

УДК 57.034:591.147:573.22

ВЛИЯНИЕ РЕЖИМА ОСВЕЩЕНИЯ НА УЛЬТРАДИАННЫЙ РИТМ УРОВНЯ ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРОЛИКОВ-САМЦОВ

© 2013 г. М.Е. Диатроптов

Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН, г. Москва, Россия

Проведено исследование ультрадианных ритмов уровня тестостерона в сыворотке крови у кроликов-самцов. Выявлен наиболее выраженный по амплитуде 8-часовой биоритм этого показателя с акрофазой в 8, 16 и 24 ч по местному солнечному времени. Смещение или инверсия светового режима не изменяли период и фазу ритма уровня тестостерона. После трансмеридианного перемещения кроликов из г. Омска в г. Москву с сохранением светового режима, характерного для местности, из которой были вывезены экспериментальные животные, фаза ультрадианных ритмов уровня тестостерона синхронизировалась с местным временем. Таким образом, режим освещения не влияет на период и фазу ультрадианных ритмов уровня тестостерона; синхронизатором этой функции в организме являются внешние, предположительно, гелиогеофизические факторы, зависящие от местного времени.

Ключевые слова: ультрадианный ритм, тестостерон, кролики-самцы.

Введение

По данным литературы внутренние ритмы организма синхронизируются факторами внешней среды [Рапопорт и др., 2012]. Первые убедительные доказательства влияния внешних синхронизирующих факторов на двигательную активность лабораторных животных и поглощение кислорода растениями, которые содержались в условиях изоляции от естественного освещения и температуры, были получены в продолжительных экспериментах Ф.А. Брауна. При трансмеридианном перемещении крабов уже через две недели их двигательная активность синхронизировалась по фазе с силой прилива в том месте, куда они были перемещены. В аналогичном эксперименте у устриц выявлена синхронизация максимального раскрытия створок раковины с наивысшей фазой прилива [Браун, 1964].

Известно, что колебания освещенности и температуры являются важными синхронизирующими факторами внешней среды. Однако многие биоритмы живых организмов нельзя объяснить реакцией организма на свет и температуру [Чернышев, 1996]. В на-

стоящее время накоплено много фактов, подтверждающих связь биологических ритмов всех систем организма с гелиогеофизическими факторами, такими как вариации солнечной активности, геомагнитные возмущения, флуктуации атмосферного инфразвука, интенсивности счета нейтронов у поверхности земли и т.д. [Владимирский и др., 1995; Белишева и др., 2005; Мартынюк, Темурьянц, 2009]. Согласование ряда известных биологических ритмов со спектром периодов вариаций гелиогеофизических факторов указывает на возможную синхронизацию биологических процессов этими внешними датчиками времени.

Ранее нами в сыворотке крови крыс-самцов установлен 8-часовой ритм уровня тестостерона, являющийся наиболее значимым по амплитуде среди других ультрадианных ритмов этого показателя, с максимальными значениями около 24, 8 и 16 ч [Диагностов, 2011]. Три максимума в суточной динамике уровня тестостерона у самцов лабораторных крыс выявлено и другими исследователями [Mock et al., 1978]. В работе [Jasper, Engeland, 1991] показано, что секреция гормонов коры надпочечников у крыс имеет ультрадианные ритмы с периодами около 60–80 и 320 мин, синхронно проявляющиеся у разных особей.

Известно, что световой режим влияет на многие физиологические показатели, в том числе и на уровень глюкокортикоидных гормонов [Jozsa et al., 2005]. Работы по влиянию режима свет:темнота (С:Т) на ультрадианные ритмы биологических объектов единичны. Так, в исследовании Ю.А. Романова и соавторов [1996], проведенном на лабораторных мышах, было показано, что инверсия светового режима изменяет по фазе суточный ритм митотической активности, но не влияет на фазу ультрадианных ритмов митотической активности эпителиальных тканей.

Целью настоящей работы является исследование ультрадианных ритмов уровня тестостерона в сыворотке крови кроликов-самцов в условиях естественного периода освещения и при изменении светового режима.

Материалы и методы

Работа проведена на половозрелых кроликах породы «шиншилла» разведения кроличьего хозяйства г. Старая Купавна – московская популяция ($n = 7$), и особях разведения кроличьего хозяйства г. Омска – омская популяция ($n = 5$). При работе с экспериментальными животными руководствовались приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. На проведение эксперимента получено разрешение биоэтической комиссии ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН.

Животных содержали в индивидуальных клетках при искусственном освещении полного спектра интенсивностью 2300 лк (4200 К) на уровне пола. Такая освещенность является дневной и угнетает синтез мелатонина, участвующего в регуляции систем организма в соответствии с фотопериодом [Перцов, 2011]. Комната, в которой содержали животных, не имела специальной шумоизоляции, посторонние звуки присутствовали примерно с 9 до 16 ч. (Необходимо отметить, что в хозяйствах, из которых были взяты животные, режим посторонних звуков был другим.) Комбикорм и вода в клетках присутствовали постоянно. Замену воды и уборку проводили специально в разное время (в интервале 9–16 ч). Посещение комнаты посторонними лицами не допускалось.

Для получения сыворотки забор крови из краевой вены уха проводили каждые 80 мин, а именно: в 00:00, 01:20, 02:40, 04:00, 05:20, 06:40, 08:00, 09:20, 10:40, 12:00, 13:20, 14:40, 16:00, 17:20, 18:40, 20:00, 21:20, 22:40 ч по местному солнечному времени. Порядок взятия материала у разных животных был всегда одинаковый. Остальные жи-

вотные не могли наблюдать за выполняемой процедурой, но могли догадываться об этом по появлению человека в помещении. Различие в показателях уровня тестостерона между животными в зависимости от очередности забора у них крови не выявлено. Длительность процедуры забора крови у каждого животного не превышала 2 мин. Таким образом, у всей группы испытуемых животных материал собирали примерно за 15 мин (у первого животного кровь забиралась за 7 мин до указанного срока, а у последнего – через 5–10 мин после). Чтобы исключить влияние момента начала исследования на проявление акрофазы биоритма уровня тестостерона, эксперимент начинали проводить в разное время (таблица). Для более наглядного изображения на графиках представлены результаты, начиная с 21:20 ч (см. рис. 2). Образцы сывороток хранили не более 1 мес. при температуре –20 °С.

Характеристика материала и условий эксперимента

Номер (серия) эксперимента	Место проведения	Дата начала и конца исследования	Режим освещения (фотопериод)	Количество особей, возраст, место рождения
1	г. Москва	5 ч 20 мин 14.04.2011 г. – 18 ч 40 мин 15.04.2011 г.	Естественный (14 ч)	$n = 7$; 6 мес.; г. Старая Купавна
2	г. Москва	21 ч 20 мин 10.06.2011 г. – 1 ч 20 мин 12.06.2011 г.	Естественный (17.5 ч)	$n = 7$; 8 мес.; г. Старая Купавна
3	г. Москва	17 ч 20 мин 20.07.2011 г. – 1 ч 20 мин 22.07.2011 г.	Смещение на 160 мин назад относительно естественного (16.5 ч)	$n = 5$; 9 мес.; г. Старая Купавна
			Естественный	$n = 2$; 9 мес.; г. Старая Купавна
4	г. Москва	20 ч 00 мин 24.08.2011 г. – 1 ч 20 мин 26.08.2011 г.	Инверсия относительно естественного (14.5 ч)	$n = 4$; 10 мес.; г. Старая Купавна
			Естественный	$n = 3$; 10 мес.; г. Старая Купавна
5	г. Омск	21 ч 20 мин 23.08.2012 г. – 1 ч 20 мин 25.08.2012 г.	Естественный (14.5 ч)	$n = 5$; 10-12 мес.; г. Омск
6	г. Москва	18 ч 40 мин 22.09.2012 г. – 1 ч 20 мин 24.09.2012 г.	Имитирующий естественный для г. Омска (12 ч)	$n = 5$; 11-13 мес.; г. Омск

Уровень тестостерона в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (наборы фирмы «Иммунотех»). Для регистрации результата использовали микропланшетный ИФА-анализатор «ANTHOS 2010».

В первых двух сериях эксперимента режим освещения имитировал естественный для данных месяцев (см. таблицу). В третьей серии 5 из 7 кроликов в течение 1 мес. содержали в отдельном помещении со сдвинутым периодом С:Т на 160 мин назад относительно естественного, после чего у них была исследована ритмика уровня тестостерона. В четвертой серии эксперимента световой режим у четырех животных был инвертиро-

ван относительно естественного. У кроликов омской популяции, содержащихся при естественном освещении, провели забор крови для определения ритмики уровня тестостерона, после чего их транспортировали в г. Москву, где они были помещены в условия искусственного освещения. Лампы автоматически включали в момент восхода солнца в г. Омске и выключали в момент его захода, т.е. световые условия имитировали режим С:Т г. Омска. Смещение светового режима по отношению к местному составляло около 3 ч. После месячного содержания в таких условиях у животных провели исследование динамики уровня тестостерона.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы «Statistica 6.0». Характер распределения определяли по критерию Колмогорова–Смирнова. Поскольку распределения отличались от нормальных, данные приведены в виде медианы и интерквартильных размахов (25–75 %). Статистическую значимость различий между показателями определяли по U-критерию Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

В исследовании, проведенном 14–15.04.2011 г., когда режим освещения имитировал естественный для данного времени года (фотопериод – 14 ч), у 4 из 7 кроликов был выявлен достоверный 8-часовой период уровня тестостерона в сыворотке крови с максимумами в 8, 16 и 24 ч. У остальных животных наблюдался 4-часовой период с максимальным уровнем тестостерона в 4, 8, 12, 16, 20 и 24 ч.

На рис. 1 приведен пример динамики уровня тестостерона у двух животных, отличающихся периодом изменения этого показателя. В исследовании уровня тестостерона 10–12 июня (фотопериод 17.5 ч), проведенном на этих же животных, у 6 из 7 особей наблюдался 8-часовой биоритм уровня тестостерона с максимумами в 8, 16 и 24 ч. Динамика индивидуальных колебаний этого показателя у разных особей была достаточно синхронной, чтобы можно было представить полученные данные в виде графика, усредненного по группе (рис. 2, а). По литературным данным у кроликов, содержащихся

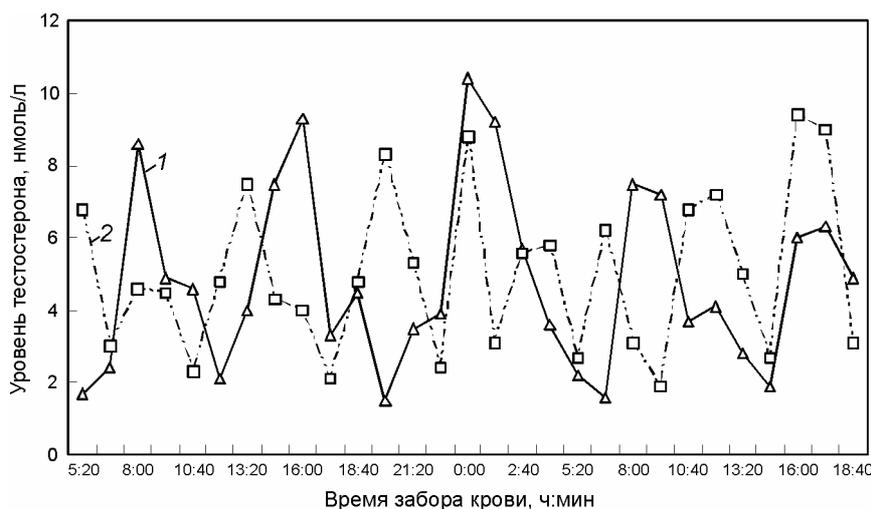


Рис. 1. Динамика уровня тестостерона в сыворотке крови двух кроликов, измеренного с 5 ч 20 мин 14.04.2011 г. по 18 ч 40 мин 15.04.2011 г. в условиях эксперимента 1 (см. таблицу)

Периодичность уровня тестостерона: 1 – 8-часовая; 2 – 4-часовая

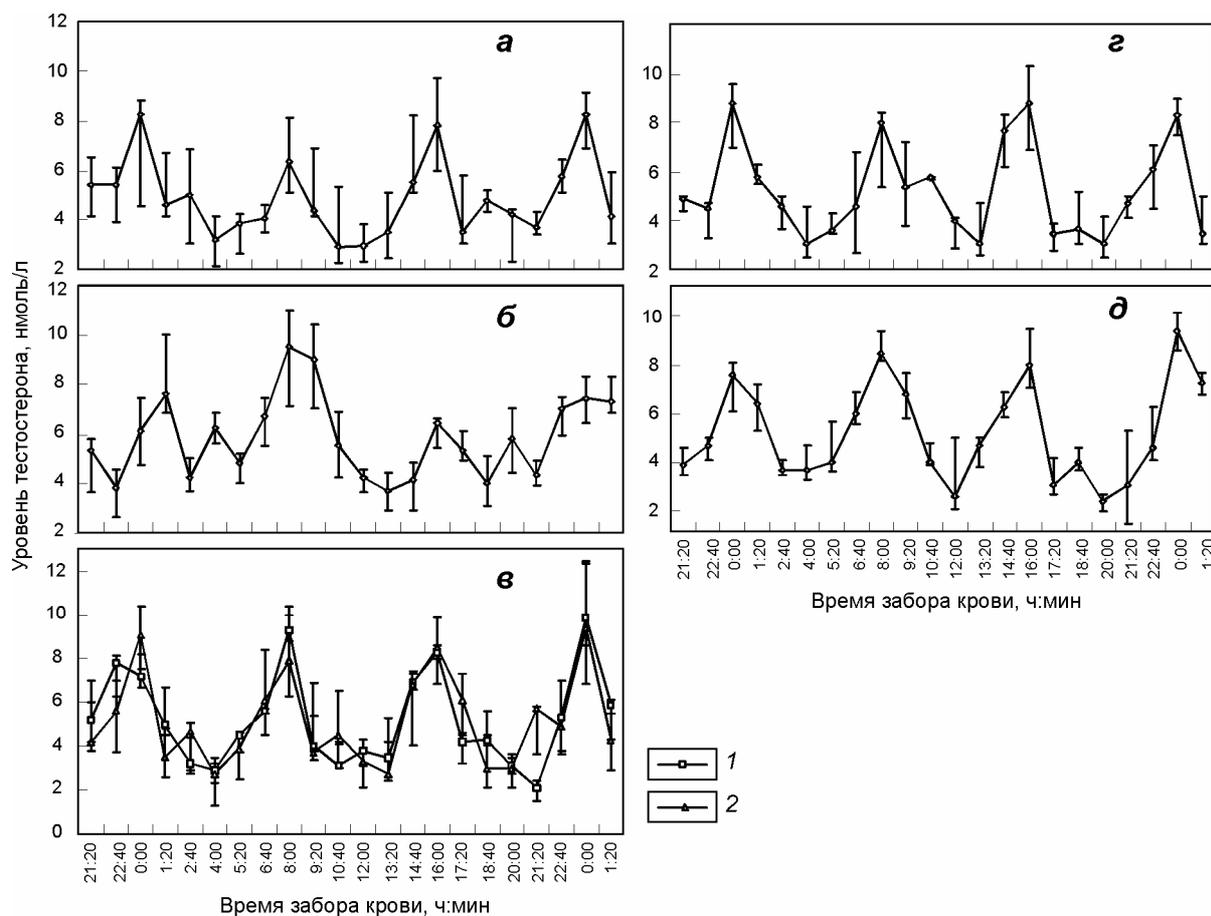


Рис. 2. Динамика уровня тестостерона в сыворотке крови кроликов-самцов при разных условиях эксперимента

Эксперименты (см. таблицу): а – 2; б – 3, в – 4 (1 – опыт; 2 – контроль); г – 5; д – 6. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25–75 %)

при режиме С:Т 12:12, установлен 8- и 4-часовой ритм двигательной активности, приема пищи и воды [Jilge, Stahle, 1984). Увеличение числа животных с выявленным 8-часовым периодом возможно связано с их взрослением (с 6 до 8 мес.). Таким образом, несмотря на разные фотопериоды, 14 ч в первой серии и 17.5 ч во второй, у подавляющего числа животных выявляется 8-часовой ритм динамики уровня тестостерона с одним из пиков в полночь.

В работе С.М. Чибисова [2006], исследовавшего влияние гелиогеофизических факторов на напряжение кислорода и углекислого газа в артериальной и венозной крови, а также артериовенозной разности напряжения кислорода у кроликов-самцов, помимо циркадианного ритма, был выявлен 16-часовой биоритм. В спектре систолического артериального давления у кроликов была выявлена 8-часовая ритмическая компонента [Чибисов и др., 2006].

Сходные по периоду и фазе ультрадианные ритмы выявлены и у человека. Максимальное число вызовов бригад скорой медицинской помощи по поводу инфаркта миокарда отмечается в 0, 8 и 16 ч [Михайлис, 2010]. Развитие острого коронарного синдрома, часто приводящего к инфаркту миокарда, автор связывает с активацией в эти часы симпатoadrenalовой системы. В исследовании, проведенном Л.Я. Глыбиным с соавторами [1995], установлено, что внутрисуточный ритм физического тонуса человека не-

зависимо от пола, возраста и климатогеографических факторов имеет пять максимумов (около 5, 12, 16, 20 и 24 ч) и минимумов (около 2, 9, 14, 18, 22 ч) по местному «зимнему» декретному времени.

При смещении светового периода на 160 мин назад относительно естественного как в опытной, так и в контрольной (без смещения) группах животных максимумы 8-часовых ритмов уровня тестостерона приходились на 8, 16 и 24 ч (рис. 2, б). Инверсия светового режима также не изменила время проявления максимального уровня тестостерона в сыворотке крови кроликов-самцов (рис. 2, в). Таким образом, режим освещения не влияет на период ультрадианного (8-часового) ритма уровня тестостерона в сыворотке крови кроликов-самцов.

Чтобы установить, является ли выявленный биоритм эндогенным или он синхронизируется не световым режимом, а каким-либо другим фактором внешней среды, следующий эксперимент был проведен с омской популяцией кроликов. Максимальные уровни тестостерона в крови кроликов-самцов в г. Омске отмечали в 8, 16 и 24 ч по местному солнечному времени (рис. 2, г). После 1 мес. содержания кроликов омской популяции в г. Москве при световом режиме, имитирующем омский, в динамике уровня тестостерона у этих животных выявлялся 8-часовой ультрадианный ритм этого показателя с максимумами в 8, 16 и 24 ч по местному солнечному времени (г. Москва) (рис. 2, д).

Таким образом, выявленный биоритм уровня тестостерона в сыворотке крови самцов кроликов синхронизируется отличным от светового режима внешним фактором. На роль такого фактора могут претендовать физические факторы электромагнитной или гравитационной природы, проявляющиеся с суточной периодичностью [Владимирский и др., 1995]. Природные электромагнитные поля, по мнению ряда авторов, выступают в качестве главного посредника между активностью солнца и биологическими процессами. Биологическая активность слабых электромагнитных полей экспериментально доказана [Мартынюк и др., 2008]. В исследованиях биологической активности слабых электромагнитных полей показано, что они активируют гипоталамогипофизарно-надпочечниковую систему и влияют на функции щитовидной и половых желез [Гаркави и др., 1990]. Важную роль в механизме воздействия электромагнитных полей на биологические объекты играет эпифиз. Известно, что эпифизарный гормон мелатонин участвует в регуляции сезонных фотопериодических реакций и циркадианного ритма. Эпифиз также чувствителен к воздействию электромагнитных полей, его реакция характеризуется снижением уровня секреции мелатонина; тем самым снимается ингибирующее влияние этого гормона на гипоталамогипофизарно-надпочечниковую систему [Перцов, 2011].

Интересными в этом аспекте являются данные работы [Горго, Дидык, 2010], указывающие на суточные флуктуации атмосферного давления с максимумом около 16–17 ч по местному времени. Ю.П. Горго показано действие как естественных, так и искусственно генерируемых колебаний атмосферного давления на активацию симпатической системы и сердечную деятельность у здоровых добровольцев [Горго, 2009].

Оригинальную идею о природе биологических ритмов выдвинул С.Э. Шноль. По его мнению, внешним указателем времени суток для живых организмов может быть гипотетический фактор, обусловленный движением Земли в анизотропном и гетерогенном пространстве и не зависящий ни от широты местности, ни от наклона земной оси [Шноль, 2009].

Заключение

Таким образом, установлен 8-часовой ультрадианный биоритм уровня тестостерона в сыворотке крови кроликов-самцов с акрофазой в 8, 16 и 24 ч по местному солнечному времени. Смещение или инверсия светового режима не изменяли период и фазу ритма уровня тестостерона. После трансмеридианного перемещения кроликов из г. Омска в г. Москву с сохранением светового режима, характерного для местности, из которой были вывезены экспериментальные животные, фаза ультрадианных ритмов уровня тестостерона синхронизировалась с местным временем. По нашему мнению, синхронизироваться внешним воздействием может только один (к примеру, полуночный или 16-часовой) из трех суточных максимумов уровня тестостерона в сыворотке крови, тогда как остальные два свободно отсчитываются посредством эндогенных механизмов отсчета времени. В задачу настоящего исследования не входило выявление фактора, синхронизирующего динамику уровня тестостерона. Однако, если существует физическое воздействие, проявляющееся с 8- или 4-часовым ритмом и зависящее от местного времени, возможно, именно оно и является внешним синхронизатором, на который реагирует организм.

Литература

- Белишева Н.К., Кужевский Б.М., Ващенко Э.В., Жиров В.К. Связь динамики слияния клеток, растущих *in vitro*, с вариациями интенсивности нейтронов у поверхности земли // Докл. РАН. 2005. Т. 402, № 6. С. 831–834.
- Браун Ф.А. Геофизические факторы и проблема биологических часов // Биологические часы. М.: Мир, 1964. С. 103–127.
- Владимирский Б.М., Нарманский В.Я., Темурьянц Н.А. Глобальная ритмика Солнечной системы в земной среде обитания // Биофизика. 1995. Т. 40, № 4. С. 749–754.
- Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов: Изд-во Рост. ун-та, 1990. 224 с.
- Глыбин Л.Я., Святуха В.А., Цициашвили Г.Ш. Статистическая оценка достоверности внутрисуточной цикличности с периодами 4–6 часов // Биофизика. 1995. Т. 40, вып. 4. С. 829–833.
- Горго Ю.П. Экологическая значимость сверхнизкочастотных колебаний атмосферного давления для человека // Вестн. Калужского ун-та. 2009. № 2. С. 3–9.
- Горго Ю.П., Дидык Л.А. Биологическая активность и значимость сверхнизкочастотных колебаний атмосферного давления // Биотропное воздействие космической погоды. СПб: ВВМ, 2010. С. 259–289.
- Диатроптов М.Е. Инфраниантные колебания уровня тестостерона в сыворотке крови лабораторных крыс-самцов // Бюл. эксперим. биол. медицины. 2011. Т. 151, № 5. С. 577–580.
- Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А. Магнитные поля крайне низкой частоты как фактор модуляции и синхронизации инфраниантных биоритмов у животных // Геофизические процессы и биосфера. 2009. Т. 8, № 1. С. 36–50.
- Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М. У природы нет плохой погоды: Космическая погода в нашей жизни. Киев, 2008. 179 с.
- Михайлис А.А. Хронофеноменология острой коронарной недостаточности // Междун. журн. фундам. и прикл. исслед. 2010. № 9. С. 47–49.
- Перцов С.С. Мелатонин в системных механизмах эмоционального стресса. М.: Изд-во РАМН, 2011. 232 с.
- Рапопорт С.И., Фролов В.А., Хетагурова Л.Г. Хронобиология и хрономедицина. М.: Изд-во МИА, 2012. 480 с.

- Романов Ю.А., Ириков О.А., Филиппович С.С., Евстафьев В.В. Влияние инверсии фоторежима на разнопериодические биологические ритмы митотического индекса в эпителии пищевода мышей // Бюл. эксперим. биол. медицины. 1996. Т. 121, № 1. С. 94–97.
- Чернышев В.Б. Экология насекомых. М.: Изд-во МГУ, 1996. 304 с.
- Чибисов С.М. Биоритмы и гелиогеофизические факторы // Фундам. исслед. 2006. № 9. С. 34–41.
- Чибисов С.М., Фролов В.А., Агаджанян Н.А. и др. Влияние гелиогеофизических факторов на биоритмы человека // Успехи современного естествознания. 2006. № 9. С. 21–28.
- Шноль С.Э. Космофизические факторы в случайных процессах. Stockholm: Svenska fysikarkivet, 2009. 388 с. (PDF).
- Jasper M.S., Engeland W.C. Synchronous ultradian rhythms in adrenocortical secretion detected by microdialysis in awake rats // Amer. J. Physiol. 1991. V. 261. P. 1257–1268.
- Jilge B., Stähle H. The internal synchronization of five circadian functions of the rabbit // Chronobiol. Int. 1984. V. 1, N 3. P. 195–204.
- Jozsa R., Olah A., Cornélissen G., Csernus V., Otsuka K., Zeman M., Nagy G., Kaszaki J., Stebelova K., Csokas N., Pan W., Herold M., Bakken E.E., Halberg F. Circadian and extracircadian exploration during daytime hours of circulating corticosterone and other endocrine chronomes // Biomed. Pharmacother. 2005. V. 59. P. 109–116.
- Mock E.J., Norton H.W., Frankel A.I. Daily rhythmicity of serum testosterone concentration in the male laboratory rat // Endocrinology. 1978. V. 103, N. 4. P. 1111–1121.

Сведения об авторе

ДИАТРОПТОВ Михаил Евгеньевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН. 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3. Тел.: (499) 120-80-65. E-mail: diatrom@inbox.ru.

THE INFLUENCE OF THE LIGHTING MODE ON THE ULTRADIAN RHYTHM OF TESTOSTERONE LEVEL IN THE SERUM OF MALE RABBITS

M.E. Diatropov

Research Institute of Human Morphology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

Abstract. The ultradian rhythms of the testosterone level in the serum of male rabbits are researched. Its 8-hour biorhythm with the most expressed amplitude and acrophase at 8, 16 and 24 o'clock of the local solar time is founded. Neither displacement nor inversion of lighting mode changed the period and phase of the testosterone level rhythm. After rabbits' transmeridian moving from Omsk to Moscow with saving of native lighting mode, specific for habitat of experimental animals, the ultradian rhythm's phase of testosterone level was synchronized with the local time. Therefore, the lighting mode doesn't affect the period and phase of the testosterone level rhythm. An external heliogeophysical factor depended on the local time could probably be considered as the synchronizer of this function in the organism.

Keywords: ultradian rhythms, testosterone, male rabbits.