

УДК 612.829.3:591.111.1:599.32:615.849.11

ИЗМЕНЕНИЕ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Шишко Е. Ю.

Действие на организм различных чрезвычайных факторов приводит к развитию стресс-реакции. Согласно С.И. Степановой (1986), Т.К. Бреус (2002), при действии любого стрессора расстраивается согласованная работа всех систем, нарушается временная организация [1, 2, 3]. Нарушение временной организации является ранним признаком нарушения гомеостаза и всегда сопровождает развитие адаптационных реакций различного типа [4, 5].

Согласно современным представлениям, адекватной характеристикой временной организации любой биологической системы являются спектр периодов в широком диапазоне [6, 7, 8]. В этом спектре изучены нарушения лишь циркадианной ритмики различных процессов при стрессе, тогда как инфрадианная ритмика физиологических процессов при развитии общего адаптационного синдрома практически не изучена.

В механизмах адаптации человека и животных к различным взаимодействиям важную роль играет система крови. Благодаря особой реактивности к различным воздействиям система крови играет основополагающую роль в резистентности, рассматриваемой как интегративный показатель полноценности адаптационных реакций. Резистентность обеспечивают многочисленные компоненты крови, но ведущую роль в этом процессе играют нейтрофилы [9, 10]. Инфрадианная ритмика функциональной активности нейтрофилов при действии стресс-факторов в настоящее время исследована недостаточно.

В связи с изложенным, задачей настоящего исследования явилось изучение инфрадианной ритмики бактерицидных и гидролитических систем нейтрофилов крови у интактных животных, а также у животных с экспериментально вызванной стресс-реакцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на беспородных белых крысах-самцах массой 150-200 г. со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определенных в тесте «открытого поля» [11]. Такой отбор позволил сформировать животных с одинаковыми типологическими особенностями, однотипно реагирующих на действие различных факторов.

Стресс моделировался путем помещения крыс в специальные пеналы из оргстекла, которые обеспечивали существенное ограничение подвижности по всем направлениям. В описанных пеналах крысы находились 23 часа в сутки в течение 43 дней.

Все животные были распределены на 2 группы. К первой группе относились животные, содержащиеся в обычных условиях вивария в течение 43 суток – биологический контроль (К). Вторую группу составили крысы, находившиеся в условиях гипокинезии (ГК).

Кровь для исследования брали ежедневно, в течение 43 дней в утренние часы путем пункции хвостовой вены.

Для исследования процессов адаптации, развивающихся в условиях ГК, использовали комплекс методик. Состояние неспецифической резистентности оценивали по цитохимическому содержанию в нейтрофилах бактерицидных систем (лизосомальные катионные белки (КБ) [12], пероксидаза (ПО) [13]), гидролитических систем (кислая фосфатаза (КФ), и протеаза (ПР) [14]). Количественную оценку изучаемых показателей производили в соответствии с принципом Karlow [15] с выведением цитохимического показателя содержания (ЦПС). Для определения степени превалирования активности одного фермента над другим в бактерицидной и гидролитической системах использовали показатели отношений $\frac{\text{ЦПС ПО}}{\text{ЦПС КБ}}$ и $\frac{\text{ЦПС КФ}}{\text{ЦПС ПР}}$.

Обработку и анализ экспериментальных данных проводили с помощью спектрального и косинор - анализа. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых различий использовали t- критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных спектрального и косинор анализов свидетельствуют о том, что ЦПС бактерицидных и гидролитических систем в нейтрофилах крови крыс изменяется в инфранианном диапазоне.

У интактных животных выявлены следующие периоды ЦПС КБ, КФ, ПР: $\approx 3,5$; $\approx 5,0$; $\approx 7,0$; $\approx 9,0$; $\approx 14,0$; $\approx 22,0$ суток (рис.1, рис.2). Инфранианная периодика, включающая ритмы такой же или близкой продолжительности, обнаружена в различных биологических процессах [6, 7, 8]. В то же время отмечены некоторые различия выявленных инфраниантных ритмов исследованных физиологических показателей у интактных животных. Так, в интегральном ритме ЦПС ПО отсутствует период $\approx 9,0$ суток. Обнаружены различия в интегральных ритмах отношений $\frac{\text{ЦПС ПО}}{\text{ЦПС КБ}}$ и $\frac{\text{ЦПС КФ}}{\text{ЦПС ПР}}$. Так, в интегральном ритме $\frac{\text{ЦПС ПО}}{\text{ЦПС КБ}}$ выявлено

6 периодов. В нем отсутствует период $\approx 22,0$ суток и появляется период $\approx 12,0$ суток, а в ритме отношения $\frac{\text{ЦПС КФ}}{\text{ЦПС ПР}}$ – 7 периодов. В этом спектре появляется

дополнительный период $\approx 19,0$ суток по сравнению со всеми выделенными ритмами изученных показателей.

**ИЗМЕНЕНИЕ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

В нейтрофилах крови интактных животных в бактерицидной системе преобладает пероксидазная активность относительно активности КБ во все сроки эксперимента т.к. этот показатель колеблется от 1,1 до 1,89 ед., а в соотношении гидролитических ферментов $\frac{\text{ЦПС КФ}}{\text{ЦПС ПР}}$ – изменяется от 0,77 до 1,33 ед., т.е.

превалирование, одного фермента над другим зависит от сроков эксперимента.

Полученные данные согласуются с результатами более ранних исследований, в которых были выделены инфрадианные ритмы сходной или близкой продолжительности: описана ритмическая деятельность функционирования сердечно-сосудистой системы [2] в инфрадианном диапазоне, изучена инфрадианная ритмика показателей поведения с экспериментально вызванной стресс-реакцией [16].

Инфрадианным ритмам изученных показателей свойственны определенные амплитудно–фазовые соотношения. В интегральном ритме ЦПС ПО у животных контрольной группы с увеличением периода возрастают амплитуды выделенных ритмов (рис. 1). В спектре периодов ЦПС КФ и ЦПС ПР, наоборот отмечена тенденция к снижению амплитуд выделенных ритмов относительно значений более коротких периодов: $\approx 7^d, 0$; $\approx 14^d, 0$; $\approx 21^d, 0$ и в спектре периодов. Интегральные ритмы отношений $\frac{\text{ЦПС ПО}}{\text{ЦПС КБ}}$ и $\frac{\text{ЦПС КФ}}{\text{ЦПС ПР}}$ также имеют свои амплитудные

характеристики, а именно в ритмике отношений зарегистрирована низкая амплитуда во всех выделенных периодах.

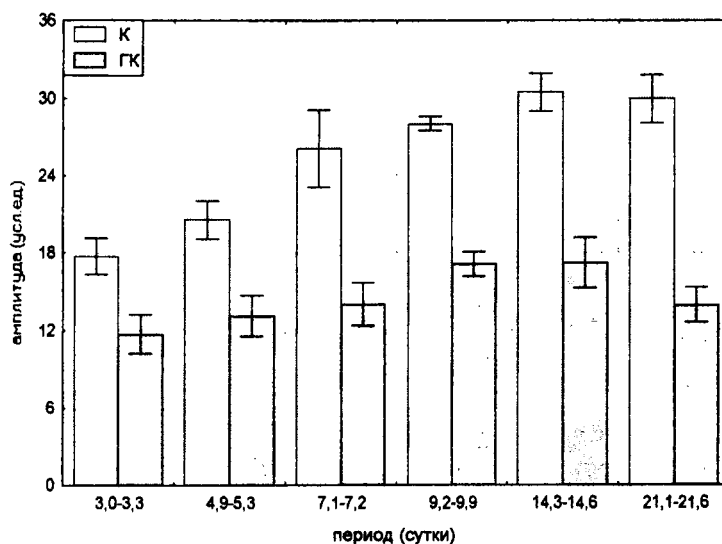


Рис. 1. Амплитуды периодов интегрального ритма ЦПС КБ в нейтрофилах крови крыс контрольной группы (К) и у крыс с ограниченной подвижностью (ГК).

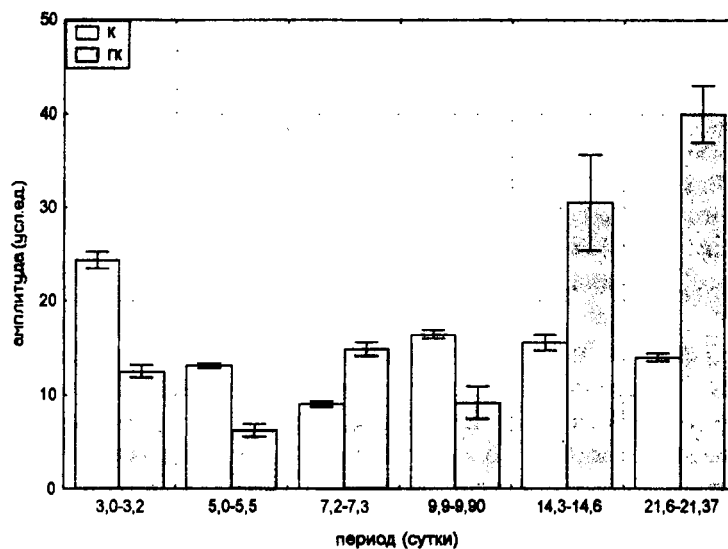


Рис. 2. Амплитуды периодов интегрального ритма ЦПС КФ в нейтрофилах крови крыс контрольной группы (К) и у крыс с ограниченной подвижностью (ГК).

У интактных животных методом косинор-анализа во всех выделенных периодах интегральных ритмов отношений $\frac{\text{ЦПСНО}}{\text{ЦПСКБ}}$ и $\frac{\text{ЦПС КФ}}{\text{ЦПС ПР}}$ выявлены определенные фазовые соотношения между бактерицидными и гидролитическими системами (рис. 3).

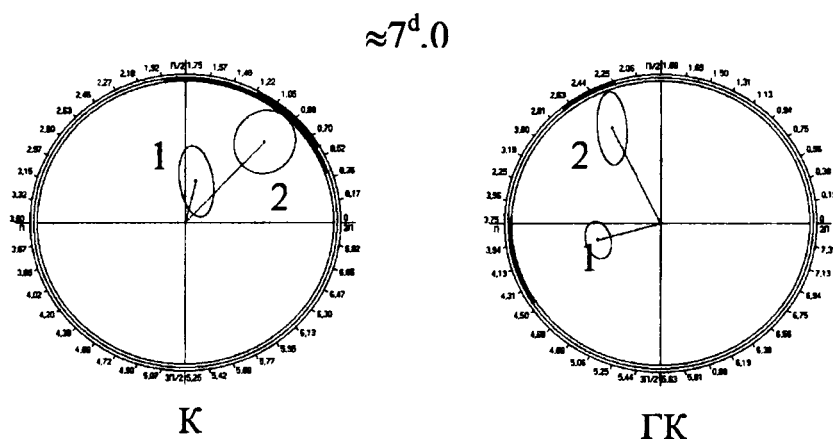


Рис. 3. Фазовые соотношения ритма с периодом $\approx 7^d,0$ гидролитических (1) ЦПС КФ к ЦПС ПР и бактерицидных систем (2) ЦПС ПО к ЦПС КБ в нейтрофилах крови крыс и у крыс с ограниченной подвижностью (ГК).

Таким образом, между бактерицидными системы, которые подготавливают бактерии к фагоцитозу, стимулируют и обеспечивают бактерицидную активность нейтрофилов, и гидролитическими системами, осуществляющих лизис обезвреженных бактерий, существуют определенные межфункциональные взаимоотношения.

Следовательно, между гидролитическими и бактерицидными системами нейтрофилов наблюдаются определенные как внутри-, так и межфункциональные взаимоотношения, что подтверждает современные представления о том, что целостный организм может существовать только при отдельных фазовых соотношениях различных колебательных процессов в клетках, тканях, органах и функциональных системах [17].

В экспериментальной группе животных при спектральном и косинор анализе интегрального ритма исследуемых показателей выявлены такие же периоды, аналогичны таковым у интактных крыс.

В интегральном ритме ЦПС КБ выявлены следующие периоды: $3,06 \pm 0,19$; $4,99 \pm 0,16$; $7,25 \pm 0,11$; $9,29 \pm 0,19$; $14,30 \pm 0,66$; $21,13 \pm 1,10$. Сходные по продолжительности периоды выявлены и в ритме спектров всех показателей, однако, в спектре их отношения обнаружены определенные изменения, а именно отсутствие периода $\approx 14^d,0$ суток в спектре $\frac{\text{ЦПСПО}}{\text{ЦПСКБ}}$. В отношении $\frac{\text{ЦПСКФ}}{\text{ЦПСПр}}$ обращает на себя внимание присутствие периодов $\approx 16^d,0$ и $\approx 19^d,0$ суток.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что гипокINETический стресс приводит к амплитудно-фазовым сдвигам относительно контрольных значений во всех выделенных периодах. Амплитуды ритмов ЦПС КБ и ЦПС Пр в экспериментальной группе животных зафиксированы ниже амплитуд значений контрольной группы во всех выделенных периодах. Наиболее выраженное отличие амплитуд интегрального ритма ЦПС КБ регистрируется в периоде $\approx 21^d,0$, где значения амплитуд экспериментальной группы ниже значения амплитуд контрольной группы в 2,14 раз, ($p < 0,001$) (рис. 1), а в спектре ЦПС Пр низкая амплитуда выявлена в периоде $\approx 7^d,0$, где значения показателей экспериментальной группы ниже показателей интактной группы животных в 1,65 раз, ($p < 0,01$).

Амплитуды отношения $\frac{\text{ЦПСПО}}{\text{ЦПСКБ}}$ и $\frac{\text{ЦПСКФ}}{\text{ЦПСПр}}$ экспериментальной группы наоборот превышают амплитуды ритмов соответствующих показателей интактных животных во всех перечисленных периодах.

В спектре ЦПС ПО зарегистрирован разнонаправленный сдвиг амплитуд в различных периодах, а именно: в периоде $\approx 7^d,0$ амплитуды ритмов достоверно уменьшаются в 1,43 раза, и в 2,5 раза в периоде $\approx 10^d,0$ относительно показателей интактной группы животных. В остальных выделенных периодах амплитуды ритма данного показателя повышается. В спектре ЦПС КФ амплитуды ритмов выше амплитуд значений контрольной группы в периодах: $\approx 7^d,0$ в 1,65 раз, а в периоде $\approx 14^d,0$ – в 1,96 раз. Наиболее выраженное отличие амплитуд ЦПС КФ регистрируется в периоде $\approx 21^d,0$, где амплитуда ритмов гипокинезированной группы выше ритмов контрольной группы в 2,84 раза, а в периодах $\approx 3^d,0$, $\approx 5^d,0$, $\approx 10^d,0$ амплитуда достоверно уменьшается (рис. 2). Максимальное понижение

амплитуды ритма ЦПС КФ зарегистрировано в периоде $\approx 5^d,0$ – в 2,1 раза относительно значений контрольной группы животных.

При гипокинезии наблюдаются также фазовые сдвиги относительно контроля во всех выделенных периодах изученных показателей (рис. 4).

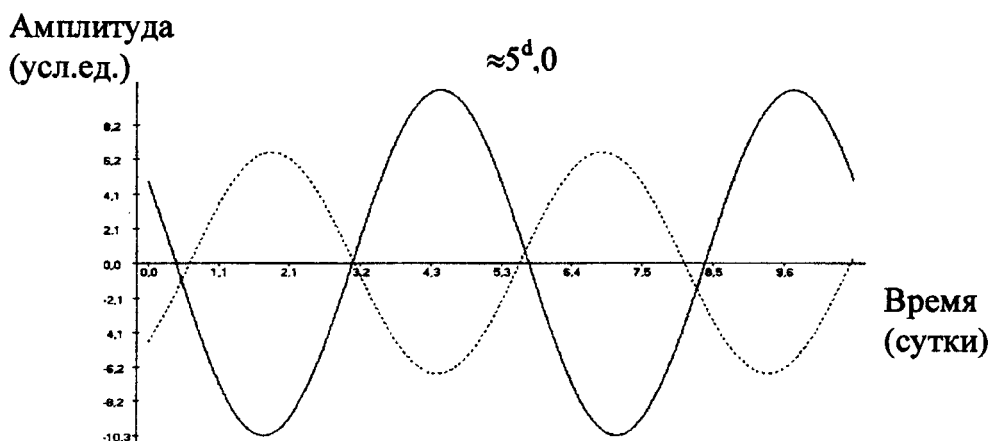


Рис. 4. Фазовые соотношения ЦПС протеазной активности в нейтрофилах крови интактных крыс К — (1) и у крыс с ограниченной подвижностью (ГК). ... (2)

В ритме ЦПС ПО обнаружено значительное смещение фаз (от $33,8^\circ$ в периоде $\approx 5^d,0$ суток до 282° в $\approx 7^d,0$ суток). Максимальный фазовый сдвиг зарегистрирован в периоде: $\approx 7^d,0$ на 282° , ($p < 0,001$) относительно контроля.

В ритме $\approx 3^d,0$ ЦПС КБ выявлен сдвиг фаз на 162° , ($p < 0,02$) относительно контрольных значений. Минимальный сдвиг фаз отмечен в периоде $\approx 9^d,0$ на $77,3^\circ$ относительно интактной группы животных. В показателе ЦПС КФ зарегистрировано значительное смещение фаз во всех периодах относительно контрольных значений. Фаза в периоде $\approx 3^d,0$ изменяется на $48,6^\circ$ ($p < 0,05$) – минимальный сдвиг фаз, зарегистрированный в этом показателе, а максимальный фазовый сдвиг отмечен в периоде: $\approx 14^d,0$ на $264,6^\circ$ относительно контрольных значений.

В показателе ЦПС ПР минимальный сдвиг фаз выявлен в периоде $\approx 7^d,0$ на $57,2^\circ$, а максимальный фазовый сдвиг в периоде: $\approx 24^d,0$ на $173,5^\circ$ ($p < 0,02$) относительно соответствующих показателей интактной группы животных.

Гипокинезия приводит также к значительным фазовым сдвигам в отношении $\frac{\text{ЦПС ПО}}{\text{ЦПС КБ}}$ и $\frac{\text{ЦПС КФ}}{\text{ЦПС ПР}}$, тем самым, изменяя степень их синхронизации.

В отношении $\frac{\text{ЦПС ПО}}{\text{ЦПС КБ}}$ фаза в периоде $\approx 3^d,5$ смещается на 34° , ($p < 0,05$) это минимальный сдвиг фаз, а максимальный фазовый сдвиг зарегистрирован в периоде: $\approx 7^d,0$ на 225° , ($p < 0,001$) относительно значений контрольной группы животных.

В соотношении $\frac{\text{ЦПС КФ}}{\text{ЦПС ПР}}$ зарегистрирован максимальный фазовый сдвиг в периоде: $\approx 11^d,0$ на $164,4^\circ$ ($p < 0,001$) относительно показателей интактной группы.

Таким образом, гипокинезия оказывает существенное влияние на временную организацию изученных показателей в нейтрофилах крови крыс.

**ИЗМЕНЕНИЕ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

Известно, что гипокинезия приводит к развитию общего адаптационного синдрома [18], который всегда сопровождается изменением временной организации. Согласно данным литературы [19] при стрессе могут развиваться, как гиперсинхронизация, которая обнаружена в поведенческих реакциях [16], так и – десинхроноз [20]. Согласно нашим исследованиям гипокинетический стресс приводит к развитию десинхроноза и в нейтрофилах.

Список литературы

1. Степанова С.И. Биоритмологические аспекты проблемы адаптации. – М.: Наука. – 1986. – 244 с.
2. Бреус Т.К., Чибисов С.М., Баевский Р.М., Шебзухов К.В. Хроноструктура ритмов сердца и факторы внешней среды. – М., 2002. – 232 с.
3. Степанова С.И., Галичий В.А. Космическая биоритмология // Хронобиология и хрономедицина/ Под ред. Комарова Ф.И., Рапопорта С.И. – М., 2000. – С.266-298.
4. Агулова Л.П. Биоритмологические закономерности формирования компенсаторно-приспособительных реакций в условиях клинической модели стресса: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Томск, 1999. – 22 с.
5. Алере И., Алерсова Е., Шмайда В. и др. Многосуточные метаболические ритмы у крыс // Биологические исследования в космической биологии и медицине.– М.: Наука, 1989. – С.178-183.
6. Темуриянц Н.А., Чуян Е.Н., Шехоткин А.В. Инфрадианная ритмика функционального состояния нейтрофилов и лимфоцитов крови крыс с различными конституционными особенностями// Биофизика, 1995.-Т.40, № 5.- С.1121-1125
7. Владимирский Б.М., Нарманский В.Я., Темуриянц Н.А. Космические ритмы. - Симферополь: НР. – 1994. – 173 с.
8. Темуриянц Н.А., Шехоткин А.В. Хронобиологический анализ поведения интактных и эпифизэктомизированных крыс в тесте открытого поля// ЖВНД, 1999. – Т.49, №5. – С. 839-846.
9. Ашофф Ю. Свободнотекущие и захваченные циркадианные ритмы// Биологические ритмы. – М.: Мир, 1984. – Т.1. – С.53-54.
10. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И. Стресс и система крови. – М.: «Медицина», 1983. – 235 с.
11. Маркель А.Л. // Журнал высшей нервной деятельности. – 1981. – №2, – Т. 31. – 301 с.
12. Шубич М.Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего // Цитология. – 1977. – №10 (16). – С.1321-1322.
13. Лилли Р. Патологическая техника и практическая гистохимия. – М.: «Мир», 1969. – 645 с.
14. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипокинезии: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.00.23 / Крым. Мед. ин-т. – Симферополь, 1986. – 25 с.
15. Kaplow L.S. A Histochemical procedure for localizing and evaluation leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow // Blood. – 1995. – №10. – P.1023-1029.
16. Чуян Е.Н., Московчук О.Б., Насилевич В.А. Изменение инфрадианной ритмики поведения крыс в «открытом поле» при воздействии ЭМИ КВЧ // Ученые записки ТНУ. Серия "Биология" – 2001. – Т14 (53), № 3. – С.127-132.
17. Ковальчук А.В., Чернышев М.К. Многодневные биоритмы физиологических процессов и некоторые вопросы связи организма человека с динамикой внешней среды // Теоретические и прикладные аспекты временной организации биосистем. – М.: Наука, 1976. – С.112.
18. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 307 с.
19. Чуян Е.Н., Темуриянц Н.А., Московчук О.Б., Верко Н.П., Туманянц Е.Н., Пономарева В.П. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. – Симферополь, 2003. – 447 с.
20. Московчук О.Б. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты на инфрадианную ритмику физиологических процессов Автореф. дис. ... канд. биол. наук: СГУ. – Симферополь, 1992. – 25 с.

Поступила в редакцию 01.10.2003 г.