

УДК 577.175.53:57.034:612.42

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНФРАДИАННЫХ РИТМОВ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ И ПРОЦЕНТНОГО СОДЕРЖАНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС-САМЦОВ ВИСТАР

Диатроптов М.Е., Диатроптова М.А., Кондашевская М.В.

*Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН,
Москва, e-mail: mariluka@mail.ru*

Любому организму присущи ультрадианные (период меньше 20 ч), циркадианные (околосуточный период), инфрадианные (околонеделный период), сезонные и многолетние биоритмы. В настоящее время наибольший интерес представляет исследование инфрадианных ритмов. Проведено длительное многократное исследование колебаний уровня кортикостерона, тестостерона и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови у половозрелых крыс-самцов Вистар. Выявлен статистически значимо различающийся по батифазе и акрофазе 4-суточный период инфрадианных ритмов исследуемых показателей, на который не влияли применение эфирного наркоза, иммобилизация и другие условия эксперимента. Инфрадианные ритмические изменения уровня стероидных гормонов и процентного содержания нейтрофилов периферической крови необходимо учитывать в экспериментальных и клинических исследованиях.

Ключевые слова: инфрадианный ритм, тестостерон, кортикостерон, нейтрофилы периферической крови, крысы Вистар

INFRADIAN RHYTHMIC OF THE STEROID HORMONES AND PERIPHERAL BLOOD'S NEUTROPHILES PERCENTAGE TEST IN WISTAR MALE RATS

Diatroptov M.E., Diatroptova M.A., Kondashevskaya M.V.

*Research Institute of Human Morphology of Russian Academy Medical Sciences,
Moscow, e-mail: mariluka@mail.ru*

The animal and human body consists of multiple elementary cycles – biorhythms, which reflect the interaction between one's body and external environment, and which were formed during the evolution process. It was studied the oscillation of the testosterone and corticosteroid levels and the percent of neutrophiles in the peripheral blood on Wistar adult male rats. It was found the 4 day period of infradian rhythms with oscillation of given parameters, this period was stable in terms of seasons and years, and it was independent from stress factors (animal immobilization, ether inhalation). The experiment demonstrated the phase coincidence of corticosteroid, testosterone levels and the percentage of neutrophiles in peripheral blood. It was established the positive correlation of the rhythms of corticosteroid, testosterone levels and the percentage of neutrophiles in peripheral blood. It's important that Infradian rhythmic changes of corticosteroid, testosterone levels and the peripheral blood's percentage of neutrophiles have to be taken into account in experimental and clinical studies.

Keywords: infradian rhythms, testosterone, corticosterone, peripheral blood's neutrophiles, Wistar rats

Многочисленные исследования суточных (циркадианных) ритмов большинства физиологических процессов позволили разработать хронобиологические подходы к диагностике и лечению многих заболеваний [1, 3, 11]. Однако, помимо суточных колебаний, любому организму присущи ультрадианные (период меньше 20 ч), инфрадианные (околонеделный период), сезонные и многолетние биоритмы [1, 3, 7, 8].

Ранее нами был выявлен устойчивый 4-суточный инфрадианный ритм уровня тестостерона в сыворотке крови крыс-самцов Вистар, содержащихся в изоляции от самок [2]. Сходный (около 4-суточный) период колебаний уровня кортикостерона в сыворотке крови крыс был установлен в работе R. Jozsa и соавт. [8]. Тестостерон и кортикостерон – стероидные гормоны, обладающие разносторонним регулирующим действием на организм. В том числе, выявлено влияние этих гормонов на клеточный и гуморальный ответ иммунной системы [6]. Известно, что даже непродолжительное

стрессорное воздействие, при котором возрастает уровень стероидных гормонов, вызывает увеличение числа лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных [9]. Это объясняется тем, что лейкоциты, являющиеся одним из компонентов клеточного иммунитета, выполняют защитные функции, обеспечивая фагоцитоз микробов, инородных веществ и т.д. Работ, посвященных взаимосвязи инфрадианных ритмов стероидных гормонов и колебаний числа нейтрофилов – самых многочисленных представителей лейкоцитов в периферической крови, практически нет. В то же время, такие сведения важны при разработке хронобиологических подходов к диагностике и лечению ряда заболеваний.

Целью данной работы было исследование у крыс-самцов Вистар инфрадианных колебаний уровня кортикостерона, тестостерона, процентного содержания нейтрофилов в периферической крови и выявление взаимосвязи инфрадианных ритмов этих показателей.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 236 половозрелых самцах (масса 190–230 г) крыс Вистар (питомник Столбовая). При работе с экспериментальными животными руководствовались приказом Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н. На проведение эксперимента получено разрешение биоэтической комиссии ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН (протокол № 8). Животных содержали группами по 6–10 особей в максимально стандартных условиях, в изоляции от самок. Клетки с животными были расположены так, чтобы исключить возможное влияние зрительного, акустического и ольфакторного каналов передачи информации на синхронизацию активности между животными разных групп. В помещении поддерживался фотопериод, имитирующий естественный для Москвы световой день, и постоянная температура +24 °С.

В сериях эксперимента, проводимых 17–29 марта (по 8 голов в сутки, $n = 104$) и 11–27 сентября (по 6 голов в сутки, $n = 102$) 2011 г., пробы крови из хвостовой вены разных крыс забирали ежедневно в 8.00–8.30 ч утра по местному солнечному времени (Москва), под эфирным наркозом. Забор крови у разных животных обеспечивал наименьший стресс от хендлинга (от англ. handling – обработка, в данном случае приучение к условиям эксперимента). В следующих сериях, проводимых ежедневно 5–21 мая ($n = 7$), 3–16 июля ($n = 6$), и 8–20 октября ($n = 10$) 2011 г., забор крови из хвостовой вены производили также в 8.00–8.30 ч утра, ежедневно, но у одних тех же животных при кратковременной иммобилизации. В последней серии 3–15 января 2012 г. ($n = 7$) забор крови производили ежедневно в 10.15–10.45 ч утра, у одних и тех же крыс под эфирным наркозом. Забор крови с 8 до 11 ч утра по местному солнечному времени (Москва) соответствует утреннему максимуму содержания стероидных гормонов в сыворотке крови [3, 8].

Образцы сывороток хранили не более 6 мес. при температуре –70 °С. Уровень кортикостерона в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментных (ИФА) наборов «IBL» (Германия), тестостерона – «DVC» (Канада), используя микропланшетный ИФА анализатор «ANTHOS 2010» (Австрия).

В сериях эксперимента 17–29 марта 2011 г. ($n = 8$) и с 8 по 20 октября 2011 г. ($n = 10$) производили определение процентного содержания нейтрофилов в мазках периферической крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе.

Исследования проводили с учетом состояния геомагнитной обстановки (данные Института земного магнетизма, ионосферы и распространения радиоволн им. Н.В. Пушкова РАН).

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя программу «Statistica 6.0». В соответствии с характером распределения был выбран непараметрический метод. Достоверность различий между показателями определяли по U-критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В серии эксперимента 17–29 марта 2011 г. (разные животные, эфирный наркоз)

наиболее стабильный инфрадианный ритм наблюдался в колебаниях уровня тестостерона (табл. 1). В дни с повышенной степенью возмущенности геомагнитного поля (22 и 23 марта) 4-суточный ритм изменений уровня кортикостерона был нарушен, тогда как биоритм тестостерона был сохранен. Известно, что геомагнитные бури могут вызывать десинхроноз у млекопитающих и человека, нарушая биологические ритмы продукции стероидных гормонов и мелатонина – наиболее важного синхронизатора биоритмов в организме [5, 7, 10]. В наших экспериментах максимальные (18 и 26 марта) и минимальные (20 и 28 марта) значения содержания нейтрофилов в периферической крови наблюдались в то же время, что и у кортикостерона, установлен 4-суточный ритм изменения этого показателя (табл. 1). В период нарушения ритма кортикостерона (20–24 марта) колебания процентного содержания гранулоцитов в периферической крови не имели периодичности, что указывает на взаимосвязь этих показателей. Коэффициент корреляции между уровнем кортикостерона и процентного содержания нейтрофилов в крови был равен 0,45.

В серии эксперимента с 8 по 20 октября 2011 г. (одни и те же животные, хендлинг, иммобилизация) динамика уровней кортикостерона и тестостерона имела 4-суточную периодичность, максимальные значения (акрофаза) наблюдались 10, 14, 18, а минимальные (батифаза) – 8, 12, 16, 20 октября (рисунок). Динамика процентного содержания нейтрофилов в периферической крови также имела 4-суточную периодичность, совпадала по фазе и коррелировала положительно (коэффициент корреляции $r = 0,73$) с уровнем стероидных гормонов (см. рисунок). Значения всех показателей в акрофазе и батифазе достоверно различались между собой на протяжении всего времени наблюдения. В работе Т.П. Рябых и соавт. также установлен 4-суточный ритм изменения числа лейкоцитов в периферической крови у лабораторных мышей, однако авторы не проводили его сопоставление с уровнем стероидных гормонов [4].

В серии эксперимента 3–15 января 2012 г. (одни и те же крысы, хендлинг, эфирный наркоз) достоверные различия между акрофазой и батифазой уровня исследуемых стероидных гормонов наблюдались в первые 8 суток (табл. 2). В дальнейшем амплитуда колебаний уровня тестостерона и кортикостерона уменьшалась и различия стали недостоверными.

Таблица 1

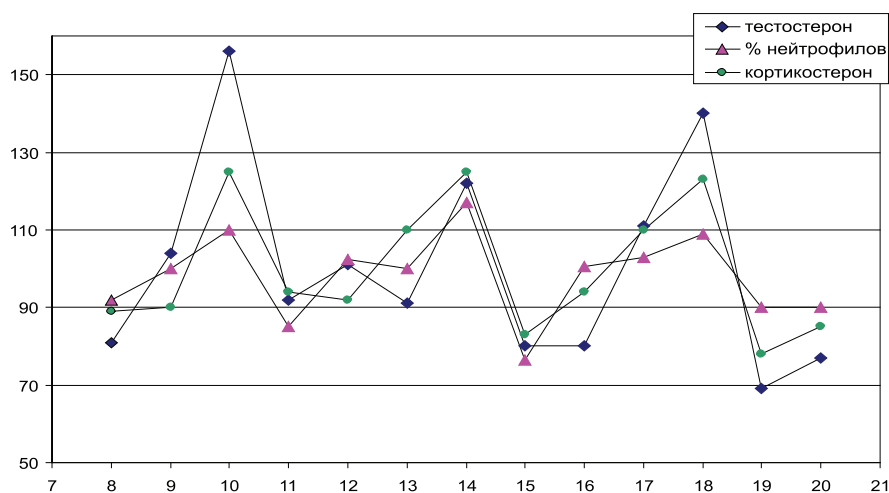
Показатели инфрадианных ритмов кортикостерона (К), тестостерона (Т) и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови (Н) у крыс-самцов Вистар (в абсолютных величинах)

Фаза периода							
Максимум				Минимум			
Даты	К, нмоль/л	Т, нмоль/л	Н, %	Даты	К, нмоль/л	Т, нмоль/л	Н, %
18.03 2011	779,9 * (702,4; 886,2)	15,3 (4,1; 18,0)	25,5 * (24,3; 27,5)	20.03 2011	638,2 (497,9; 678,4)	12,6 (8,9; 13,6)	20,2 (17,3; 22,5)
22.03 2011	709,3 (598,5; 878,1)	17,3 * (15,7; 24,5)	21,5 (17,5; 26,5)	24.03 2011	689,4 (643,7; 721,3)	4,6 (2,6; 7,4)	14,5 (12,5; 20,1)
26.03 2011	955,6 * (792,7; 1151,4)	16,5 * (10,7; 20,0)	24,5 * (18,5; 27,2)	28.03 2011	627,1 (547,6; 801,1)	4,0 (2,8; 5,9)	11,5 (10,5; 13,4)
12.09 2011	814,7 * (638,8; 869,3)	15,4 (6,5; 18,1)		14.09 2011	500,6 (435,1; 542,3)	10,1 (6,1; 14,2)	
16.09 2011	765,6 * (700,7; 788,5)	18,2 * (12,5; 26,1)		18.09 2011	618,4 (534,3; 684,1)	8,2 (4,5; 13,3)	
20.09 2011	792,4 * (693,6; 846,4)	15,5 * (11,7; 23,1)		22.09 2011	613,3 (600,4; 715,2)	6,2 (4,5; 12,1)	
24.09 2011	765,3 * (684,8; 826,3)	14,8 * (10,5; 22,6)		26.09 2011	554,5 (521,3; 625,4)	5,9 (6,1; 8,4)	

Примечания :

здесь и в табл. 2 указана медиана, в скобках – нижняя и верхняя квартили.

* $p < 0,05$ при сопоставлении соответствующих показателей на максимуме и минимуме инфрадианных ритмов.



Инфрадианные ритмы тестостерона, кортикостерона и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови у крыс-самцов Вистар. По оси абсцисс – даты опыта (8–21 октября 2011 г.). По оси ординат – % от индивидуального среднего значения

Во всех остальных сериях эксперимента динамика уровня кортикостерона и тестостерона также имела достоверный 4-суточный период инфрадианного ритма (табл. 1, 2). Акрофаза и батифаза концентрации кортикостерона, тестостерона и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови наблюдались в одни и те же календарные даты (табл. 1, 2). При исследовании 4-суточного ритма уровня стероидных

гормонов в разных сериях эксперимента, проведенных на протяжении одиннадцати месяцев, было установлено, что каждые 69–73 сутки происходит скачкообразный переход акрофазы ритма на сутки вперед. Таким образом, более точный период колебаний уровня стероидных гормонов в сыворотке крови составляет 4,06 суток, который укладывается целое число раз в периоде обращения Земли вокруг Солнца.

Таблица 2

Показатели инфрадианных ритмов кортикостерона (К), тестостерона (Т) и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови (Н) у крыс-самцов Вистар (в процентах от индивидуальных средних значений)

Фаза периода							
Максимум				Минимум			
Даты	К	Т	Н	Даты	К	Т	Н
14.05 2011	115,2 * (95,5; 132,3)	131,4 * (108,6; 148,1)		16.05 2011	80,4 (68,7; 94,2)	90,3 (75,5; 106,3)	
18.05 2011	122,3 * (105,7; 154,2)	135,2 * (111,8; 157,4)		20.05 2011	84,3 (68,6; 103,4)	75,4 (63,7; 87,3)	
06.07 2011	109,3 (91,6; 122,1)	127,1 * (112,7; 147,2)		04.07 2011	100,4 (87,9; 114,3)	80,2 (70,6; 107,2)	
10.07 2011	120,4 * (111,8; 137,2)	133,2 * (106,5; 148,3)		08.07 2011	91,1 (80,6; 106,4)	79,1 (64,5; 94,4)	
14.07 2011	125,1 * (114,5; 140,4)	120,3 * (106,7; 135,1)		12.07 2011	86,2 (80,7; 109,2)	84,4 (68,6; 103,3)	
10.10 2011	125,2 * (111,7; 139,3)	156,5 * (129,7; 169,2)	110,1 * (107,6; 124,3)	12.10 2011	92,4 (83,7; 97,3)	101,2 (67,8; 117,2)	85,3 (61,5; 91,1)
14.10 2011	125,3 * (115,6; 144,1)	122,4 * (119,8; 157,3)	117,3 * (109,8; 127,4)	16.10 2011	94,3 (91,5; 104,2)	80,1 (57,4; 100,3)	76,5 (64,6; 83,2)
18.10 2011	123,4 * (107,5; 126,2)	140,3 * (95,6; 201,1)	109,2 * (100,7; 118,2)	20.10 2011	85,1 (71,7; 90,4)	77,4 (42,6; 83,2)	90,4 (74,7; 92,4)
04.01 2012	121,1 * (109,4; 122,2)	141,5 * (110,5; 176,3)		06.01 2012	84,1 (75,9; 90,3)	74,5 (57,5; 99,4)	
08.01 2012	110,2 * (99,8; 135,3)	119,4 * (107,5; 126,5)		10.01 2012	88,2 (80,6; 103,2)	89,2 (79,5; 96,3)	
12.01 2012	104,4 (93,6; 138,5)	96,5 * (89,5; 109,4)		14.01 2012	87,4 (86,4; 103,3)	101,3 (79,6; 119,1)	

Заключение

В настоящей работе во всех сериях эксперимента, произведенного в разных условиях, в разные сезоны и в разные годы, выявлен 4-суточный период инфрадианных ритмов колебания уровня стероидных гормонов (тестостерона и кортикостерона) и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови здоровых половозрелых самцов крыс Вистар. Продемонстрировано совпадение по фазе периодов биологических ритмов исследованных показателей. Отмечена положительная корреляция между уровнем стероидных гормонов и процентным содержанием нейтрофилов в периферической крови. Установлено, что каждые 69–73 сутки происходит скачкообразный переход акрофазы ритмов на сутки вперед.

Инфрадианные 4-суточные ритмы исследуемых гормонов и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови были выявлены при всех использованных методах забора крови, включающих различные стрессоры (эфир, иммобилизацию, хендлинг).

Полученные данные необходимо учитывать при проведении экспериментальных исследований с оценкой изменений функ-

ционального состояния эндокринной и иммунной системы, особенно для выявления индивидуальных различий при оценке эффектов воздействия физических факторов низкой интенсивности, малых доз химических соединений, биологически активных молекул.

Список литературы

1. Деряпа Н.Р., Мошкин М.П., Посный В.С. Проблемы медицинской биоритмологии – М.: Медицина, 1985. – 208 с.
2. Диатроптов М.Е. Инфрадианные колебания уровня тестостерона в сыворотке крови лабораторных крыс-самцов // Бюл. exper. биол. – 2011. – Т. 151, № 5. – С. 577–580.
3. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. – М.: Триада-Х, 2000. – 488 с.
4. Канцероген уретан индуцирует высокоамплитудные циркаептантные колебания в ткани-мишени и нарушает ритмику численности клеток в лимфоидных органах / Т.П. Рябых, Е.А. Модянова, Н.Н. Касаткина, Н.Б. Бодрова // Биофизика. – 1994. – № 5. – С. 931–938.
5. Влияние гелиогеофизических факторов на биоритмы человека / С.М. Чибисов, В.А. Фролов, Н.А. Агаджанян и др. // Успехи соврем. естествознан. – 2006. – № 9. – С. 21–28.
6. Ярилин А.А. Иммунология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.
7. Jozsa R., Halberg F., Cornélissen G. et al. Chronomics, neuroendocrine feedsidwards and the recording and consulting of nowcasts-forecasts of geomagnetics // Biomed. Pharmacother. – 2005. – Vol. 59, Suppl 1. – P. S24–30.
8. Jozsa R., Olah A., Cornélissen G. et al. Circadian and extracircadian exploration during daytime hours of circulating

corticosterone and other endocrine chronomes // *Biomed. Pharmacother.* – 2005. – Vol. 59, № 1. – P. 109–116.

9. Mignini F., Traini E., Tomassoni D. et al. Leucocyte subset redistribution in a human model of physical stress // *Clin. Exp. Hypertens.* – 2008. – Vol. 30, № 8. – P. 720–731

10. O'Connor R.P., Persinger M.A. Increases in geomagnetic activity are associated with increases in thyroxine levels in a single patient: implications for melatonin levels // *Int. J. Neurosci.* – 1996. – Vol. 88, № 3–4. – P. 243–247.

11. Straub R.H., Cutolo M. Circadian rhythms in rheumatoid arthritis: implications for pathophysiology and therapeutic management // *Arthritis Rheum.* – 2007. – Vol. 56, № 2. – P. 399–408.

References

1. Deryapa N.R., Moshkin M.P., Posny V.S. *Problemy meditsinskoy bioritmologii M.: Meditsina*, 1985. 208 p.

2. Diatropov M.E. Infradiannye kolebaniya urovnya testosterona v syvorotke krovi laboratornykh kryss-samtsov // *Byul. eksper. biol.* 2011. T. 151, no. 5. pp. 577–580.

3. Komarov F.I., Rapoport S.I. *Khronobiologiya i khrono-meditsina M.: Triada-X*, 2000. 488 p.

4. Ryabykh T.P., Modyanova E.A., Kasatkina N.N., Bodrova N.B. Kantserogen uretan indutsiruet vysokoamplitudnye tsirkoseptannye kolebaniya v tkani-misheni i narushaet ritmiku chislenosti kletok v limfoidnykh organakh // *Biofizika*. 1994. no. 5. pp. 931–938.

5. Chibisov S.M., Frolov V.A., Agadzhanyan N.A. i dr. Vliyaniye geliogeofizicheskikh faktorov na bioritmi cheloveka // *Uspehi sovrem. estestvozn.* 2006. № 9. pp. 21–28.

6. Yarilin A.A. *Immunologiya. M.: GEOTAR-Media*, 2010. 752 p.

7. Jozsa R., Halberg F., Cornélissen G. et al. Chronomics, neuroendocrine feedsiderwards and the recording and consulting of nowcasts-forecasts of geomagnetics // *Biomed. Pharmacother.* 2005. Vol. 59, Suppl 1. pp.24–30.

8. Jozsa R., Olah A., Cornélissen G. et al. Circadian and extracircadian exploration during daytime hours of circulating corticosterone and other endocrine chronomes // *Biomed. Pharmacother.* 2005. Vol. 59, no. 1. pp. 109–116.

9. Mignini F., Traini E., Tomassoni D. et al. Leucocyte subset redistribution in a human model of physical stress // *Clin. Exp. Hypertens.* 2008. Vol. 30, no. 8. pp. 720–731.

10. O'Connor R.P., Persinger M.A. Increases in geomagnetic activity are associated with increases in thyroxine levels in a single patient: implications for melatonin levels // *Int. J. Neurosci.* 1996. Vol. 88, no. 3–4. pp. 243–247.

11. Straub R.H., Cutolo M. Circadian rhythms in rheumatoid arthritis: implications for pathophysiology and therapeutic management // *Arthritis Rheum.* 2007. Vol. 56, no. 2. pp. 399–408.

Рецензенты:

Орехов А.Н., д.б.н., профессор, директор Научно-исследовательского института атеросклероза Инновационного центра Сколково, Московская обл., Одинцовский район, деревня Сколково;

Макарова О.В., д.м.н., профессор, заместитель директора по науке ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», г. Москва.

Работа поступила в редакцию 09.07.2012.