Retinal rhythms in chicks: circadian variation in melatonin and serotonin N-acetyltransferase activity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1980; 77:4998-5002.
14. **Ruby NF, Brennan TJ, Xie X et al.** Role of melanopsin in circadian responses to light. *Science.* 2002; 298:2211-13.
15. **Claustrat B, Brun J, Chazot G.** The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev.* 2005; 9:11-24.
16. **White MP, Fisher LJ.** Effects of exogenous melatonin on circadian disc shedding in the albino rat retina. *Vision Res.* 1989; 29:167-79.
17. **Nickla DL.** Ocular diurnal rhythms and eye growth regulation: where we are 50 years after Lauber. *Exp Eye Res.* 2013; 114:25-34.
18. **Pescosolido N, Gatto V, Stefanucci A, et al.** Oral treatment with the melatonin agonist agomelatine lowers the intraocular pressure of glaucoma patients. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2015; 35:201-5.
19. **Crooke A, Guzman-Aranguel A, Mediero A, Alarma-Estrany P, Carracedo G, Pelaes T, et al.** Effect of melatonin and analogues on corneal wound healing: involvement of Mt2 melatonin receptor. *Curr Eye Res.* 2015; 40:56-65.

20. **Bai J, Dong L, Song Z.** The role of melatonin as an anti-oxidant in human lens epithelial cells. *Free Radic Res.* 2013; 47:635-42.
21. **Alarma-Estrany P, Pintor J.** Melatonin receptors in the eye: location, second messengers and role in ocular physiology. *Pharmacol Ther.* 2007; 113:507-22.
22. **Мищенко ТВ, Гладких ОІ, Полтораєк ВВ, Бондаренко ЛЮ.** Гіпопінеалізм як чинник розвитку метаболічного синдрому. *Ендокринологія.* 2015; 20(2):494-500.
23. **Бондаренко ЛА, Губина-Вакулик ГІ, Сотник НН.** Влияние постоянного освещения на суточный ритм мелатонина и структуру пинеальной железы у кроликов. *Пробл. эндокрин. патології.* 2005; 4:38-45.
24. **Eren TC, Reiter RJ.** Light hygiene: time to make preventive use of insights old and new into the nexus of the drug light, melatonin, clocks, chronodisruption and public health. *Med Hypotheses.* 2009; 73:537-41.
25. **Бондаренко ЛА, Сотник НН.** Динаміка добових ритмів гормональної активності щитоподібної залози, при гіпопінеалоїзмі, індукованому тривалим цілодобовим освітленням. *Пробл. эндокрин. патології.* 2010; 4(34):71-7.
26. **Недзвецкая ОВ, Пастух УА, Кихтенко ЕВ, Пастух ИВ, Сотник НН, Гончарова НА, Кузьмина де Гутарра ОВ.** Морфофункциональные изменения в радужной оболочке и цилиарном теле кроликов при экспериментальном гипопинеализме. *Офтальмол. журн.* 2022; 2(505):42-7.
27. **Губина-Вакулик ГІ, Бондаренко ЛА, Сотник НН.** Длительное круглосуточное освещение как фактор ускоренного старения пинеальной железы. *Успехи геронтологии.* 2007; 20(1):92-5.
28. **Матвієнко АВ, Степанова ЛВ.** Морфологічні дослідження на етапі доклінічного вивчення лікарських засобів: метод. рекомендації / МОЗ України, Державний фармакологічний центр. Київ, 2001. 19 с.
29. **Лили Р.** Патогистологическая техника и практическая гистохимия. Москва: Мир, 1960. 648 с.
30. **Саркисова ДС, Перова ЮЛ, редактори.** Микроскопическая техника: Руководство. Москва: Медицина, 1996. 544 с.
31. **Лапач СН, Чубенко АВ, Бабич ПН.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: МОРИОН, 2001. 408 с.
32. **Автандилов ГГ.** Основы количественной патологической анатомии. Москва: Медицина, 2002. 240 с.
33. **Сергиенко ВИ, Бондарева ИБ.** Математическая статистика в клинических исследованиях. Москва: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 2000. 256 с.

Відомості про авторів та розкриття інформації

Внесок авторів. Усі автори брали участь у зборі даних, аналізі результатів, написанні рукопису та погодили кінцевий варіант рукопису.

Конфлікт інтересів. Автори засвідчують про відсутність конфлікту інтересів, який б міг вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Відмова від відповідальності. Автори заявляють, що висловлені у поданій статті думки є їх власними, а не офіційними позиціями установи.

Надійшла 10.04.2023

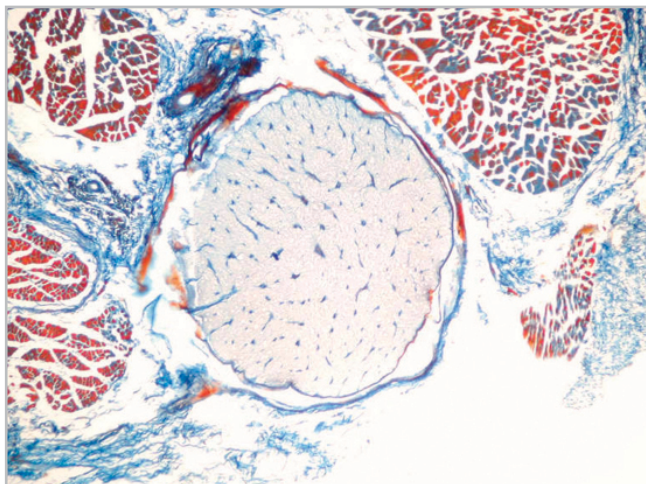


Рис. 1. Тварина з підгрупи ГЦО+М1-2. Інтраорбітальна частина зорового нерва: пучки нервових волокон оточені менінгеальними структурами, судини яких нерівномірно повнокровні. Забарвлення за Маллорі, $\times 100$.

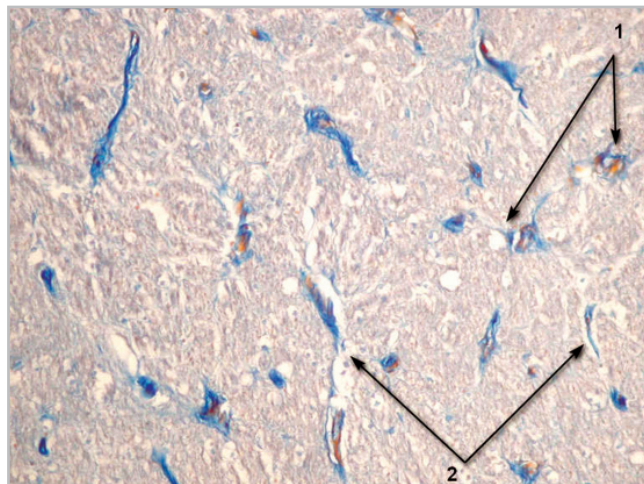


Рис. 2. Тварина з підгрупи ГЦО+М1-2. Інтраорбітальна частина зорового нерва: судини, що проходять між пучками нервових волокон, повнокровні (1); виявляється набряк периваскулярного простору: набряковий екстравазат у вигляді оптичних порожнин розташовується периваскулярно, подекуди відокремлюючи мікросудину від прилеглої нервової тканини (2). Забарвлення за Маллорі, $\times 400$.

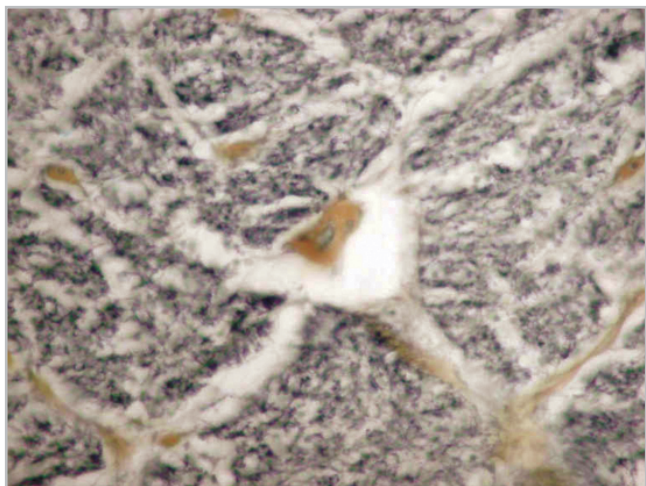


Рис. 3. Тварина з підгрупи ГЦО+М3-5. Інтраорбітальна частина зорового нерва. Різко виражений периваскулярний набряк. Забарвлення за Круцай, $\times 1000$.

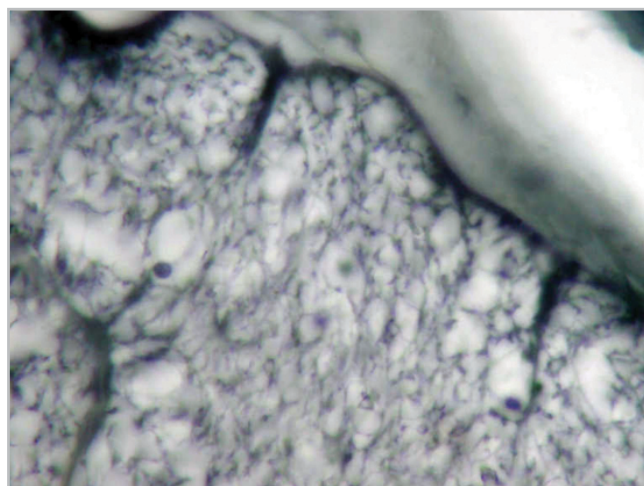


Рис. 4. Тварина з підгрупи ГЦО+М3-5. Інтраорбітальна частина зорового нерва. Розпад мієліну в субменінгеальних відділах зі скупченням уламків мієлінової оболонки у вигляді дрібних гранул чорного кольору. Забарвлення за Круцай, $\times 1000$.

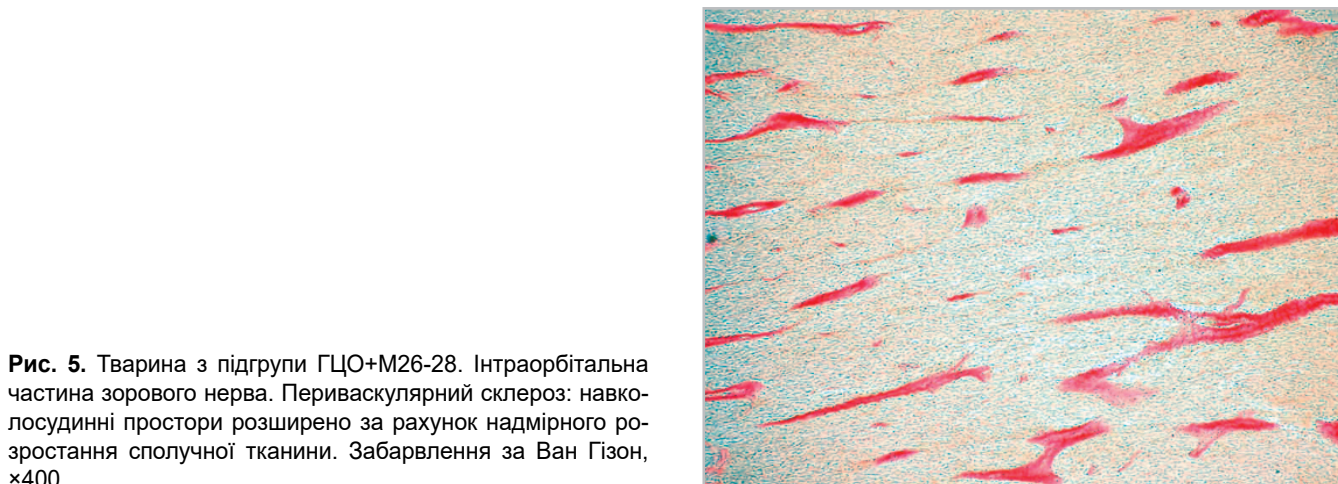


Рис. 5. Тварина з підгрупи ГЦО+М26-28. Інтраорбітальна частина зорового нерва. Периваскулярний склероз: навколосудинні простори розширено за рахунок надмірного розростання сполучної тканини. Забарвлення за Ван Гізон, $\times 400$.