

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт морфологии человека»
Российской академии медицинских наук**

На правах рукописи

**ДИАТРОПТОВ
Михаил Евгеньевич**

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ
ЭНДОКРИННОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И
ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭПИТЕЛИЯ В
ИНФРАДИАННОМ ДИАПАЗОНЕ БИОРИТМОВ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

03.03.01 – физиология

**Диссертация на соискание ученой степени доктора
биологических наук**

**Научные консультанты:
Доктор медицинских наук,
профессор О.В. Макарова
Доктор биологических наук,
доцент М.В. Кондашевская**

Москва – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

стр.

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. Обзор литературы	
1.1. История изучения биологических ритмов	11
1.2. Общая характеристика и классификация биологических ритмов ...	12
1.3. Функции биологических ритмов	15
1.4. Циркадианные биоритмы	
1.4.1. Организация циркадианной системы организма	17
1.4.2. Свойства циркадианных биоритмов	22
1.4.3. Генетика циркадианной системы организма.....	27
1.5. Инфрадианные биоритмы	32
1.6. Возможные механизмы формирования инфрадианных биоритмов	34
1.7. Внешние синхронизаторы инфрадианных биоритмов	37
1.8. Биоритмы морфофункционального состояния эндокринной системы	45
1.9. Биоритмы морфофункционального состояния иммунной системы	47
1.10. Практическая значимость исследований биоритмов у человека..	52
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования	56
ГЛАВА 3. Результаты собственных исследований	
3.1. Динамические морфофункциональные изменения эндокринной системы в инфрадианном диапазоне биоритмов у экспериментальных животных и человека	66
3.1.1. Инфрадианные биоритмы изменения структурно-функциональных зон коры надпочечников у половозрелых самцов крыс Вистар	67
3.1.2. Инфрадианные биоритмы уровня кортикостерона в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар	73
3.1.3. Инфрадианные биоритмы уровня мелатонина в сыворотке крови	

у половозрелых самцов крыс Вистар.....	84
3.1.4. Инфраниантные биоритмы уровня тестостерона в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар	87
3.1.5. Инфраниантные биоритмы уровня кортизола и тестостерона в сыворотке крови у мужчин первого периода зрелого возраста	92
3.1.6. Инфраниантные биоритмы уровня кортизола в сыворотке крови у женщин репродуктивного возраста	99
3.2. Инфраниантные биоритмы митотической активности эпителия у самцов крыс Вистар и японских перепелов	104
3.2.1. Инфраниантные биоритмы митотической активности эпителия пищевода и роговицы у самцов крыс Вистар и их связь с уровнем кортикостерона	105
3.2.2. Зависимость инфраниантных ритмов митотической активности эпителия пищевода от возраста самцов крыс Вистар	111
3.2.3. Сопоставление инфраниантных биоритмов митотической активности эпителия с динамикой гелиогеофизических параметров	118
3.2.4. Инфраниантные биоритмы митотического индекса эпителия пищевода у крыс Вистар в условиях постоянного освещения или световой депривации	124
3.2.5. Инфраниантные биоритмы митотической активности эпителия пищевода у самцов японского перепела и их связь с уровнем кортикостерона и тироксина	136
3.2.6. Инфраниантные биоритмы митотической активности эпителия пищевода у японских перепелов в зависимости от пола и возраста.....	141
3.2.7. Сопоставление инфраниантных ритмов митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар и японских перепелов.....	145

3.3. Динамические морфофункциональные изменения иммунной системы в инфрадианном диапазоне биоритмов	148
3.3.1. Инфрадианные ритмы морфофункционального состояния тимуса у самцов крыс Вистар	149
3.3.2. Инфрадианные ритмы морфофункционального состояния селезенки у самцов крыс Вистар	157
3.3.3. Инфрадианный ритм процентного содержания нейтрофилов в периферической крови у самцов крыс Вистар	162
3.3.4. Инфрадианные ритмы уровня цитокинов крови и их продукции клетками селезенки, активированными конканавалином А, у самцов крыс Вистар	165
3.3.5. Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови и их продукции лимфоцитами периферической крови, стимулированными митогеном, у мужчин первого периода зрелого возраста	169
3.3.6. Инфрадианные ритмы цитофизиологии тучных клеток в дерме кожи самцов крыс Вистар	177
3.3.7. Взаимосвязь выраженности ЛПС-индуцированного системного воспалительного ответа с инфрадианным биоритмом уровня кортикостерона	181
ГЛАВА 4. Обсуждение результатов исследования	190
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	228
ВЫВОДЫ	230
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	233

ВВЕДЕНИЕ

Биологические ритмы (биоритмы) – периодически повторяющиеся изменения характера и интенсивности биологических процессов и явлений. В настоящее время общепризнано, что ритмичность биологических процессов является фундаментальным свойством всей живой материи. Биоритмы выявляются на всех уровнях ее организации – молекулярном, клеточном, организменном, популяционном и биосферном [Ашофф Ю., 1984; Бродский В.Я. и соавт., 2014; Halberg F. et al., 2008; Wood S., Loudon A., 2014]. В зависимости от длины периода, биологические ритмы классифицируются на ультрадианные – с длиной периода менее 20 ч, циркадианные – от 20 до 28 ч, инфрадианные – от 28 ч до 30 сут, сезонные и многолетние [Halberg F., Nelson W., 1978]. Физиологическое состояние организма характеризуется всем спектром биологических ритмов, имеющих между собой фазовые соответствия, что обеспечивает оптимальный режим функционирования [Комаров Ф.И., Рапопорт С.И., 2000]. Принцип фазовой синхронизации биологических ритмов наблюдается на всех уровнях интеграции биологических систем. Однако при функционировании организма в физиологических условиях наблюдается определенная степень десинхронизации биологических ритмов, обеспечивающая более быструю адаптацию к изменяющимся условиям внешней среды [Баевский Р.М., 1979].

Изменения функциональной активности организма и его систем сопряжены со структурными изменениями органов и тканей, поэтому для объективизации результатов исследования пространственно-временной организации биологических систем требуется комплексная оценка динамики структурных и функциональных изменений [Романов и др., 2000; Труфакин В.А. и др., 2005].

Наиболее изученными являются циркадианные биоритмы, сформировавшиеся в результате адаптации организма к условиям

периодической смены дня и ночи. Установлен ряд генов, отвечающих за формирование циркадианных биоритмов у млекопитающих: Clock, Per1, Per2, Per3, Cry1, Cry2, Bmal1, Tim и некоторые другие, что доказывает эндогенную природу циркадианной системы организма [Jolley C.C. et al., 2014]. В биомедицине характеристика циркадианных биологических ритмов используется в качестве критерия нормы и адаптационных способностей организма. Выраженная рассогласованность биоритмов (десинхроноз), вплоть до потери ритмичности, приводит к нарушению гомеостаза и развитию патологических изменений, в первую очередь, сердечно-сосудистой, репродуктивной системы, метаболических нарушений, снижению иммунитета и увеличению частоты развития опухолей и др. [Хетагурова Л.Г. и др., 2000; Анисимов В.Н., 2007]. Данные о закономерностях суточных ритмов организма человека послужили основой для появления новых направлений хронобиологии – хронодиагностики, хронотерапии, хронофармакологии, хронопрофилактики [Заславская Р.М. и др., 2012].

Однако до настоящего момента в медицине принимаются во внимание только суточные и сезонные биоритмы, тогда как многие исследователи указывают на необходимость учета и инфрадианных биоритмов, имеющих зачастую больший диапазон колебаний, чем суточные [Рябых Т.П., 1996; Dronca R.S. et al., 2012]. Инфрадианные ритмы разной периодичности установлены в динамике многих физиологических параметров у человека и лабораторных животных: темпах роста, локомоторной активности, основного обмена, сердечно-сосудистой и дыхательной системы [Шабатура Н.Н., 1989].

Инфрадианные биоритмы эндокринной и иммунной системы недостаточно изучены, в современной литературе им посвящено небольшое число работ. Так в динамике уровня глюкокортикоидных гормонов и тестостерона у человека и животных установлен около 4-суточный биоритм [Пронина Т.С., 1992; Ермакова И.В. 2002; Maschke C. et al., 2003; Jozsa R. et al., 2005]. В динамике уровня гормонов щитовидной железы у крыс выявлен

6-суточный период [Li J. et al., 2000]. В работе Т.П. Рябых [1994] у мышей показана 4-суточная ритмичность колебания числа лейкоцитов в периферической крови и около 6–7-суточная периодичность изменения числа лимфоидных клеток в тимусе. В динамике функционального состояния лимфоцитов и нейтрофилов у крыс установлен спектр биоритмов с периодом в 3–4, 7–9 и 12–14 сут [Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А., 2009].

Таким образом, немногочисленные и фрагментарные данные литературы об инфрадианных биоритмах эндокринной и иммунной системы не дают систематизированного представления об их периодичности, универсальности и механизмах формирования. Кроме того до сих пор остается открытым вопрос о факторах – эндогенных и/или экзогенных, определяющих синхронизацию инфрадианных биоритмов, как на организменном, так и на популяционном уровне организации.

Цель исследования – изучить динамику морфофункциональных параметров эндокринной и иммунной системы и пролиферативной активности эпителия в инфрадианном диапазоне биоритмов у млекопитающих и птиц для установления универсальных закономерностей инфрадианных биоритмов и прогнозирования их фаз.

Задачи:

1. Изучить изменения структурно-функциональных зон коры надпочечников и уровня кортикостерона, тестостерона и мелатонина в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар в инфрадианном диапазоне биоритмов
2. Установить инфрадианные биоритмы уровня кортизола и тестостерона в сыворотке крови у мужчин первого периода зрелого возраста, а также уровня кортизола у женщин в фолликулярную фазу овариально-менструального цикла
3. Исследовать митотическую активность эпителия пищевода во взаимосвязи с уровнем кортикостерона у самцов крыс Вистар и самцов и

самок японских перепелов разных возрастных групп в инфрадианном диапазоне биоритмов

4. Изучить инфрадианные биоритмы митотического индекса эпителия пищевода у крыс Вистар в условиях постоянного освещения или световой депривации
5. Оценить цитофизиологические изменения тучных клеток в дерме кожи у самцов крыс Вистар в инфрадианном диапазоне биоритмов
6. Охарактеризовать морфофункциональные изменения тимуса и селезенки у половозрелых самцов крыс Вистар в инфрадианном диапазоне биоритмов
7. Изучить инфрадианные биоритмы динамики субпопуляционного состава лимфоцитов, уровня цитокинов и их, стимулированной митогенами, продукции у мужчин первого периода зрелого возраста
8. Установить взаимосвязь выраженности морфологических изменений печени при системном воспалительном ответе, вызванном липополисахаридом, с инфрадианным ритмом уровня кортикостерона

Научная новизна

Морфофункциональное состояние органов иммунной и эндокринной системы и митотическая активность эпителия у млекопитающих и птиц изменяется в инфрадианном диапазоне биоритмов с периодами 4.06, 6.09 и 12.175 суток.

Инфрадианные биоритмы уровня кортикостерона, тестостерона, мелатонина и ширины пучковой зоны коркового слоя коры надпочечника у самцов крыс Вистар характеризуются 4.06-суточной периодичностью. Выявлен синхронный 4.06-суточный биоритм уровня кортизола у людей обоего пола, и у мужчин – тестостерона. В популяции половозрелых самцов крыс Вистар установлен синхронный у 72.7 % особей 4.06-суточный инфрадианный биоритм уровня кортикостерона.

Митотическая активность эпителия у крыс и перепелов изменяется в инфрадианном диапазоне биоритмов синхронно и находится в противофазе

по отношению к уровню кортикостерона. В условиях световой депривации и слабого постоянного освещения период и фаза инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия сохраняются.

По данным оценки на протяжении длительных временных интервалов инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия пищевода установлено, что они имеют 4.06- и 12.175-суточные периодичности, которые также наблюдаются в динамике среднесуточных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля.

В динамике морфофункциональных параметров иммунной системы установлены, укладывающиеся в 12.175-суточную систему биоритмов, 4-суточные периодичности показателей объемной доли лимфоидных узелков и общего количества клеток в селезенке, ширины субкапсулярной зоны тимуса и пролиферативной активности тимоцитов, и 6-суточная – количества тимоцитов.

Цитофизиологическое состояние тучных клеток дермы у половозрелых самцов крыс Вистар ритмически изменяется с 4-суточным периодом и сопряжено с уровнем кортикостерона.

Сопряженные между собой инфрадианные биоритмы про- и противовоспалительных цитокинов и уровня глюкокортикоидных гормонов изменяются с 4-суточной периодичностью. В батифазу уровня глюкокортикоидных гормонов повышается продукция провоспалительных цитокинов ИЛ-2 и ИНФ γ , а в акрофазу – противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, рецепторного антагониста ИЛ-1 и TGF- β 1.

Научно-практическая значимость

Полученные в результате исследования данные об универсальном и синхронном характере индивидуальных биоритмов морфофункционального состояния эндокринной и иммунной системы и динамике пролиферативной активности эпителия позволяют прогнозировать фазу биоритма и могут быть использованы при разработке новых хронобиологических подходов к

диагностике, лечению различных заболеваний человека, выбору оптимальных временных параметров для введения лекарственных средств и проведения лечебных манипуляций.

Клинически значимым для хрономедицины является установленный 4-суточный биоритм в динамике продукции цитокинов у крыс и человека, зависящий от фазы биоритма глюкокортикоидных гормонов. Инфрадианные биоритмы необходимо учитывать при оценке функциональной активности иммунной системы в норме и при воспалительных заболеваниях.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Установлены универсальные для млекопитающих и птиц инфрадианные биоритмы морфофункционального состояния эндокринной и иммунной системы и динамики митотической активности эпителия.
2. Инфрадианные ритмы проявляются синфазно у людей обоего пола, в популяции крыс Вистар и перепелов, но имеют возрастные и индивидуальные особенности.
3. Установлена система связанных между собой 4.06-, 6.09- и 12.175-суточных инфрадианных биоритмов, что позволяет прогнозировать их фазы.
4. Синфазное проявление инфрадианных биоритмов, как у большинства членов популяции одного вида, так и у разных видов млекопитающих и птиц, сохранение периода и фазы инфрадианных биоритмов в условиях длительной световой депривации и их относительная автономность от циркадианной системы указывают на внешний фактор их синхронизации.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

Динамические морфофункциональные изменения эндокринной и иммунной системы в инфранианном диапазоне биоритмов

1.1. История изучения биологических ритмов

Существование связанных с суточным режимом освещенности ритмичности изменения поведения животных, цветения и движения листьев растений широко известно. Однако первым кто исследовал, насколько эти ритмы автономны от влияния света, был математик и физик Жан Жак де Меран. В 1729 г. он установил, что в условиях темноты и постоянной температуры растения гелиотропы сохраняют свойственную им двадцатичетырехчасовую периодичность движения листьев и предположил, что этот феномен связан не с освещенностью, а с вращением нашей планеты. В 1797 г. клиницист Христофор Вильгельм Гуфеланд, изучая колебания температуры тела у здоровых и больных, высказал предположение о том, что в организме существуют «внутренние часы», ход которых определяется вращением Земли вокруг своей оси [цитир. по Комарову Ф.И. и соавт., 2002].

Многие известные ученые, такие как Чарльз Дарвин, Сванте Аррениус, Александр Леонидович Чижевский изучали проблему биологических часов. А.Л. Чижевскому [1976] впервые удалось доказать наличие связи ритмов солнечной активности с ритмически протекающими природными, биологическими и общественными процессами.

В 1928 г. Эрвин Бюннинг впервые провел длительное исследование суточных биоритмов движения листьев растений, помещенных в условия полной изоляции от света и постоянной температуры [цитир. по Уорду Р.Р., 1974]. В ходе эксперимента было установлено, что период околосуточного биоритма движения листьев у фасоли, находящейся в постоянных условиях,

отличаются, как у разных растений, так и от суточного астрономического ритма. Это опровергло существующую в то время гипотезу о существовании неустановленного фактора, определяющего суточную ритмичность живых организмов, сформировавшуюся из-за некорректно поставленных экспериментов. Так, например, при ежедневном поливе растений, помещенных в постоянную темноту, исследователи включали слабый красный свет, к которому растения оказались чувствительны. Этот фактор оказывал синхронизирующее действие на околосуточные ритмы растений, что и привело к проявлению у них четкого 24-часового ритма.

Большое количество накопленных экспериментальных данных по закономерностям ритмических процессов у растений и животных, указывающих на универсальность ритмических процессов у биологических объектов, было представлено на конференции в Колд-Спринг-Харборе (1960). В результате обобщения накопленных знаний по этой проблеме биоритмология была выделена в отдельное направление биологической науки.

1.2. Общая характеристика и классификация биологических ритмов

Биологические ритмы (биоритмы) – периодически повторяющиеся изменения характера и интенсивности биологических процессов и явлений. В настоящее время общепризнанно, что ритмичность биологических процессов является фундаментальным свойством живой материи. Биоритмы выявляются на всех уровнях ее организации — от молекулярных и субклеточных до биосферы.

Юрген Ашофф [1964] подразделил биологические ритмы на экзогенные и эндогенные. Экзогенными он предложил называть ритмы, которые не связаны с автономными ритмическими процессами в организме, а являются лишь его реакцией на периодический фактор внешней среды. Примером экзогенных ритмов может служить процесс фотосинтеза, определяющийся интенсивностью освещения. Эндогенными

биологическими ритмами являются те колебания, которые обнаруживаются и в отсутствие каких-либо периодических процессов в окружающей среде, т.е. механизмы формирования этих ритмов связаны с автономными ритмическими процессами в организме.

Таким образом, эндогенный биологический ритм – процесс, приводящий к воспроизведению биологического явления или состояния биологической системы через приблизительно равные промежутки времени. Установить эндогенность биоритма сложно, т.к. следует всегда помнить, что организм может реагировать на какой-либо периодически меняющийся фактор, который экспериментаторы не учитывают.

Первая и наиболее признанная классификация биологических ритмов по длине периода была разработана Францем Халбергом в 1967 г. (Таблица 1) [цитир. по Алякринскому Б.С., 1983]. В современной хронобиологии биологические ритмы часто подразделяются на ультрадианные с длиной периода менее 20 часов, циркадианные - от 20 до 28 часов и инфрадианные – от 28 часов до 30 дней [Halberg F., Nelson W., 1978], также выделяют сезонные и многолетние биоритмы.

Таблица 1. Классификация биоритмов в зависимости от длины периода

Зона ритмов	Область ритмов	Длина периодов
Высокочастотная	Ультрадианная	0,5 – 20 ч
Среднечастотная	Циркадианная	20 – 28 ч
	Инфрадианная	28 ч – 2,5 сут
Низкочастотная	Циркасеptанная	7 ± 3 сут
	Циркадисептанная	14 ± 3 сут
	Циркавигинтанная	20 ± 3 сут
	Циркатригинтанная	30 ± 7 сут
	Цирканнуальная	1 год ± 2 мес

Биологические ритмы характеризуются следующими параметрами:

Период – продолжительность одного цикла, т.е. длина промежутка времени до первого повтора – важнейшая характеристика ритма, выражается в единицах времени;

частота – число циклов, завершившихся в единицу времени;

мезор – уровень среднего значения показателей изучаемого процесса;

амплитуда – наибольшее отклонение сигнала от мезора (в обе стороны от средней), характеризует мощность ритма;

фаза ритма – любая часть цикла, момент цикла, когда регистрируется конкретная величина сигнала (при этом обычно длительность цикла принимают за 360°);

акрофаза – точка времени периода, в которой отмечается максимальное значение исследуемого параметра;

батифаза – точка времени в периоде, в которой исследуемый параметр имеет минимальное значение.

Физиологическое состояние организма характеризуется всем спектром биологических ритмов, имеющих между собой фазовые соответствия, что обеспечивает оптимальный режим функционирования [Комаров Ф.И., Рапопорт С.И., 2000]. Принцип фазовой синхронизации биологических ритмов наблюдается на всех уровнях интеграции биологических систем. Однако при функционировании организма в физиологических условиях наблюдается определенная степень рассогласованности биологических ритмов, обеспечивающая более быструю адаптацию к изменяющимся условиям внешней среды [Баевский Р.М., 1979]. Выраженная фазовая рассогласованность биоритмов (дисхроноз) вплоть до потери ритмичности приводит к нарушению гомеостаза и развитию патологических изменений, в первую очередь, сердечно-сосудистой, репродуктивной системы,

метаболических нарушений, снижению иммунитета и увеличению частоты развития опухолей и др. [Хетагурова Л.Г. и др., 2000; Анисимов В.Н., 2007].

1.3. Функции биологических ритмов

Основной функцией биоритмов является обеспечение заблаговременной подготовки организма к прогнозируемым периодическим изменениям условий внешней среды: смена дня и ночи, температуры, сезонов года. Так у человека перед началом периода активности в разы повышается уровень кортизола, повышается давление, увеличивается частота сердечных сокращений, что наряду с другими изменениями функциональной активности почти всех систем организма обеспечивает подготовку организма к активному бодрствованию. Наличие внутренних механизмов в организме, обеспечивающих такую заблаговременную подготовку, дает преимущество в борьбе за выживание. Таким образом, адаптивная роль биоритмов организма не вызывает сомнения.

У высокоорганизованных животных, наряду с адаптивным значением биоритмов, первостепенной ролью временной организации является обеспечение согласованности течения всех физиологических процессов в организме. Временная организация любого организма в целом и каждой отдельной физиологической функции характеризуется спектром ритмических процессов, согласованных между собой во времени.

Б.С. Алякринский [1983] указывает, что именно циркадианные ритмы играют системообразующую роль, направленную на объединение частных ритмических процессов, присущих различным морфофункциональным структурам, в единую колебательную систему. Все компоненты этой системы определенным образом синхронизированы друг с другом, и эта взаимосвязь определяет физиологическое благополучие организма.

Ритмические функциональные изменения в организме сопряжены с организацией соответствующих морфологических структур. Таким образом, пространственно-временная организация биологических систем

характеризуется динамическими изменениями их морфофункционального состояния. Впервые представление о единой пространственно-временной организации биологических систем было сформулировано Ю.А. Романовым и соавт. [1985] на основании экспериментально установленных тесных связей между пространственными и временными изменениями пролиферации клеток и энергетического обмена в ряде морфофункциональных структур организма: долька печени, крипта тонкой кишки, фолликулов щитовидной железы. Так в крипте тонкой кишки выявляются суточные и ультрадианные биоритмы клеточной пролиферации и миграции, и одновременно эти процессы характеризуются пространственными изменениями структурных компартментов крипты [Антохин А.И. и соавт., 2011]. А.И. Антохин [2001] показал, что эпителий крипты тонкой кишки мышей имеет многоуровневую пространственно-временную организацию процессов пролиферации, а воздействие инфекционного агента вызывает изменения функционирования всех ее элементов (уровней), однако эти изменения скоординированы таким образом, что общий уровень пролиферации и общая структура пространственно-временной организации крипты в целом не изменяется. На основании полученных данных автор сделал вывод: «сохранение общей структуры пространственно-временной организации пролиферативной системы эпителия крипты тонкой кишки мышей при инфекционном воздействии, влиянии антибиотика и их совместном воздействии на фоне значительного изменения в функционировании всех её элементов свидетельствует о целостности этой системы и наличии в ней регуляторных механизмов (в частности кейлон-антикейлонная система), координирующих работу отдельных элементов и обеспечивающих её адаптацию к различным воздействиям».

Благодаря работам Д.С. Саркисова [1977], Ф.З. Меерсона [1981], П.Д. Горизонтова и соавт. [1983] и А.И. Струкова и соавт. [1983] была обоснована необходимость комплексного изучения структуры и функции

органа или ткани. Авторами было показано, что изменения функциональной активности организма и его систем сопряжены со структурными изменениями органов и тканей, что позволило обосновать понятие о «морфологическом эквиваленте функции». Таким образом, для установления пространственно-временных отношений в организме, характеризующихся ритмичностью, необходима комплексная оценка динамики функциональных и морфологических параметров.

Также биологические ритмы вовлечены в процессы ориентации в пространстве и измерения времени. Сейчас установлено, что ориентация птиц и пчел в пространстве связана с фазой циркадианных ритмов их организма [Детари Л, Карцаги В., 1984]. Разрабатывается и циркадианная теория старения организмов, основанная на возрастных изменениях функции эпифиза [Анисимов В.Н., 2008]. А.М. Оловников [2003] в своей редусомной гипотезе старения отводит инфрадианным биоритмам роль счетчиков биологического времени.

1.4. Циркадианные биоритмы

1.4.1. Организация циркадианной системы организма

К настоящему моменту установлено, что основным циркадианным пейсмекером у млекопитающих является супрахиазматические ядра гипоталамуса (СХЯ). Повреждение этой структуры у экспериментальных животных приводит к потере суточной ритмичности подавляющего большинства физиологических параметров: двигательной активности, потребления воды и пищи, уровня глюкокортикоидных гормонов, частоты сердечных сокращений, уровня глюкозы в крови и др. [Арушанян Э.Б. и соавт., 1988; Klein D.S. et al., 1993; Bertolucci C., et al., 2000; Cailotto C. et al., 2005; Mohawk J.A. et al., 2012]. Импульсная активность нейронов СХЯ имеет суточную ритмичность: в дневные часы частота импульсов значительно выше, чем ночью [Inoue S.T., Kawamura H., 1979]. Инверсия светового режима приводит к сопряженным изменениям нейрональной

активности СХЯ, что определяется зрительными стимулами, поступающими в СХЯ по ретиногипоталамическому тракту. Нейроны СХЯ сохраняют циркадианный ритм активности как при двусторонней энуклеации или перерезке ретино-гипоталамического тракта, так и после нервной и гуморальной изоляции СХЯ и даже в культуре этих клеток [Ibata Y. et al., 1997].

Сигналы от СХЯ влияют на уровень гормональной секреции посредством как прямого воздействия на гипоталамус, так и опосредованного – через изменение уровня продукции эпифизом мелатонина, который модулирует циркадианный ритм секреции гормонов коры надпочечников и гонад, функции иммунной системы и др. [Анисимов В.Н., 2007]. Показано, что в отсутствии целостности СХЯ у млекопитающих наблюдается нарушение циркадианных ритмов образования мелатонина в эпифизе [Арушанян Э.Б., 1991]. Установлен и обратный контроль эпифизом работы пейсмекерного центра. Так в СХЯ выявлена высокая плотность мелатониновых рецепторов, число и аффинность которых увеличивается в вечерние и ночные часы [Laitinen J.T., Saavedra J.M., 1990; Kretschmannova K., et al., 2005]. Исследования S. Shibata и соавт. [1989] показали, что мелатонин тормозит разряды одиночных нейронов СХЯ. Таким образом, мелатонин оказывает сдерживающее влияние на нейрональную активность СХЯ.

Общий план иннервации эпифиза у крыс представлен на рис. 1. Информация о световом режиме передается от меланопсиновых рецепторов сетчатки по ретино-гипоталамическому тракту в СХЯ [Schmidt T.M. et al., 2011], а также к центрам регуляции сна и двигательной активности – вентролатеральному преоптическому ядру и вентральной субпаравентрикулярной зоне гипоталамуса [Morin L.P., 2013]. Сигналы от СХЯ к эпифизу идут по симпатическим нервам через интермедиолатеральный клеточный ствол верхней части спинного мозга и верхний шейный ганглий [Arendt J., 1995]. Синтез мелатонина в эпифизе

регулируется через $\beta 1$ - и в меньшей степени $\alpha 1$ -адренорецепторы [Рапопорт С.И., Голиченков В.А., 2009]. При связывании норадреналина с $\beta 1$ -адренергическими рецепторами, экспрессируемыми пинеалоцитами, через мембранный ГТФ-связывающий белок инициируется активация аденилатциклазы, что приводит к увеличению концентрации циклического аденозинмонофосфата. Этот вторичный мессенджер активирует серотонин-N-ацетилтрансферазу, посредством которой и с участием гидроксииндол-о-метилтрансферазы из серотонина синтезируется мелатонин. Стимуляция $\alpha 1$ -адренорецепторов приводит к увеличению внутриклеточного Ca^{2+} и активации Ca^{2+} - и фосфолипидзависимой протеинкиназы C [Sugden D., 1991; Klein D.C., 1993]. Участие внутриклеточных ионов Ca^{2+} в регуляции синтеза мелатонина подтверждено экспериментально на человеке и приматах. Показано, что антагонист кальция (дигидропиридин) ингибирует ночную продукцию мелатонина [Комаров Ф.И. и соавт., 2000]. Вещества, стимулирующие продукцию катехоламинов, повышают ночной уровень мелатонина, а $\beta 1$ -адренергические блокаторы, напротив, подавляют синтез мелатонина [Demitrack M.A., et al., 1990].

Мелатонин синтезируется в эпифизе преимущественно в ночное время [Ceinos R.M. et al., 2005]. Свет является главным сигналом окружающей среды, подавляющим биосинтез мелатонина [Vien-Roels B. et al., 1999; Vera L.M. et al., 2005]. Освещение полного спектра в 200–300 люкс или монохромного синего света в несколько люкс значительно снижает активность N-ацетилтрансферазы и соответственно продукцию мелатонина в эпифизе [Dollins A.B. et al., 1993]. Полное подавление синтеза мелатонина в эпифизе наблюдается при освещенности более 2000 люкс [Lewy A.J., et al., 1980]. У слепых людей циркадианный ритм секреции мелатонина имеет период около 25 ч [Sack R.L. et al., 1992]. Таким образом, суточный режим освещения является главным синхронизатором циркадианных ритмов у человека [Fuentes-Pardo B. et al., 2003].

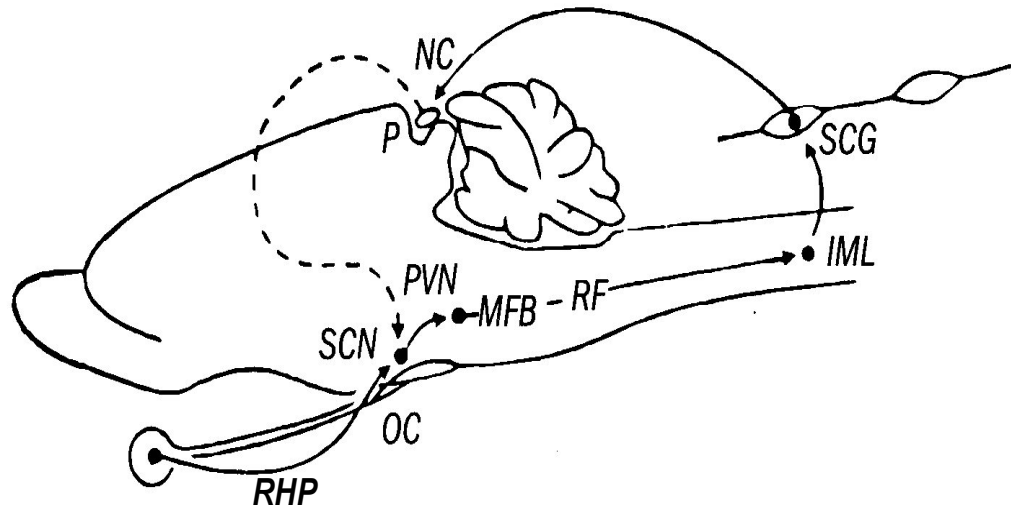


Рис. 1. Некоторые структуры и связи, ответственные за циркадианные ритмы у позвоночных, по J. Arendt [1995]

SCN – (Suprachiasmatic nucleus) супрахиазматические ядра гипоталамуса, P – (Pineal gland) эпифиз, RHP – (Retinohypothalamic tract) ретино-гипоталамический тракт, OC – (Optic chiasm) зрительный перекрест, PVN – (Paraventricular nucleus) паравентрикулярные ядра гипоталамуса, MFB – (medial forebrain bundle) медиальный узел переднего мозга, RF – (Reticular formation) ретикулярная формация, IML – (Intermediate cells mediolateral part spinal cord) промежуточные клетки медиолатерального отдела спинного мозга, SCG – (Superior cervical ganglion) верхний шейный ганглий, NC – (Nerve) нервы, иннервирующие эпифиз.

Эпифизэктомия у млекопитающих, в отличие от рептилий и птиц, не приводит к полной потере циркадианной ритмичности физиологических параметров, в частности локомоторной активности. Однако циркадианная ритмичность двигательной активности у эпифизэктомизированных животных очень лабильна и подвержена сильным изменениям фазы в ответ на внешние стимулы. Эти данные указывают, что эпифиз препятствует дезорганизации циркадной ритмики, вызванной резкими изменениями световых условий [Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2000].

Эпифизэктомия у крыс приводит к уменьшению массы тимуса [Oner H. et al., 2004] и увеличению в этом органе числа тучных клеток [Susko I., Mornjakovic Z.M., 2003]. Также после удаления эпифиза развивается гиперплазия нейроэндокринных клеток кишечника [da Silva J.C. et al., 2005], нарушения водно-солевого обмена [Слепушкин В.Д., Пашинский В.Г., 1982], иммунная дисфункция [Carrillo-Vico A. et al., 2005], повышение артериального давления [Vazan R. et al., 2004].

Эпифизэктомия у крыс вызывает исчезновение циркадианных и увеличение амплитуды ультрадианных ритмов пролиферации эпителия пищевода, крипт тощей кишки и герминативных центров лимфатических узелков. Тогда как введение биологически активных пептидов эпифиза эпифизэктомизированным животным приводит к восстановлению циркадианного ритма этих структур [Слесарев С.М., 2009]. Удаление эпифиза приводит также к потере суточного ритма сперматогенеза [Арав В.И. и соавт., 2003]. Действие постоянного яркого света, подавляющего синтез мелатонина эпифизом, также как и повреждение СХЯ вызывает исчезновение суточной ритмики и появлению ультрадианных биоритмов в функциональных параметрах кардиореспираторной системы [Шабатура Н.Н., 1989].

1.4.2. Свойства циркадианных биоритмов

Циркадианные биоритмы сформировались в результате адаптации организма к условиям периодической смены дня и ночи. Многочисленные исследования циркадианных биоритмов показывают, что они обеспечивают заблаговременную подготовку организма к использованию наиболее благоприятного для жизнедеятельности времени суток. Иными словами, благодаря предсказуемости режима смены свет–темнота, циркадианная система организма работает на опережение этих событий.

Одним из основных свойств циркадианной системы организма является способность к синхронизации ее режимом свет–темнота. В естественных условиях освещения фаза циркадианного ритма постоянно корректируется режимом сменой дня и ночи. В экспериментальных условиях циркадианные биоритмы поддаются синхронизации ритмическим световым воздействием с периодом, отличным от естественного, только в том случае если это отличие не слишком велико. Область значений периода «принудителя», при которых захватывание (синхронизация) возможна, называется «окном захватывания». У позвоночных окно захватывания сравнительно узкое и включает в себя интервал периодов от 20 до 28 ч. В условиях постоянной темноты влияние кратковременного периода освещения на фазовый сдвиг циркадианного ритма зависит от времени на которое пришлось воздействие, а именно световое воздействие сдвигает фазу только в том случае, если оно пришлось на период перед началом активности – фазу потенциальной готовности циркадианной системы организма к восприятию этого светового сигнала как начало нового дня. Включение освещения после начала активности животного существенно не изменяет фазу его циркадианного ритма [Слоним А.Д., 1976]. Зависимость эффекта светового сигнала от фазы циркадианного ритма также была установлена и в механизмах фотопериодической регуляции. Так W.M. Hamner [1963] показал, что фотопериодическая регуляция весеннего состояния у птиц основывается на сопоставлении длины световой фазы циркадианного ритма с длиной

световой части фотопериода. В этом классическом эксперименте исследователь показал, что режимы освещения (свет:темнота) 6ч:6ч, 6ч:30ч и 6ч:54ч приводят к увеличению гонад, а режимы 6ч:18ч и 6ч:42ч их массу не изменяют. Таким образом, было показано, что стимулирующая часть светлой части суток – это та часть, которая накладывается на темновую фазу циркадианного ритма.

В условиях постоянной темноты или света, при отсутствии светового синхронизирующего сигнала циркадианные колебания сохраняются, но их период существенно отличается от 24 ч. Отличие периода циркадианного ритма от 24 ч приводит к постоянному смещению его фазы относительно астрономического времени, поэтому такой ритм называют свободнотекущим. Анализ многочисленных данных по особенностям проявления циркадианных ритмов у животных разных классов, содержащихся в условиях постоянного освещения или темноты, позволило Ю. Ашоффу [1984] выявить закономерность: у ночных животных период активности более продолжителен при постоянном освещении, в то время как у дневных животных бодрствование более продолжительно при постоянной темноте. Таким образом, у дневных видов животных в условиях постоянной темноты циркадианный ритм составляет более, а у ночных менее 24 ч. В условиях изоляции у человека, как при постоянном освещении, так и темноте период циркадианного ритма ректальной температуры составляет $25,0 \pm 0,5$ ч [Wever R., 1979].

На период свободнотекущего ритма в значительной мере влияет освещенность, при которой содержатся животные. Так у большинства дневных видов рыб, рептилий и птиц увеличение освещенности на 1 логарифмическую единицу (в 10 раз) сокращает период свободнотекущего ритма примерно на 1 час, тогда как у ночных видов аналогичное изменение интенсивности освещенности приводит к удлинению периода свободнотекущего ритма в среднем на 0,5 часа. У млекопитающих эта зависимость выражена в меньшей степени [Питтендрих К., 1984].

Также на длину свободнотекущего циркадианного ритма влияет и внутреннее состояние организма и, в частности, уровень половых гормонов. Так у мышей кастрация приводит к удлинению, а последующее введение тестостерона к сокращению периода свободнотекущего циркадианного ритма. Имплантация капсулы с эстрадиолом самкам хомяков также сокращает период свободнотекущего циркадианного ритма [Ашофф Ю., 1984].

Период циркадианного ритма зависит и от возможности выбора световых условий. Так, если при постоянном освещении в клетке у животного есть темное убежище, период свободнотекущего ритма будет иным, нежели без убежища [Чернышев В.Б., 1984].

Считается, что период свободнотекущего циркадианного ритма проявляющийся у животных в условиях постоянной темноты является эндогенным, т.е. определяется только генетически заложенными параметрами циркадианной системы. Однако, насколько можно считать физиологичным условия постоянной темноты или освещения? Возможно, эндогенный (свободнотекущий) циркадианный ритм обусловлен реакцией на такие нестандартные условия (темнота). В пользу этого утверждения исследователи приводят факт различной периодичности циркадианного ритма в зависимости от интенсивности освещения. Наиболее убедительное подтверждение было достигнуто в работе В.Б. Чернышева [1984] на жуках чернотелках, которым был предоставлен свободный выбор световых условий и В.Р. Дольника [1975] на зяблике, обученном включать и выключать освещение в камере. В условиях свободного выбора экспериментальные животные выдерживали строгую циркадианную периодичность. Циркадианный ритм локомоторной активности в таких условиях у чернотелок имел почти точно 24-часовой режим, а у зяблика, в течение полутора лет управлявшего освещением, зарегистрирована сезонная зависимость продолжительности светового и темного циклов: сокращение световой фазы во второй половине лета и осенью, короткий

световой день зимой и увеличение его весной. Период циркадианного ритма у этого зяблика увеличивался осенью и сокращался весной, тогда как летом и зимой он составлял ровно 24 ч.

Возможно, в условиях свободного выбора режима освещения, фактором синхронизации циркадианнных ритмов служат изменения геофизических параметров имеющие суточную периодичность. В пользу этого предположения служит факт изменения периода свободнотекущих циркадианнных биоритмов на орбите Земли в условиях ослабления геомагнитного поля.

В экспериментах с обезьянами на биоспутниках установлено расширение зоны блуждания и запаздывания ритма температуры тела, что указывает на удлинение периода свободнотекущего циркадианного ритма в условиях невесомости [Алпатов А.М. и соавт., 2002].

Установлено, что эндогенный циркадианный период у жуков чернотелок в условиях космического полета становится длиннее, чем в наземном контроле. Эффект удлинения периода наблюдается как при постоянном свете, так и в постоянной темноте. Однако влияние гравитации на циркадианный период у жуков значительно слабее, чем влияние света [Алпатов А.М., 2000].

Период циркадианного ритма температуры тела у людей, находившихся в экранированном подземном бункере, где геомагнитное поле было уменьшено в 100 раз, был статистически значимо длиннее, в среднем на 40 мин, чем 25-часовой циркадианный ритм у индивидов, живших в условия изоляции в неэкранированном помещении [цитир. по Дуброву А.П., 1974]. В условиях экранирования геомагнитного поля у людей также наблюдалась десинхронизация между отдельными функциональными показателями. Период активности удлинялся и составлял 30–40 ч, а сон длился около 15 ч, в то время как периоды циркадианнных ритмов вегетативных функций составляли 25–26 ч. Между циркадными ритмами этих показателей не было стабильной фазовой связи.

У людей, находившихся в условиях изоляции в неэкранированном помещении, на каждый цикл сон/бодрствование (50 ч) приходилось два цикла ректальной температуры (25 ч) и между ними наблюдалась прочная фазовая связь. В этом же исследовании установлено сокращение периода свободнотекущего циркадианного ритма на 1.3 ч при воздействии переменным электромагнитным полем частотой 10 Гц и напряженностью 25 мВ/см.

Таким образом, в многочисленных работах показано, что при содержании животных в постоянных световых условиях их циркадианные биоритмы имеют устойчивый средний период, отличающийся в разной степени от астрономических суток. Величина периода циркадианного ритма имеет как видовую, так и индивидуальную специфичность, но также она сильно зависит от интенсивности освещения, условий содержания и физиологического состояния особи. Период циркадианного ритма, проявляющегося у животных в условиях постоянной темноты принято называть эндогенным. Однако, благодаря исследованиям, выполненным на высоком методическом уровне, Виктор Рафаэлевич Дольник [1975] и Владимир Борисович Чернышев [1984], что насекомые и птицы «оказались способны точно отмерять суточные интервалы времени, и их биологические часы точнее, чем это можно было бы предположить на основании экспериментов в постоянных условиях темноты или освещения. Организмы высоко чувствительны ко многим факторам внешней среды, в том числе к геомагнитному полю, электрическим факторам, инфразвуку. Все эти факторы более или менее закономерно меняются во времени суток», что предполагает возможность использования их животными в качестве датчиков времени.

1.4.3. Генетика циркадианной системы организма

Впервые доказательства генетической природы циркадианных ритмов были получены у дрозофил, при исследовании мутации гена, отвечающего за циркадианную организацию поведения [Konopka R.J., Benzer S., 1971]. К настоящему моменту у млекопитающих установлены основные молекулярные механизмы, обеспечивающие циркадианную ритмичность. Этот механизм основан на циклической транскрипции и трансляции двух генов *Period* (*Per*) и *Cryptochrome* (*Cry*) [Dunlap J.C., 1999]. Когда уровень белков PER и CRY высок, они связываются в гетеродимер PER/CRY и подавляют свою собственную транскрипцию, путем угнетения факторов транскрипции CLOCK и BMAL1 (рис. 2). Казеинкиназы дельта и эпсилон фосфорилируют белки PER и CRY, что приводит к их деградации [Akashi M. et al., 2002]. Когда уровень белка PER и CRY снижается, транскрипция генов *Per* и *Cry* возобновляется за счет работы факторов транскрипции CLOCK и BMAL1, которые образуя гетеродимер CLOCK/BMAL1, связываются с регуляторным участком ДНК E-боксом (E-box), являющимся промотором генов *Per* и *Cry*. Известно три изоформы гена *Per* и две гена *Cry*, различающихся функциональной активностью. Существует и вторая петля отрицательной обратной связи, которая определяется взаимодействием белков REV-ERB α и RORA с RORE – распознающим участком промотора гена *Bmal1* [Ueda H.R. et al., 2002; Mohawk J.A. et al., 2012]. Белок REV-ERB α , связываясь с промоторным участком *Bmal1*, препятствует его транскрипции. Второй белок ROR- α (ретиноидный орфановый рецептор альфа) напротив активирует транскрипцию *Bmal1* [Sato T.K. et al., 2004]. Гетеродимер CLOCK/BMAL1 в свою очередь активирует транскрипцию гена *Rev-erb α* .

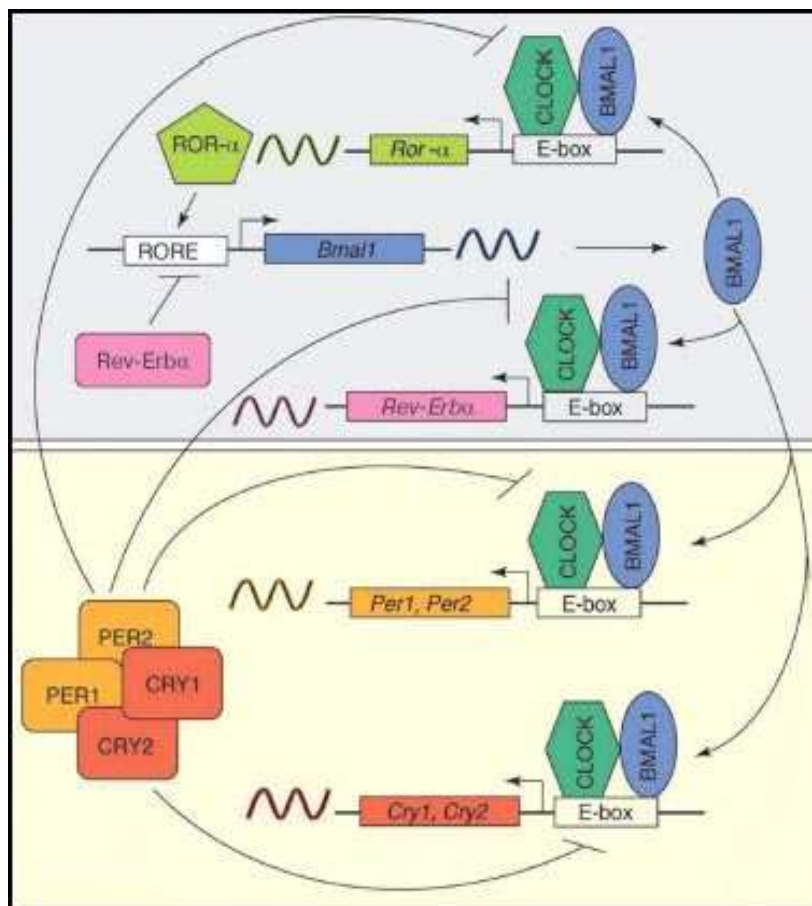


Рис. 2. Молекулярная структура циркадианной системы
млекопитающих [по R.V. Kondratov, M.P. Antoch, 2007]

CRY – cryptochrome circadian clock
 BMAL1 – brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like 1
 CLOCK – circadian locomotor output cycles kaput
 PER – period circadian protein homolog
 RORE – retinoic acid-related orphan receptor response element
 ROR- α – retinoic acid-related orphan receptor- α
 REV-ERB α – orphan nuclear receptor
 E-box – Enhancer box

До настоящего момента выявляются все новые механизмы внутренней регуляции 24-часовой цикличности экспрессии циркадианных генов, и в частности при участии микро-РНК [Pegoraro M., Tauber E., 2008].

Циркадианная ритмичность экспрессии генов *Per*, *Cry*, *Clock* и *Bmal1* установлена не только в СХЯ гипоталамуса но и в подавляющем большинстве клеток организма. Свыше 10 % генов в организме имеют суточную динамику экспрессии м-РНК [Duffield C.E., 2003]. Причем синхронизация циркадианных ритмов экспрессии генов белков CLOCK и BMAL1 в периферических тканях осуществляется световым режимом через рецепторы сетчатки, содержащие меланопсин, информация от которых поступает по ретино-гиполамическому тракту в СХЯ, которые в свою очередь регулируют функцию эпифиза [Hattar S. et al., 2002].

Белковые продукты генов циркадианных ритмов контролируют экспрессию большого количества других генов, отвечающих за уровень клеточного метаболизма и кодирующих ферменты энергетического обмена, ионные каналы, киназы, транскрипционные факторы [Fu L. et al., 2002; Ramsey K.M. et al., 2009; Masri S. et al., 2012]. Также гены циркадианной системы контролируют клеточный цикл. Так транскрипционный гетеродимер CLOCK/BMAL1 контролирует экспрессию гена *Weel*, определяющий переход клетки из G₂ в фазу митоза [Matsuo T. et al., 2003]. Гены *C-мус* и *Ciclin D1*, контролирующие соответственно переход G₀/G₁ и G₁/S стадий клеточного цикла, также регулируются гетеродимером CLOCK/BMAL1 [Fu L. et al., 2002]. Суточному ритму подчинен не только процесс пролиферации клеток, но и апоптоз [Bjarnason G.A., Jordan R., 2000].

U.K. Valekunja и соавт. [2013] установили, что эпигенетический контроль циркадианного ритма в гепатоцитах осуществляется за счет CLOCK/BMAL1-контролируемой метилтрансферазы MLL3, которая

метилюет гистон H3, что в свою очередь активирует транскрипцию до 20 % генов в геноме гепатоцита.

Установлено, что в зависимости от возраста крыс циркадный ритм экспрессии гена *Per1* различается незначительно, тогда как в периферических тканях старых животных выявлены его нарушения [Yamasaki S. et al., 2002]. Фазовая рассогласованность циркадианных ритмов физиологических показателей значительно увеличивается с возрастом, а у лиц старше 75 лет наблюдается десинхронизация биоритмов. Эти явления связывают, прежде всего, с нарушением регуляции синтеза мелатонина и снижением его ночного уровня у пожилых лиц [Анисимов В.Н., 2012].

Мутации в гене *Per2* вызывает уменьшение продолжительности жизни, нарушения в репродуктивной системе и противоопухолевом иммунитете [Fu L. et al., 2002], в гене *Clock* к ожирению и метаболическому синдрому [Turek F.W. et al., 2005], а в *Bmal1* к уменьшению продолжительности жизни и увеличению перекисного окисления липидов, приводящему к катаракте [Kondratov R.V. et al., 2006].

Интересным представляется факт независимости временного контроля сперматогенеза от центрального циркадианного пейсмейкера. В дифференцированных тестикулярных клетках установлено отсутствие циркадианной ритмичности экспрессии генов *Per1*, *Bmal1*, *Cry1* и *Clock* [Morse D. et al., 2003; Alvarez J.D. et al., 2003]. Было показано, что PER1 и CLOCK белки выявляются на определенных стадиях сперматогенеза [Alvarez J.D. et al., 2003]. Однако у недифференцированных тестикулярных интерстициальных клеток была установлена циркадианная ритмичность гена *Per2* [He P.J. et al., 2007]. М. Klose М. и соавт. [2010] содержали три группы самцов джунгарских хомячков в течение 43 суток в условиях 23 ч периодичности режима освещения (16ч свет – 7 ч темнота), 24 ч (16ч свет – 8 ч темнота) и 25 ч (16ч свет – 9 ч темнота). Такие периоды освещения, судя по динамике локомоторной активности, были захвачены, т.е.

синхронизировали центральный циркадианный пейсмейкер организма. Авторами было показано, что у хомячков всех трех групп продолжительность цикла сперматогенного эпителия не изменилась и составляла 7.98 ± 0.07 сут. Таким образом, цикл сперматогенного эпителия не зависит от периода центрального циркадианного пейсмейкера. Также длительность цикла сперматогенного эпителия не изменяется у крыс и обезьян при применении антагонистов гонадотропин-релизинг гормона и гипофизэктомии [Aslam H. et al., 1999]. Такая автономность процесса сперматогенеза от циркадианной системы организма, вероятно, связана с необходимостью поддержания целостности гематотестикулярного барьера, что обеспечивается строгой упорядоченностью во времени процессов пролиферации и дифференцировки сперматогенного эпителия.

Последние исследования циркадианной системы у арктических животных поставили под сомнение системообразующую функцию циркадианных ритмов. Так у северных оленей, живущих на Шпицбергене (78 градусов северной широты), циркадианные ритмы локомоторной активности проявляются только в течение нескольких недель весной и осенью [van Oort B.E. et al., 2005]. Отсутствие циркадных ритмов локомоторной активности и уровня мелатонина летом можно объяснить угнетающим действием света на его продукцию эпифизом [Перцов С.С., 2011]. Однако, в зимнее время в условиях постоянной темноты у северных оленей также отсутствует свободнотекущий циркадианный ритм этих параметров. Тогда как у подавляющего большинства видов млекопитающих в условиях постоянной темноты выявляется четкий свободнотекущий циркадианный ритм, как локомоторной активности, так и уровня мелатонина [Stokkan K.A. et al., 2007]. Чтобы подтвердить установленный у северных оленей факт отсутствия циркадианной ритмичности был проведен генетический анализ экспрессии генов *Bmal1* и *Per2*. В результате исследования на культуре фибробластов было установлено, что в отличие от выраженной у фибробластов грызунов циркадианной ритмичности

экспрессии генов *Bmal1* и *Per2*, постепенно затухающей к 7-ым суткам, у северных оленей экспрессия генов циркадной системы в этих клетках не имеет ритмичности [Lu W. et al., 2010]. На основании этих данных можно сделать вывод, что функция циркадной системы организма является исключительно адаптивной, и при отсутствии чередования дня и ночи в естественных условиях она теряет свою необходимость.

1.5. Инфрадианные биоритмы

Инфрадианные биологические ритмы в динамике многих биологических параметров были установлены еще несколько десятилетий назад. Так 5–7-суточная ритмичность обнаруживается в колебаниях интенсивности энергетического обмена, температуры тела [Кучеров И.С., 1971; Empson J., 1977; Reiberg A, Smolensky M., 1983], изменениях массы тела у человека и животных [Василик П.В., Галицкий А.К., 1980; Василик П.В., Василега А.Г., 1982], функциональных показателей кардиореспираторной системы [Muir Y., Pownall R., 1983], физической работоспособности и потребления кислорода [Шабатура Н.Н., 1989], экскреции Na^+ с мочей и уровня альдостерона [Rakova N. et al., 2013].

10–14-суточные инфрадианные биоритмы установлены в динамике интенсивности энергетического и пластического обмена у человека и животных [Кучеров И.С., 1971], в изменениях функционального состояния нервно-мышечной системы [Шабатура Н.Н., 1974]. Многие авторы, исследовавшие динамику ростовых процессов, сходятся на том, что у разных особей и видов периодичность темпов роста составляет 12 сут, а также соответствует равным долям этого периода. Максимальные среднесуточные привесы чередуются с их минимальными величинами через строго определенное время. Так у молодняка крупного рогатого скота общая продолжительность длины волн роста, т.е. расстояние между пиками максимальных привесов, равна 12,3 сут [Федоров В.И., 1973]. Выявленную ритмичность интенсивности роста автор объясняет последовательной

сменой преобладания процессов роста и дифференцировки. В этой работе отмечена индивидуальность фазы инфрадианного ритма роста, благодаря чему их нельзя было объяснить ритмическим влиянием внешней среды. Тогда как у молодняка норка наблюдалась ритмичность роста с периодом в 4 сут, а индивидуальные сдвиги фаз наблюдались в пределах суток. Наряду с 4-суточным ритмом в динамике роста молодняка норка был выявлен и 12-суточный [Язан О.Я., Байбаков Е.В., 1980].

Чаще всего при исследовании динамики одного биологического параметра выявляется целый спектр ритмических составляющих. Так в динамике скорости движения и индекса регенерации планарий Н.А. Темурьянц и соавт. [2012] в разные сезоны года установили 2.13-, 2.38-, 2.66-, 3.20-, 4.00-, 4.57-, 6.40-суточные биоритмы. Наиболее стабильно проявляющимися были 2.13-, 2.38-, 3.20-, 4.57- и 6.40-суточные периодичности. В динамике поведения крыс при многократном повторном тестировании в «открытом поле» были выявлены инфрадианные ритмы со средней длительностью периодов около 3.5, 5.7, 7.3, 9.3, 13.5, 18.2 и 30.4 сут [Темурьянц Н.А., Шехоткин А.В., 1999].

Н.Н. Шабатура [1989] в динамике физиологических параметров деятельности сердечно-сосудистой и дыхательной систем выявил инфрадианные ритмы с периодом 5–7 и 10–14 суток, с устойчивым средним значением периода и значительной амплитудой. В динамике показателя минутного объема дыхания, определяемого у мужчин в течение 90 суток, доминирующие по амплитуде (около 50 % от общей дисперсии) ритмы имели период в 4.2; 6.4 и 13.4 суток. У одной части людей в динамике минутного объема дыхания доминировали 5–7-суточные, а у другой – 10–14-суточные ритмы. Различия в периоде доминирующего ритма у разных людей автор связал с индивидуальными особенностями реактивности механизмов формирования и регуляции инфрадианных биоритмов, а также их взаимодействием с внешними факторами. Ритмические колебания частоты сердечных сокращений у крыс имели около 6.2- и 12.5-суточную

периодичность. Существование стабильного среднего периода биоритма, возможно, благодаря существованию внутренних механизмов его поддержания или же вследствие влияния внешнего синхронизатора. Н.Н. Шабатура отметил интересный факт: ритмические колебания показателей энергетического обмена и частоты сердечных сокращений в целом по группе имели хорошо выраженную взаимосвязь по 12-суточному периоду, что можно объяснить либо существованием внешнего синхронизирующего воздействия, либо установленную синхронность проявления инфрадианных биоритмов в группе особей можно рассматривать, как результат синхронизации эндогенных биоритмов у разных особей в популяции.

1.6. Возможные механизмы формирования инфрадианных биоритмов

К настоящему моменту природа инфрадианных ритмов не установлена. По-видимому, возможно существование как эндогенных, так и экзогенных механизмов формирования инфрадианных биоритмов. Если для циркадианных биоритмов выявлены генетические механизмы на основании чего они считаются эндогенными, то для инфрадианных ритмов к настоящему моменту не обнаружено генов, ответственных за их формирование.

В рамках эндогенной гипотезы природы инфрадианных ритмов предполагается, что формирование инфрадианных биоритмов осуществляется за счет отрицательных обратных связей в системе нейроэндокринной регуляции. Однако было показано, что снижение активности симпато-адреналовой системы с помощью длительного перорального введения резерпина, оказывающего симпатолитическое действие, а также адреналэктомии, не повлияли на характеристику инфрадианных ритмов большинства параметров кардиореспираторной системы у крыс. Введение резерпина с 11-суточным ритмом существенно не нарушило 5–7-суточный ритм деятельности кардиореспираторной

системы у крыс. Разрушение вентромедиальных и мамиллярных ядер гипоталамуса, в которых расположены нейроны, вырабатывающие кортикотропин-релизинг-фактор, привело к выраженным изменениям временной организации сердечно-сосудистой системы и незначительным изменениям параметров инфрадианных ритмов системы дыхания. Таким образом, полученные результаты указывают на то, что инфрадианные ритмические колебания в организме, по-видимому, формируются не на основе механизма обратных связей нейрогуморальной регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Другой причиной в рамках эндогенной гипотезы формирования инфрадианных биоритмов являются фазовые изменения циркадианных колебаний различных звеньев нейроэндокринной регуляции. Так если предположить, что в организме существуют взаимосвязанные циркадианные осцилляторы с разницей периодов 80 или 160 мин, то они могут приводить к появлению ритмов с периодом 8 и 4 сут, соответственно [Халберг Ф., 1964]. Однако до сих пор не установлено, имеют ли инфрадианные биоритмы самостоятельный механизм формирования, или же они связаны с циркадианной системой организма. Утверждение отдельных авторов о сопряженности инфрадианных и циркадианных ритмов основывается на исчезновении или значительном снижении амплитуды инфрадианных ритмов при разрушении циркадианной системы в условиях яркого освещения или при деструкции СХЯ гипоталамуса [Шабатура Н.Н., 1989]. Между тем большинство исследователей рассматривает феномен инфрадианных ритмов в рамках инфрадианной модуляции суточных биоритмов. Следовательно, исчезновение суточной ритмичности в экспериментальных условиях неизбежно приведет и к снижению амплитуды вплоть до исчезновения биоритмов в инфрадианном диапазоне периодов. До настоящего времени не проводилось исследований по сопряженности циркадианных и инфрадианных ритмов, где бы в

длительном эксперименте на фоне свободнотекущего циркадианного ритма были бы исследованы параметры инфрадианных биоритмов.

Т.К. Бреус и соавт. [2002] впервые показали, что инфрадианные биологические ритмы сформировались эволюционно раньше, чем суточные. Как следует из проведенных ею исследований, организм недоношенных новорожденных детей обладает четко выраженным околонедельным ритмом основных функциональных показателей (частоты сердечных сокращений, артериального кровяного давления) с первой же недели после рождения. В то же время суточный ритм начинает проявляться только к концу первого месяца после рождения, и начинает доминировать только в конце пятого месяца жизни.

К настоящему моменту остается правомочной и экзогенная гипотеза возникновения инфрадианных ритмов. Согласно этой гипотезе инфрадианные ритмы формируются на основе реакции организма на комплекс ритмических воздействий факторов внешней среды, или же определяются одним физическим фактором, величина которого зависит от ритмических гелиогеофизических процессов. Также, окончательно нельзя отвергать, выдвинутую А.Л. Чижевским [1976] и рассмотренную М.В. Рагульской и С.М. Чибисовым [2011], версию о существовании ритмически проявляющегося Z-фактора неизвестной природы – низко энергетичного галактического фактора, который одновременно действует и на Солнце и на оболочки Земли, позволяя биосфере с опережением подстроиться под приход к Земле значительно более мощных вторичных вариаций факторов космической погоды. Основным аргументом в пользу экзогенного происхождения инфрадианных ритмов является соответствие периодов известных биоритмов ритмическим вариациям гелиогеофизических процессов: активности Солнца, секторной структуры межпланетного магнитного поля, электромагнитного поля Земли и др. [Владимирский Б.М. и соавт., 1995; Мартынюк В.С. и соавт., 2008; Jozsa R., 2005]. С точки зрения гипотезы экзогенных механизмов формирования

инфранианного диапазона биологических ритмов, они, очевидно, имеют адаптивный характер, также как суточные и сезонные биоритмы.

Наиболее признанной является экзогенно-эндогенная гипотеза формирования инфранианых ритмов, согласно которой инфранианые ритмы возникли в результате адаптации организмов к квазиритмическим условиям внешней среды, которые в эпоху формирования жизни на Земле были значительно более жесткими. В тот период на Солнце наблюдались более активные нестационарные процессы [Чибисов С.М. и соавт., 2013] и существенно большим было количество вспышек и их интенсивность, а также поток мягкого рентгеновского излучения. В дальнейшем инфранианые биоритмы, возможно, закрепились на генетическом уровне и стали выполнять системообразующие функции в организме, а их синхронизация, как на организменном, так и на популяционном уровнях, осуществляется внешними космофизическими воздействиями.

Гипотеза экзогенно-эндогенного формирования инфранианых биоритмов подтверждается работой Н.А. Темурьянц и А.В. Шехоткина [1999], в которой показано, что после эпифизэктомии у крыс наблюдается изменение фазы, но не периодов инфранианых биоритмов ряда показателей поведения в тесте «открытое поле», что указывает на участие эпифиза в синхронизации биоритмов в широком диапазоне периодов, включая не только циркадианые и сезонные, но и инфранианые.

Таким образом, можно предположить, что период инфранианых ритмов, как и циркадианых, эндогенно закреплён, а эпифиз выполняет функцию синхронизатора внутренних инфранианых биоритмов с внешними ритмическими воздействиями.

1.7. Внешние синхронизаторы инфранианых биоритмов

Влияние магнитных бурь и смены знака межпланетного магнитного поля на различные функциональные параметры организма убедительно доказано большим числом авторов, применявших с этой целью метод

наложения эпох [Чибисов С.М. и соавт., 1995; Рапопорт С.И. и соавт., 1998]. Однако в литературе практически отсутствуют исследования, в которых было бы установлено наличие статистически значимой корреляционной связи между динамикой ритмически изменяющихся биологических и гелиогеофизических параметров. Сторонники эндогенной гипотезы формирования инфрадианных биоритмов используют этот факт как еще одно доказательство своей правоты. Авторы, считающие, что инфрадианные ритмы имеют экзогенную природу, объясняют формирование инфрадианных биоритмов комплексным влиянием нескольких биотропных факторов космической погоды или существованием неизвестного или неучтенного строго ритмического фактора внешней среды. Если период инфрадианных ритмов генетически закреплён (эндогенен), а фаза синхронизируется не постоянно проявляющимся ритмически внешним воздействием, то это объясняет отсутствие строгой корреляционной связи между фазой инфрадианного биоритма и гелиогеофизического показателя. В этом случае отдельных моментов увеличения геофизических параметров достаточно для синхронизации биоритмов у подавляющего числа особей в популяции. Логично провести параллель со свойствами циркадианных биоритмов. Так у разных индивидов период циркадианного ритма варьирует, благодаря чему содержание животных в течение длительного времени в условиях световой депривации приводит к рассогласованию фаз циркадианных ритмов у разных особей, однако достаточно одной вспышки света, чтобы эти ритмы синхронизировались [Уинфри А.Т., 1990]. Показано, что однократное световое воздействие на животного пребывающего длительное время в темноте может сместить фазу циркадианного биоритма на несколько часов, тогда как повторное световое воздействие, даже через несколько часов не способно сдвинуть фазу биоритма. Следующая вспышка света, способная повлиять на фазу циркадианного ритма, может быть применена только по прошествии периода, сопоставимого с сутками

[Питтендрих К., 1984]. В этом заключается явление захвата циркадианного ритма суточным режимом смены дня и ночи. Таким образом, если считать сопоставимыми механизмы формирования суточных и инфрадианных биоритмов, то внешний фактор оказывает синхронизирующее действие на инфрадианные биоритмы только если он действует в относительно короткий временной период, соответствующий чувствительной к нему фазе биоритма. Воздействие внешнего синхронизирующего фактора в период, соответствующий не чувствительной к нему фазе ритма, не оказывает влияние на фазу инфрадианного биоритма, а только приводит к отсутствию достоверной корреляционной связи между биологическим и внешним гелиогеофизическим параметром.

Конкретные синхронизаторы (датчики времени) для инфрадианных биоритмов до настоящего момента не установлены. Предполагают, что синхронизаторами биоритмов в инфрадианном диапазоне периодов являются вариации природного электромагнитного фона, генерирующиеся гелиогеофизическими процессами [Темурьянц Н.А. и соавт., 1992; Бреус Т.К., Рапопорт С.И., 2003; Александров В.В. 2005; Мартынюк В.С. и соавт, 2006]. Другими авторами разрабатывается концепция, согласно которой датчиками времени являются вариации гравитации, обусловленные движением Луны вокруг Земли [Дубров А.П. 1990; Гедерим В.В. и соавт., 2001; Василик П.В., Василега А.Г., 2004].

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 [1964]. При трансмеридианном перемещении крабов, уже через две недели, их двигательная активность синхронизировалась по фазе с силой прилива в том месте, куда они были перевезены. В аналогичном эксперименте у

устриц выявлена синхронизация максимального раскрытия створок раковины с фазой прилива.

В настоящее 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 Б.М. и соавт., 1995; Сорока С.А., 2001; Белишева Н.К. и соавт., 2005; Cherry N., 2002].

Одним из наиболее существенных внешних факторов, синхронизирующих инфранианые биоритмы, по мнению ряда исследователей, являются естественные электромагнитные поля [Мартынчук В.С., Темурьянц Н.А., 2009]. Ряд работ доказывает чувствительность эпифиза к электромагнитным полям, что указывает на возможное участие этого органа в синхронизации инфранианых биоритмов. Так при экспериментальном воздействии электромагнитным полем частотой 50 Гц и магнитной индукцией 100 мкТл у самцов крыс Вистар выявлено снижение продукции мелатонина эпифизом и уровня этого гормона в сыворотке крови, причем чувствительность эпифиза к электромагнитным полям с возрастом снижается [Selmaoui B., Touitou Y., 1999]. При естественных геомагнитных бурях, сопровождающихся изменением магнитной индукции в 100-200 нТл, также наблюдается снижение уровня мелатонина как у животных, так и у человека [Рапопорт С.И. и соавт., 1998; Weydah A. et al., 2001]. Таким образом, воздействие электромагнитным полем с интенсивностью выше естественных фоновых значений вызывает десинхронизацию биологических ритмов, в том числе в инфранианном диапазоне периодов [Мартынчук В.С. и соавт., 2006]. С.И. Рапопорт и Т.К. Бреус [2011] предполагают, что механизм воздействия слабых естественных электромагнитных полей на организм человека осуществляется через изменение гомеостаза ионов Ca^{2+} , являющихся регулятором цАМФ, который в свою очередь опосредует преобразование

серотонина в мелатонин, что в итоге приводит к подавлению продукции мелатонина.

В работе М.В. Рагульской и О.В. Хабаровой [2001] в динамике электрической проводимости кожи в акупунктурном эксперименте выявлены периоды в 3.9 и 12.0 сут. Аналогичные периодичности (4.1 и 6.1 сут) наблюдались в этот период в изменениях локального А-индекса, отражающего уровень геомагнитной активности.

Установлена связь среднесуточных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля, являющейся одним из наиболее значимых индексов магнитосферной активности, с ежесуточным количеством вызовов скорой помощи по поводу инфаркта миокарда [Бреус Т.К. и соавт., 1995]. По статистическим данным, показатели частоты развития обострений шизофрении и состояний острого психического возбуждения имеют периодичности 4.0 и 12.4 сут. и сопряжены с индексами геомагнитной активности [Самохвалов В.П., 1989].

Рядом исследователей высказывается мнение о возможной синхронизации биологических ритмов периодическими колебаниями интенсивности и частоты шумановских резонансных явлений в атмосфере, имеющих как суточную ритмичность, так вариации в инфранидном диапазоне периодов. Шумановским резонансом называется явление образования стоячих электромагнитных волн между поверхностью Земли и ионосферой. Максимальная интенсивность этих колебаний наблюдается на частоте 8 Гц и ее гармониках: 14, 20, 26, 33, 39 и 45 Гц. Важнейшими источниками радиоволн рассматриваемого диапазона являются процессы в магнитосфере и ближнем космосе, атмосферные электрические разряды (атмосферики) и электромагнитная эмиссия литосферы (при сейсмических явлениях). Предположение о возможности влияния этих волн на организм основывается на близости мод этих периодов к ритмам ЭЭГ. В последней работе А.Г. Колесника и соавт. [2013] установлена сопряженность изменений ЭЭГ и интенсивности шумановского резонанса. В работе

G. Mitsutake и соавт. [2005] исследовали влияние интенсивности шумановского резонанса на показатели артериального давления у людей. На основании различий в динамике показателей сердечно-сосудистой системы, характеризующих вегетативный статус, были выделены несколько групп волонтеров. Среднегрупповые значения показателей гемодинамики в дни с повышенным и нормальным уровнем шумановских резонансных явлений статистически значимо различались. В целом при увеличении интенсивности шумановского резонанса показатели артериального давления у 30 % волонтеров снижались, а у 5 % повышались. В работе N. Cherry [2002] обоснована роль мелатонина, как возможного посредника влияния шумановских резонансных явлений в ионосфере на организм.

Воздействие переменным магнитным полем с индукцией 50 нТл и частотой 8 Гц, являющейся основной резонансной частотой ионосферного волновода, вызывает изменения инфранианной ритмичности параметров симпатoadренальной системы у крыс и регенерации у планарий [Темурьянц Н.А. и соавт., 2012]. У животных разных индивидуально-типологических групп периодическое ежедневное воздействие переменного магнитного поля интенсивностью 50 нТл и частотой 8 Гц оказывает синхронизирующее действие на инфранианые ритмы физиологических процессов. При этом наиболее выраженная синхронизация была выявлена в динамике показателей активности сукцинатдегидрогеназы и α -глицерофосфатдегидрогеназы в лимфоцитах и нейтрофилах периферической крови [Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А., 2009].

Важным электромагнитным фактором внешней среды являются геомагнитные пульсации – короткопериодные колебания магнитного поля Земли. Особенность Pc1-пульсаций (период от 0,2 до 5 с), является то, что максимум их проявления отмечается в ранние утренние часы. Наиболее интенсивные пульсации наблюдаются, как правило, перед началом магнитных бурь, либо в фазе восстановления. Установлено, что в зимний период при геомагнитных бурях развивается аномально высокое число

инфарктов миокарда и в этот же сезон отмечается наибольшее число бурь, сопровождавшихся Pс1-пульсациями [Рапопорт С.И. и соавт., 2006].

На возможную роль пульсаций Pс2–4 частотой 0,1–0,006 Гц, как синхронизатора биоритмов указывалось в работе В.Г. Сидякина и соавт. [1983]. Эти колебания затухают при смене знака межпланетного магнитного поля, сопровождающей изменения солнечной активности [Николаев Ю.С. и соавт., 1982].

Таким образом, в лабораторных экспериментах получены убедительные доказательства влияния слабых искусственных электромагнитных полей на параметры суточных и инфранианых биоритмов.

При рассмотрении периодических гелиогеофизических процессов, как возможных синхронизаторов инфранианых, анализируются факторы, связанные с 27-суточным ритмом вращения Солнца, 6–7- и 13–14-суточными периодическими изменениями секторной структуры межпланетного магнитного поля. В динамике Ар-индекса, характеризующего планетарную геомагнитную активность, так же как и в изменениях других гелиогеофизических параметров преобладают периоды в 3.5, 7.0, 14–15 и 27–30 суток. Этот спектр не полностью совпадает с приведенными выше периодами инфранианых биоритмов. Анализ литературных данных по длине периодов инфранианых ритмов указывает, что большинство выявленных ритмичностей концентрируется в диапазонах 3–4, 6–7, 12–14, 21–24 и 28–30 суток. Этот факт требует более детального рассмотрения и указывает на возможное существование синхронизаторов иной природы.

Важным не электромагнитным фактором среды является показатель нейтронного монитора, определяемый у поверхности Земли и отражающий интенсивность галактических космических лучей, дошедших до атмосферы Земли. Галактические космические лучи представлены в основном протонами. В атмосфере они вызывают ионизацию, возникновение вторичных нуклонов. Показано, что колебания интенсивности

галактических космических лучей, в основном опосредованные солнечной активностью, влияют на погоду [Крымский Г.Ф., 2002]. Связь между показателем нейтронного счета у поверхности Земли и состоянием биологических систем была показана на клеточных культурах, периферической крови, микрофлоре и высших растениях [Белишева Н.К. и соавт., 2005; 2006]. Показатели нейтронного монитора имеют, как суточную, так и инфраниантные периодичности. Механизм действия на организмы галактических космических лучей не установлен. Однако в работе М.В. Винниченко и соавт. [2009] установлена статистически значимая корреляционная связь между изменениями свойств воды и вариациями интенсивности потоков заряженных частиц в околоземном пространстве.

В работе А.А. Негода и С.А. Сорока [2001] высказывается гипотеза о возможном влиянии солнечной активности на биологические объекты через акустический канал, а именно вариациями интенсивности инфразвука, имеющими в своем спектре как суточную, так и 12.5-, 23–24-, 31–32-суточные ритмичности.

Флуктуации атмосферного давления в области 0,01–0,1 Гц, имеющие около 5- и 12-суточную периодичности, коррелируют с показателями variability сердечного ритма [Delyukov A.A. et al., 2001]. Искусственное моделирование микрофлуктуаций атмосферного давления также изменяет вегетативный статус и variability сердечного ритма [Горго Ю.П., Дидык Л.А., 2010].

Уровень радиоактивности атмосферы колеблется в широком диапазоне периодов. Радиоактивность атмосферы изменяется за счет содержания в ней радиоактивного радона ^{222}Rn . Выход радона из земли в атмосферу увеличивается при геомагнитной и сейсмической активности. Магнитные бури могут вызывать увеличение его концентрации в разы. В динамике уровня радона в Москве зафиксирована выраженная 4-суточная ритмичность [Аптикаева О.И. и соавт., 2013].

1.8. Биоритмы морфофункционального состояния эндокринной системы

Суточные ритмы уровня гормонов в крови хорошо изучены. Установлено значительное повышение уровня глюкокортикоидных гормонов в крови непосредственно перед началом активности: у видов с дневной формой активности максимальные значения уровня кортикостерона регистрируются в ранние утренние, а у ночных животных в вечерние часы [Froy O., 2007; Kalsbeek A. et al., 2012]. Уровень мелатонина у всех животных повышается в ночные часы [Анисимов В.Н., 2012]. Мелатонин контролирует суточный ритм синтеза половых гормонов, максимальный уровень которых в крови наблюдается в первой половине дня. Максимальный уровень тиреоидных гормонов у дневных видов около полудня, а у ночных около полуночи [Wood S., Loudon A., 2014]. Суточные ритмы установлены в динамике уровня тиреотропного, лютеинизирующего, фолликулостимулирующего и аденокортикотропного гормонов гипофиза [Остин К., Шорт Р., 1987]. Выраженный суточный ритм у человека имеет также динамика уровня соматотропного гормона, с акрофазой около 3 ч, альдостерона – 6 ч, инсулина – 16 ч, паратгормона – около полуночи [Дедов И.И., Дедов В.И., 1992].

Суточная ритмичность синтеза и выделения гормонов отражается и на структуре эндокринных желез. Так Кириллов О.И. [1996] установил, что динамика объема ядер клеток клубочковой и пучковой зон коры надпочечников имеет суточные колебания. Этот показатель является максимальным в начале темновой фазы и уменьшается в световой период, что соответствует колебаниям у крыс секреции альдостерона и кортикостерона надпочечниками. Суточный ритм митозов, напротив, характеризуется максимальными значениями в световой и низкими в темновой фазах, при этом в клубочковой зоне высокий уровень митозов поддерживается дольше, чем в пучковой.

В динамике уровня некоторых гормонов установлены и инфрадианные биоритмы. С. Maschke и соавт. [2003], исследовавшие инфрадианные ритмы ночной экскреции с мочей катехоламинов и стероидов у лиц в условиях хронического стресса выявили около 4.2-суточные колебания уровня адреналина и норадреналина, и около 4.7-суточные периодические изменения уровня свободного кортизола. В динамике уровня кортизола в слюне первоклассников, адаптирующихся к обучению в школе, обнаружена 3–4-суточная периодичность [Ермакова И.В., 2002]. Уровень тестостерона в слюне у мальчиков и юношей в возрасте 4–28 лет также имеет 3.5–4.5-суточные колебания [Пронина Т.С., 1992].

Проявления волнообразности адаптационного процесса в неспецифических и специфических реакциях организма на стрессовые воздействия были описаны С.И. Степановой [1986]. На основе этих данных автором был сформулирован принцип волнообразности адаптационного процесса, как неперенное условие качественной устойчивой живой системы. Необходимо отметить, что волнообразность изменения функциональных параметров организма при адаптации наблюдается, не только после начала воздействия стресс-фактора, что очевидно, но и в отдаленные сроки. Так в работе В.Г. Селятицкой и Л.А. Обухова [2001], исследовавших долговременную адаптацию крыс к холоду, было показано, что выраженные колебания уровня кортикостерона в крови животных наблюдались и на втором месяце эксперимента.

Если рассматривать жизнь организма, как постоянную адаптацию к условиям окружающей среды, то можно предположить, что и в отсутствие экстремального воздействия, в динамике уровня глюкокортикоидных гормонов должна существовать инфрадианная ритмичность. Так около 4-суточный ритм уровня кортикостерона установлен у крыс [Jozsa R. et al., 2005]. Около 4-суточная периодичность установлена у человека в экскреции с мочой 17-оксикетостероидов [Mori K. et. al., 1985]. В динамике уровня мелатонина у крыс был выявлен около 3.5-суточный инфрадианный

биоритм, однако исследование этого биоритма были непродолжительными [Olah A. et al., 2008].

В исследовании на крысах показана ритмичность процессов метаболизма насильственно введенного алкоголя с периодом 6 суток, которая зависела от основного обмена и, в частности, от уровня тироксина [Li J. et al., 2000].

Кроме около 4-суточных инфрадианных биоритмов в динамике экскреции с мочой у мужчин метаболитов кортикостероидов, адреналина и тестостерона установлены и 21–24-суточные ритмичности [Сушко Е.П., 1982; Doebling C.H. et al., 1975].

Таким образом, представленные данные подтверждают достоверное существование у экспериментальных животных и человека инфрадианных ритмов гормональной активности в инфрадианном диапазоне периодов. Однако эти литературные данные немногочисленны и фрагментарны, что не позволяет сформировать комплексное представление о их периодичности, взаимосвязи друг с другом и универсальном проявлении у разных особей и видов.

1.9. Биоритмы морфофункционального состояния иммунной системы

Функциональная морфология иммунной системы чрезвычайно динамична. В органах иммунной системы выражены изменения процессов пролиферации, дифференцировки, миграции и апоптоза лимфоцитов. Это сопровождается изменением метаболизма иммунокомпетентных клеток, экспрессии рецепторов, продукции цитокинов и других молекул межклеточного взаимодействия. Несмотря на стойкие связи между отдельными компонентами (звеньями) иммунной системы, обеспечивающими стабильность этих процессов, ее морфофункциональное состояние модулируется нервной и эндокринной системой. Эти регуляторные механизмы направлены на поддержание оптимального функционального состояния иммунитета в соответствии с внутренним

состоянием особи и внешними условиями среды обитания. Более того, только ритмическая согласованность функционирования всех компонентов иммунной системы обеспечивает надежность ее работы, что подтверждается рядом данных, указывающих на нарушение временных закономерностей реактивности иммунной системы при ее патологии [Труфакин В.А. и соавт., 2005]. В частности, у больных с вторичным иммунодефицитным состоянием выявлено изменение суточной динамики реакции лимфоцитов крови на гормоны тимуса и коры надпочечника [Труфакин В.А. и соавт., 1995]. В работе Ю.И. Бородина и соавт. [1992] было установлено, что суточные ритмы морфоцитохимических параметров клеток иммунной системы у аутоиммунных мышей NZB и Swiss нарушаются раньше, чем возникают проявления аутоиммунного процесса.

Суточные биоритмы иммунологических показателей хорошо изучены. Установлено наличие суточных вариаций субпопуляционного состава лимфоцитов в лимфоидных органах и крови, пролиферации и метаболизма лимфоцитов, продукции цитокинов и уровня гуморального иммунного ответа [Литвиненко Г.И., 1998]. У мышей более высокий пролиферативный потенциал иммунокомпетентных клеток тимуса и селезенки наблюдается в утренние часы, тогда как продукция ИФН γ и ИЛ-2 лимфоидными клетками, выделенными из этих органов и стимулированными конканавалином А, имеет максимальные значения в вечерние часы [Ковшик И.Г. и соавт., 2007]. У человека максимальные значения уровня провоспалительных цитокинов регистрируется в ночные и ранние утренние часы. Около полудня отмечается резкое снижение уровня провоспалительных цитокинов в крови, связанное с предшествующим этому событию утренним подъемом уровня кортизола, угнетающим воспалительные реакции [Straub R.H., Cutolo M., 2007]. Максимальное число и активность НК-клеток в кровотоке выявляется в утренние часы, тогда как ночью наблюдается подъем индекса Т-хелперы/Т-супрессорно-цитотоксические лимфоциты (Тх/Тц) [Lévi F.A. et al., 1988; Suzuki S. et al., 1997; Lissoni P. et al., 1998]. Динамика

морфофункционального состояния органов иммунной системы у лабораторных животных также имеет суточную периодичность. Так С.В. Мичуриной и соавт. [2005] установлено, что в дневные часы (15:00), по сравнению с утренними (10:00) и вечерними (19:00), объемная плотность коркового вещества регионарного лимфатического узла печени максимальна, а мозгового – минимальна. Г.И. Литвиненко и соавт. [2000] установила суточные вариации показателя числа лимфоидных клеток в тимусе и селезенке. Так общее число тимоцитов снижается в период с 10:00 до 15:00 и достигает максимума к 20:00. Показатели числа тимоцитов в период батифазы (15:00) и акрофазы (20:00) различаются примерно в 4 раза. Минимальное число мононуклеаров в селезенке наблюдается в утренние часы, а к вечеру их численность повышается примерно в 3 раза.

Интересен, с точки зрения терапии тот факт, что воздействие экспериментального фактора в зависимости от времени суток, приводит к реакции иммунной системы, варьирующей в широком диапазоне [Ковшик И.Г. и соавт., 2004]. Так на основании изменения клеточного состава лимфоидных органов у самок крыс с экспериментальным острым воспалением внутренних половых органов было установлено, что введение интерферона-гамма в вечернее время в большей степени стимулирует иммунные процессы [Шурлыгина А.В. и соавт., 2008], что вероятно объясняется совпадением времени введения цитокина с акрофазой его суточного ритма [Arjona A. et al., 2004], которая у крыс и мышей приходится на вечерне-ночные часы. Также установлено хронозависимое влияние введения ИЛ-2 на соотношение субпопуляций тимоцитов у мышей [Шурлыгина А.В. и соавт., 2000].

Основными гормонами, модулирующими и синхронизирующими ритмические изменения иммунной системы в соответствии с внешними факторами, являются мелатонин и кортикостерон. Влияние мелатонина на иммунную систему обусловлено, как прямым воздействием через специфические рецепторы MT1, MT2 и MT3, так и опосредованным через

модуляцию выработки кортикостероидов корой надпочечников, а также мобилизацию опиоидных механизмов [Рапопорт С.И., Голиченков В.А., 2009].

К настоящему моменту рецепторы к мелатонину выявлены на мембранах лимфоцитов периферической крови у млекопитающих и человека [Calvo J.R. et al., 1995; Macchi M.M., Bruce J.N., 2004], а также на иммунокомпетентных клетках тимуса и селезенки [Martin-Casao A. et al., 1993; Raffi-El-Idrissi M. et al., 1995]. Т-хелперы экспрессируют мембранные и, возможно, ядерные рецепторы к мелатонину. Как *in vivo*, при экзогенном введении животным, так и *in vitro* мелатонин стимулирует продукцию цитокинов лимфоцитами крови и иммунокомпетентными клетками селезенки [Withyachumnarnkul B. et al., 1990]. Активизация иммунных клеток мелатонином обусловлена его стимулирующим действием на продукцию внутриклеточного цАМФ [Raffi-El-Idrissi M. et al., 1995].

Введение мелатонина животным стимулирует лимфопоэз в костном мозге [Maestroni G.J.M., 1996], как за счет активации Т лимфоцитов хелперов в костном мозге, так и за счет снижения уровня глюкокортикоидных гормонов, подавляющих пролиферацию лимфоидных клеток. Установлено, что мелатонин *in vitro* стимулирует секрецию ИЛ-2 и ИЛ-6 моноцитами человека [Morrey M.K. et al., 1994]. Эпифизэктомия у мышей приводит к снижению уровня ИЛ-2 и активности НК-клеток [del Gobbo V. et al., 1989].

Необходимо отметить, что и иммунная система по принципу обратных связей влияет на нервные и эндокринные процессы в организме. Примером этого может служить установленный факт стимуляции гамма-интерфероном продукции мелатонина эпифизом [Withyachumnarnkul B., et al., 1990].

Глюкокортикоидные гормоны подавляют пролиферативные процессы в лимфоидных органах. Также они оказывают ингибирующее действие на

синтез провоспалительных цитокинов как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне [Almawi W.Y. et al., 2002].

На основании вышеизложенного, можно утверждать, что мелатонин и глюкокортикоиды имеют противоположное действие на иммунную систему, и оптимальное состояние иммунной системы во-многом зависит от баланса этих гормонов.

P. Deprés-Brummer и соавт. [1997] было показано, что при содержании крыс в условиях постоянного освещения на фоне нарушения суточных ритмов уровня катехоламинов в плазме крови, двигательной активности и температуры тела сохраняется ритмическая функциональная активность Т-лимфоцитов. Авторы сделали вывод об относительной автономности суточных ритмов функционирования иммунной системы.

Исследования инфрадианных ритмов иммунной системы ограничиваются единичными работами. Так в работе Т.П. Рябых [1996] у лабораторных мышей были установлены инфрадианные 4-суточные ритмические колебания числа лейкоцитов в периферической крови и около недельная периодичность изменения абсолютного количества лимфоидных клеток в тимусе. В.С. Мартынюк и Н.А. Темурьянц [2009] выявили в динамике активности сукцинатдегидрогеназы и α -глицерофосфатдегидрогеназы лимфоцитов крыс спектр инфрадианных ритмов основные ритмичности которого имели период в 3–4, 7–9 и 14 сут. В то же время в динамике функционального состояния нейтрофилов периферической крови крыс, оцениваемого по активности в этих клетках сукцинатдегидрогеназы, были установлены около 4-, 8- и 12-суточные биоритмы.

Данные об инфрадианной периодичности показателей функционирования иммунной системы необходимы для адекватной диагностики и терапии иммунологических и онкологических заболеваний. Так R.S. Dronca и соавт. [2012] выявили у больных метастазирующей меланомой инфрадианные биоритмы как в динамике числа Т-регуляторных клеток, так и цитокинов – ИЛ-1 рецепторного антагониста и ИЛ-12p70. Так

как установленные инфрадианные ритмы иммунной системы прогнозируемы, авторы обосновывают необходимость проведения химиотерапии с учетом этих биоритмов.

Таким образом, можно предположить, что наряду с установленным в ряде исследований периодом внутри суток, отличающегося наибольшей чувствительностью к терапевтического воздействию, существует и аналогичный временной интервал в рамках инфрадианных биоритмов морфофункционального состояния иммунной системы, учет которого поможет снизить терапевтические дозы применяемых лекарственных препаратов и минимизирует их побочные эффекты.

1.10. Практическая значимость исследований биоритмов у человека

Благодаря достижению определенных успехов в области хронобиологии сформировалось ее отдельное направление – хрономедицина. В нашей стране хрономедицина сформировалась на основе работ, таких выдающихся исследователей как, Ф.И. Комаров, С.И. Рапопорт, М.А. Бланк [2000], Р.М. Заславская [2012] и др. Задачей хрономедицины является разработка наиболее эффективных схем лечения на основе данных об особенностях временной организации организма в норме и при патологических состояниях.

В хрономедицине выделяются такие направления как: хронопатология, хронофармакология, хронодиагностика и хронопрофилактика. Р.М. Заславская и соавт. [2010] показали эффективность хронобиологического подхода в терапии пациентов с ишемией миокарда и метаболическим синдромом. Доказана эффективность применения хронотерапевтического подхода при коррекции артериальной гипертензии [Щербань Э.А. и соавт., 2011]. Хронобиологический подход используется и в ревматологии. Так учет временных характеристик изменения уровня кортизола повышает эффективность иммуносупрессивной терапии. Назначение преднизолона больным ревматоидным артритом в ночные часы

приводит к достоверно более выраженному снижению синдрома утренней скованности, болевых ощущений и концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови по сравнению с таковыми при стандартной схеме лечения [Straub R.H., Cutolo M., 2007]. Однако, необходимо предостеречь от неоправданного извращения суточных ритмов, по мнению большинства исследователей хронотерапевтическая коррекция подразумевает восстановление ритмичности, свойственной здоровому организму.

Таким образом, знание особенностей биологической временной организации функций организма дает в руки врача новый инструмент для оценки состояния здоровья пациента и позволяет выделить изменения, характерные для патологии, на ранних стадиях процесса. Для клинической и экспериментальной медицины важно учитывать, что экспериментальные исследования и обследование людей следует проводить в строго определенные временные интервалы суток, сравнивать между собой данные сезонных обследований, поскольку функция и метаболизм живого организма имеют строгую организацию во времени.

Полученные убедительные данные о инфрадианных ритмах интегративных систем организма (эндокринной и иммунной), указывают на необходимость учета параметров и этих биоритмов, как в экспериментальной работе, так и в клинической практике. Однако пока эту необходимость отмечают в небольшом числе работ [Рябых Т.П., 1996; Focan C. et al., 1995; Halberg F. et al., 2008; Dronca R.S. et al., 2012].

Заключение

Биологические ритмы выявляются на всех уровнях организации живой материи – от молекулярного до популяционного и биосферного. В зависимости от длины периода биологические ритмы классифицируются на ультрадианные с длиной периода менее 20 часов, циркадианные – от 20 до 28 часов, инфрадианные – от 28 часов до 30 дней, сезонные и многолетние. Физиологическое состояние организма характеризуется всем спектром

биологических ритмов, имеющих между собой фазовые соответствия, что обеспечивает оптимальный режим функционирования.

Наиболее изученными являются циркадианные биоритмы, сформировавшиеся в результате адаптации организма к условиям периодической смены дня и ночи. Установлены основные закономерности проявления циркадианных биоритмов, их видовая и индивидуальная специфичность. Для разных классов животных показана универсальность и генетическая детерминированность циркадианных биоритмов, что доказывает эндогенную природу циркадианной системы организма.

Данные о закономерностях суточных ритмов организма человека послужили основой для новых направлений хронобиологии – хронотерапии, хронодиагностики, хронофармакологии, хронопрофилактики.

Однако до настоящего момента в медицине учитываются только суточные биоритмы, тогда как многие исследователи указывают на необходимость учета и инфрадианных биоритмов, имеющих зачастую больший диапазон изменений, чем суточные.

Инфрадианные биоритмы установлены у человека и лабораторных животных в динамике ряда физиологических параметров: локомоторной активности, темпах роста, основного обмена, сердечно-сосудистой и дыхательной системы. Однако, данные литературы по инфрадианным биоритмам эндокринной системы ограничены небольшим числом работ, в которых отражены периодические изменения уровня глюкокортикоидных гормонов и тестостерона у человека и животных и гормонов щитовидной железы у крыс. Инфрадианным биоритмам иммунной системы посвящено несколько работ, в которых показана ритмичность изменения абсолютного числа лейкоцитов в периферической крови и числа лимфоидных клеток в тимусе.

Таким образом, имеющиеся к настоящему моменту исследования инфрадианных биоритмов морфофункционального состояния эндокринной и иммунной системы не дают систематизированного представления об их

периодичности, универсальности и механизмах формирования – эндогенных и/или экзогенных. Вопрос об универсальном характере инфрадианных биоритмов остается открытым, так как одновременного исследования ее динамики у животных разных видов не проводилось. Не установлены и факторы, синхронизирующие инфрадианные биоритмы, как на организменном, так и на популяционном уровне организации.

Ритмические изменения функциональной активности организма и его систем сопряжены со структурными изменениями органов и тканей, поэтому для объективизации результатов исследования пространственно-временной организации биологических систем требуется комплексная оценка динамики структурных и функциональных изменений.

Таким образом, исследование в течение длительных временных интервалов динамики морфофункциональных изменений эндокринной и иммунной системы в инфрадианном диапазоне биоритмов у экспериментальных животных и человека является, несомненно, актуальным.

ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования

2.1. Материал исследования

Работа по изучению инфрадианных биоритмов морфофункционального состояния иммунной и эндокринной системы с целью установления их универсального характера выполнена на материале, полученном у людей, крыс и птиц. Исследование проводилось в разные сезоны в течение 7 лет с 2007 по 2014 гг. Общая характеристика материала исследования представлена в таблице 1.

Таблица 1. Общая характеристика материала исследования

Вид	Количество
Крысы	1680
Человек	14
Перепела	538

Общая характеристика исследования инфрадианных ритмов у самцов крыс Вистар, с указанием периода исследования, численности и возраста животных и определяемых параметров, представлена в таблице 2.

Таблица 2. Характеристика экспериментальных исследований, выполненных на самцах крыс Вистар

Экспериментальное исследование	Временные периоды	Число животных, возраст	Исследованные параметры
Популяционные биоритмы	17–29 марта 2011	104, 3–4 мес	зоны селезенки, МИ, Кс, Тс, цитокины, число спленоцитов, нейтрофилы
	11–27 сентября 2011	92, 3–4 мес	МИ, Кс, Тс, число спленоцитов и тимоцитов
	16 октября – 2 ноября 2012	80, 3–4 мес	зоны тимуса и надпочечника, тучные клетки, МИ, Кс, Тс, число спленоцитов и фенотип тимоцитов,
	3–23 января 2012	126, 3–4 мес	МИ, Кс, Мт, число спленоцитов и тимоцитов
Индивидуальные биоритмы	28 января – 6 февраля 2009	8, 3–4 мес	Тс
	13–21 мая 2011	7, 3–4 мес	Кс, Тс
	3–16 июля 2011	6, 3–4 мес	Кс, Тс
	8–20 октября 2011	9, 3–4 мес	Кс, Тс, нейтрофилы
	16–27 октября 2012	7, 3–4 мес	Кс, Мт
Оценка влияния ежедневного легкого эфирного наркоза	3 – 15 января 2012	7, 3–4 мес	Кс
Возрастные особенности инфрадианных биоритмов	10–16 июля, 6–11 декабря 2011; 9–15 марта 2012; 18 июня–16 июля 2013; 21–31 января, 17–20 февраля, 1–5 марта 2014.	526, 3–5 мес	МИ
	1–10 марта, 18 июня – 16 июля, 11–20 августа, 3–12 декабря 2013; 27 января–8 февраля 2014.	386, 1.5–2.5 мес	
Световая депривация	3–12 декабря 2013 г.	60, 35–45 сут	МИ, двигательная активность
Постоянное яркое освещение	27 января – 8 февраля 2014 г.	78, 45–55 сут	МИ, двигательная активность
Постоянное неяркое освещение	31 декабря 2013 г.– 4 января 2014 г.	25, 2.5 мес	МИ, двигательная активность
	21–31 января 2014 г.	55, 3 мес	МИ, двигательная активность
	17–20 февраля 2014 г.	20, 4 мес	МИ, двигательная активность
Тяжесть СВО	6–17 января 2012 г.	84, 3–4 мес	морфология печени, СРБ, АЛТ, АСТ

Условные обозначения: МИ – митотический индекс, Кс – кортикостерон, Тс – тестостерон, Мт – мелатонин.

Детальная схема проведения экспериментов на самцах крыс Вистар представлена в соответствующих разделах работы главы 3 «Результаты собственных исследований»

Общие данные об исследованиях проведенных на человеке с указанием временных периодов, пола, числа обследованных и исследованных параметров представлены в таблице 3.

Таблица 3. Характеристика исследований, выполненных на человеке

Временные периоды	Число индивидов, пол, возраст	Исследованные параметры
9 – 29 декабря 2007 г.	1 муж; 28 лет	Кортизол
3 – 30 сентября 2008 г.	2 муж; 29 лет	Тестостерон
7 – 26 декабря 2009 г.	1 муж; 30 лет	Кортизол
10 – 25 марта 2010 г.	3 муж; 24–30 лет	Кортизол, тестостерон
2 – 22 июня 2010 г.	8 муж; 24–30 лет	Кортизол, тестостерон, уровень ИЛ-2, рецепторного антагониста ИЛ-1, иммунорегуляторный индекс, НК-клетки в периферической крови
29 сентября – 17 октября 2010 г.	6 муж; 24–30 лет	Кортизол, тестостерон, продукция цитокинов ИЛ-2, ИЛ-10, ИФН γ клетками крови, активированными митогеном, иммунорегуляторный индекс
2 – 24 декабря 2010 г.	3 муж; 24–30 лет	Кортизол, тестостерон
1 – 27 декабря 2011 г.	6 жен; 23–33 лет	Кортизол

Детальная схема проведения исследования у человека представлена в соответствующих разделах работы главы 3 «Результаты собственных исследований»

Общая характеристика исследования инфрадианных ритмов у птиц (*Coturnix japonica*) с указанием периода исследования, численности, пола, и возраста животных и определяемых параметров представлены в таблице 4.

Таблица 4. Характеристика экспериментальных исследований, выполненных на перепелах

Экспериментальное исследование	Временные периоды	Число животных, пол, возраст	Исследованные параметры
Популяционные биоритмы	26 июля – 16 августа 2012 г.	154, самцы 2.5–3 мес	митотический индекс эпителия пищевода
Индивидуальные биоритмы	1 – 16 августа 2012 г.	9, самцы 2.5–3 мес	Кортикостерон Тироксин,
Возрастные особенности инфрадианных биоритмов	18 июня – 16 июля 2013 г.	145, Самцы 4–6 мес	митотический индекс эпителия пищевода
		145, самцы 1.5–2.5 мес	
	18 июня – 4 июля 2013 г.	85, самки 4–6 мес	

Детальная схема проведения экспериментов на японских перепелах представлена в соответствующих разделах работы главы 3 «Результаты собственных исследований»

2.2. Методы исследования

Гематологические

Подсчет числа лейкоцитов в периферической крови и в клеточных суспензиях селезенки и тимуса проводили с помощью гематологического анализатора «МЕК-6400» фирмы «Nihon Cohden» (Япония).

Процентное содержание нейтрофилов в периферической крови оценивали в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе, при увеличении 900.

Гистологические и морфометрические

Левый надпочечник каждого животного фиксировали в жидкости Буэна. Изготавливали ступенчатые гистологические срезы толщиной 5–7 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином. Для морфометрической оценки использовали 3–5 срезов с наибольшим диаметром.

Фрагменты среднего отдела пищевода и роговицу фиксировали в жидкости Карнуа в течение 2 ч. Фрагменты пищевода заливали в парафин, изготавливали продольно ориентированные гистологические срезы толщиной 5–7 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином. Число митозов подсчитывали на 5000–10000 клеток базального слоя эпителия при увеличении 600, затем вычисляли митотический индекс равный количеству митозов на 1000 клеток базального слоя. Определение митотического индекса эпителия роговицы проводили в тотальных препаратах, рассеченных на 4 сектора и окрашенных гематоксилином.

Селезенку и тимус фиксировали в жидкости Буэна в течение 24 ч, затем проводили по спиртам восходящей концентрации и заливали в парафин. Изготавливали гистологические срезы, окрашивали их гематоксилином и эозином. В гистологических срезах селезенки и тимуса методом точечного счета оценивали объемную долю функциональных зон под световым микроскопом при увеличении 200.

Кусочки правой доли печени фиксировали в жидкости Буэна, заливали в парафин, изготавливали гистологические срезы, окрашивали их гематоксилином и эозином. Выраженность патологических изменений в печени оценивали слепым методом полуколичественно в баллах по шкале: 0 баллов – дистрофических изменений нет; 0,5 баллов – дистрофические изменения менее 30% гепатоцитов; 1 балл – дистрофические изменения 30-60% гепатоцитов; 2 балла – дистрофические изменения более 60% гепатоцитов; 3 балла – тотальная дистрофия гепатоцитов; 4 балла – тотальная дистрофия и единичные очаговые некрозы; 5 баллов – обширные некрозы.

Гистохимические

С целью исследования динамики цитофизиологического состояния тучных клеток дермы проводили забор фрагментов кожи в поясничной области спины. Фиксацию материала осуществляли в течение 2 ч в жидкости Карнуа. Цитофизиологическую оценку тучных клеток проводили в гистологических препаратах дермы, окрашенных толуидиновым синим рН 2.0 [Lee T.D. et al., 1985]. В цитограмме определяли по Д.П. Линднер и соавт. [1980] следующие виды клеток: очень темные клетки – очень плотно заполненные метакроматическими гранулами, так что в них неразличимы ни отдельные гранулы, ни ядро; темные клетки – плотно заполненные метакроматическими гранулами, при этом в них различимы ядро и отдельные гранулы; светлые клетки – рыхло заполненные хорошо различимыми гранулами и с отчетливо различаемым ядром; очень светлые клетки – с небольшим количеством слабо метакроматических гранул. Для определения насыщенности гранул тучных клеток секреторным материалом, использовали средний гистохимический коэффициент (СГК), вычисляемый по формуле: $СГК = [(\text{процентное содержание очень темных тучных клеток}) \times 3 + (\text{процентное содержание темных клеток}) \times 2 + (\text{процентное содержание светлых клеток}) \times 1 + (\text{процентное содержание очень светлых клеток}) \times 0] / 100$ [Яглова Н.В., Яглов В.В., 2012].

Физиологические

Динамику локомоторной активности крыс регистрировали с помощью разработанной К.Л. Кравченко и соавт. [2013] системы, состоящей из камеры, персонального компьютера и программы анализа последовательных изображений на количество пикселей, изменивших свою интенсивность за определенный интервал времени. Показатели локомоторной активности были представлены в виде условных единиц, соответствующих доле пикселей в выделенной области регистрации движения, изменивших свою интенсивность в интервале 10 сек.

Культуральные

Для оценки способности клеток периферической крови мужчин к синтезу цитокинов после митогенной стимуляции использовали коммерческий набор «Цитокин-Стимул-Бест» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Кровь с ЭДТА разбавляли в 5 раз стерильной поддерживающей средой DMEM содержащей гепарин (2,5 ЕД/мл), гентамицин (100 мкг/мл) и L-глутамин (0,6 мг/мл). Смесь митогенов, содержащую ФГА-М, ФГА-П, Кон-А и ЛПС в соотношении 2:2:2:1, добавляли в исследуемый образец разбавленной крови в конечной суммарной концентрации – 14 мкг/мл. Затем в течение суток образец инкубировали при 37 °С в CO₂-инкубаторе. Супернатант хранили не более месяца при температуре -40 °С.

Клетки селезенки крыс выделяли с помощью гомогенизатора Поттера. Для индукции синтеза и секреции цитокинов суспензию клеток селезенки, содержащую 5×10^6 клеток на 1 мл, культивировали в ростовой среде с 5% фетальной сыворотки и добавлением конканавалина А в конечной концентрации 5 мкг/мл в CO₂-инкубаторе при 37 °С в течение суток. Образцы супернатанта хранили не более 6 мес при температуре -70 °С.

Метод иммуноферментного анализа

Уровень кортизола и тестостерона в сыворотке крови человека определяли ИФА наборами «DRG» (Германия); ИЛ-2 и ИЛ-1РА – «Bender MedSystems» (Австрия). В супернатантах концентрацию цитокинов ИФН γ , ИЛ-2, ИЛ-10 определяли с использованием наборов «Bender MedSystems» (Австрия).

Уровень кортикостерона и неоптерина в сыворотке крови крыс определяли ИФА наборами «IBL» (Германия); тестостерона – «DBC» (Канада); TGF- β 1 – «Bender MedSystems» (Австрия); мелатонина и С-реактивного белка – «Cusabio biotech co., LTD» (Китай). Концентрацию цитокинов ИЛ-2, -4, -6, -10, ФНО- α , ИФН γ в супернатантах определяли ИФА наборами «Bender MedSystems» (Австрия).

Уровень кортикостерона и тироксина у перепелов в сыворотке крови определяли ИФА-наборами реактивов от компании «Cusabio biotech co., LTD» (Китай) и «Monobind Inc.» (США), соответственно.

Для регистрации результата использовали микропланшетный ИФА анализатор «ANTHOS 2010» (Австрия).

Биохимический

С целью оценки тяжести поражения печени в сыворотке крови определяли активность индикаторных ферментов аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ). Использовали наборы реактивов «Diagnostic Systems» Gmbh (Германия). Измерения проводили на биохимическом анализаторе «Clima-15» (Испания).

Проточной цитофлуориметрии

Процентное содержание НК-клеток (CD3 $^{-}$ CD56 $^{+}$) и иммунорегуляторный индекс Тх/Тц (CD3 $^{+}$ CD4 $^{+}$ / CD3 $^{+}$ CD8 $^{+}$) лимфоцитов периферической крови человека определяли на проточном цитофлуориметра

«Cytomics FC-500» фирмы «Beckman Coulter» (США) с использованием меченных четырехцветных антител «eBioscience» (Австрия).

Для фенотипического определения состава лимфоцитов тимуса у крыс клетки выделяли с помощью гомогенизатора Поттера. Процентное содержание $CD3^+$; $CD4^+$; $CD8^+$ тимоцитов определяли с помощью проточного цитофлюориметра Cytomics FC500 «Beckman Coulter» (США) с использованием меченных антител «eBioscience» (Австрия).

Радиоизотопный

С целью оценки пролиферативной активности тимуса клетки в концентрации $2 \cdot 10^6$ /мл в среде 1640 с добавлением 5%-ной фетальной сыворотки вносили в лунки планшета по 100 мкл и вводили 100 мкл среды, содержащей 3H -тимидин с активностью 1 мкCi. Планшет помещали на 4 ч в CO_2 -инкубатор. После этого клетки снимали на фильтры при помощи харвестера. Включение метки 3H -тимидина оценивали на β -спектрометре «LKB» (Финляндия).

Статистические

Для оценки корреляционных связей митотической активности с динамикой гелиогеофизических параметров (A_p -индекс, среднесуточное значение V_z -компоненты межпланетного магнитного поля) использованы данные, представленные на сайтах Института земного магнетизма, ионосферы и распространения радиоволн им. Н.В. Пушкова РАН www.izmiran.rssi.ru и службы Солнца (США) www.swpc.noaa.gov.

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя программу «Statistica 6.0» и «SigmaStat». Характер распределения полученных данных определяли по критерию Колмогорова-Смирнова. Данные выражали в виде медианы и интерквартильного размаха Me ($LQ(25\%)$ – $UQ(75\%)$). Для установления достоверности различий между показателями, в зависимости от характера распределения полученных

данных использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, критерии множественного сравнения Крускала-Уоллиса, Данна, использовали факториальный анализ ANOVA. Для определения периодов биоритмов вычисляли коэффициент автокорреляции. Оценку параметров индивидуальных биоритмов проводили методом косинор-анализа с использованием программы Cosinor-Analysis 2.4 for Excel 2000/XP. Для выявления статистической значимости различий исследуемых показателей в акрофазе и батифазе инфрадианных биоритмов был применен метод наложенных эпох [Дещеревский А.В., Лукк А.А., 2002]. С целью установления корреляционных связей вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

ГЛАВА 3. Результаты собственных исследований

3.1. Динамические морфофункциональные изменения эндокринной системы в инфрадианном диапазоне биоритмов у экспериментальных животных и человека

Основными гормонами, отвечающими за адаптивные реакции организма к периодически изменяющимся внешним условиям среды, являются глюкокортикоиды и мелатонин [Дедов И.И., Дедов В.И., 1992]. Эти гормоны обуславливают согласование жизнедеятельности организма с сезонными и суточным ритмами освещения [Ашофф Ю., 1984]. Резкое повышение уровня кортикостерона в крови наблюдается непосредственно перед началом активности: у видов с дневной формой активности максимальные значения уровня кортикостерона регистрируются в ранние утренние, а у ночных животных в вечерние часы [Froy O., 2007; Kalsbeek A. et al., 2012]. Уровень мелатонина, также имеет выраженный суточный биоритм с максимальными значениями в ночные часы [Анисимов В.Н., 2012].

В литературе представлен ряд работ, указывающих на существование около 4-суточного биоритма уровня глюкокортикоидных гормонов, как у экспериментальных животных, так и человека. В работе R. Jossa и соавт. [2005] в динамике уровня кортикостерона у крыс выявлен 4.2-суточный биоритм. С. Maschke и соавт. [2003], исследовавшие на протяжении 40 дней инфрадианные ритмы ночной экскреции катехоламинов и стероидов с мочой у лиц, подвергавшихся воздействию шума самолетов, выявили около 4.2-суточные колебания уровня адреналина и норадреналина, и около 4.7-суточные периодические изменения уровня свободного кортизола. И.В. Ермаковой [2002] обнаружена 3–4-суточная периодичность изменения уровня кортизола в слюне первоклассников, адаптирующихся к обучению в

школе. Т.С. Пронина [1992] указывает на 3.5–4.5-суточные колебания уровня тестостерона в слюне у мальчиков и юношей в возрасте 4–28 лет.

Таким образом, в ряде работ установлены инфрадианные биоритмы уровня стероидных гормонов надпочечников (кортикостерона) у крыс, (кортизола) у человека, метаболитов катехоламинов, тестостерона. Однако изучение инфрадианных биоритмов ограничиваются, как правило, одним параметром и небольшой длительностью исследования, а данные по гистофизиологической оценке органов эндокринной системе в инфрадианном диапазоне биоритмов отсутствуют.

Поэтому нами проведено изучение динамики морфофункциональных изменений эндокринной системы в инфрадианном диапазоне биоритмов у самцов крыс Вистар, оцениваемой по уровню кортикостерона, мелатонина, тестостерона, структурным изменениям коры надпочечников, а у человека (мужчины первого периода зрелого возраста) – кортизола и тестостерона.

3.1.1. Инфрадианные биоритмы изменения структурно-функциональных зон коры надпочечников у половозрелых самцов крыс Вистар

Исследование структурно-функциональных зон коры надпочечников проводили у 80 половозрелых самцов крыс Вистар. Животных содержали по 6 особей в клетке при естественном освещении, температуре 20–22°C. Доступ к воде и пище был свободным. Животных выводили из эксперимента передозировкой диэтилового эфира ежедневно (n=6) с 16 по 30 октября 2012 г. в период с 9 ч 30 мин до 11 ч 00 мин по местному солнечному времени (г. Москва). Кровь для определения уровня кортикостерона и тестостерона получали из хвостовой вены у животных, находившихся под легким эфирным наркозом.

Общий план строения коркового вещества надпочечников у всех групп крыс был сходным на качественном уровне (рис. 3). Кора надпочечников окружена капсулой, проникающей в корковое вещество надпочечников,

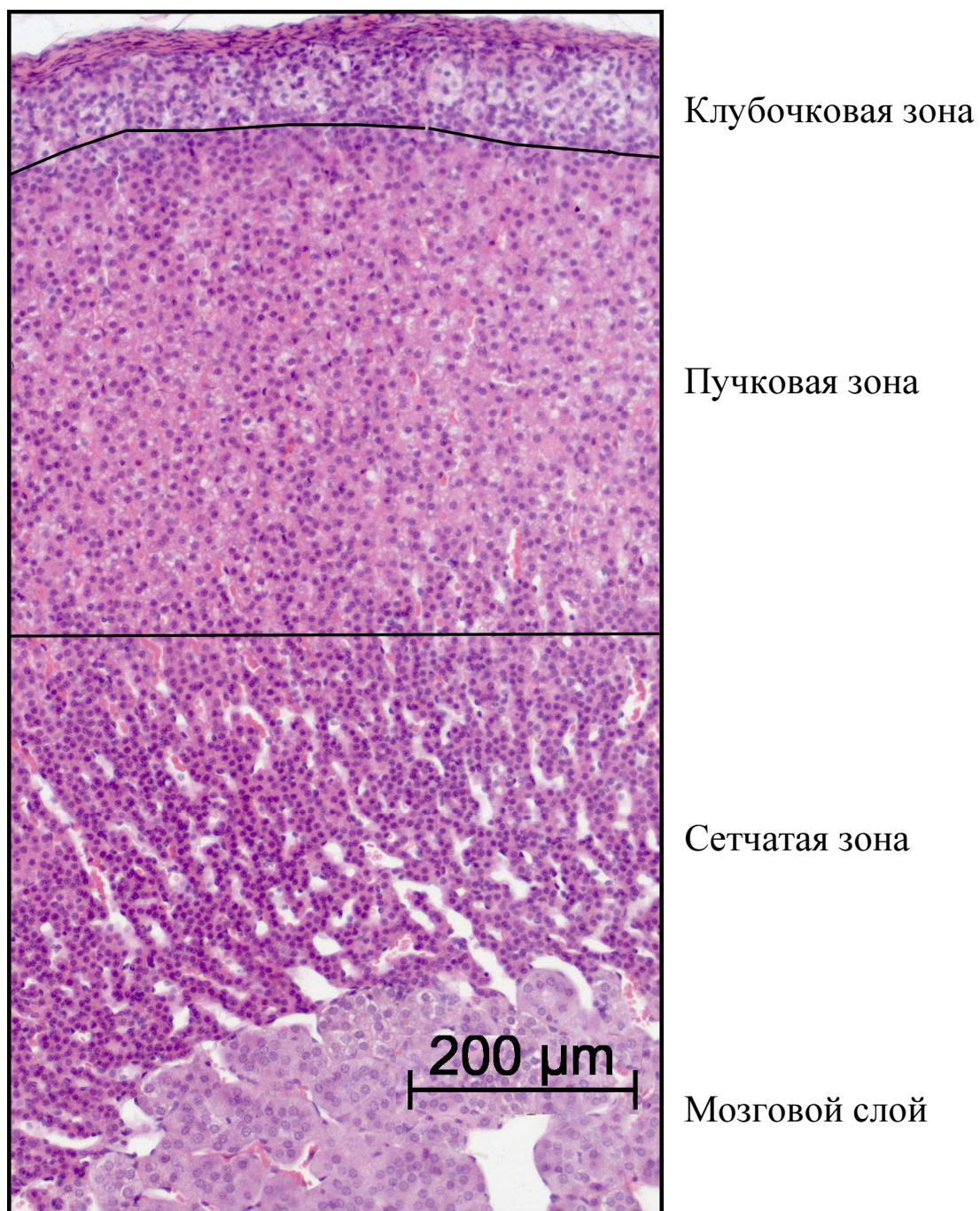


Рис. 3. Кортикальное и мозговое вещество надпочечника крысы Вистар. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

образуя в нем перегородки – трабекулы. В корковом веществе определялись три слоя. Наиболее поверхностный и наиболее тонкий слой был представлен клубочковой зоной (*zona glomerulosa*). В этой зоне выявлялись крупные, богатые липидами клетки и мелкие, бедные липидами клетки, а также вакуолизированные клетки. Ядра всех клеток клубочковой зоны имели сферическую форму. В клубочковой зоне группы клеток были заключены в соединительнотканые ячейки. Под клубочковой зоной была расположена пучковая зона (*zona fasciculata*), состоявшая из параллельных тяжей клеток, идущих от клубочковой к сетчатой зоне. Сетчатая зона (*zona reticularis*) состояла из тяжей клеток, образующих подобие сети. Строма этой зоны была представлена тонкой соединительнотканной тканью. Сетчатая зона граничила с мозговым веществом надпочечника. Клетки этого слоя имели темную окраску и мелкие ядра.

Динамика толщины сетчатой зоны коры надпочечника у самцов крыс Вистар имела 4-суточные колебания (рис. 4 А). Максимальные значения этого показателя отмечались 16–17, 20, 24 и 28 октября, а минимальные – 19, 22 и 26 октября. Значения толщины сетчатой зоны в дни максимумов (акрофаз) статистически значимо отличались от соответствующих показателей в дни минимумов (батифаз).

В динамике уровня тестостерона также наблюдались 4-суточные колебания (рис. 4 Б). Максимальные значения выявлены 17, 21, 25 и 29 октября. Из-за высокой вариабельности уровня тестостерона не все его показатели в акрофазах статистически значимо различались по сравнению со значениями в точках батифаз. На всем протяжении исследования максимальные значения толщины сетчатой зоны коры надпочечников были выявлены за сутки до акрофазы уровня тестостерона. Вероятно, это объясняется тем, что адренкортикоциты сетчатой зоны продуцируют предшественник тестостерона – дегидроэпиандростерон, который с участием 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы, локализованной преимущественно в семенниках, преобразуется в тестостерон.

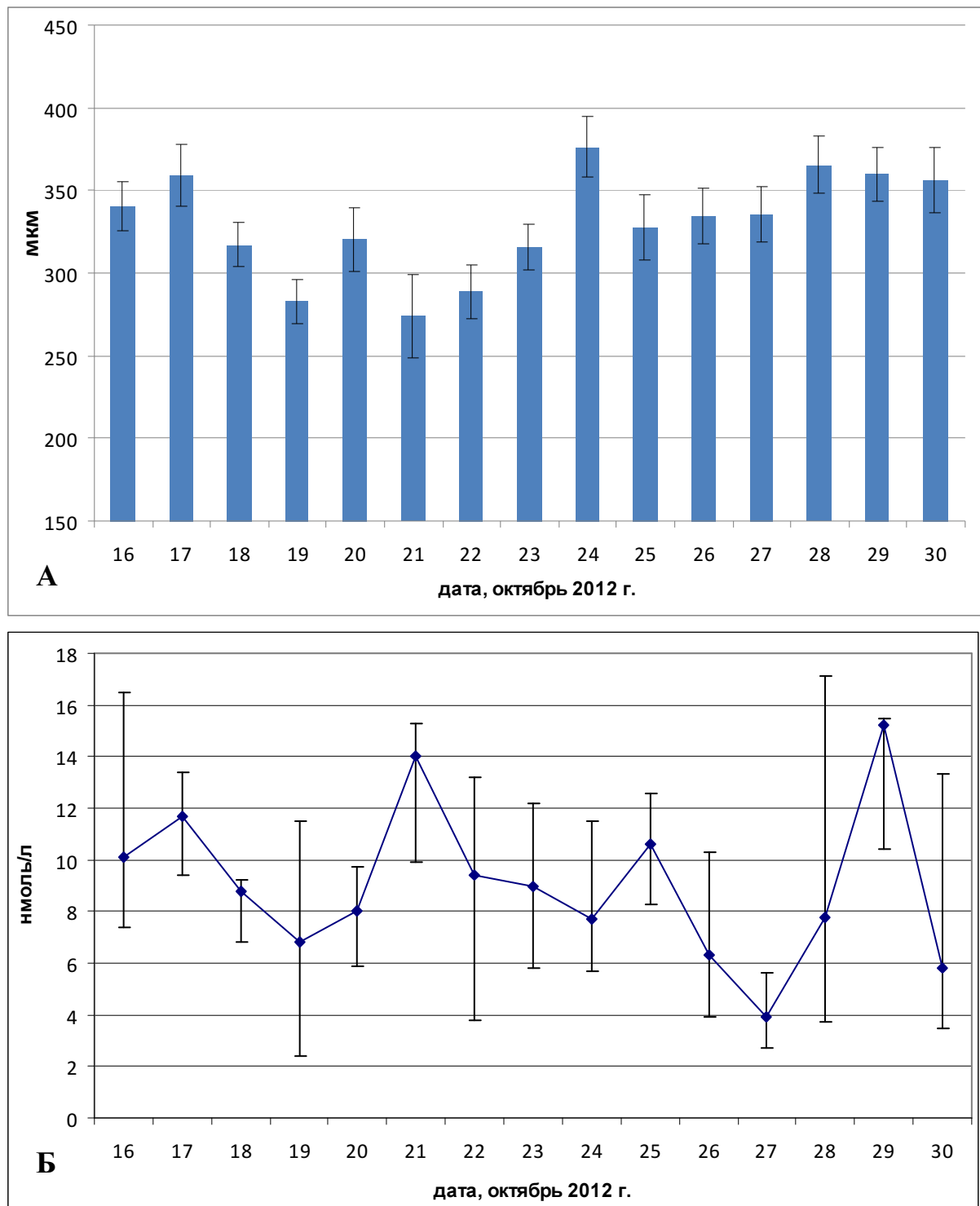


Рис. 4. Динамика ширины сетчатой зоны коры надпочечника $M \pm CI$ (А) и уровня тестостерона Me (25%–75%) (Б) у самцов крыс Вистар в период с 16 по 30 октября 2012 г.

Статистическая значимость различий:

А – $p_{16-18}=0,01$; $p_{19-20}=0,005$; $p_{20-22}=0,03$; $p_{22-24}=0,001$; $p_{24-26}=0,02$; $p_{26-28}=0,005$

Б – $p_{19-21}=0,04$; $p_{25-27}=0,006$; $p_{27-29}=0,001$

Динамика ширины пучковой зоны коры надпочечников, продуцирующей кортикостерон, также имела около 4-суточную ритмичность, однако в отличие от ширины сетчатой зоны, форма кривой была не синусоидальной, а пилообразной (рис. 5 А). Наблюдалось постепенное увеличение этого показателя, а затем его резкое снижение. Максимальные значения отмечены 17, 21 и 25–26 и 29–30 октября, а резкие снижения показателей - 18, 22 и 27 октября.

Динамика уровня кортикостерона в сыворотке крови самцов крыс Вистар также имела 4-суточный инфрадианный биоритм с максимальными значениями 17–18, 21–22, 25 и 29 октября (рис. 5 Б). В дни максимальных значений толщины пучковой зоны наблюдались высокие показатели уровня кортикостерона в сыворотке крови, однако при резких снижениях ширины этой зоны, уровень кортикостерона оставался максимальным, снижаясь на следующий день.

В динамике толщины клубочковой зоны коры надпочечника, у самцов крыс установлен 4-суточный биоритм с максимальными значениями этого показателя 16, 20, 24 и 28–29 октября. Показатели толщины клубочковой зоны в дни акрофаз статистически значимо отличались от соответствующих значений в дни батифаз.

Таким образом, установлено, что у половозрелых самцов крыс Вистар динамика изменений ширины функциональных зон коры надпочечников, также как и уровень тестостерона и кортикостерона в сыворотке крови имеет 4-суточную периодичность. Показатели ширины клубочковой и сетчатой зон имеют максимальные значения в одни и те же календарные даты, а пучковой – на сутки позже. Показано, что максимальные значения толщины сетчатой зоны коры надпочечников предшествуют акрофазе биоритма уровня тестостерона, в то время как максимальные значения толщины пучковой зоны и уровня кортикостерона в сыворотке крови совпадают.

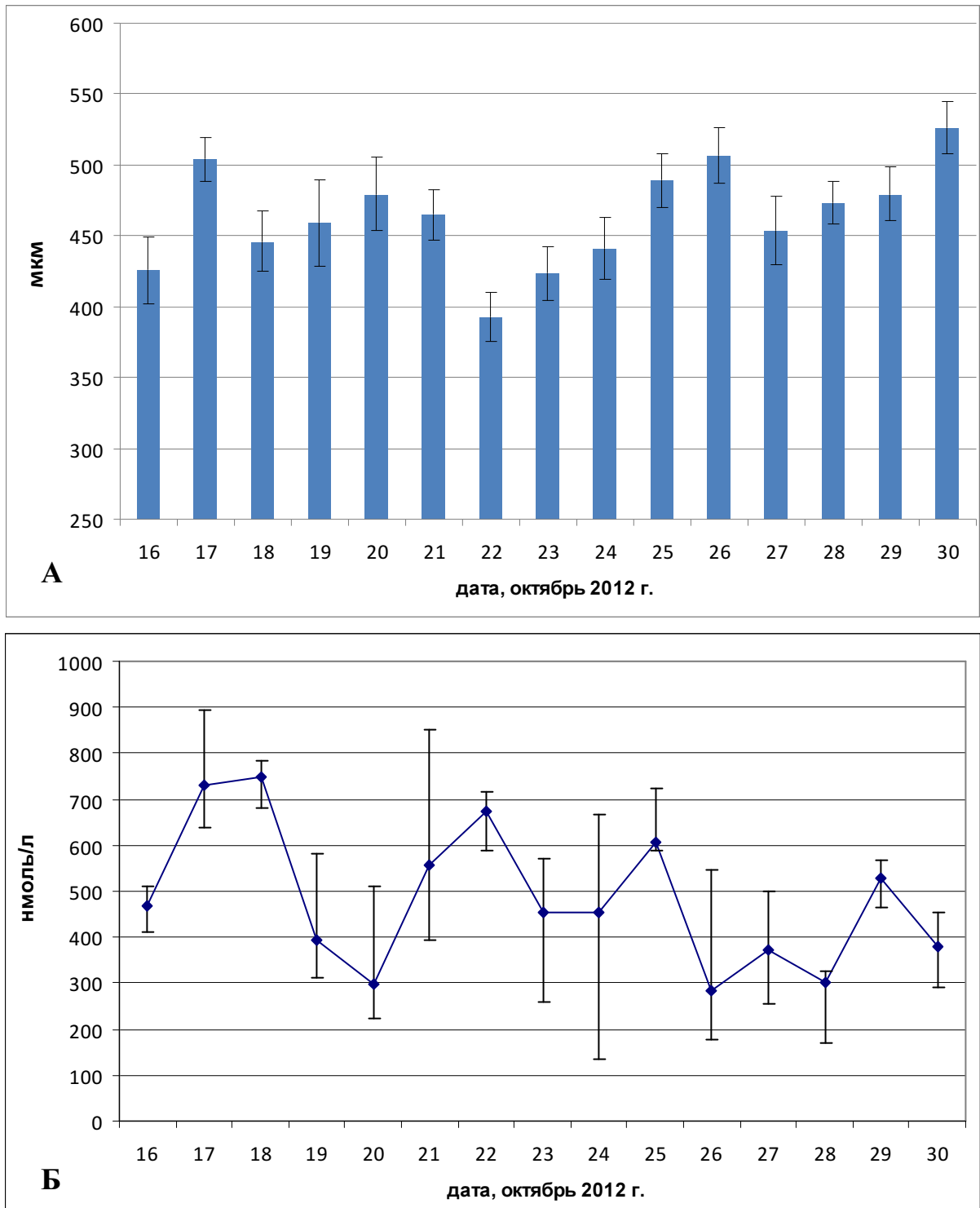


Рис. 5. Динамика ширины пучковой зоны коры надпочечника $M \pm CI$ (А) и уровня кортикостерона Me (25%–75%) (Б) у самцов крыс Вистар в период с 16 по 30 октября 2012 г.

Статистическая значимость различий: А – $p_{16-17}=0,001$; $p_{17-18}=0,003$; $p_{21-23}=0,001$; $p_{23-25}=0,02$; $p_{25-27}=0,02$; $p_{27-30}=0,004$; Б – $p_{16-17}=0,002$; $p_{17-19}=0,01$; $p_{20-22}=0,005$; $p_{22-23}=0,04$; $p_{23-25}=0,03$; $p_{25-27}=0,008$; $p_{28-29}=0,01$

Анализ полученных данных позволяет заключить, что инфрадианные биоритмы структурных изменений зон коры надпочечника соответствуют динамике уровня кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови у самцов крыс Вистар.

3.1.2. Инфрадианные биоритмы уровня кортикостерона у половозрелых самцов крыс Вистар

Для выявления ритмических изменений в динамике уровня кортикостерона в сыворотке крови у **популяции** половозрелых самцов крыс Вистар в три временных периода: с 17 по 29 марта 2011 г. (в сутки – n=8, общее число – n=104), с 11 по 27 сентября (в сутки – n=6, общее число – n=92) 2011 г. и с 16 по 30 октября 2012 г. (в сутки – n=6, общее число – n=80) под эфирным наркозом проводили забор крови из хвостовой вены ежедневно у разных животных в 8.00–8.30 ч утра по местному солнечному времени (Москва). Таким образом, у каждого животного только однократно забирали кровь для определения уровня кортикостерона, что исключало формирование у животных состояния хронического стресса, вызванного ежедневной процедурой забора крови.

В динамике уровня кортикостерона в сыворотке крови самцов крыс Вистар в период с 12 по 27 сентября 2011 г. максимальные значения зарегистрированы 12, 15-16, 19-20 и 24 сентября (рис. 6 А). В период с 16 по 30 октября 2012 г. максимальные значения уровня кортикостерона выявлены 17-18, 21-22, 25 и 29 октября (рис. 6 Б). В период с 17 по 29 марта 2011 г. максимальные значения уровня кортикостерона отмечены 18 и 26 марта, тогда как 22 марта ожидаемый максимум не наблюдался (рис. 7).

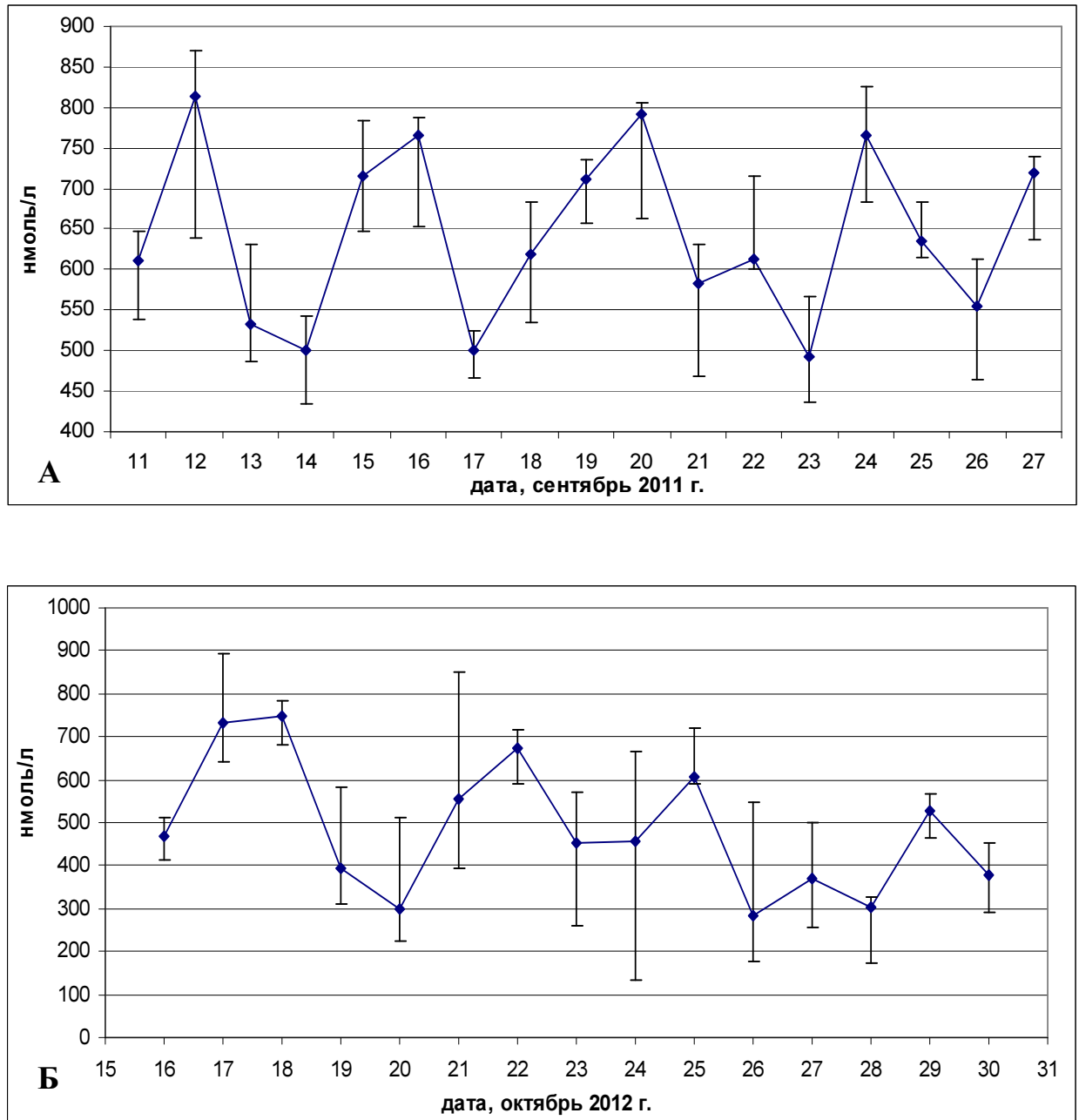


Рис. 6. Динамика уровня кортикостерона в сыворотке крови половозрелых самцов крыс Вистар в период с 11 по 27 сентября 2011 г. (А), в период с 16 по 30 октября 2012 г. (Б). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%). По оси абсцисс – календарная дата, по оси ординат – уровень кортикостерона в нмоль/л.

Статистическая значимость различий:

А – $p_{12-14}=0,003$; $p_{14-16}=0,003$; $p_{16-17}=0,002$; $p_{17-20}=0,002$; $p_{20-23}=0,004$; $p_{23-24}=0,002$; $p_{24-26}=0,003$

Б – $p_{16-17}=0,002$; $p_{17-19}=0,01$; $p_{20-22}=0,005$; $p_{22-23}=0,04$; $p_{23-25}=0,03$; $p_{25-27}=0,008$; $p_{28-29}=0,01$

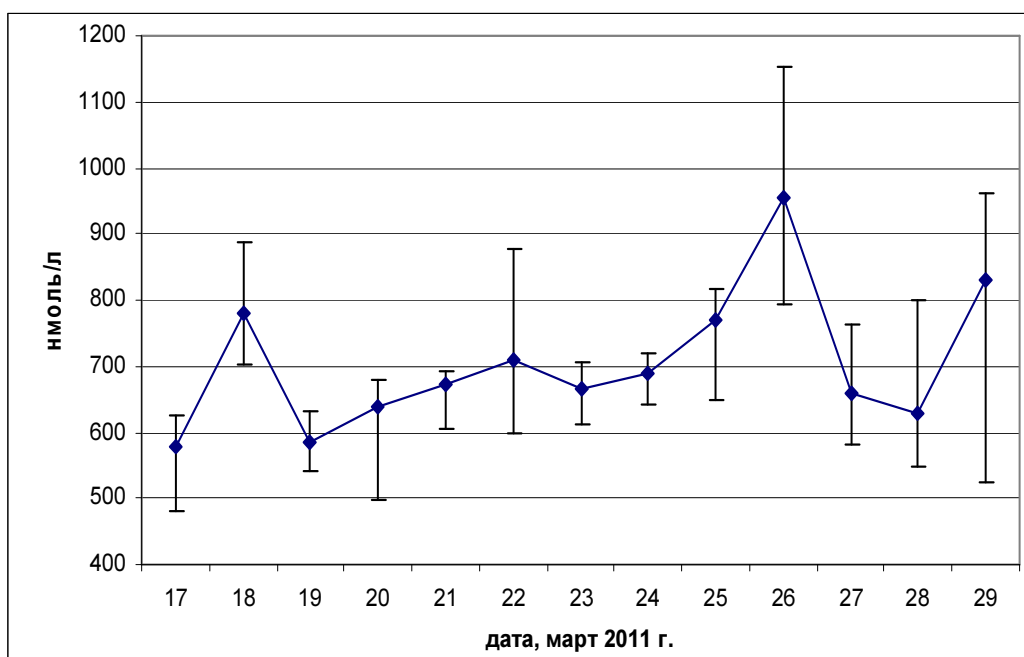


Рис. 7. Динамика уровня кортикостерона в сыворотке крови половозрелых самцов крыс Вистар в период с 17 по 29 марта 2011 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%). По оси абсцисс – календарная дата, по оси ординат – уровень кортикостерона в нмоль/л.

Статистическая значимость различий: $p_{17-18}=0,001$; $p_{18-20}=0,006$; $p_{24-26}=0,01$; $p_{26-28}=0,04$

Таким образом, в два осенних и один весенний сезонный период в динамике уровня кортикостерона в сыворотке крови самцов крыс Вистар выявлена 4-суточная периодичность. Показатели в акрофазах статистически значимо различались по сравнению со значениями в точках батифаз не на всем протяжении исследований (рис. 6, 7). Наличие 4-суточных колебаний уровня кортикостерона в групповых данных указывает на существование инфрадианного биоритма этого гормона в популяции крыс Вистар.

С целью характеристики **индивидуальных** вариаций инфрадианных биоритмов уровня кортикостерона в три временных периода: 13–21 мая (n=7), 3–16 июля (n=6), и 8–20 октября (n=9) 2011 г., забор крови из хвостовой вены проводили при кратковременной иммобилизации ежедневно в 8.00–8.30 ч утра у одних и тех же животных.

В динамике уровня кортикостерона в период с 13 по 21 мая у 5 из 7 особей выявлялся синхронный 4-суточный биоритм с максимальными показателями 14 и 18 мая (Рис. 8). У животного № 2 максимальные показатели уровня кортикостерона наблюдались на сутки раньше, чем в основной группе. У одного животного № 7 выраженных колебаний в уровне кортикостерона не наблюдалось, а среднее значение этого показателя составило 370 нмоль/л и было минимальным по сравнению с другими животными группы, соответствующий показатель у которых колебался в пределах 398–627 нмоль/л.

В период с 3 по 16 июля в динамике уровня кортикостерона у 5 из 6 животных выявлен синхронный 4-суточный биоритм с максимальными значениями 6, 10 и 14 июля. У одного животного фаза 4-суточного биоритма уровня кортикостерона была смещена на сутки назад относительно других животных (Рис. 9).

В период с 8 по 20 октября в динамике уровня кортикостерона у 6 из 9 крыс наблюдался синхронный 4-суточный биоритм с максимальными значениями 10, 14 и 18 октября (Рис. 10). У одной особи также выявлялся 4-суточный биоритм уровня кортикостерона, но максимальные значения показателя содержания кортикостерона в сыворотке крови отмечались на сутки раньше (№ 3). У двух других крыс выраженных ритмических колебаний уровня кортикостерона в период исследования не отмечалось.

Таблица 6. Индивидуальные параметры 4-суточного ритма уровня кортикостерона у 7 особей половозрелых самцов крыс Вистар за период с 13 по 21 мая 2011 г.

Период	Имя	h	A	Phi	Delta
4 сут	№ 1	627	153	80	9
4 сут	№ 2	398	74	20	52
4 сут	№ 3	594	97	145	73
4 сут	№ 4	445	164	58	23
4 сут	№ 5	520	176	82	50
4 сут	№ 6	437	107	69	28
4 сут	№ 7	370	31	80	84
4 сут	<i>Средние</i>	514	105	85	6

Условные обозначения: h – средний уровень (мезор); A – амплитуда в нмоль/л; Phi – фаза ритма в градусах; Delta – среднеквадратическое отклонение.

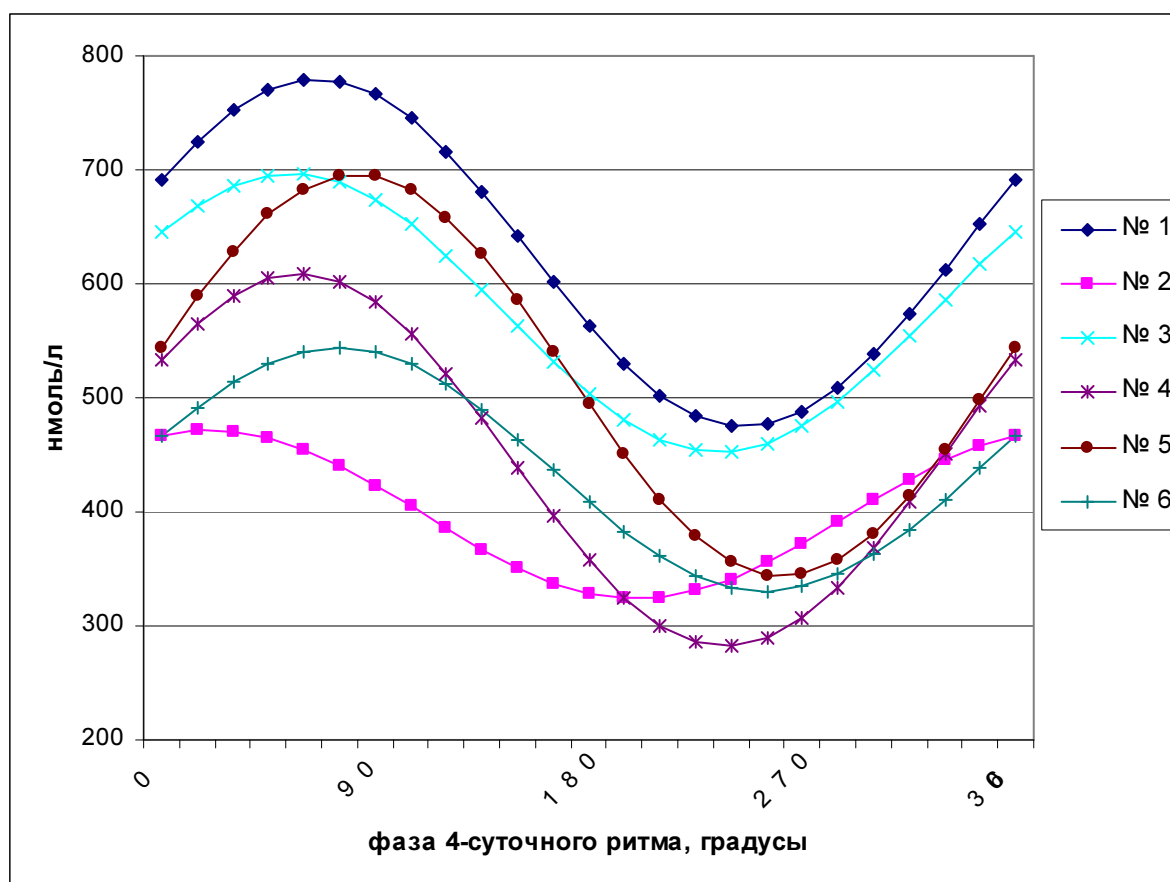


Рис. 8. Индивидуальные хронограммы 4-суточного биоритма уровня кортикостерона у 7 особей половозрелых самцов крыс Вистар за период с 13 по 21 мая 2011 г.

Таблица 7. Индивидуальные параметры 4-суточного ритма уровня кортикостерона у 6 особей половозрелых самцов крыс Вистар за период с 3 по 16 июля 2011 г.

Период	Имя	h	A	Phi	Delta
4 сут	1	586	128	-59	36
4 сут	2	506	195	227	43
4 сут	3	631	85	-72	88
4 сут	4	588	187	-60	66
4 сут	5	413	92	-59	18
4 сут	6	426	109	-76	18
4 сут	Средние	525	117	-90	25

Условные обозначения: h – средний уровень (мезор); A – амплитуда в нмоль/л; Phi – фаза ритма в градусах; Delta – среднеквадратическое отклонение.

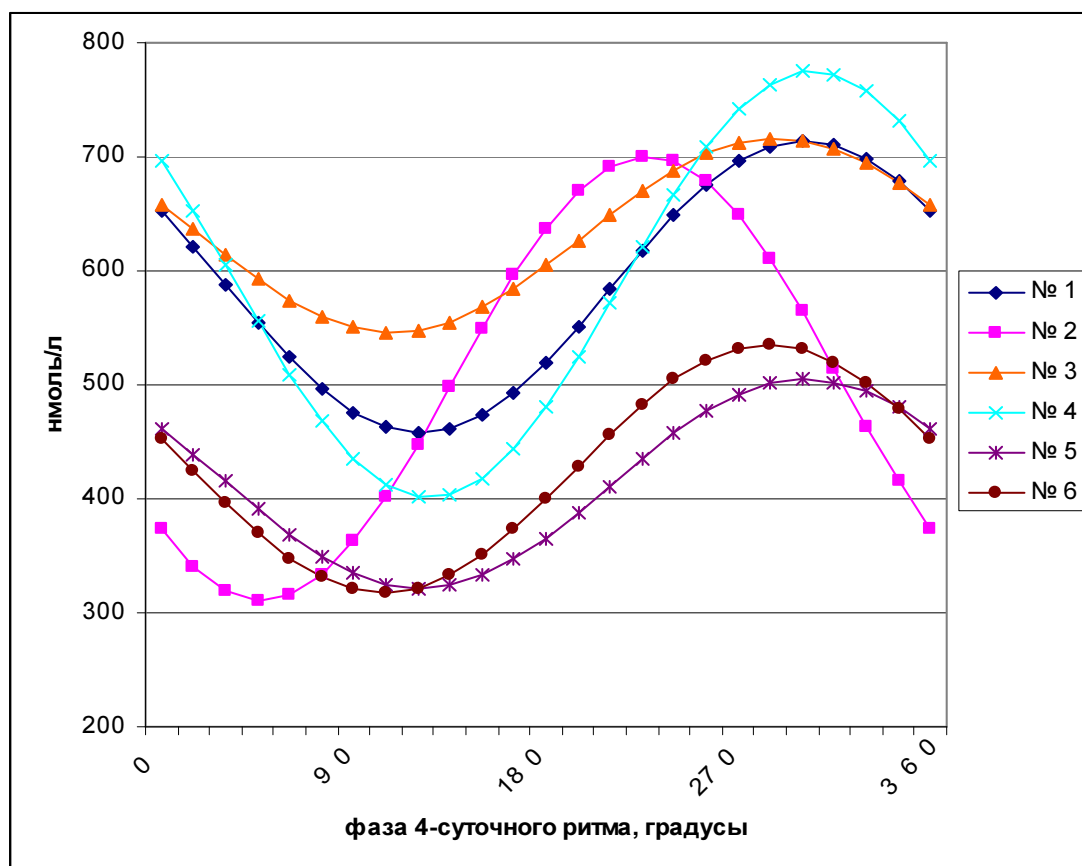


Рис. 9. Индивидуальные хронограммы 4-суточного биоритма уровня кортикостерона у 6 особей половозрелых самцов крыс Вистар за период с 3 по 16 июля 2011 г.

Таблица 8. Индивидуальные параметры 4-суточного ритма уровня кортикостерона у 7 особей половозрелых самцов крыс Вистар за период со 2 по 20 октября 2011 г.

Период	Имя	h	A	Phi	Delta
4 сут	№ 1	560	95	172	93
4 сут	№ 2	629	159	206	42
4 сут	№ 3	645	111	136	29
4 сут	№ 4	506	50	211	20
4 сут	№ 5	528	102	186	57
4 сут	№ 6	549	205	187	96
4 сут	№ 7	538	54	209	51
4 сут	Средние	565	99	180	39

Условные обозначения: h – средний уровень (мезор); A – амплитуда в нмоль/л; Phi – фаза ритма в градусах; Delta – среднеквадратическое отклонение.

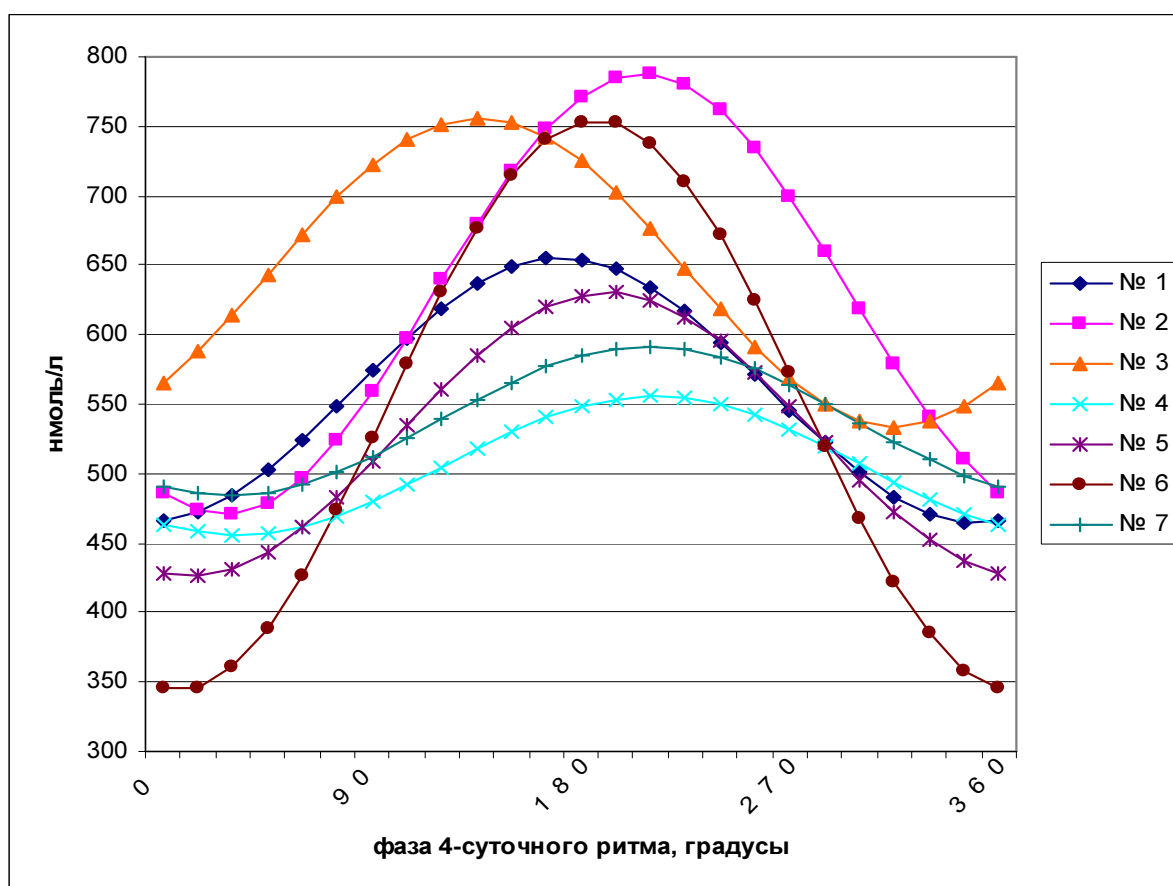


Рис. 10. Индивидуальные хронограммы 4-суточного биоритма уровня кортикостерона у 7 особей половозрелых самцов крыс Вистар за период с 2 по 20 октября 2011 г.

Таким образом, в весенний, летний и осенний периоды наблюдений в динамике уровня кортикостерона у 19 из 22 животных была зарегистрирована выраженная по амплитуде 4-суточная ритмичность. Эти биоритмы у 16 животных были синхронны по фазе, а у 3 особей максимальные значения отмечались на сутки раньше основной группы. У остальных 3 крыс динамика уровня кортикостерона не имела выраженных ритмических колебаний.

В зимний период с 3 по 17 января 2012 г. исследование динамики уровня кортикостерона проводили в группе из 7 самцов крыс Вистар забор крови из хвостовой вены осуществляли под эфирным наркозом ежедневно в 10.15–10.45 ч утра и одновременно в другой группе, представленной разными животными (в сутки – $n=7$, общее число – $n=105$). В динамике уровня кортикостерона в этот период также выявлялся 4-суточный ритм, синхронный у животных обеих экспериментальных групп (Рис. 11). Максимальные значения уровня кортикостерона зарегистрированы 4, 8, 12 и 16 января. Однако в группе крыс, у которых ежедневно забирали кровь под эфирным наркозом, статистически значимые различия показателей уровня исследуемого гормона в акрофазе и батифазе наблюдались только в первые 8 суток. В дальнейшем амплитуда колебаний уровня кортикостерона уменьшалась, и различия нивелировались.

Таким образом, хронический стресс-фактор, которым в данном случае является ежедневный эфирный наркоз, вызывает исчезновение инфрадианного ритма уровня кортикостерона. Следует отметить, что в первые 8 суток ежедневного эфирного наркоза, когда амплитуда колебаний уровня кортикостерона еще высока, период биоритма этого гормона не изменялся.

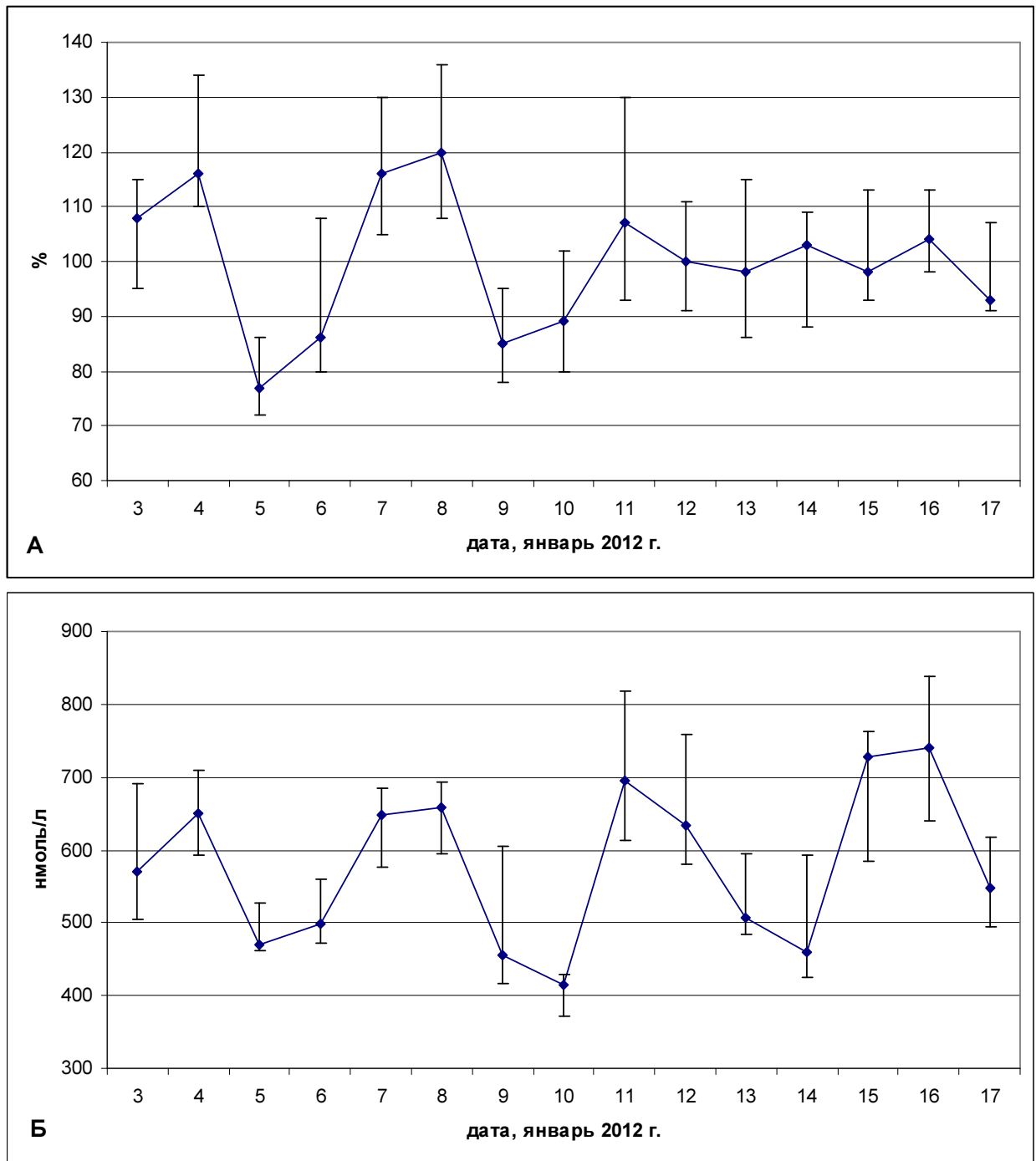


Рис. 11. Динамика уровня кортикостерона у самцов крыс Вистар в период с 3 по 17 января 2012 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%).

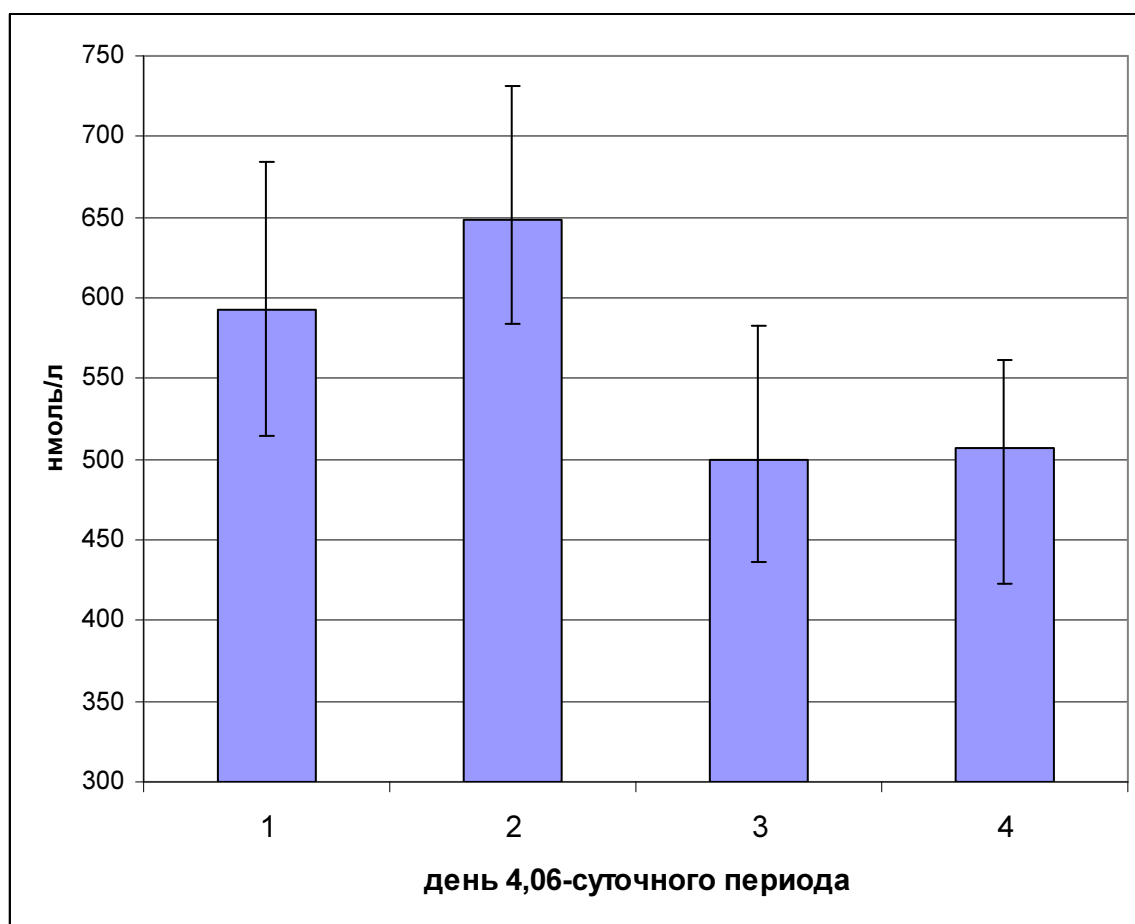
А – в группе из 7 крыс, забор крови под эфирным наркозом ежедневно у одних и тех же животных. По оси абсцисс – календарные даты исследования, по оси ординат – уровень кортикостерона в процентах от индивидуального среднего значения

Б – в группе из 105 крыс, однократный забор крови под эфирным наркозом ежедневно у разных 7 животных. По оси абсцисс – календарные даты исследования, по оси ординат – уровень кортикостерона в нмоль/л

Статистическая значимость различий: **А** – $p_{4-5}=0,001$; $p_{5-7}=0,008$; $p_{7-9}=0,005$;

Б – $p_{4-5}=0,01$; $p_{5-7}=0,02$; $p_{7-10}=0,001$; $p_{10-12}=0,007$; $p_{12-14}=0,04$; $p_{14-16}=0,02$

Анализ всех календарных дат, в которые у крыс были зарегистрированы максимальные по группе показатели уровня кортикостерона в сыворотке крови позволяет выявить общую закономерность скачкообразного смещения на сутки вперед акрофазы биоритма исследованного гормона каждые 68–72 суток. Для подтверждения этой закономерности все полученные в различные периоды на протяжении полутора лет исследования значения уровня кортикостерона были распределены методом наложенных эпох по 4.06-суточному периоду. Начальная точка отсчета 4.06-суточных периодов была выбрана произвольно – 17 марта (дата начала исследования). Таким образом, к первому дню 4.06-суточного периода были отнесены значения уровня кортикостерона полученные за 17, 21, 25, 29 марта, 13, 17, 21 мая, 5, 9, 13 июля, 11, 15, 19, 23, 27 сентября, 10, 14, 18 октября 2011 г. и 3, 7, 11, 15 января 2012 г.; ко второму дню 4.06-суточного периода – значения за 18, 22, 26 марта, 14, 18 мая, 6, 10, 14 июля, 12, 16, 20, 24 сентября, 11, 15, 19 октября 2011 г. и 4, 8, 12, 16 января 2012 г.; к третьему дню – значения за 19, 23, 27 марта, 15, 19 мая, 3, 7, 11, 15 июля, 13, 17, 21, 25 сентября, 8, 12, 16, 20 октября 2011 г. 5, 9, 13, 17 января 2012 г.; к четвертому – значения за 20, 24, 28 марта, 16, 20 мая, 4, 8, 12, 16 июля, 14, 18, 22, 26 сентября, 9, 13, 17 октября 2011 г. и 6, 10, 14 января 2012 г. Показатели уровня кортикостерона в акрофазу (второй день 4.06-суточного периода) и батифазу (четвертый день 4.06-суточного периода) составляли соответственно 648 (584–731) нмоль/л и 507 (423–562) нмоль/л и статистически значимо отличались между собой ($p=0.0001$) (рис. 12).



Статистическая значимость различий:

	2	3	4
1	>0,05	0,03	0,04
2		0,001	0,0001
3			>0,05

Рис. 12. Распределение всех полученных значений уровня кортикостерона в сыворотке крови за период с 17 марта 2011 г. по 17 января 2012 г. по дням 4.06-суточного периода.

По оси абсцисс – сутки 4.06-суточного периода, по оси ординат – уровень кортикостерона в нмоль/л, представлены Med (25% –75%).

Таким образом, в популяции половозрелых самцов крыс Вистар в динамике уровня кортикостерона в сыворотке крови самцов крыс Вистар во все периоды исследования наблюдалась 4-суточная ритмичность, что указывает на существование такого биоритма у большей части животных. Анализ индивидуальной динамики уровня кортикостерона выявил у 72.7 % (16 из 22) животных синхронный 4-суточный биоритм этого показателя, у 13.6 % (3 из 22) акрофаза ритма регистрировалась на сутки раньше основной группы, а у остальных 13.6 % (3 из 22) животных статистически значимых изменений исследуемого показателя не наблюдалось. Ежедневное применение эфирного наркоза вызывало снижение амплитуды биоритма, но не изменяло его период и фазу. Применение метода наложенных эпох позволило точнее установить период биоритма уровня кортикостерона, который равен 4.06 сут.

3.1.3. Инфрадианные биоритмы уровня мелатонина в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар

Исследование инфрадианных биоритмов динамики уровня мелатонина в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар проводили в два временных интервала: с 3 по 15 января и с 16 по 27 октября 2012 г.

В период с 3 по 15 января 2012 г забор крови проводили под эфирным наркозом ежедневно у разных животных (в сутки – $n=6$, общее число – $n=78$) в 10.15–10.45 ч утра. Максимальные значения уровня мелатонина в сыворотке крови наблюдались 6, 10 и 14 января (рис. 13). Показатели уровня мелатонина в акрофазах инфрадианного ритма статистически значимо отличались от таковых в батифазах.

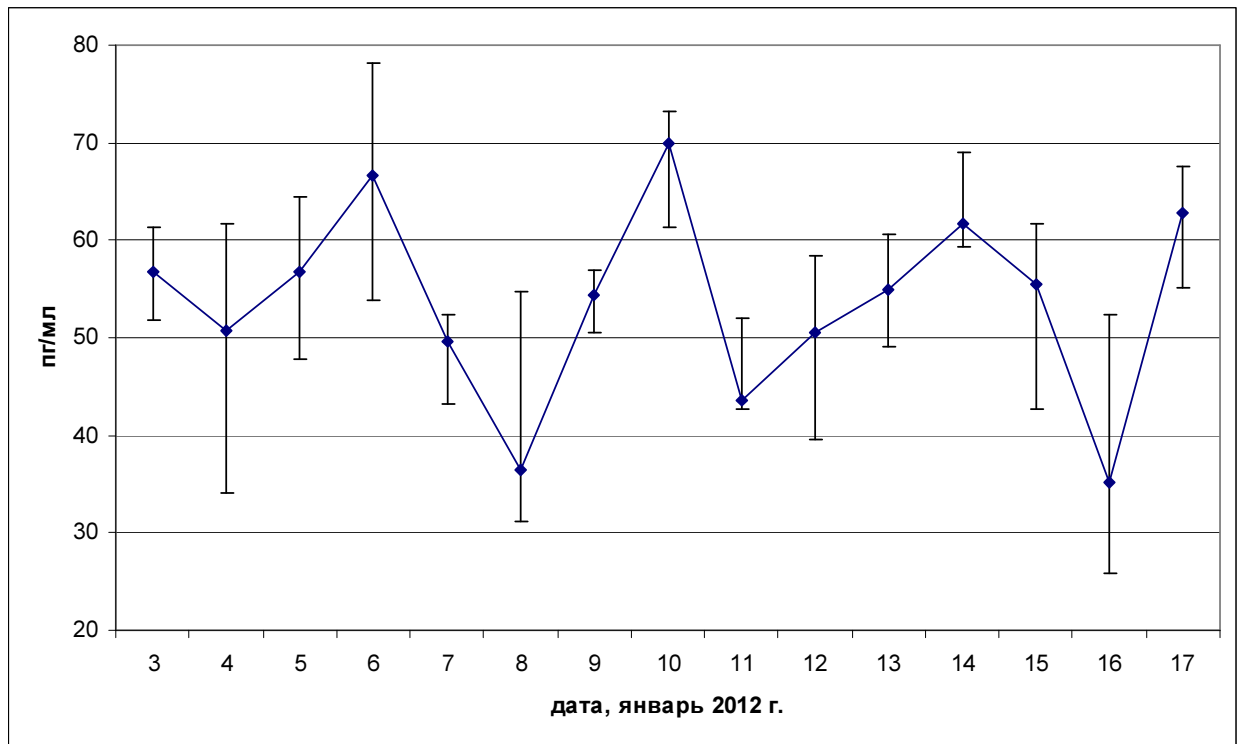


Рис. 13. Динамика уровня мелатонина в сыворотке крови у самцов крыс Вистар в период с 3 по 17 января 2012 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Ме (25%–75%). По оси абсцисс – календарная дата, по оси ординат – уровень мелатонина в пг/мл.

Статистическая значимость различий: $p_{4-6}=0,045$; $p_{6-8}=0,03$; $p_{8-10}=0,01$; $p_{11-14}=0,01$; $p_{14-16}=0,001$

В другой период исследования с 16 по 27 октября 2012 г. забор крови проводили ежедневно под эфирным наркозом у одних и тех же животных ($n=7$). Максимальные показатели уровня мелатонина были отмечены 19, 23 и 27 октября (рис. 14). Показатели уровня мелатонина в акрофазах инфрадианного ритма статистически значимо отличались от таковых в батифазах.

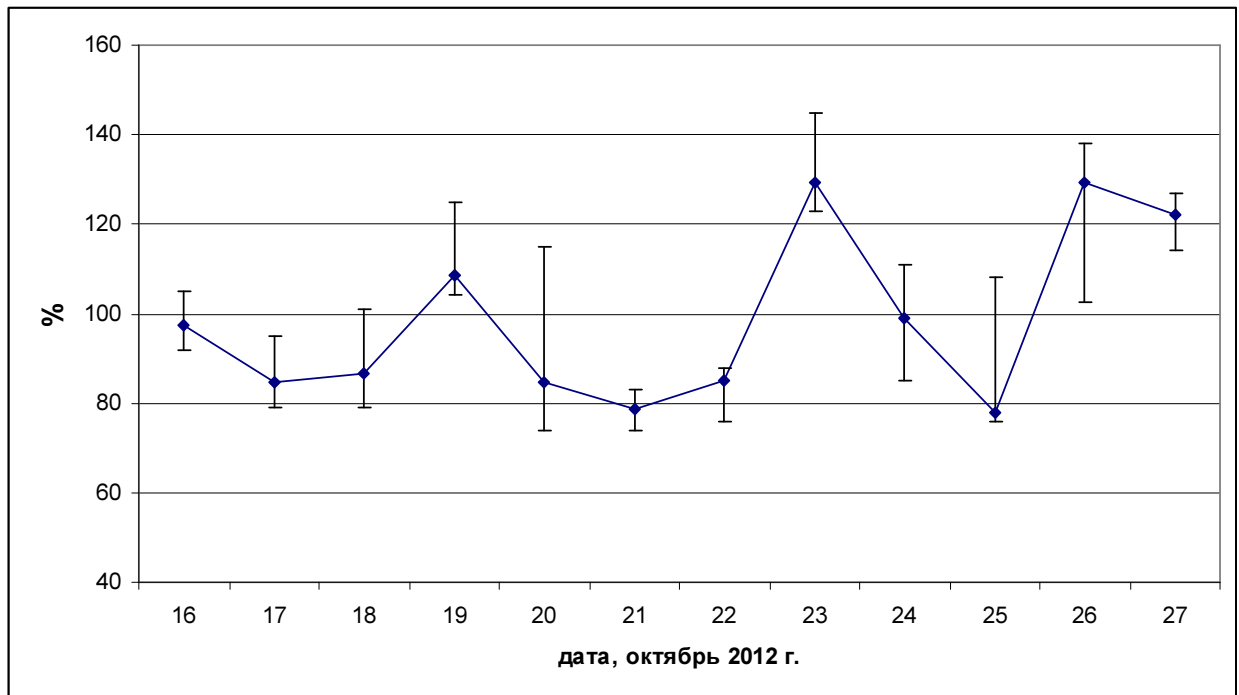


Рис. 14. Динамика уровня мелатонина в сыворотке крови у самцов крыс Вистар в период с 16 по 27 октября 2012 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%). По оси абсцисс – календарная дата, по оси ординат – уровень мелатонина в % от индивидуального среднего уровня.

Статистическая значимость различий: $p_{17-19}=0,01$; $p_{19-21}=0,005$; $p_{21-23}=0,001$; $p_{23-25}=0,02$; $p_{25-27}=0,02$

Таким образом, в оба периода исследований динамика уровня мелатонина в сыворотке крови самцов крыс Вистар характеризовалась 4-суточным инфраничным биоритмом.

При анализе динамики уровней кортикостерона и мелатонина в сыворотке крови половозрелых самцов крыс Вистар выявлялась достоверная отрицательная корреляционная связь между этими показателями: для периода с 3 по 17 января 2012 г. $r=-0.76$ ($p=0.012$), а для периода с 16 по 27 октября 2012 г. $r = -0.67$ ($p=0.034$).

3.1.4. Инфрадианные биоритмы уровня тестостерона в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар

Исследование **индивидуальных** биоритмов уровня тестостерона у половозрелых самцов крыс Вистар проводили в два временных периода: с 28 января по 6 февраля 2009 г. и с 8 по 20 октября 2011 г.

Для оценки динамики уровня тестостерона в сыворотке крови половозрелых самцов крыс Вистар ($n=8$) в период с 28 января по 6 февраля 2009 г. кровь для анализа забирали из хвостовой вены под эфирным наркозом ежедневно в 10:05-10:20 по местному солнечному времени. Оказалось, что у всех 8 особей выявлялся 4-суточный ритм этого гормона с максимальными значениями 28 января, 1 и 5 февраля. Максимальные значения уровня тестостерона в сыворотке крови у разных особей варьировали, поэтому животные были разделены на две группы: 1-я ($n=5$) с выраженными (более 30 %) и 2-я ($n=3$) с невыраженными изменениями (менее 30 %) динамики уровня тестостерона (рис. 15). При сравнительной оценке показателей уровня тестостерона в период батифазы (29 января, 2 и 6 февраля) статистически значимых отличий между этими группами не выявлено, тогда как в акрофазу биоритма этого гормона (28 января, 1 и 5 февраля) различия показателей были статистически значимыми. Таким образом, полученные результаты указывают на то, что при проведении сравнительных исследований индивидуального уровня тестостерона следует учитывать его 4-суточный инфрадианный биоритм.



Рис.15. Динамика изменения уровня тестостерона у самцов крыс Вистар в период с 28 января по 6 февраля 2009 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%).

(— 1) в группе с выраженными колебаниями исследуемого показателя ($n=5$) (статистическая значимость различий: $p_{28-30}=0,001$; $p_{30-1}=0,0008$; $p_{1-3}=0,002$; $p_{3-5}=0,01$) и (— 2) в группе с невыраженными изменениями уровня тестостерона ($n=3$) (статистически значимых различий нет).

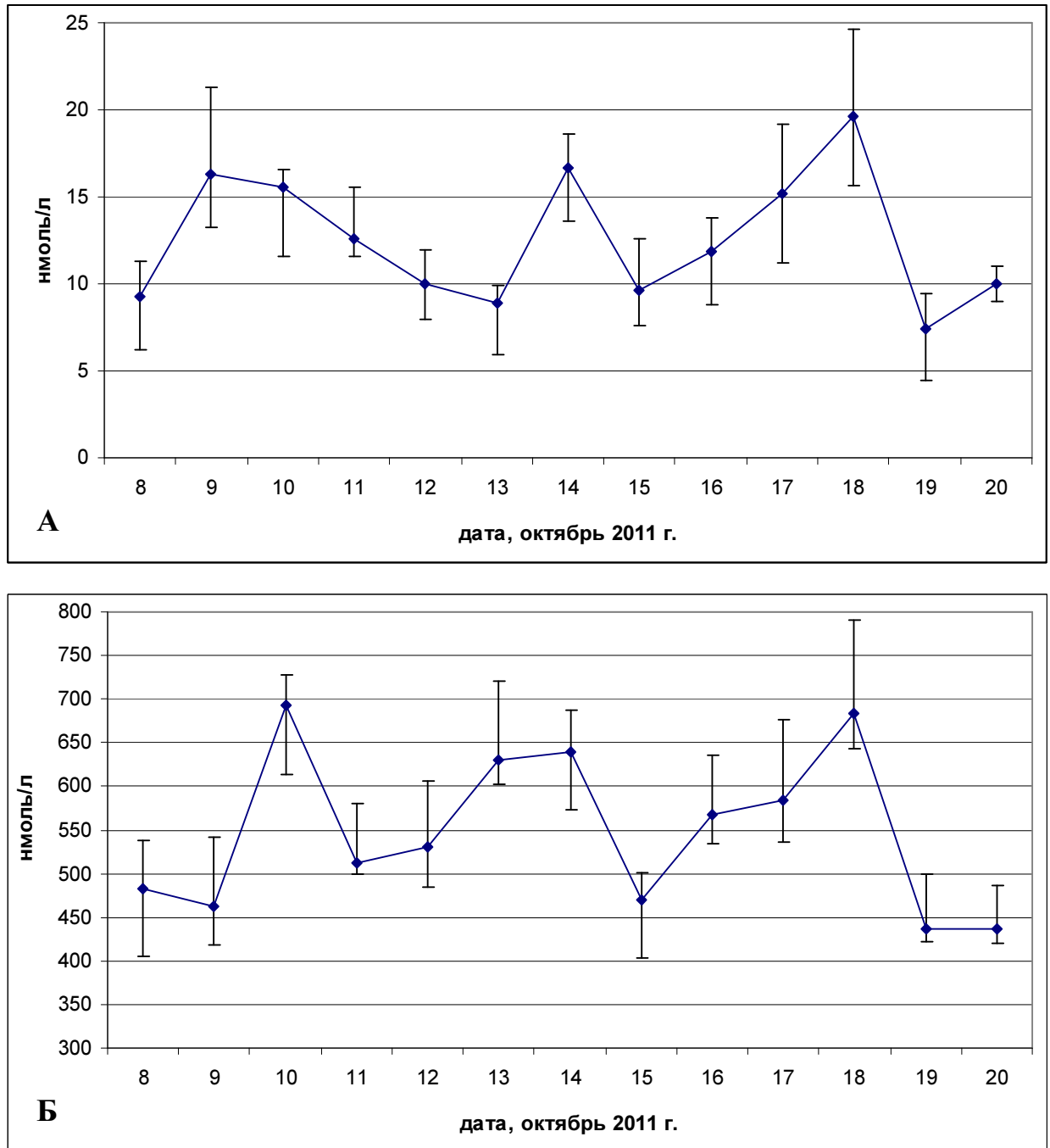


Рис. 16. Динамика уровня тестостерона (А) и кортикостерона (Б) у самцов крыс Вистар (n=7) в период с 8 по 20 октября 2011 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%).

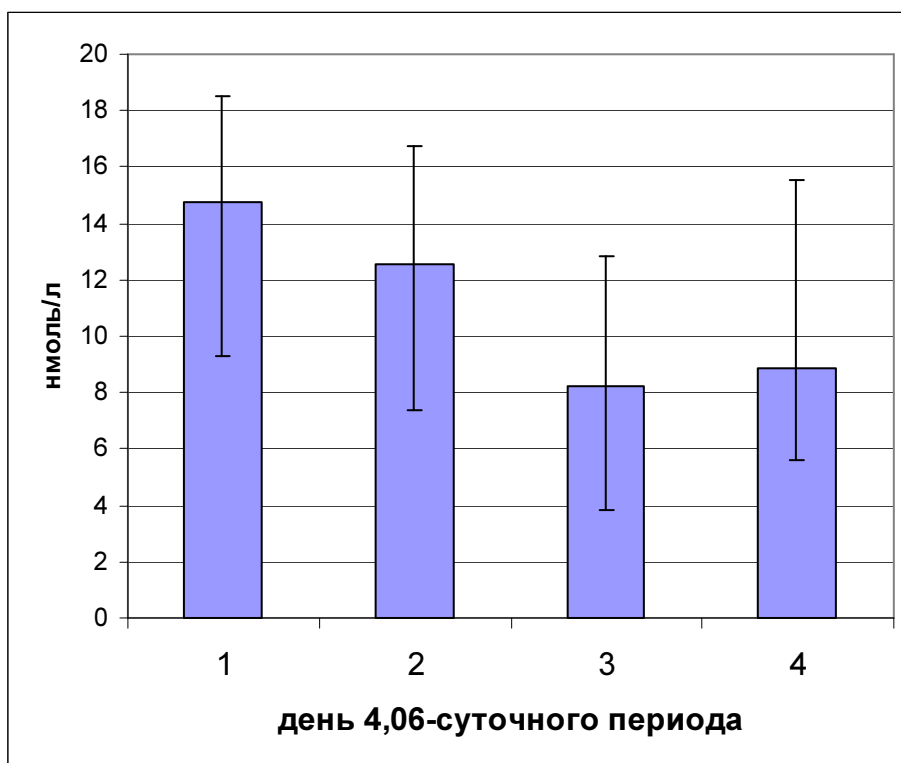
Статистическая значимость различий:

А – $p_{8-9}=0,01$; $p_{10-12}=0,04$; $p_{12-14}=0,01$; $p_{14-15}=0,02$; $p_{15-18}=0,004$; $p_{18-20}=0,001$;

Б – $p_{8-10}=0,003$; $p_{10-12}=0,04$; $p_{12-14}=0,04$; $p_{14-15}=0,01$; $p_{15-18}=0,002$; $p_{18-20}=0,001$

В период с 8 по 20 октября 2011 г. с целью индивидуального исследования уровня тестостерона и кортикостерона у 9 самцов крыс Вистар забор крови проводили из хвостовой вены при кратковременной иммобилизации ежедневно в 8:00-8:30 по местному солнечному времени. Максимальные значения уровня тестостерона и кортикостерона наблюдались в одни и те же календарные даты, а именно 10, 14 и 18 октября, что указывает на синфазное проявление 4-суточных инфрадианных биоритмов этих гормонов (рис. 16).

Исследование инфрадианных ритмов уровня тестостерона в **популяции** половозрелых самцов крыс Вистар проводили в четыре временных периода: с 17 по 29 марта 2011 г. (в сутки – $n=8$, общее число – $n=104$), с 11 по 27 сентября (в сутки – $n=6$, общее число – $n=92$) 2011 г., с 3 по 17 января (в сутки – $n=7$, общее число – $n=105$) и с 16 по 30 октября 2012 г. (в сутки – $n=6$, общее число – $n=80$) для исследования уровня тестостерона и кортикостерона забор крови проводили из хвостовой вены под эфирным наркозом ежедневно у разных животных. Максимальные значения уровня тестостерона наблюдались 18, 21-22, 26 марта, 14, 17-18 мая, 6, 10, 13-14 июля, 12, 15-16, 19-20, 24 сентября, 11, 14-15, 18-19 октября 2011 г. и 3-4, 7-8, 11-12, 16 января 2012 г. Все полученные в этих сериях исследования значения показателя уровня тестостерона были распределены методом наложенных эпох по суткам 4.06-суточного периода. Также как и при распределении показателей уровня кортикостерона, представленном выше, к первому дню 4.06-суточного периода были отнесены значения уровня тестостерона полученные 17, 21, 25, 29 марта, 13, 17, 21 мая, 5, 9, 13 июля, 11, 15, 19, 23, 27 сентября, 10, 14, 18 октября 2011 г. и 3, 7, 11, 15 января 2012 г.; ко второму дню 4.06-суточного периода – значения 18, 22, 26 марта, 14, 18 мая, 6, 10, 14 июля, 12, 16, 20, 24 сентября, 11, 15, 19 октября 2011 г. и 4, 8, 12, 16 января 2012 г.; к третьему дню – значения 19, 23, 27 марта, 15, 19 мая, 3, 7, 11, 15 июля, 13, 17, 21, 25 сентября, 8, 12, 16, 20 октября 2011 г. 5, 9, 13, 17 января



Статистическая значимость различий:

	2	3	4
1	>0,05	0,01	0,03
2		0,01	0,02
3			>0,05

Рис. 17. Распределение всех полученных значений уровня тестостерона в сыворотке крови за период с 17 марта 2011 г. по 17 января 2012 г. по дням 4.06-суточного периода.

По оси абсцисс – сутки 4.06-суточного периода, по оси ординат – уровень тестостерона в нмоль/л, представлены Med (25% –75%).

2012 г.; к четвертому – значения 20, 24, 28 марта, 16, 20 мая, 4, 8, 12, 16 июля, 14, 18, 22, 26 сентября, 9, 13, 17 октября 2011 г. и 6, 10, 14 января 2012 г. Максимальные показатели уровня тестостерона наблюдались в 1-й и 2-й день 4.06-суточного периода (акрофаза) и составили соответственно 14.7 (9.3–18.5) нмоль/л и 12,6 (7.4–16.7) нмоль/л. Минимальные значения наблюдались на 3-й и 4-й день 4.06-суточного периода (батифаза) и составили соответственно 8.2 (3.8–12.8) нмоль/л и 8.9 (5.6–15.5) нмоль/л (рис. 17). Показатели уровня тестостерона в акрофазе статистически значимо различались со значениями в батифазе ($p=0.01$).

Таким образом, в динамике уровня тестостерона установлен 4.06-суточный биоритм, совпадающий по фазе с динамикой уровня кортикостерона, но имеющий более широкую зону акрофазы.

3.1.5. Инфрадианные биоритмы уровня кортизола и тестостерона у мужчин первого периода зрелого возраста

В исследовании участвовали 8 мужчин 24–30 лет (первый период зрелого возраста по классификации ВОЗ) с отсутствием соматических заболеваний, соблюдавших режим сна с 22.30 по 7.00ч и не подвергавшихся патологическому стрессу в период проведения исследования. Забор крови проводился ежедневно в сериях эксперимента с 10 по 25 марта ($n=3$), со 2 по 22 июня ($n=8$), с 29 сентября по 16 октября ($n=7$), со 2 по 24 декабря 2010 г. ($n=3$), с 3 по 30 сентября 2008 г. ($n=2$) в 8 ч утра по местному солнечному времени (г. Москва). У одного мужчины пробы собирали с 9 по 29 декабря 2007 г., с 7 по 26 декабря 2009 г., со 2 по 26 декабря 2010 г. Образцы сывороток крови хранили не более месяца при температуре -40°C .

В динамике уровня кортизола в серии эксперимента со 2 по 22 июня 2010г. у 6 из 8 испытуемых наблюдались синхронные 4-сут колебания. Как показано на рис. 18 в группе здоровых доноров выявлено статистически значимое различие показателей уровня кортизола в зависимости от даты

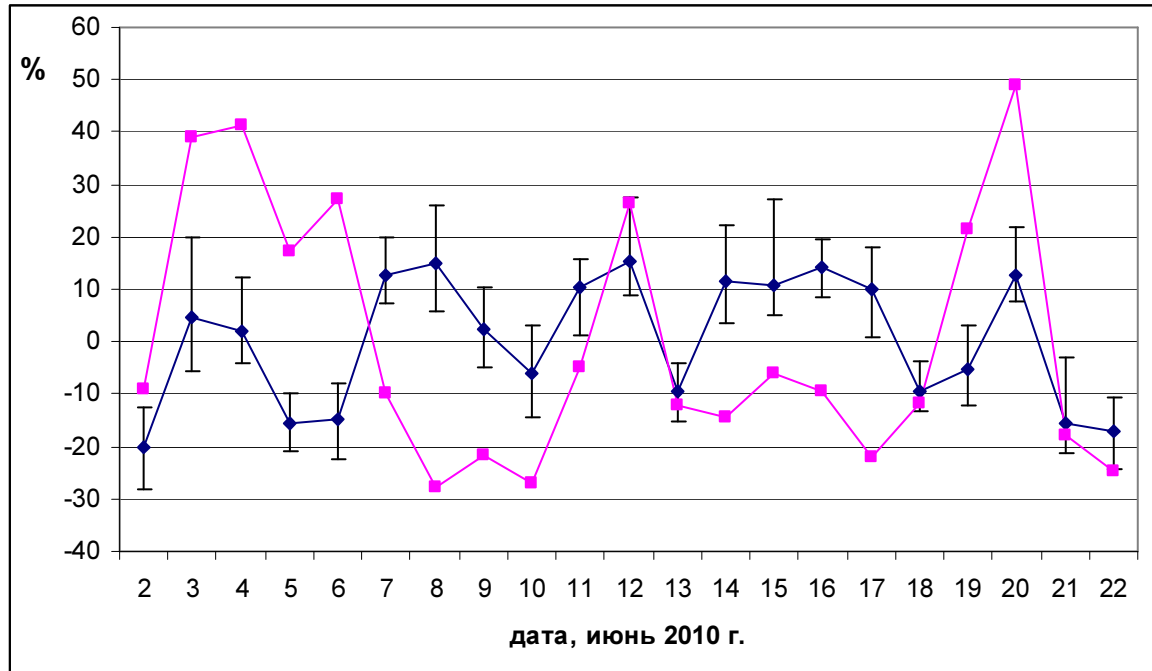


Рис. 18. Динамика уровня кортизола (% от индивидуального среднего уровня) в сыворотке крови у здоровых мужчин в период со 2 по 22 июня 2010 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%).

(—) Данные по группе (n=6) с синхронным проявлением инфрадианных биоритмов

Статистическая значимость различий: $p_{2-4}=0,04$; $p_{6-8}=0,004$; $p_{10-12}=0,03$; $p_{13-16}=0,04$; $p_{16-18}=0,001$; $p_{18-20}=0,02$; $p_{20-22}=0,008$.

(—) Индивидуальные данные одного индивида с 8-суточным инфрадианным биоритмом.

исследования: в дни максимального и минимального его содержания наблюдалось достоверное различие этого показателя. У одного испытуемого уровень кортизола имел 8-сут периодичность с проявлением максимумов в дни, соответствующие максимальному уровню кортизола в основной группе доноров. У 1 из 8 мужчин отметили незначительные колебания уровня кортизола и тестостерона.

Колебания содержания тестостерона в группе здоровых мужчин в период со 2 по 22 июня 2010 г. также имели достоверный 4-суточный период и совпадали по фазе с ритмом уровня кортизола, однако имели большую индивидуальную вариабельность (рис. 19).

В период с 29 сентября по 16 октября в динамике уровня кортизола и тестостерона у 6 из 7 мужчин наблюдали синхронные 4-суточные колебания. У одного индивида максимальный уровень кортизола и тестостерона проявлялся на 1 сут раньше общего максимума (Рис. 20).

Максимальные показатели уровня кортизола и тестостерона в группе мужчин в период с 10 по 25 марта 2010 г. отмечены 11, 15, 18–19 и 23 марта, а в период со 2 по 24 декабря 2010 г. – 4, 8, 12, 16 и 20 декабря.

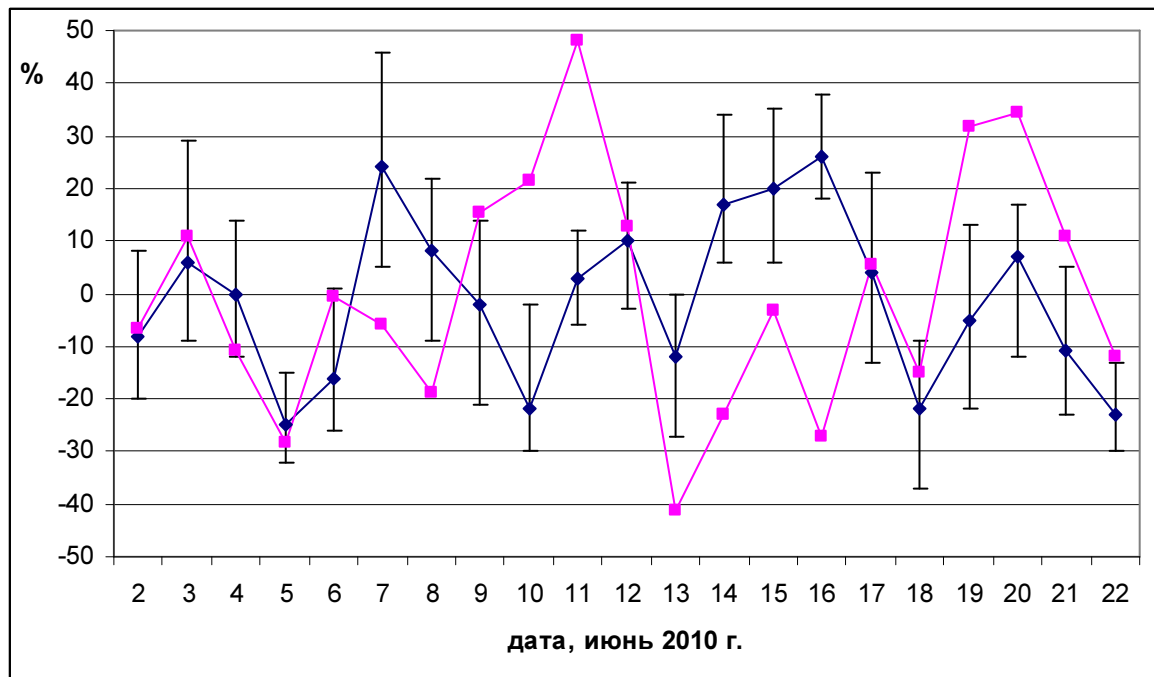


Рис. 19. Динамика уровня тестостерона (% от индивидуального среднего уровня) в сыворотке крови в группе здоровых мужчин в период со 2 по 22 июня 2010 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%)

(—) Данные по группе (n=6) с синхронным проявлением инфрадианных биоритмов

Статистическая значимость различий: $p_{5-7}=0,004$; $p_{7-10}=0,02$; $p_{10-12}=0,04$; $p_{16-18}=0,001$; $p_{18-20}=0,048$; $p_{20-22}=0,04$.

(—) Индивидуальные данные одного индивида с 8-суточным инфрадианным биоритмом.

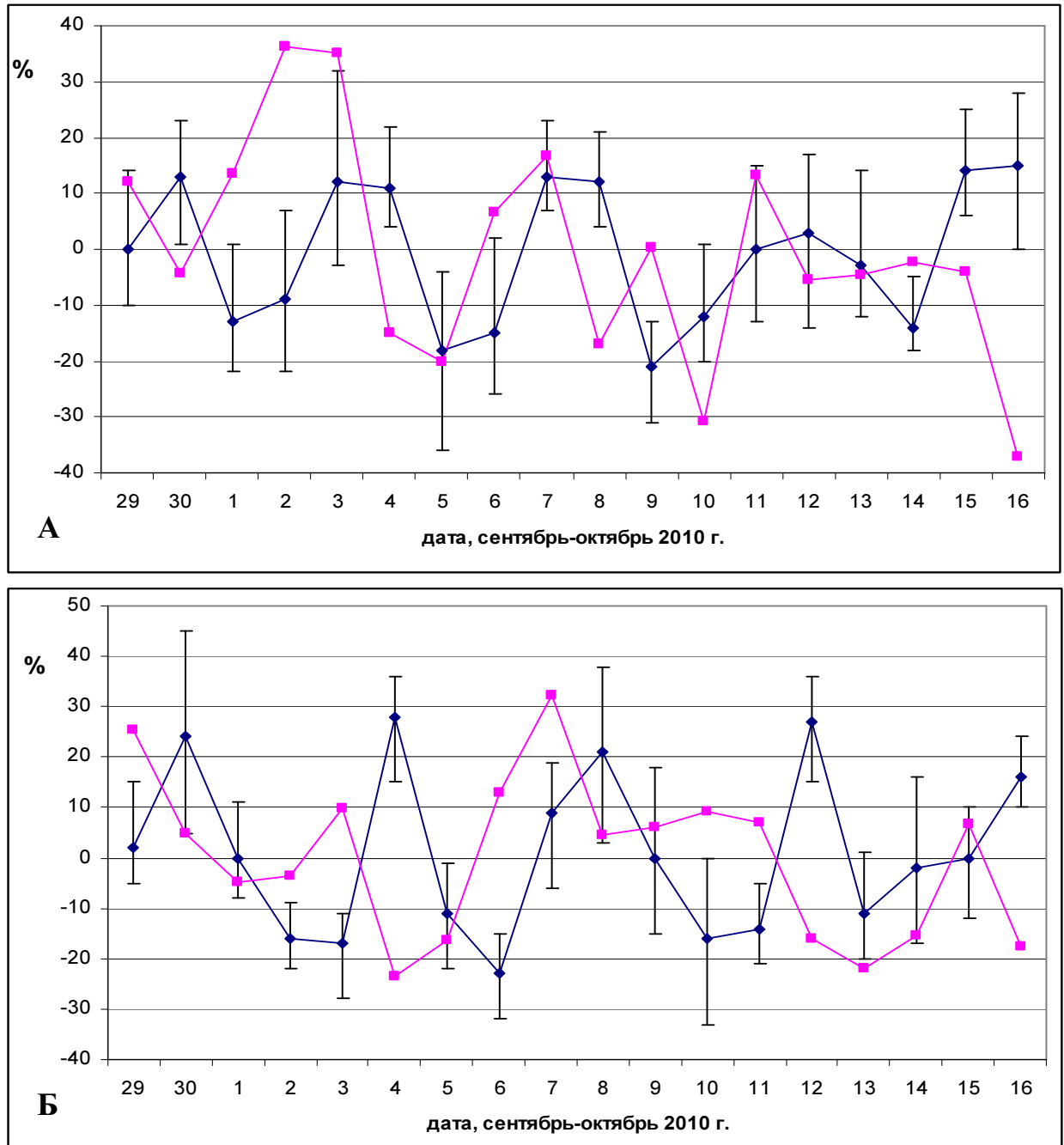


Рис. 20. Динамика уровня кортизола (А) и тестостерона (Б) (отклонение от индивидуального среднего уровня) в сыворотке крови у здоровых мужчин в период с 29 сентября по 16 октября 2010 г. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%)

(—) Данные по группе (n=6) с синхронным проявлением инфрадианных биоритмов

Статистическая значимость различий: А – $p_{30-1}=0,02$; $p_{1-4}=0,03$; $p_{4-6}=0,03$; $p_{6-8}=0,04$; $p_{8-9}=0,03$; $p_{9-12}=0,02$; $p_{14-16}=0,04$; Б – $p_{30-1}=0,03$; $p_{2-4}=0,003$; $p_{4-6}=0,004$; $p_{6-8}=0,01$; $p_{8-10}=0,04$; $p_{10-12}=0,02$; $p_{12-13}=0,03$.

(—) Индивидуальные данные одного индивида со смещением инфрадианного биоритма на сутки.

Анализ календарных дат, в которые выявлены максимальные значения уровня стероидных гормонов в разные сезоны года, позволяет предположить, что примерно каждые 68–72 сут осуществляется скачкообразный переход акрофазы ритма на сутки вперед, благодаря чему обеспечивается кратность этого биоритма периоду земного года. Примером такого скачкообразного перехода акрофазы может послужить исследование уровня тестостерона у двух мужчин в сентябре 2008 г., в котором наблюдались синхронные 4-суточные колебания этого показателя, а очередной пик уровня тестостерона у обоих исследуемых пришелся вместо 20 на 21 сентября, после чего 4-суточный ритм возобновился уже с этого числа (рис. 21).

Кратность периода инфрадианного биоритма стероидных гормонов земному году подтверждается исследованием уровня кортизола у одного индивида на протяжении декабря 2007, 2009 и 2010 гг. – максимальный уровень кортизола наблюдался каждые 4-е сут в одни и те же календарные даты (рис. 22).

Таким образом, в динамике уровня кортизола и тестостерона в сыворотки крови здоровых мужчин 24–30 лет в разные сезоны года установлен 4-суточный биоритм. Максимальные значения уровня кортизола и тестостерона наблюдались в одни и те же календарные даты. Индивидуальные различия инфрадианных биоритмов этих гормонов у некоторых мужчин проявились в двукратном увеличении периода или смещением фазы на 1 сут назад.

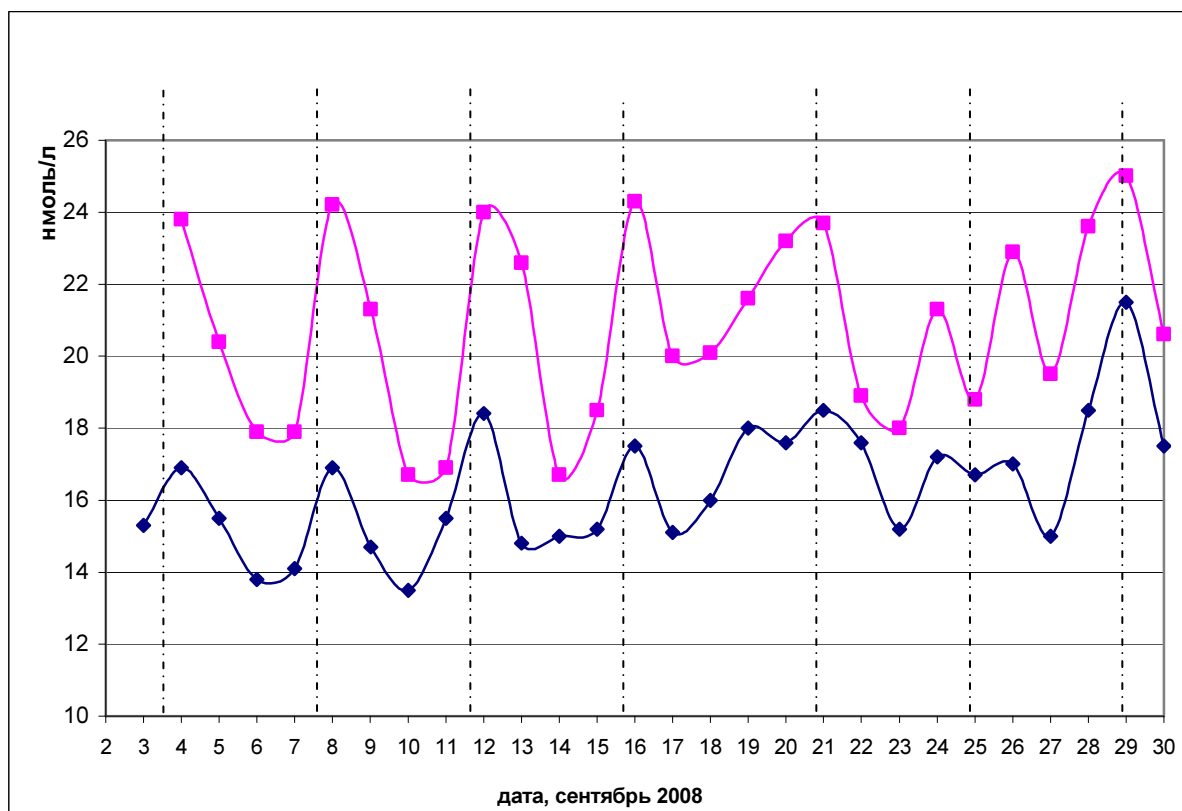


Рис. 21. Динамика уровня тестостерона у двух испытуемых мужчин в период с 3 по 30 сентября 2008 г.

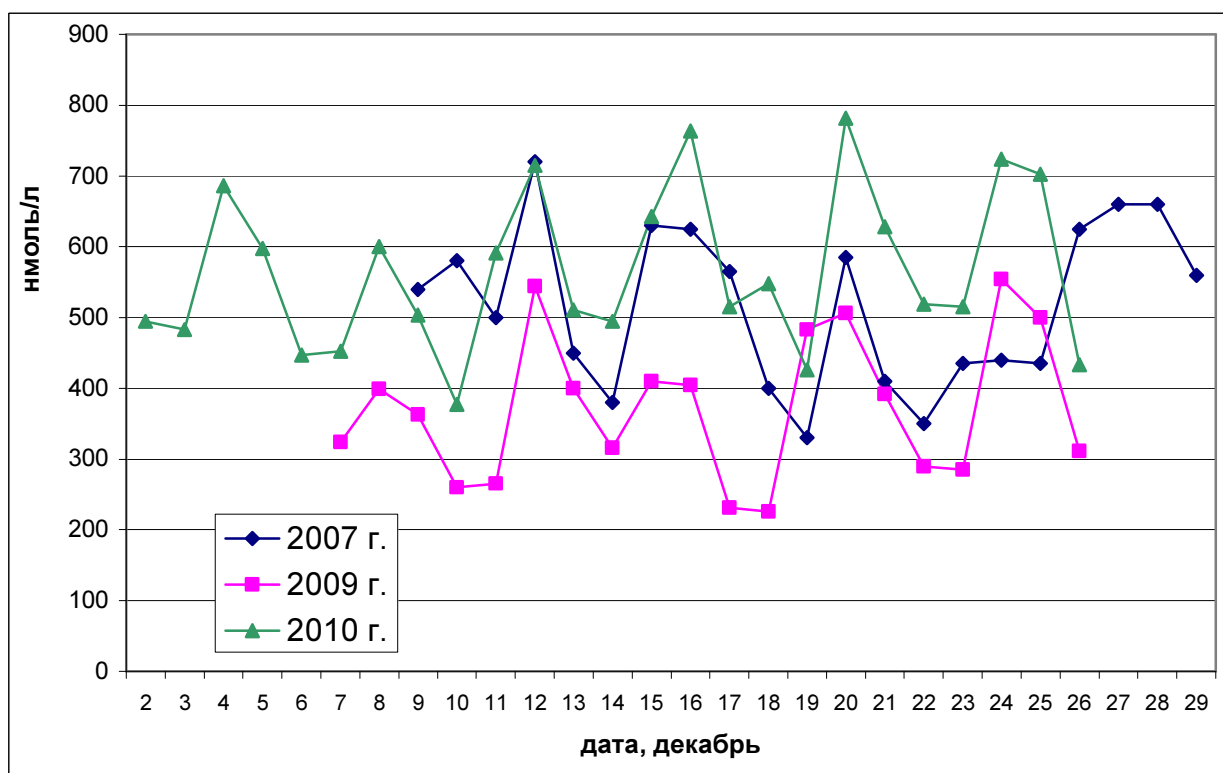


Рис. 22. Динамика уровня кортизола в сыворотке крови у одного мужчины в декабре 2007, 2009 и 2010 гг.

3.1.6. Инфрадианные биоритмы уровня кортизола у женщин репродуктивного возраста

Исследование уровня кортизола проводили в фолликулярную фазу овариально-менструального цикла у 6 женщин 23–33 лет с отсутствием соматических заболеваний, соблюдавших режим сна и не подвергавшихся тяжелым психо-эмоциональным и физическим нагрузкам. У каждой женщины исследование проводили в течение 11–14 дней, первый забор крови осуществляли на 1–2-ые сутки после начала менструации. Забор крови проводили из локтевой вены, ежедневно в 8–9 ч утра по местному солнечному времени (г. Москва).

На протяжении всего периода наблюдений в динамике изменений уровня кортизола в сыворотке крови выявлен 4-суточный период, максимальный уровень кортизола наблюдался 4, 8, 12, 16, 20 и 24 декабря (Рис. 23). У одной из шести женщины наблюдали 8-и суточный период колебаний уровня кортизола в сыворотке крови.

С целью выявления статистической значимости различий показателей в акрофазе и батифазе был применен метод наложения эпох. Весь исследуемый период был разбит на 4-дневные периоды. Значения процентного отклонения от индивидуального среднего уровня кортизола за 2, 6, 10, 14, 18, 22 и 26 декабря были отнесены к первому дню 4-суточного периода, соответствующему его батифазе; значения этого показателя за 3, 7, 11, 15, 19, 23 и 27 декабря – ко второму дню 4-суточного периода; значения этого показателя за 4, 8, 12, 16, 20 и 24 декабря – к третьему дню, соответствующему акрофазе этого 4-х суточного периода; значения этого показателя за 5, 9, 13, 17, 21 и 25 декабря – к четвертому дню 4-суточного периода (Рис. 24). Значения уровня кортизола в процентах от индивидуального среднего уровня в акрофазе этого 4-суточного периода (122 % (111–132)) статистически значимо отличались от его значений в батифазе (89 % (76–95)).

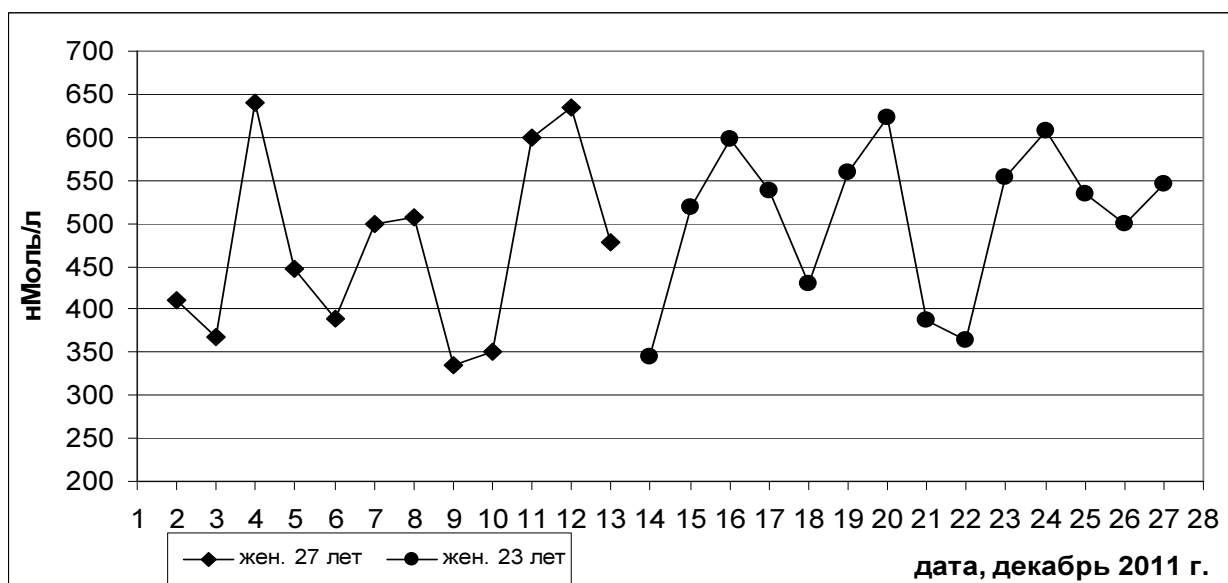
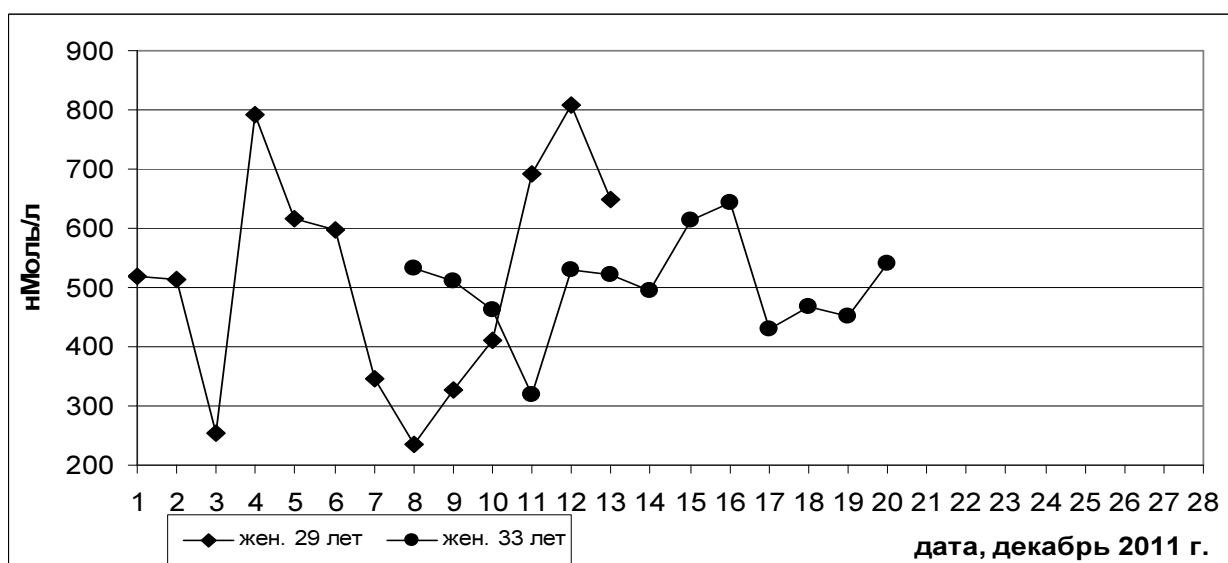
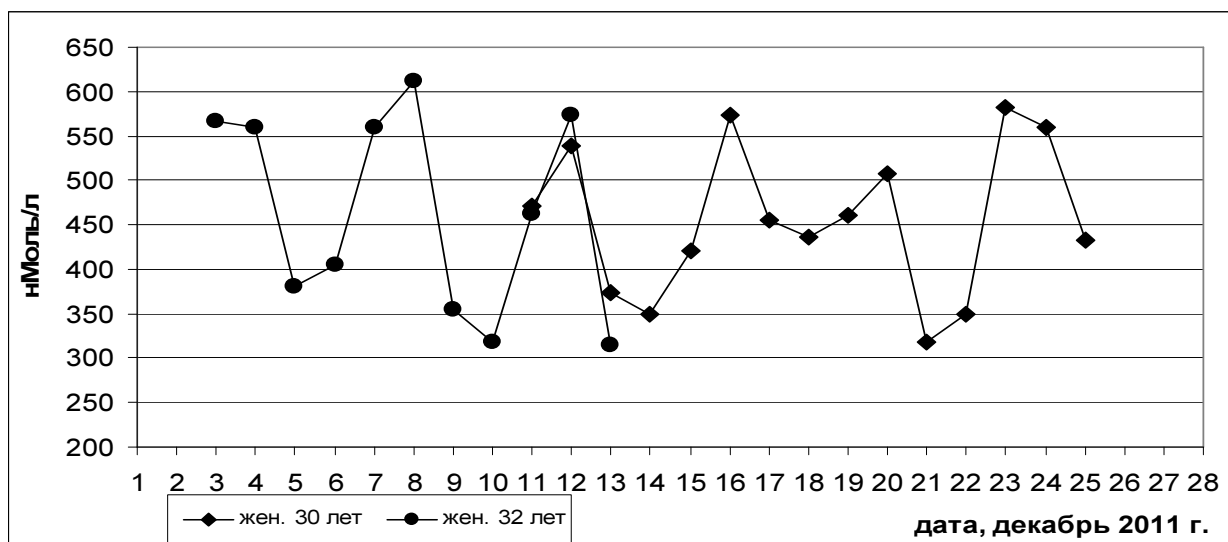
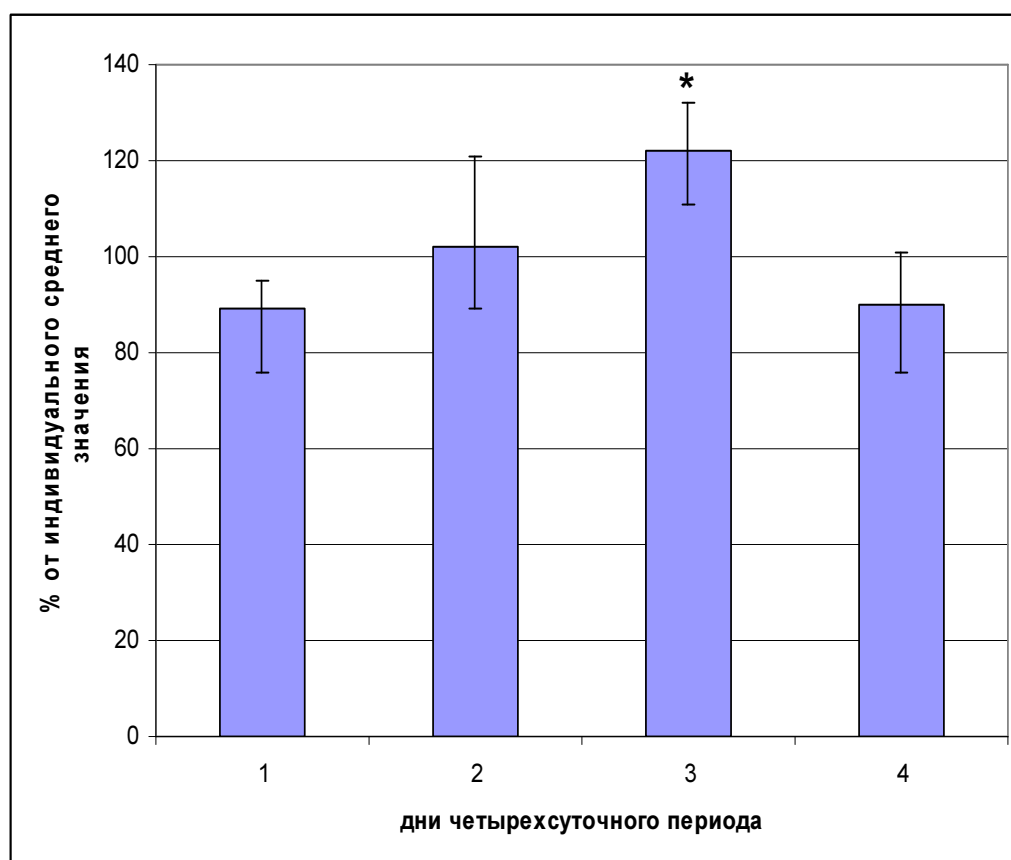


Рис. 23. Динамика уровня кортизола в сыворотке крови 6-и женщин в период с 1 по 27 декабря 2011 г. Забор крови производили ежедневно в 8–9 часов по местному солнечному времени (Москва).



Статистическая значимость различий:

	2	3	4
1	>0,05	0,02	>0,05
2		>0,05	>0,05
3			0,04

Рис. 24. Распределение по суткам четырехсуточного периода процентного отклонения от индивидуальных средних значений уровня кортизола в сыворотке крови женщин (n=6). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25%–75%)

* - значения показателей в акрофазе статистически значимо различаются по сравнению с показателями в бати́фазе.

Таким образом, у женщин репродуктивного возраста в период фолликулярной фазы овариально-менструального цикла в динамике уровня кортизола выявлен 4-суточный биоритм, синхронный у всех исследованных лиц.

Таким образом, в настоящем исследовании динамики уровня кортикостерона, мелатонина и тестостерона в популяции половозрелых самцов крыс Вистар установлен 4-суточный инфрадианный биоритм. Ритмические изменения уровня кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови проявлялись синфазно, а динамика уровня мелатонина находилась в противофазе относительно биоритмов этих гормонов. Изменения структурно-функциональных зон коры надпочечника у самцов крыс Вистар также имели 4-суточную периодичность и соответствовали динамике уровня кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови. Так максимальные значения толщины пучковой зоны коры надпочечников и уровня кортикостерона в сыворотке крови наблюдались в одни и те же календарные даты, в то время как дни, в которые выявлены максимальные значения толщины сетчатой зоны предшествовали акрофазам инфрадианного биоритма уровня кортикостерона.

В группе здоровых мужчин в возрасте 24–30 лет выявлен также 4-суточный биоритм уровня кортизола и тестостерона в сыворотке крови. Период ритмических изменений уровня кортизола в сыворотке крови женщин 23–33 лет в фолликулярную фазу овариально-менструального цикла составил 4 сут.

При индивидуальном анализе инфрадианных биоритмов уровня кортикостерона установлено, что у 72.7 % (16 из 22) самцов крыс Вистар наблюдался синхронный 4-суточный биоритм этого показателя, у 13.6 % (3 из 22) акрофаза ритма регистрировалась на сутки раньше основной группы,

а у остальных 13.6 % (3 из 22) животных статистически значимых изменений исследуемого показателя не наблюдалось. Индивидуальные различия инфрадианных биоритмов уровня кортизола и тестостерона у некоторых мужчин проявляются в двукратном увеличении периода (8 сут) или опережением фазы на 1 сут.

Хронологический анализ выявленных календарных дат, в которые наблюдались максимальные значения уровня глюкокортикоидных гормонов и тестостерона, позволил установить, что каждые 68–72 сут акрофаза 4-суточного биоритма этих гормонов смещается на 1 сут вперед и в разные годы максимальные значения уровня этих гормонов регистрировались в одни и те же календарные даты (с учетом високосности), что указывает на кратность этого инфрадианного биоритма периоду земного года. Распределение методом наложения эпох всех полученных в период наблюдений (2010–2012 гг.) значений уровня глюкокортикоидных гормонов и тестостерона позволило уточнить период инфрадианного биоритма этих показателей, который составил 4.06 суток.

3.2. Инфранианые биоритмы митотической активности эпителия у самцов крыс Вистар и японских перепелов

Данные литературы по закономерностям проявления инфранианых биоритмов митотической активности клеток различных тканей крайне скудны. С. Focan и соавт. [1995] выявили у мышей в динамике митотической активности клеток саркомы около 3–4-суточную периодичность, которая, по мнению авторов, определяется биоритмами организма. Т.Н. Tsai и соавт. [1987] при исследовании в течение 8 сут динамики митотического индекса эпителия роговицы у самок крыс линии Левис выявили около 5-суточную периодичность, которую они связывают с эстральным циклом. Однако дальнейшее кратковременное исследование этих авторов (в течение 12 сут) инфранианых биоритмов митотической активности эпителия роговицы установило около недельную периодичность этого показателя как у самцов, так и у самок крыс линии Хольцман [Tsai T.H. et al., 1989].

Очевидно, что как суточная, так и инфранианная ритмичность глюкокортикоидных гормонов, должна быть связана с динамикой митотического индекса, т.к. по данным многочисленных исследований глюкокортикоиды угнетают митотическую активность эпителиальных тканей [Schell H. et al., 1980; Roumestan C. et al., 2004]. Однако, работы, в которых бы одновременно исследовали инфранианые биоритмы митотической активности эпителия и уровень глюкокортикоидных гормонов, в литературе отсутствуют. Также нет сведений о закономерностях инфранианых ритмов митотической активности эпителия у экспериментальных животных разных возрастных групп. Отсутствуют работы, посвященные исследованию многодневной динамики митотической активности эпителия и уровня глюкокортикоидных и тиреоидных гормонов у птиц.

Поэтому нами проведено длительное исследование инфрадианных ритмов митотической активности эпителия у самцов крыс Вистар и японских перепелов разного возраста, и их сопоставление с динамикой уровня кортикостерона.

3.2.1. Инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия пищевода и роговицы у самцов крыс Вистар и их связь с уровнем кортикостерона

Многодневные ритмы митотической активности эпителия роговицы глаза и пищевода и уровень кортикостерона в сыворотке крови исследовали у половозрелых самцов крыс Вистар (n=290). Животных содержали при естественном освещении и комнатной температуре. Ежедневно по 6-8 особей выводили из эксперимента передозировкой диэтилового эфира в два временных периода: с 17 по 29 марта и с 11 по 27 сентября 2011г. в 8.00-8.30ч по местному солнечному времени (г. Москва). По данным литературы в этот период времени суток показатели митотического индекса эпителия пищевода у крыс имеют максимальные значения [Кудрявцева А.С., 1972].

В период с 11 по 27 сентября максимальные значения митотического индекса (рис 26) отмечены 15, 19, 23 и 27, а минимальные – 12, 13, 17, 20, 21 и 24, 25 сентября. Таким образом, были выявлены изменения динамики митотического индекса с периодом, равным 4 сут. Показатели митотического индекса в акрофазе и батифазе достоверно различались между собой. Наиболее выраженное снижение числа митозов выявлено 12, 13 и 24, 25 сентября. В этот период исследования в динамике уровня кортикостерона в сыворотке крови наблюдались равномерные по амплитуде 4-суточные ритмические колебания (рис. 27). Показатели уровня кортикостерона в акрофазе и батифазе статистически значимо различались между собой. Дни с максимальным уровнем кортикостерона предшествовали дням с минимальным митотическим индексом. Значения

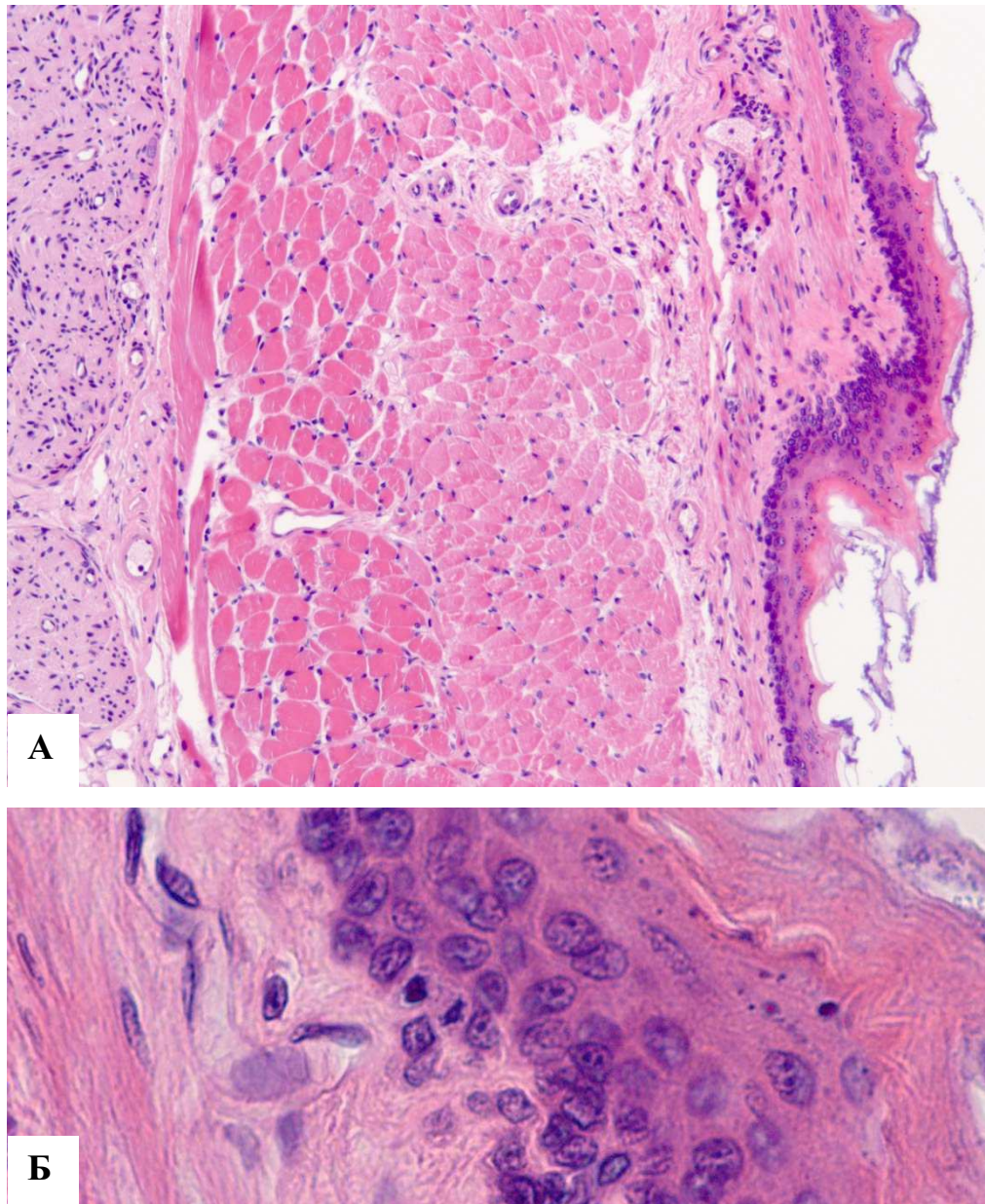


Рис. 25. Стенка пищевода крысы.

А. Эпителиальная выстилка представлена ороговевающим многослойным плоским эпителием, в подслизистой основе зрелая соединительная ткань.

Б. В базальном слое эпителия клетка в стадии митоза.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. **А.** 100; **Б** 640.

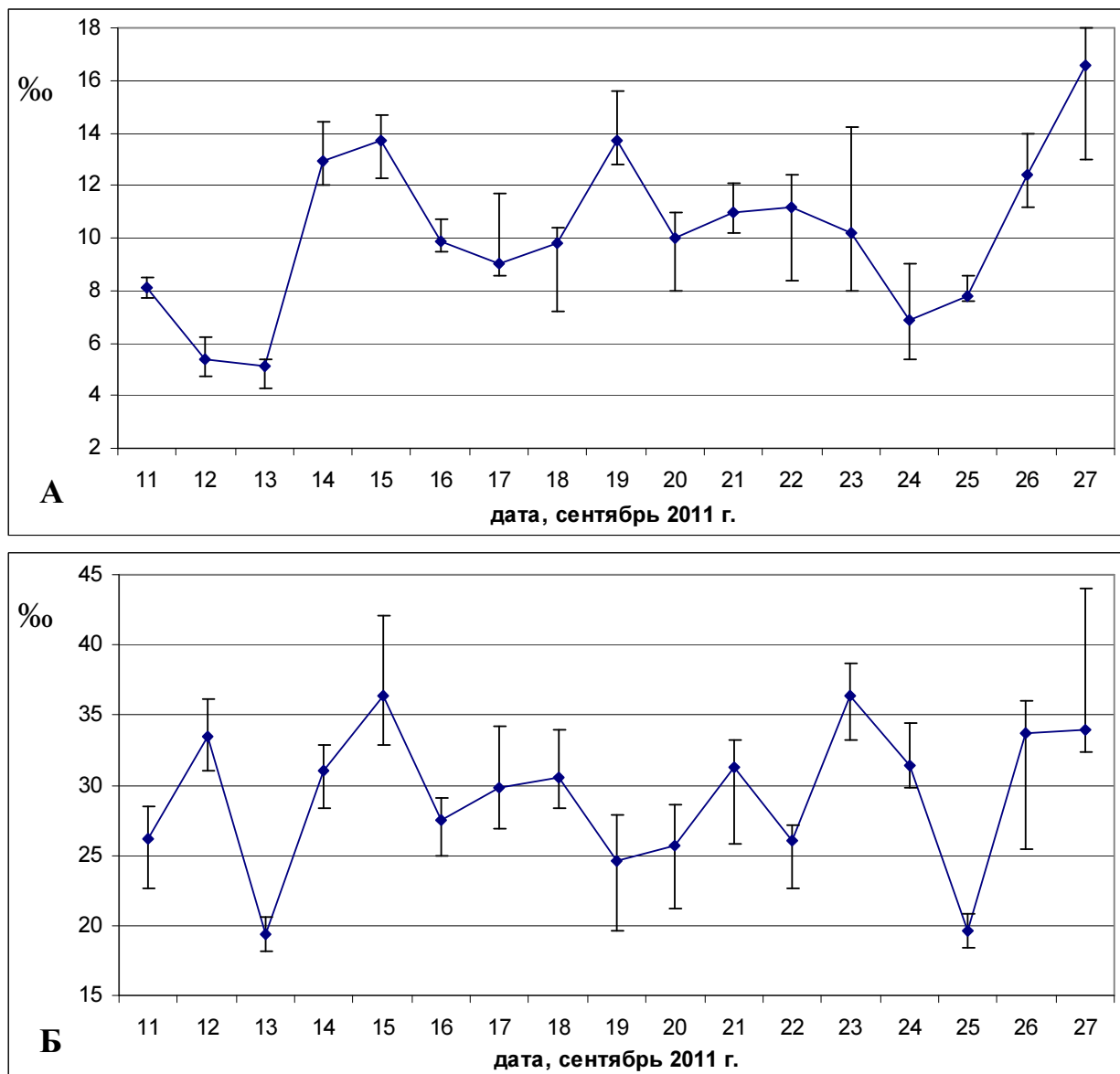


Рис. 26. Динамика уровня пролиферативной активности эпителия пищевода (А), роговицы (Б) у крыс-самцов Вистар в период с 11 по 27 сентября 2011 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

А – $p_{13-15}=0,004$; $p_{15-17}=0,01$; $p_{17-19}=0,01$; $p_{19-21}=0,03$; $p_{23-25}=0,02$; $p_{25-27}=0,006$

Б – $p_{12-13}=0,004$; $p_{13-15}=0,004$; $p_{23-25}=0,004$; $p_{25-27}=0,004$

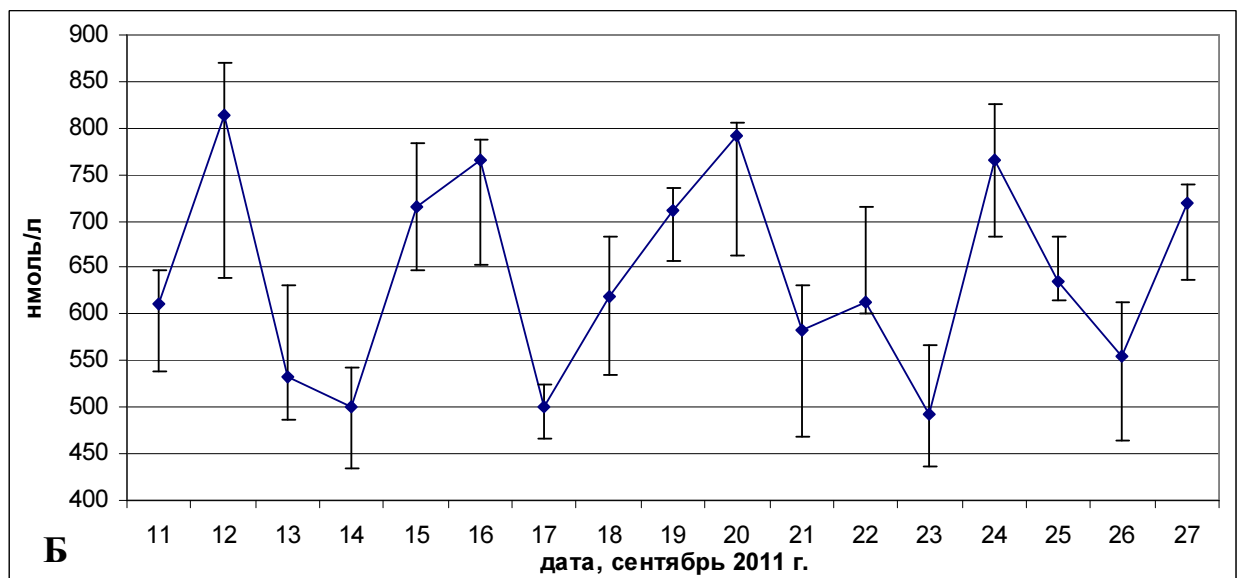
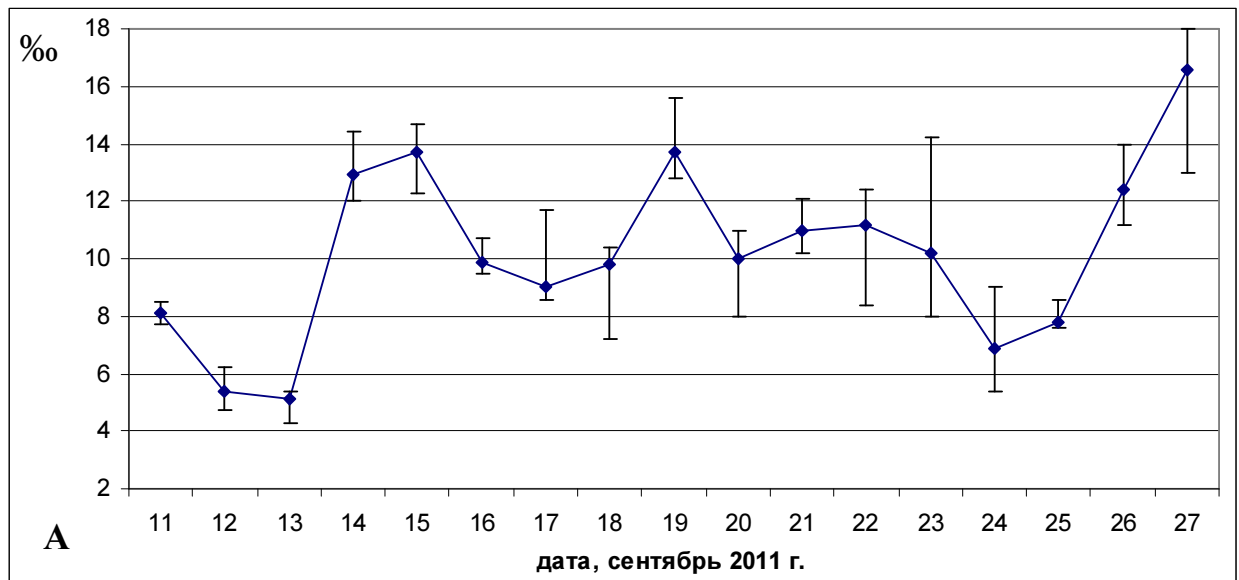


Рис. 27. Динамика уровня пролиферативной активности эпителия пищевода (**А**) и кортикостерона (**Б**) в сыворотке крови у крыс-самцов Вистар в период с 11 по 27 сентября 2011 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

А – $p_{13-15}=0,004$; $p_{15-17}=0,01$; $p_{17-19}=0,01$; $p_{19-21}=0,03$; $p_{23-25}=0,02$; $p_{25-27}=0,006$

Б – $p_{12-14}=0,003$; $p_{14-16}=0,003$; $p_{16-17}=0,002$; $p_{17-20}=0,002$; $p_{20-23}=0,004$; $p_{23-24}=0,002$; $p_{24-26}=0,003$.

митотического индекса отрицательно коррелировали с уровнем кортикостерона, которые были смещены на сутки вперед ($r=-0.42$; $p=0.01$).

В период с 17 по 29 марта в динамике уровня кортикостерона отсутствует ожидаемый 22-23 марта максимум (рис. 28), в это же время не отмечено и снижения митотической активности эпителия, что подтверждает ее связь с уровнем кортикостерона. Коэффициент корреляции между уровнем кортикостерона и митотическим индексом эпителия пищевода составил -0.58 ($p=0.001$).

В динамике показателей числа митозов эпителия роговицы глаза наблюдался только 12-суточный период (Рис. 26, Б), который совпадал по фазе с ритмом пролиферативной активности эпителия пищевода.

Таким образом, каждые 4 суток наблюдается снижение суточного (утреннего) пика митотической активности эпителиальных клеток пищевода. Максимальный уровень кортикостерона предшествует дню с минимальным числом митозов в эпителии. Более выраженное снижение числа митозов в эпителии пищевода и роговицы проявляется с 12-суточной периодичностью.

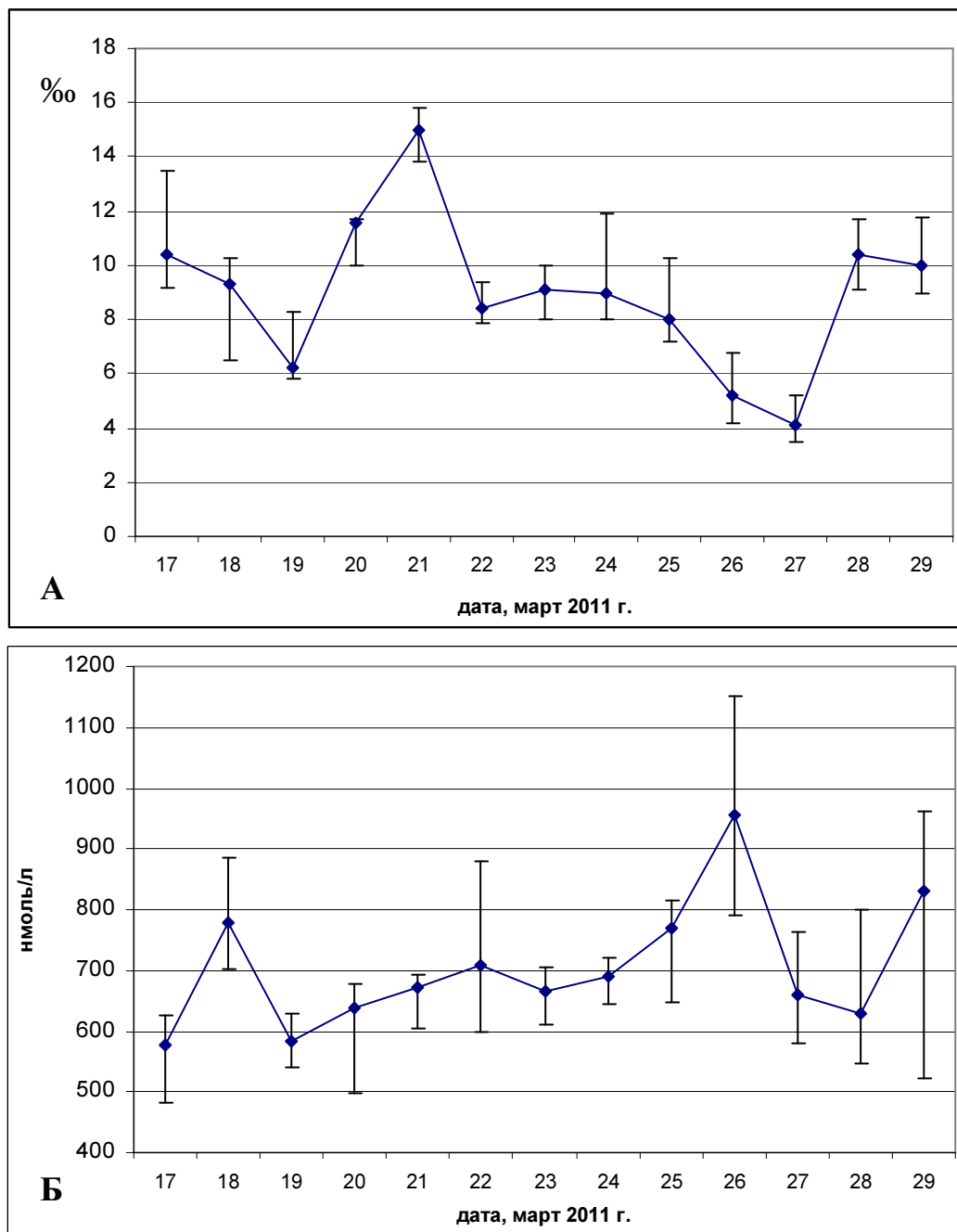


Рис. 28. Динамика уровня митотической активности эпителия пищевода (А) и кортикостерона в сыворотке крови (Б) у крыс-самцов Вистар в период с 17 по 29 марта 2011 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

А – $p_{17-19}=0,02$; $p_{19-21}=0,001$; $p_{21-23}=0,03$; $p_{27-29}=0,001$

Б – $p_{17-18}=0,001$; $p_{18-20}=0,006$; $p_{24-26}=0,01$; $p_{26-28}=0,04$

3.2.2. Зависимость инфрадианных ритмов митотической активности эпителия пищевода от возраста самцов крыс Вистар

С целью выявления различий в параметрах инфрадианных биоритмов в зависимости от возраста животных, а также уточнения периодов выявленных инфрадианных биоритмов динамики митотической активности эпителия пищевода проведено более длительное исследование. Для этого были сформированы две возрастные группы: половозрелые самцы крыс Вистар (возраст 3–4 мес; n=824) и самцы крыс Вистар в препубертатном периоде развития (возраст 35–45 сут; n=386). Определение митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых животных проводили ежедневно в периоды: 17 – 29 марта, 10 – 16 июля, 11 – 27 сентября, 6 – 11 декабря 2011 г.; 4 – 23 января, 9 – 15 марта, 16 октября – 2 ноября 2012 г.; 18 июня – 16 июля 2013 г.; 21 – 31 января, 17 – 20 февраля, 1 – 5 марта 2014 г. Динамику митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар в препубертатном периоде развития исследовали ежедневно в периоды: 1 – 10 марта, 18 июня – 16 июля, 11 – 20 августа, 3 – 12 декабря 2013 г.; 27 января – 8 февраля 2014 г.

Крыс экспериментальных групп в 2011 и 2012 гг. содержали при естественном освещении и комнатной температуре. С целью исключения влияния колебаний интенсивности естественного освещения, животные экспериментальных групп в 2013 и 2014 гг. находились при искусственном свете интенсивностью около 1000 лк и цветовой температурой источника 4200 К, автоматически включавшегося и выключающегося с помощью астрономического программируемого реле времени «PCZ-525» (ООО «Евроавтоматика ФиФ», Беларусь) соответственно в момент восхода и захода Солнца. Интенсивность освещения в 1000 лк соответствует таковой на открытом месте днем в декабре при пасмурной погоде. Животных выводили из эксперимента ежедневно по 5-8 особей передозировкой диэтилового эфира в 8:00-8:30 ч по местному солнечному времени (г. Москва).

В динамике показателей митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар во все периоды наблюдений выявлялся 4- и 12-суточный биоритм. В препубертатном периоде развития животных колебания показателей митотического индекса эпителия пищевода имели только 4-суточный ритм. Так в интервале времени с 18 июня по 16 июля 2013 г. наблюдались минимумы исследуемого показателя – 20, 24 и 28 июня, 2, 7, 10 и 14 июля (рис. 29). Коэффициент автокорреляции динамики митотического индекса по 4-суточному периоду был статистически значимым и составил 0.63 (Conf. Limit 0.41). В этот же период у половозрелых самцов крыс достоверно выявлялся и 12-суточный биоритм с минимальными значениями митотического индекса 20 июня, 2 и 14 июля (рис. 29).

Содержание животных в условиях изоляции от естественного освещения, позволяющее исключить возможное влияние на организм колебаний его интенсивности, не повлияло на характеристики инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия пищевода. При содержании в условиях естественного освещения амплитуда 4-суточного ритма митотического индекса составляла 3.8 ‰ (3.2–4.4) и 12-суточного – 8.3 ‰ (6.4–9.2), а в условиях искусственного освещения 4-суточного – 3.4 ‰ (3.2–4.5) и 12-суточного – 8.6 ‰ (5.5–9.0). Статистически значимых различий в показателях митотического индекса в сравниваемых группах не выявлено. Поэтому при дальнейшей обработке результатов значения этого показателя, полученные при содержании животных в условиях естественного и искусственного освещения, были объединены в одну группу.

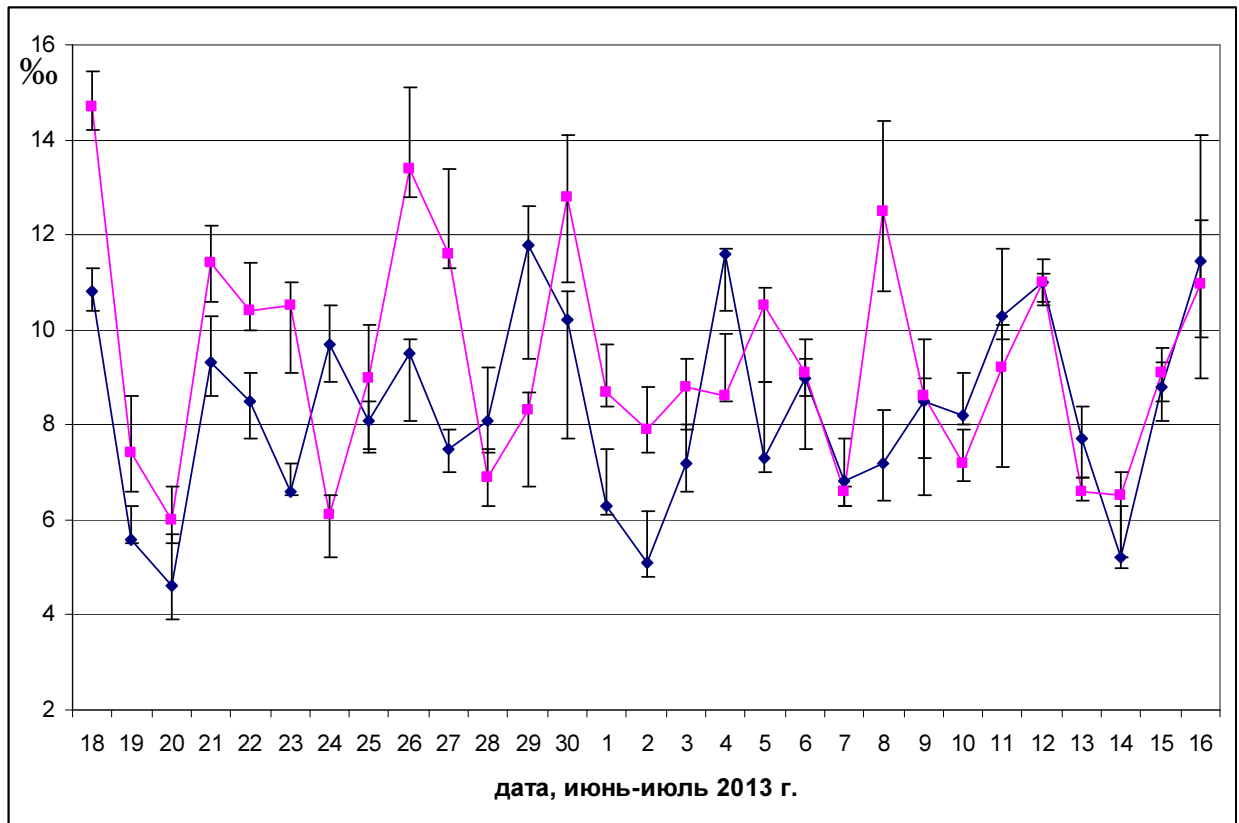


Рис. 29. Динамика митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар в период с 18 июня по 16 июля 2013 г. Представлены медианы и 25%–75% квартили.

- (1) – группа 3-4 месячных животных,
- (2) – группа 35–45 дневных животных.

По оси абсцисс – календарные даты. По оси ординат митотический индекс в ‰ (число митозов на 1000 клеток).

Статистическая значимость различий:

(1) – $p_{18-20}=0,004$; $p_{20-22}=0,01$; $p_{27-29}=0,01$; $p_{29-2}=0,0001$; $p_{2-4}=0,0001$; $p_{10-12}=0,006$; $p_{12-14}=0,0001$; $p_{14-16}=0,001$

(2) – $p_{18-20}=0,003$; $p_{20-22}=0,001$; $p_{22-24}=0,006$; $p_{24-26}=0,001$; $p_{26-28}=0,003$; $p_{28-30}=0,01$; $p_{30-2}=0,001$; $p_{5-7}=0,02$; $p_{7-8}=0,002$; $p_{8-10}=0,001$; $p_{10-12}=0,01$; $p_{12-14}=0,001$; $p_{14-16}=0,006$.

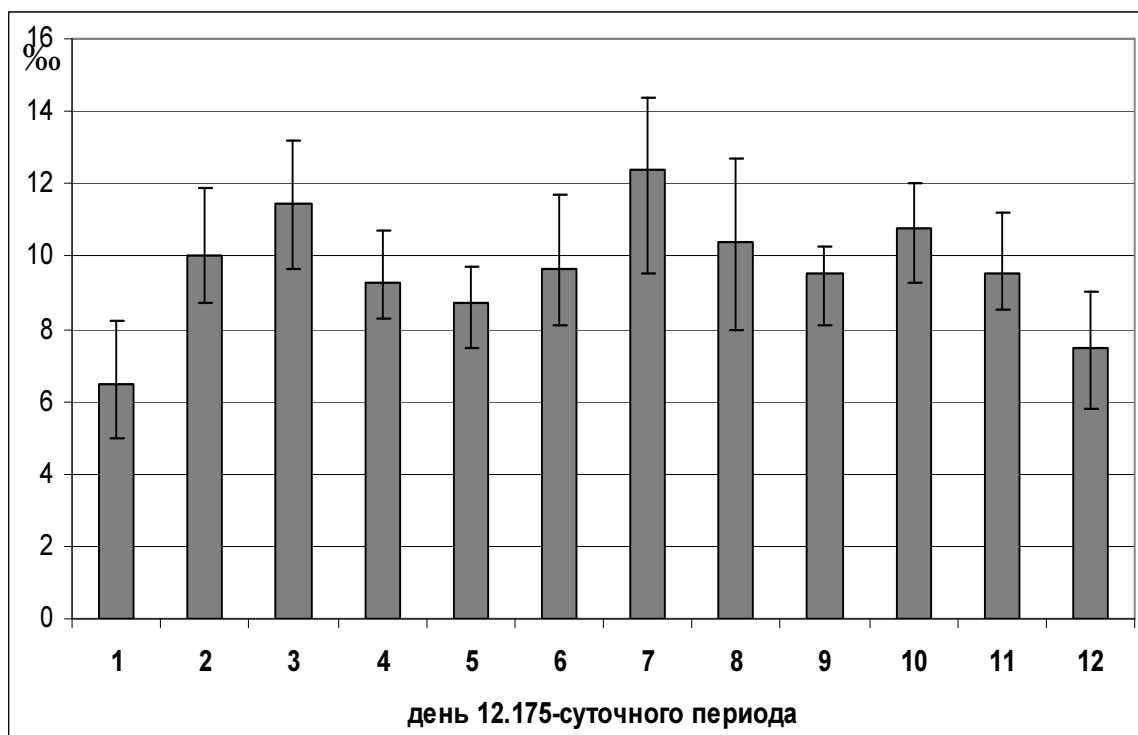
Хронологический анализ дат, в которые зарегистрированы батифазы 12-суточного инфрадианного биоритма митотической активности (таблица 9), показал, что каждые 60–72 суток, батифаза этого биоритма смещается на сутки вперед. В связи с этим, все полученные нами, на протяжении трех лет, значения митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар были распределены методом наложенных эпох по суткам 12.175-суточного периода. За первый день 12.175-суточного периода принимались календарные даты, указанные в таблице, соответствующие батифазе (точка во времени, когда показатель имеет минимальное значение) инфрадианного биоритма митотического индекса эпителия пищевода. Наименьшие значения показателей митотического индекса у половозрелых самцов крыс Вистар выявлялись в первый день 12.175-суточного периода, и они статистически значимо отличались от показателей во все остальные дни (со 2 по 12 день) (рис. 30). Показатели митотического индекса у животных этой группы были низкими на 5-е и 9-е сутки 12.175-суточного периода и статистически значимо отличались от высоких значений этого показателя на 3-е, 7-е и 11-е дни 12.175-суточного периода.

С помощью распределения всех полученных значений митотического индекса эпителия пищевода у самцов крыс препубертатного возраста методом «наложения эпох» по дням 12.175-суточного периода выявлен только 4.06-суточный биоритм этого показателя с его минимальными значениями на 1-е, 5-е и 9-е сутки (рис. 31).

Таблица 9. Календарные даты батираз инфрадианного биоритма митотического индекса эпителия пищевода у самцов крыс Вистар

	2011 г.	2012 г.	2013 г.	2014 г.
Январь	1 13 25	1 13 25–26	–1 13 25	1 13 25
Февраль	6–7 19	7 19	6 18	6 18
Март	3 15 27	2 14 26–27	2 14–15 27	2–3 15 27
Апрель	8 20–21	8 20	8 20	8 20
Май	3 15 27	2 14 26	2 14 26–27	2–3 15 27
Июнь	8 20	7–8 20	8 20	8 20
Июль	2–3 15 27	2 14 26	2 14 26–27	2 14–15 27
Август	8 20	7 19–20	8 20	8 20
Сентябрь	1–2 14 26	1 13 25	1 13 25	1 13 25–26
Октябрь	8 20	7 19 31–	7–8 20	8 20
Ноябрь	1 13–14 26	–1 13 25	1 13 25	1 13 25–26
Декабрь	8 20	7 19 31–	7 19–20	8 20

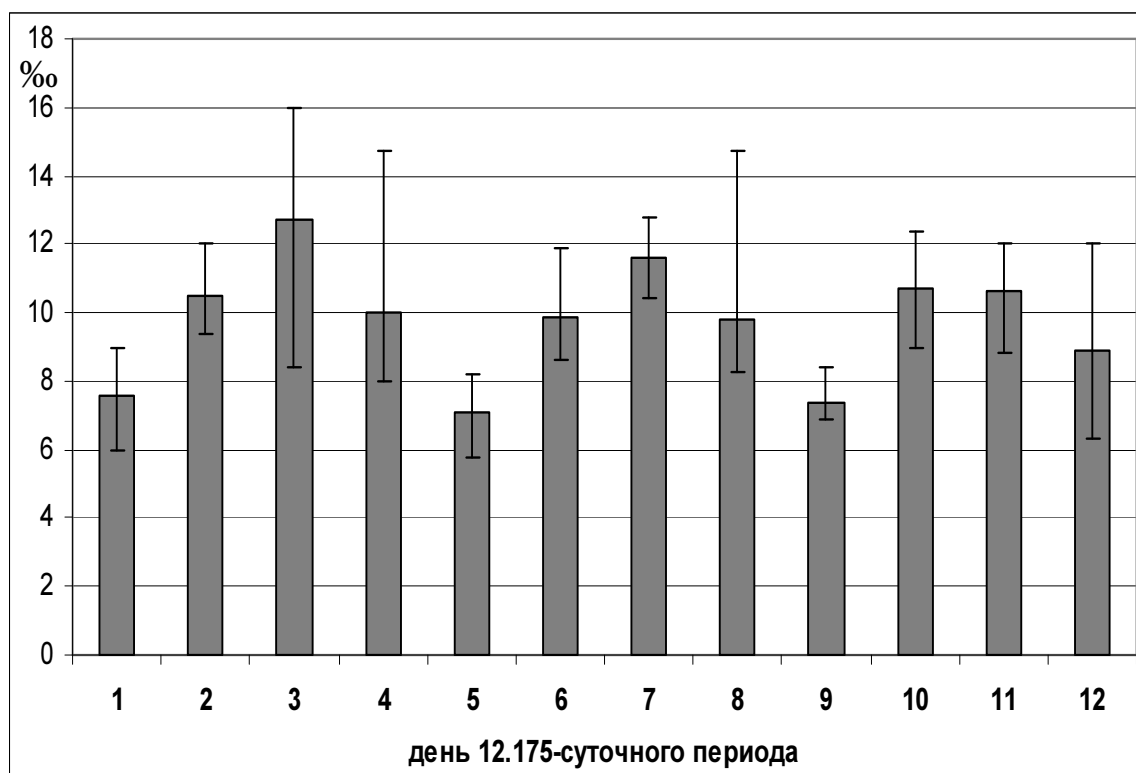
Условные обозначения: Жирным шрифтом выделены установленные даты батираз, а обычным – рассчитанные путем отсчета 12.175-суточных периодов от зарегистрированных дат батираз этого биоритма. Между указанными датами временной интервал в 12 суток. Курсивом выделены смещения на сутки вперед батираз инфрадианного ритма митотического индекса, наблюдающиеся через каждые 60–72 суток в результате периодически накапливающейся временной разницы между 12-суточным и 12.175-суточным периодами.



Статистическая значимость различий:

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0,002	0,0001	0,0002	0,0400	0,0001	0,0000	0,0357	0,0073	0,0001	0,001	1,0000
2		1,0000	1,0000	0,3265	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
3			0,0717	0,0004	1,0000	1,0000	1,0000	0,0149	1,0000	0,6148	0,0001
4				1,0000	1,0000	0,0645	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,0006
5					1,0000	0,0006	0,4209	1,0000	0,0201	1,0000	0,8935
6						0,7139	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,0003
7							1,0000	0,0679	1,0000	0,4597	0,0000
8								1,0000	1,0000	1,0000	0,0001
9									0,0451	1,0000	0,0137
10										1,0000	0,0013
11											0,0000

Рис. 30. Распределение по суткам 12.175-суточного периода значений митотического индекса у самцов крыс Вистар в возрасте 3–4 месяцев. Представлены медианы и 25%–75% квантили. По оси абсцисс – день 12.175-суточного периода. По оси ординат митотический индекс в ‰ (число митозов на 1000 клеток).



Статистическая значимость различий:

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0,0037	0,0014	0,0548	1,0000	0,1185	0,0001	0,0352	1,0000	0,0267	0,0101	1,0000
2		1,0000	1,0000	0,0004	1,0000	1,0000	1,0000	0,0068	1,0000	1,0000	1,0000
3			1,0000	0,0002	1,0000	1,0000	1,0000	0,0029	1,0000	1,0000	0,8797
4				0,0087	1,0000	1,0000	1,0000	0,0816	1,0000	1,0000	1,0000
5					0,0199	0,0000	0,0059	1,0000	0,0041	0,0014	1,0000
6						1,0000	1,0000	0,1686	1,0000	1,0000	1,0000
7							1,0000	0,0003	1,0000	1,0000	0,1147
8								0,0509	1,0000	1,0000	1,0000
9									0,0409	0,0170	1,0000
10										1,0000	1,0000
11											1,0000

Рис. 31. Распределение по суткам 12.175-суточного периода значений митотического индекса у самцов крыс Вистар в возрасте 35–45 суток. Представлены медианы и 25%–75% квантили. По оси абсцисс – день 12.175-суточного периода. По оси ординат митотический индекс в ‰ (число митозов на 1000 клеток).

Таким образом, у половозрелых самцов крыс Вистар в возрасте 3–4 мес в динамике митотического индекса эпителия пищевода установлены 4- и 12-суточные биоритмы. В препубертатном периоде постнатального развития наблюдается только 4-суточный инфрадианный биоритм этого показателя. Исследование митотической активности эпителия на протяжении длительных временных интервалов в течение 3-х лет позволило установить, что ее инфрадианные биоритмы имеют 4.058- и 12.175-суточные периодичности проявления, что, очевидно, обусловлено внешними воздействиями, синхронизирующими биоритмы.

3.2.3. Сопоставление инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия с динамикой гелиогеофизических параметров

В качестве внешних факторов, влияющих на митотическую активность, были оценены A_p -индекс, отражающий уровень геомагнитной активности, и среднесуточные вариации B_z -компоненты межпланетного магнитного поля (вертикальная составляющая межпланетного магнитного поля, параллельная силовым линиям магнитного поля Земли).

При анализе связи динамики митотической активности с A_p -индексом статистически значимая корреляционная связь была выявлена только в период с 4 по 16 января 2012 г. (коэффициент корреляции $r=-0.52$; $p=0.03$) и с 3 по 16 июля 2013 г. ($r=-0.48$; $p=0.05$). В остальные периоды исследований такая связь отсутствовала.

При анализе методом Фурье динамики среднесуточных значений B_z -компоненты межпланетного магнитного поля за 2011–2013 гг. нами выявлены около 12-, 14-, 24- и 28-суточные периодичности, среди которых наиболее выраженная спектральная составляющая – гармоника равна 24.5 сут. На рис. 4 представлено распределение методом наложения эпох по дням 12.175-суточного периода среднесуточных значений B_z -компоненты межпланетного магнитного поля. За первый день 12.175-суточного периода принималась календарная дата, представленная в таблице 9. Наиболее

выраженные отрицательные значения Vz-компоненты выявляются в первый день 12.175-суточного периода, и ее показатели статистически значимо отличаются от таковых во все другие дни (рис. 32). Статистически значимое снижение показателей Vz-компоненты выявлено на 5-е и 9-е сут 12.175-суточного периода. Именно в эти дни у крыс наблюдаются минимальные значения митотического индекса эпителия пищевода. Распределение аналогичным способом изменения величины Vz-компоненты относительно предыдущих сут за 2011–2013 гг. выявило также наиболее выраженное снижение этого показателя на 1-е сут и менее значительные на 5-е и 9-е сут 12.175-суточного периода. При этом максимальное число выраженных снижений по сравнению с предыдущими сут (больше чем на -2 нТл) Vz-компоненты межпланетного магнитного поля отмечалось на 1-е, 5-е и 9-е сут 12.175-суточного периода (рис. 33). Для увеличения выборки нами были проанализированы изменения показателей Vz-компоненты межпланетного магнитного поля за 2000–2003 гг., когда фаза 11-летнего цикла солнечной активности была сходна (рис. 33). Суммарное число случаев снижения (больше чем на 2 нТл) по сравнению с предыдущими сут величины Vz-компоненты межпланетного магнитного поля за 1-е, 5-е и 9-е сут 12.175-суточного периода составило 113 из 360 возможных, тогда как суммарное число таких случаев за 3-и, 7-е и 11-е сут 12.175-суточного периода равно 77, что по z-тесту для оценки долей статистически значимо различается ($z=2.625$; $p=0.008$).

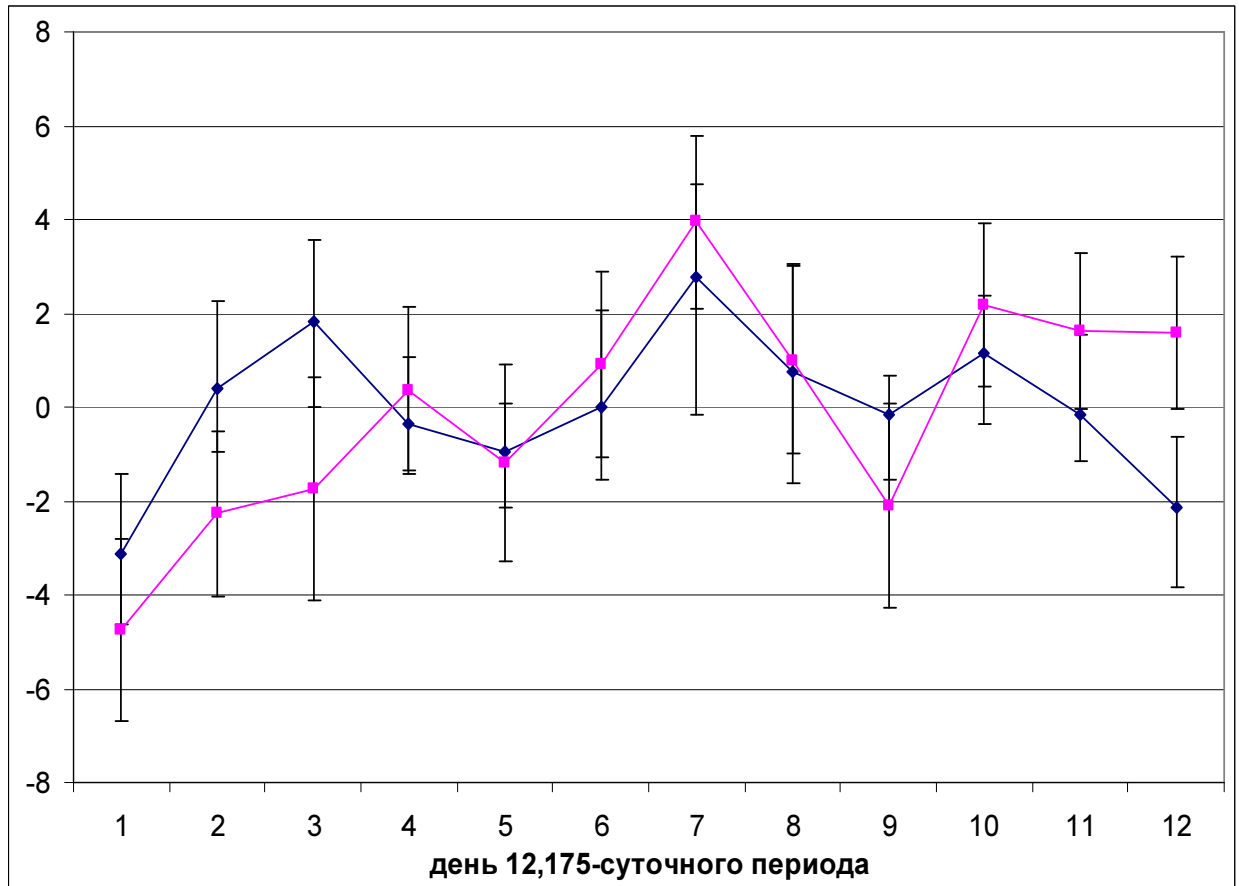


Рис. 32. Распределение отклонений от среднего уровня митотического индекса эпителия пищевода у самцов крыс Вистар в возрасте 3–5 мес (— 1) по оси ординат – число митозов на 1000 клеток, представлены медианы и 25–75% квантили) и среднесуточных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля (— 2), по оси ординат – 10^{-10} Тл, представлены средние значения и ошибки среднего) по дням 12.175-суточного периода. По оси абсцисс – день 12.175-суточного периода.

Статистическая значимость различий:

1 – $p_{1-3} = 0.0001$; $p_{1-5} = 0.04$; $p_{1-7} = 0.0001$; $p_{1-9} = 0.02$; $p_{1-11} = 0.002$; $p_{3-5} = 0.001$; $p_{5-7} = 0.002$; $p_{7-9} = 0.03$;

2 – $p_{1-3} = 0.0001$; $p_{1-5} = 0.04$; $p_{1-7} = 0.0001$; $p_{1-9} = 0.02$; $p_{1-11} = 0.002$; $p_{3-5} = 0.001$; $p_{5-7} = 0.002$; $p_{7-9} = 0.03$;

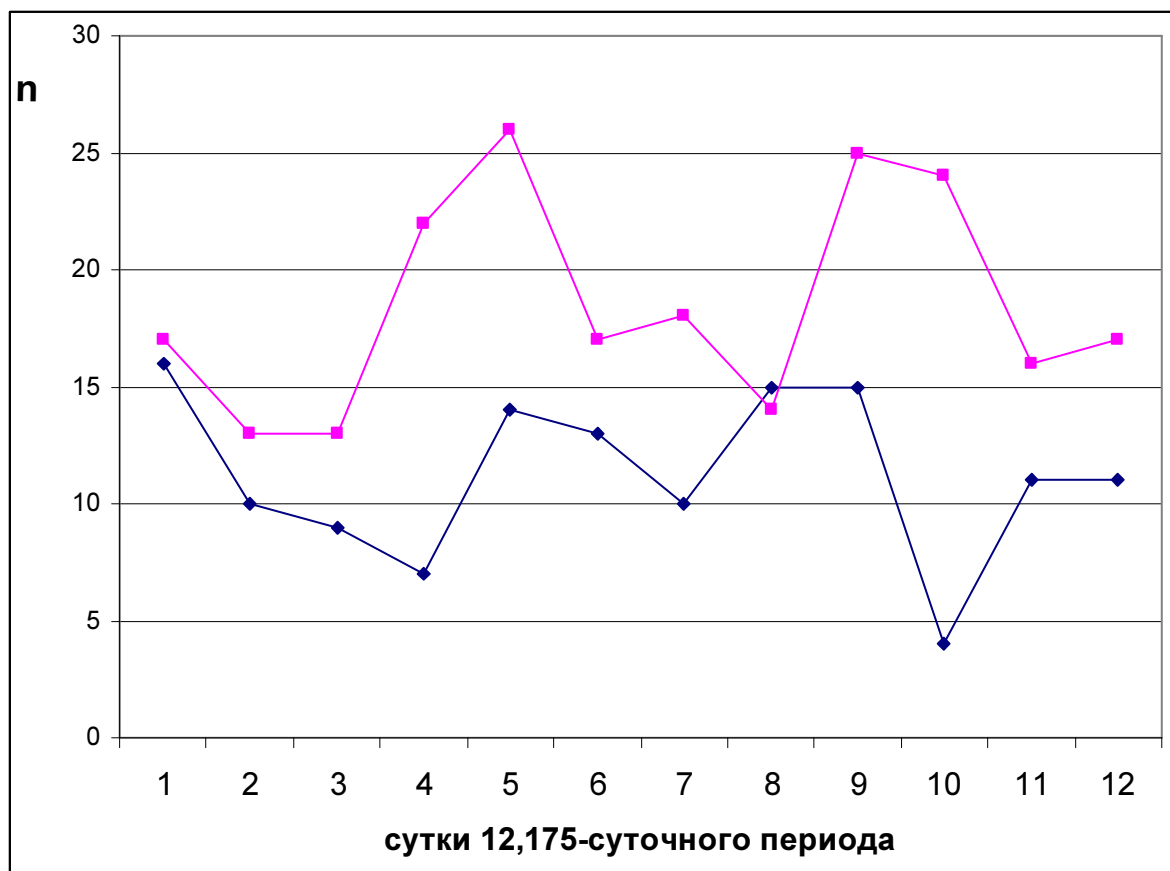
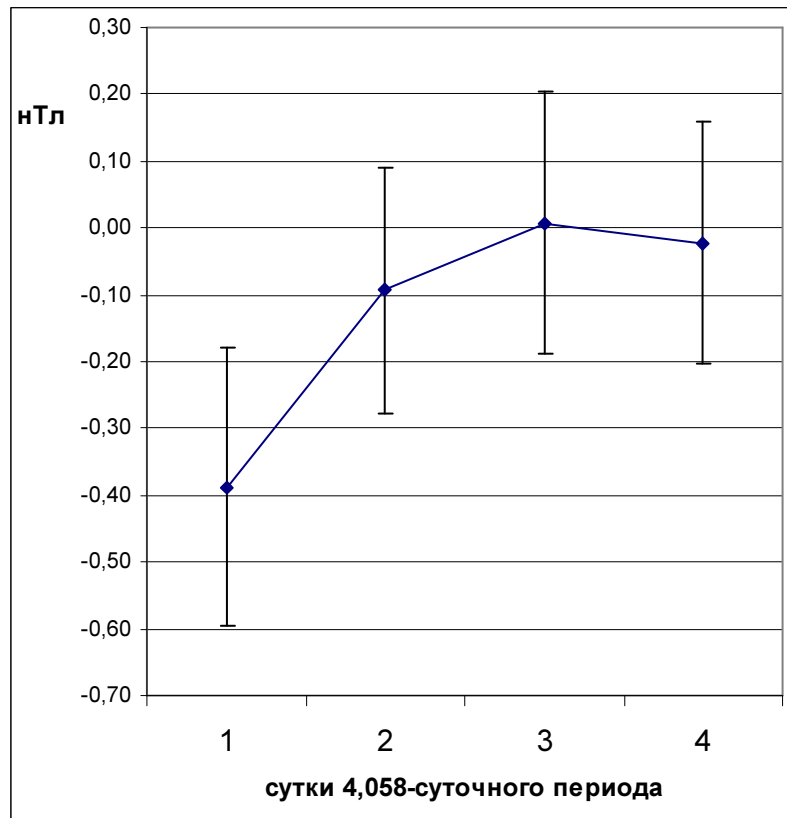


Рис. 33. Распределение числа случаев снижения (больше чем на 2 нТл) по сравнению с предыдущими сут среднесуточных значений V_z -компоненты межпланетного магнитного поля (— за 2010–2013 гг., — за 2000–2003 гг.) По оси абсцисс – день 12.175-суточного периода. По оси ординат – число случаев.

Таким образом, при распределении показателей митотического индекса эпителия пищевода и среднесуточных значений Vz-компоненты за 2011–2013 гг. методом наложения эпох по дням 12.175-суточного периода установлено, что в дни наиболее выраженных отрицательных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля наблюдаются минимальные показатели митотического индекса. Можно предположить, что выраженные снижения величины Vz-компоненты межпланетного магнитного поля могут являться фактором, который синхронизирует инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия.

Распределение среднесуточных значений Vz-компоненты за 2011–2013 гг. методом наложения эпох по дням 4.058-суточного периода выявило также статистически значимые различия между 1-ми и 3-ми сутками (Рис. 34). Таким образом, в спектре ритмических изменений динамики среднесуточных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля установлены 4.058- и 12.175-суточные периодичности, выявленные в настоящей работе также в динамике целого ряда биологических параметров.



Статистическая значимость различий:

	2	3	4
1	>0,05	0,01	0,04
2		>0,05	>0,05
3			>0,05

Рис. 34. Распределение среднесуточных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля по суткам 4.058-суточного периода. Представлены средние значения и ошибки среднего.

3.2.4. Инфранианые биоритмы митотического индекса эпителия пищевода у крыс Вистар в условиях постоянного освещения или световой депривации

Задачей этого раздела работ было исследование инфранианых биоритмов митотической активности эпителия пищевода у крыс Вистар в условиях отсутствия внешнего светового (чередование свет : темнота) синхронизатора с периодом 24 часа. С этой целью были сформированы **три** экспериментальные группы животных.

Животные **первой** опытной группы родились и содержались в условиях световой депривации (освещенность менее 1 лк). Крыс содержали в изолированном от естественного освещения помещении, в котором находился источник слабого красного света – светодиодная лампочка мощностью 1Вт, расположенная на расстоянии 5 м от клеток. Животные контрольной к этой серии эксперимента группы родились и содержались в условиях естественного освещения, и их возраст соответствовал возрасту животных опытной группы. Для определения динамики митотической активности эпителия пищевода животных опытной группы (n=60) выводили из эксперимента в возрасте 35–45 дней ежедневно по 6 особей в период с 3 по 12 декабря 2013 г., а крыс контрольной группы – в том же количестве (в сутки – n=6, общее число – n=60) и в те же даты.

Животные **второй** экспериментальной группы родились и содержались в условиях яркого постоянного освещения интенсивностью около 800 лк от источника белого света цветовой температуры 4200 К, который по данным литературы ингибирует выработку мелатонина [Перцов С.С., 2011]. Естественное освещение днем соответствует цветовой температуре источника примерно в 5600 – 6000 К. Следует отметить, что в связи с нормным образом жизни крысы в природе не встречаются с дневным освещением. На закате солнечный свет уходит в стороны более низких цветовых температур – до 3000 К. Таким образом мы сочли более физиологичным для этого вида

животных использование для освещения источник с цветовой температурой в 4200 К. Животных контрольной к этой серии эксперимента группы родились и содержались в условиях естественного освещения, и их возраст соответствовал возрасту животных опытной группы. Крыс этой опытной группы ($n=78$) выводили из эксперимента в возрасте 45–55 дней ежедневно по 6 особей в период с 27 января по 8 февраля 2014 г., а контрольной – в том же количестве (в сутки – $n=6$, общее число – $n=78$) и в те же даты.

Третью экспериментальную группу составляли самцы крыс Вистар, которые в возрасте 2-х мес. 13 декабря 2013 г. были помещены в условия постоянного освещения интенсивностью около 400 лк от источника белого света цветовой температурой 4200 К. Данная группа была сформирована с целью изучения инфрадианных ритмов на фоне свободнотекущих циркадианных. Для этого экспериментальные животные были взяты в возрасте 2-х мес, когда циркадианная система биоритмов уже сформирована, и помещены в условия неяркого постоянного освещения, при которых циркадианные ритмы сохраняются. Контрольная к этой серии эксперимента группа животных находилась в условиях естественного освещения. Крыс опытной группы выводили из эксперимента ежедневно по 5 особей в несколько периодов: с 31 декабря по 4 января ($n=25$), с 21 по 31 января ($n=55$) и с 17 по 20 февраля 2014 г. ($n=20$), а контрольной – в том же количестве и в те же даты.

Выведение животных всех групп из эксперимента осуществляли передозировкой диэтилового эфира в 8:15 – 9:15 ч по местному солнечному времени (Москва).

Изменения циркадианных биоритмов оценивали по интегральному показателю – локомоторной активности, связанной с уровнем обменных процессов, температурой тела, активностью симпатoadреналовой системы и уровнем кортикостерона и др. [Ашофф Ю., 1984].

В группе самцов крыс Вистар, содержащихся с рождения в условиях световой депривации (**первая** экспериментальная группа), динамика

локомоторной активности к 35 дню жизни не приобрела суточную периодичность. В течение суток регистрировались только несколько равных по амплитуде периодов активности. Динамика ежедневных значений митотического индекса эпителия пищевода у крыс этой опытной группы имела 4-суточный период и совпадала по периоду и фазе с биоритмом этого показателя у животных контрольной группы (рис. 35). Минимальные значения митотического индекса у крыс сравниваемых групп зарегистрированы 3, 7 и 11 декабря. Коэффициент корреляции между динамикой показателей митотического индекса в опытной и контрольной группе составил 0.72 ($p = 0.019$). Таким образом, у крыс в условиях световой депривации инфраниантный биоритм митотической активности эпителия пищевода проявляется с тем же периодом и в той же фазе, что и у животных, содержащихся при естественном режиме освещения.

У самцов крыс Вистар, родившихся и содержащихся в условиях яркого (около 800 лк) постоянного освещения (**вторая** экспериментальная группа), в суточной динамике локомоторной активности выявлялись несколько равных по амплитуде пиков (рис. 36). Ежедневно наблюдалось смещение периодов активности примерно на 1 ч вперед. В этой группе животных динамика митотического индекса эпителия имела 4-суточный биоритм, однако его амплитуда была низкой (рис. 37). Средние показатели митотического индекса у крыс этой группы по сравнению с животными, содержащимися в условиях естественного освещения, составили 9.4 ‰ (7.0–10.7) и 12.8 ‰ (9.8–15.6), соответственно. Положительная корреляционная связь между динамикой показателей митотического индекса в экспериментальной и контрольной группе $r=0.80$ ($p=0.001$) указывает на сходную ритмичность изменения митотического индекса у крыс, содержащихся в условиях постоянного и естественного освещения.

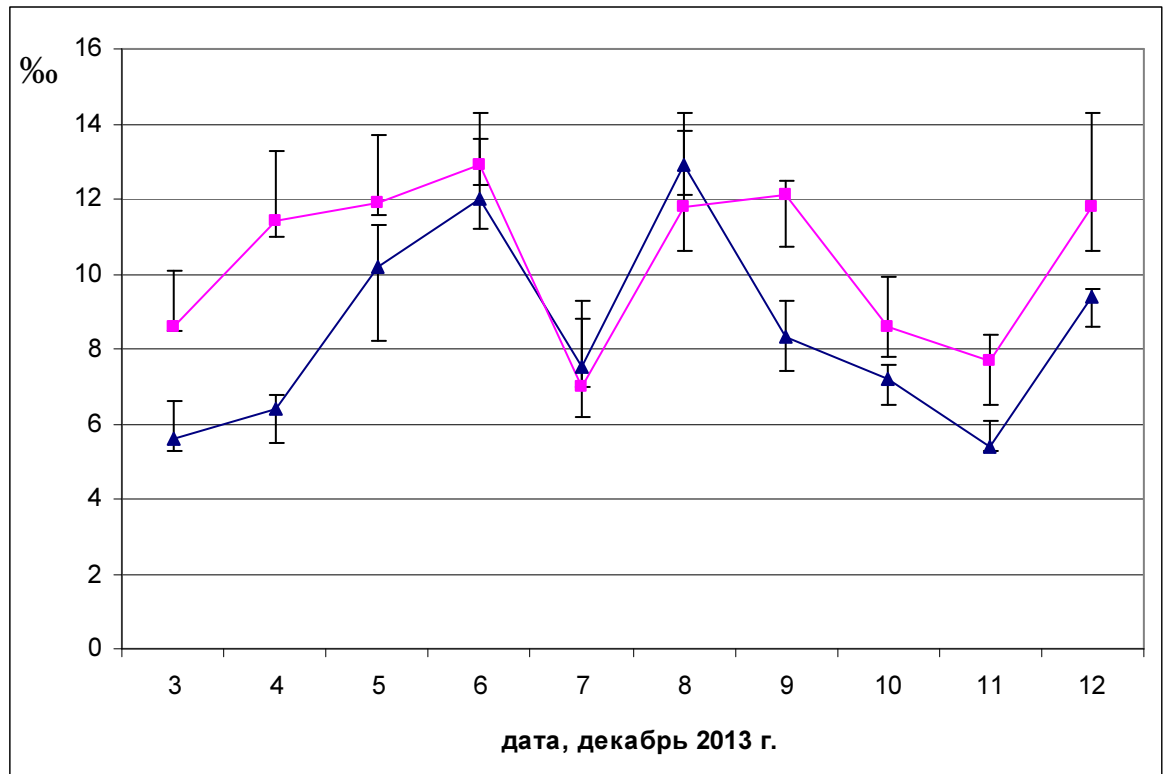


Рис. 35. Динамика митотического индекса эпителия пищевода у 35-45 суточных самцов крыс Вистар,

(— 1) родившихся и содержавшихся в условиях световой депривации, и (— 2) контрольных животных того же возраста, содержавшихся в условиях естественного освещения, в период с 3 по 12 декабря 2013 г. По оси абсцисс – календарная дата. По оси ординат – митотический индекс в ‰. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

1 – $p_{3-5}=0,004$; $p_{6-7}=0,008$; $p_{7-8}=0,01$; $p_{8-11}=0,001$; $p_{11-12}=0,001$;

2 – $p_{3-5}=0,01$; $p_{6-7}=0,005$; $p_{7-8}=0,01$; $p_{8-11}=0,01$; $p_{11-12}=0,001$;

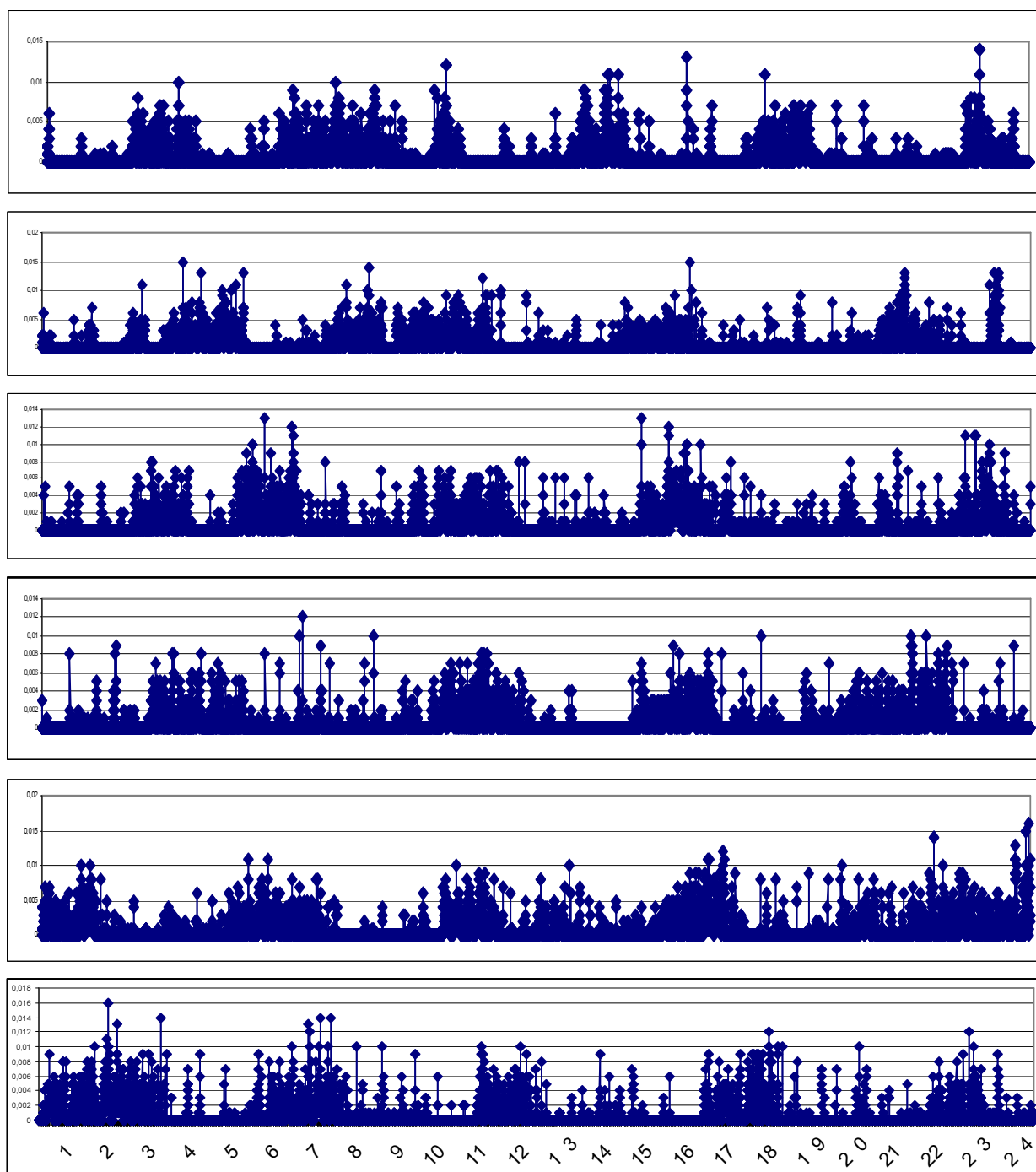


Рис. 36. Суточная динамика локомоторной активности самцов крыс Вистар, рожденных и содержавшихся в условиях постоянного освещения интенсивностью 800 лк. Представлена динамика за последовательные дни с 30 января по 5 февраля.

По оси абсцисс – время суток. По оси ординат – локомоторная активность в условных единицах.

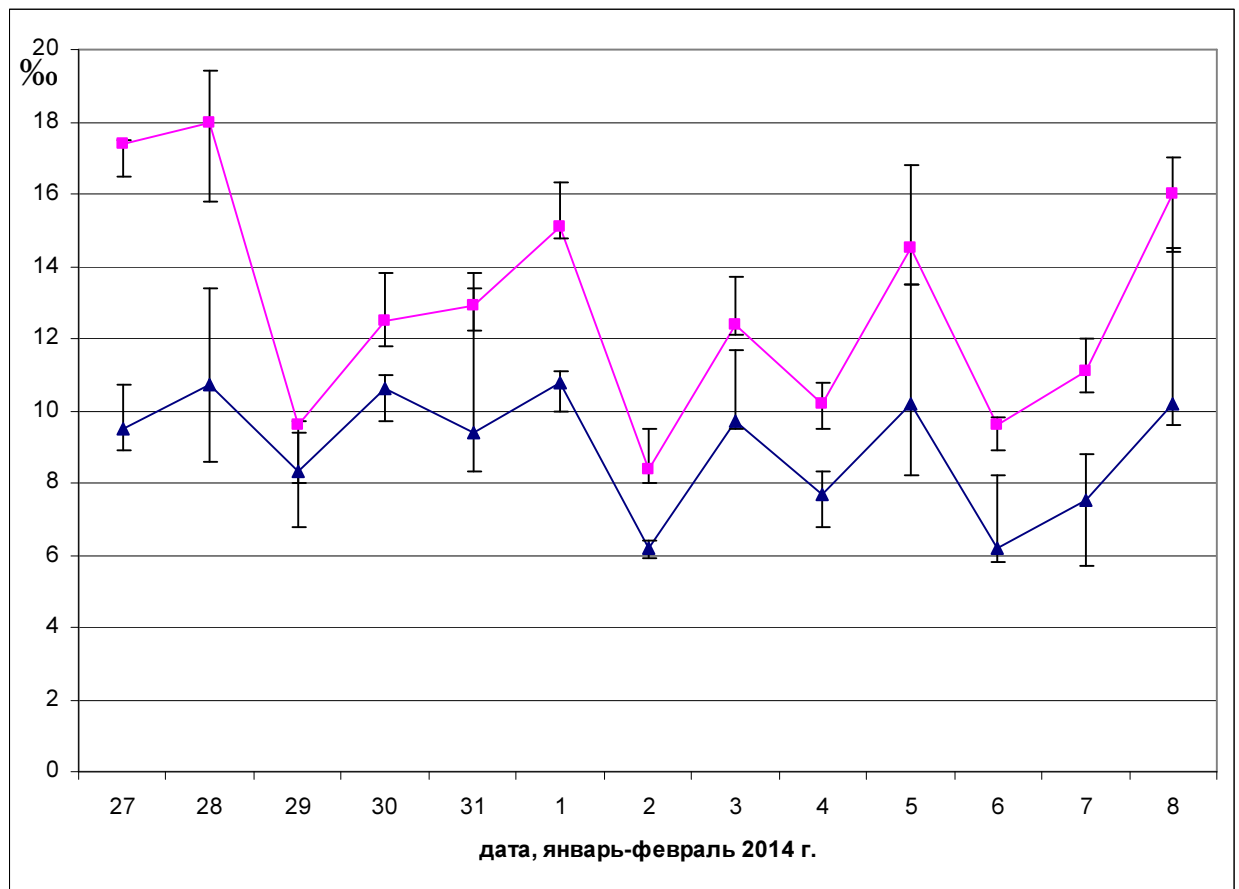


Рис. 37. Динамика митотического индекса эпителия пищевода у 45-55 суточных самцов крыс Вистар:

(— 1) родившихся и содержавшихся в условиях постоянного освещения интенсивностью 800 лк (сплошная линия), и
 (--- 2) контрольных животных того же возраста, содержавшихся в условиях естественного освещения (пунктирная линия), в период с 27 января по 8 февраля 2014 г. По оси абсцисс – календарная дата. По оси ординат – митотический индекс в ‰. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

1 – p1-2=0,01; p5-6=0,04; p6-8=0,01;

2 – p27-29=0,001; p29-31=0,005; p31-2=0,01; p2-5=0,02; p5-6=0,03; p6-8=0,004.

В группе половозрелых самцов крыс, помещенных в условия неяркого (около 400 лк) постоянного освещения (**третья** экспериментальная группа), динамика локомоторной активности приобрела характер «свободнотекущего» циркадианного ритма с периодом около 25.3 ч. Каждый день период высокой локомоторной активности смещался примерно на 1.3 ч вперед (рис. 38). Через 18 сут (к 31 декабря) после помещения животных в условия постоянного освещения их «свободнотекущий» циркадианный ритм локомоторной активности опередил естественный 24-часовой цикл на 1 сутки. Т. е. животные контрольной группы имели за этот период 18, а опытной – 17 циркадианных циклов локомоторной активности. В период с 31 декабря по 4 января в динамике митотического индекса эпителия пищевода опытной и контрольной групп минимальные значения зарегистрированы 1 января, и составили 6.1 ‰ (4.5–6.8) и 7.4 ‰ (7.2–8.1), соответственно. Максимальные значения митотического индекса в опытной и контрольной группе наблюдались 3 января и составили 11.4 ‰ (10.0–11.5) и 12.8 ‰ (10.6–14.7), соответственно. Значения митотического индекса у крыс опытной и контрольной группы 1 января статистически значимо отличались от соответствующих показателей 3 января, для опытной – $p=0.009$, а для контрольной – $p=0.016$.

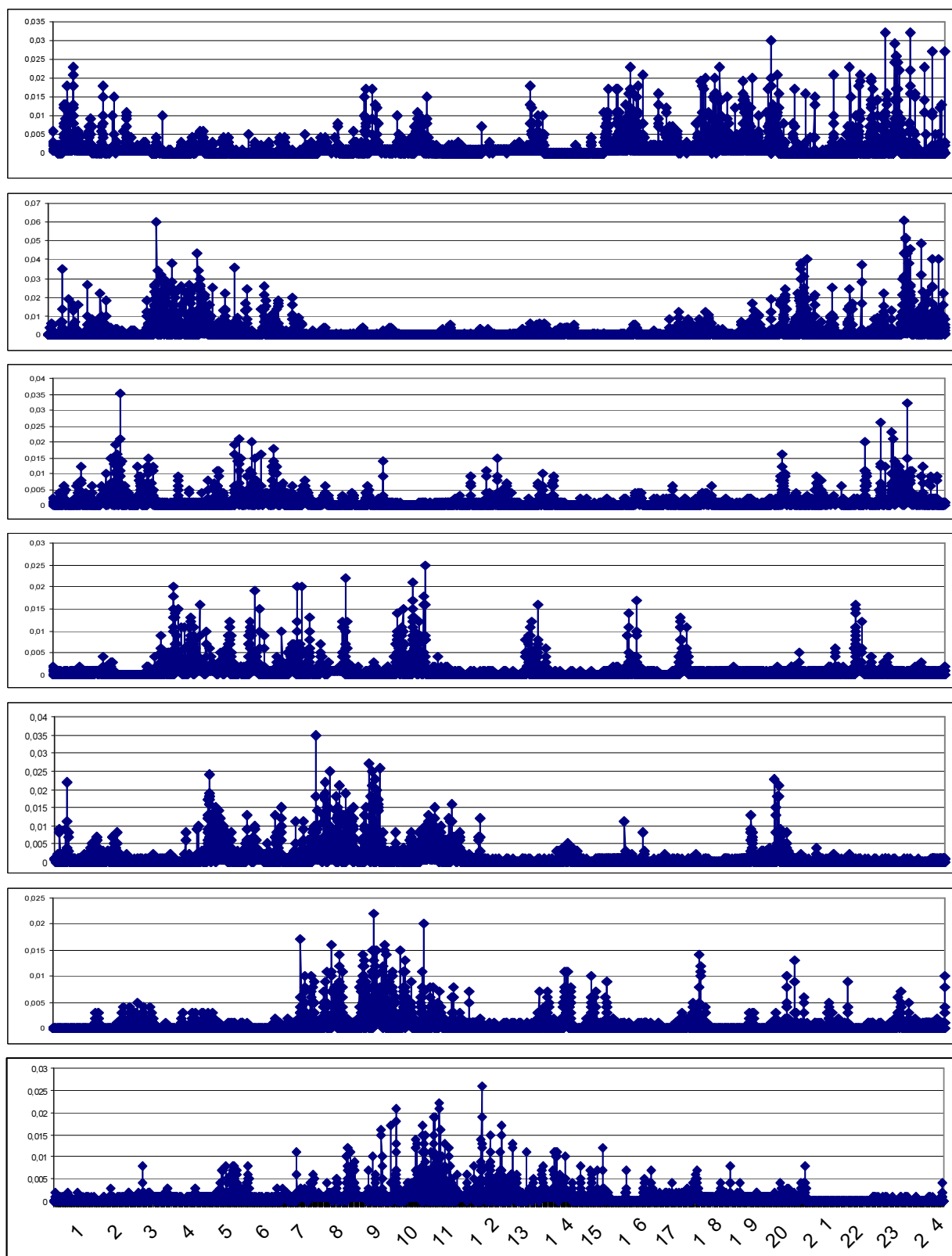


Рис. 38. Суточная динамика локомоторной активности самцов крыс Вистар содержащихся с 13 декабря в условия постоянного освещения интенсивностью 400 лк. Представлена динамика за 15, 17, 19, 21, 23, 25 и 27 декабря.

По оси абсцисс – время суток. По оси ординат – локомоторная активность в условных единицах.

Через 39 сут после помещения половозрелых животных в условия постоянного освещения их «свободотекущий» циркадианный ритм локомоторной активности опередил естественный 24-часовой цикл на 2-е суток. Т. е. животные контрольной группы имели за этот период 39, а опытной – 37 циркадианных циклов локомоторной активности. Таким образом, циркадианные ритмы локомоторной активности у опытной и контрольной группы животных были рассогласованы на 2 сут. В этот период (с 23 по 31 января) динамика митотической активности эпителия пищевода в обеих группах имела 4-суточный биоритм с минимальными значениями 21, 25 и 29 января (рис. 39). Между показателями динамики митотической активности эпителия у крыс опытной и контрольной групп отмечалась положительная корреляционная связь $r=0.71$ ($p=0.01$). Таким образом, у животных, содержащихся в условиях неяркого постоянного освещения (400 лк) и находящихся при естественном освещении, циркадианные биоритмы локомоторной активности были рассогласованы между собой на 2 сут, а инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия пищевода не различались по периоду и фазе.

Через 66 дней после начала эксперимента рассогласование между ритмами локомоторной активности опытной и контрольной группы животных составило 3-е суток. В этот период (с 17 по 20 февраля) минимальные значения митотического индекса в опытной и контрольной группах наблюдались 18 февраля, и они составили соответственно 5.8 ‰ (4.4–7.1) и 6.8 ‰ (6.0–7.5), а максимальные значения – 20 февраля и составили 10.0 ‰ (9.6–10.3) и 11.5 ‰ (9.4–12.8), соответственно. Значения митотического индекса в опытной и контрольной группе 18 февраля статистически значимо отличались от соответствующих показателей 20 февраля, для опытной – $p=0.001$, а для контрольной – $p=0.003$.

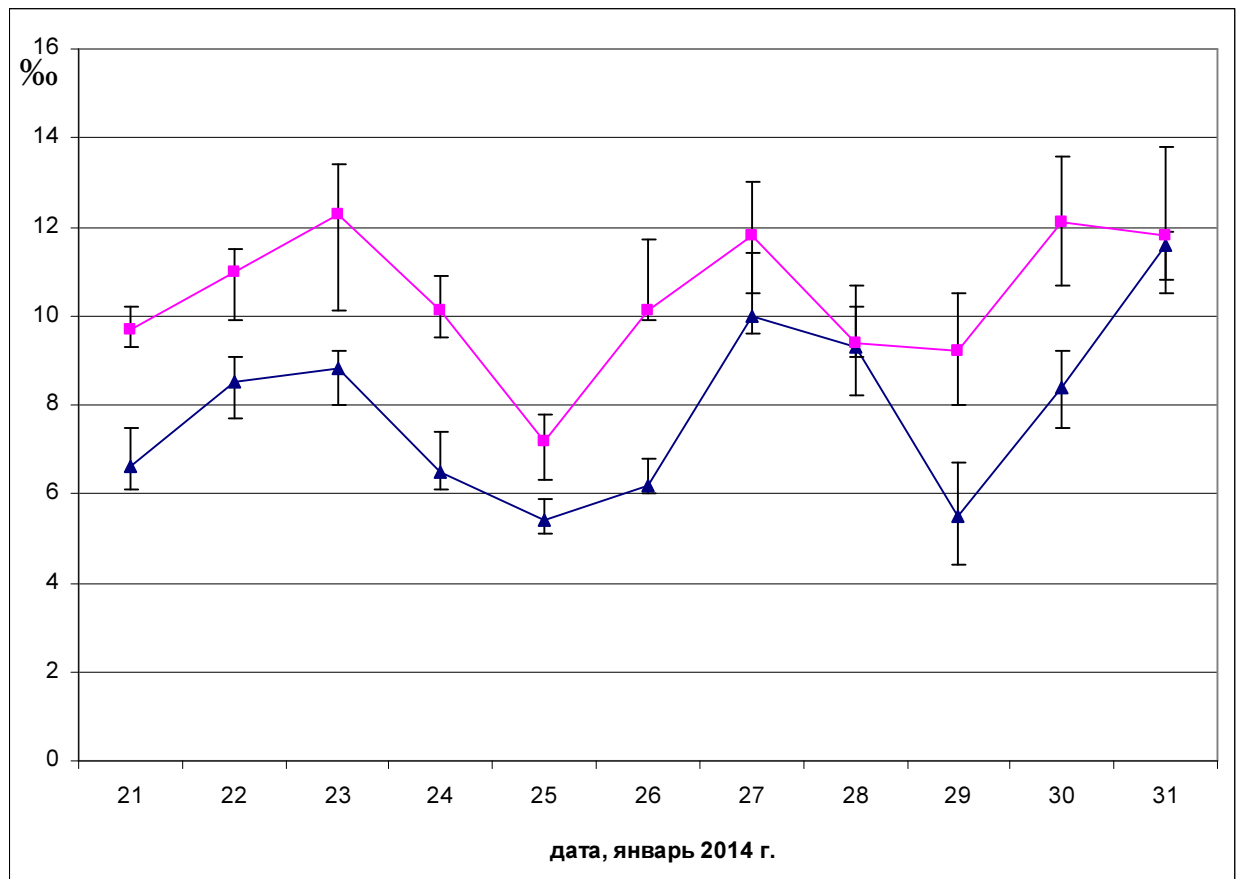


Рис. 39. Динамика митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар:

(— **1**) содержащихся в условиях постоянного освещения интенсивностью 400 лк (сплошная линия), и

(--- **2**) контрольных животных того же возраста, содержащихся в условиях естественного освещения (пунктирная линия), в период с 21 по 31 января 2014 г. По оси абсцисс – календарная дата. По оси ординат – митотический индекс в ‰. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

1 – $p_{21-23}=0,01$; $p_{23-25}=0,003$; $p_{25-27}=0,001$; $p_{27-29}=0,007$; $p_{29-31}=0,001$;

2 – $p_{21-23}=0,04$; $p_{23-25}=0,02$; $p_{25-27}=0,001$; $p_{27-29}=0,03$; $p_{29-31}=0,04$;

В динамике показателя суммарной ежедневной локомоторной активности у половозрелых самцов крыс Вистар ($n=6$), помещенных в условия постоянного освещения в период с 26 декабря 2013 г. по 16 февраля 2014 г., выявлен 4-суточный биоритм (Рис. 40). Коэффициент автокорреляции по 4-суточному периоду составил 0.57 (Conf. Limit 0.45), что указывает на статистическую значимость установленного биоритма. Максимальные показатели локомоторной активности наблюдались в дни минимальных значений митотического индекса. В период с 21 по 31 января между показателями митотического индекса и локомоторной активности установлена отрицательная корреляционная связь $r=-0.62$ ($p=0.04$).

Таким образом, в динамике митотического индекса эпителия у самцов крыс Вистар, рожденных и содержавшихся в условиях световой депривации, установлен 4-суточный инфрадианный биоритм, совпадающий по фазе с таковым у животных, находившихся при естественном режиме освещения.

Содержание животных с рождения в условиях яркого постоянного освещения (800 лк), являющегося для животных стресс-фактором, обуславливает снижение среднего значения митотического индекса эпителия пищевода и амплитуды 4-суточного инфрадианного биоритма этого показателя.

Исследование динамики митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар, содержавшихся в условиях неяркого постоянного освещения (400 лк), при рассогласовании ритмов локомоторной активности на 1, 2 и 3-е сут по отношению к животным, находившимся при естественном режиме освещения, выявило во все эти сроки сохранение периода и фазы 4-суточного инфрадианного биоритма митотической активности. В динамике ежедневных показателей локомоторной активности животных этой группы установлен 4-суточный ритм, который находится в противофазе с инфрадианными биоритмами митотической активности эпителия пищевода.

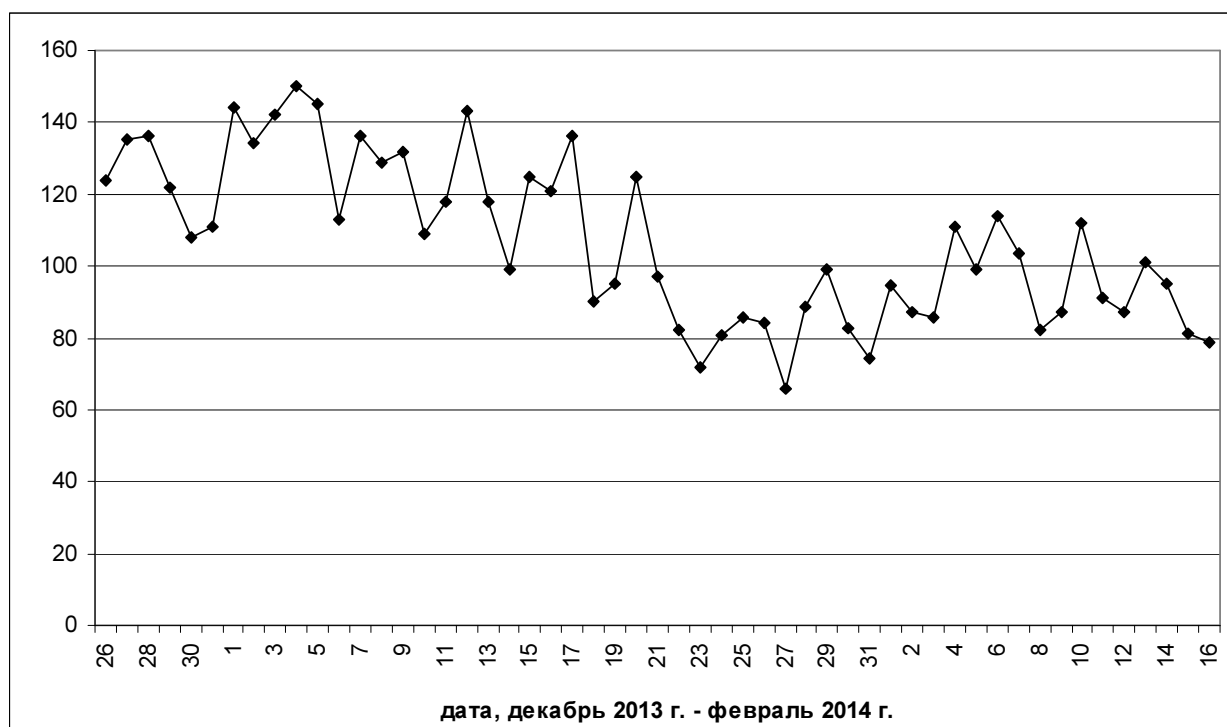


Рис. 40. Динамика локомоторной активности половозрелых самцов крыс Вистар ($n=6$), содержащихся в условия постоянного освещения (400 лк), в период с 26 декабря 2013 г. по 16 февраля 2014 г. По оси абсцисс – календарная дата. По оси ординат – локомоторная активность в условных единицах.

Таким образом, отсутствие светового синхронизирующего сигнала с 24-часовой периодичностью не влияет на проявление инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия.

3.2.5. Инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия пищевода у самцов японского перепела и их связь с уровнем кортикостерона и тироксина

При исследовании митотической активности эпителия только у одного вида экспериментальных животных вопрос об универсальном характере выявленных инфрадианных биоритмов остается открытым. Альтернативным объектом исследования митотической активности эпителия пищевода послужили японские перепела (*Coturnix japonica*).

Исследование было проведено на 200 половозрелых самцах японского перепела в возрасте 2.5–3 мес. Птиц содержали при естественном освещении и комнатной температуре. Животных выводили из эксперимента по 7 особей ежедневно в период с 26 июля по 16 августа 2012 г. в 21 ч по местному солнечному времени (Москва). По литературным данным у птиц, проявляющих дневную форму активности, максимальный уровень митотической активности эпителиальных тканей регистрируется в вечерние и ночные часы [Horseman N.D., Nollin L.J, 1985].

Исследование динамики уровня кортикостерона и тироксина проводили у отдельной группы перепелов (n=9). Забор крови из вены голени проводили ежедневно с 1 по 16 августа 2012 г. в 8 ч утра, когда уровень глюкокортикоидных гормонов максимален [Jong I.C. et al., 2001; Henshaw I. et al., 2009]. Длительность процедуры забора крови не превышала 3-х мин. По данным литературы значительное увеличение уровня кортикостерона после забора крови наблюдается через полчаса после этой процедуры, а уровень кортикостерона в крови, полученной в первые минуты после начала забора крови считается базальным [Henshaw I. et al., 2009].

В динамике митотической активности эпителия пищевода выявлен 4-суточный период (рис. 42). Показатели митотического индекса в акрофазе и батифазе 4-суточного биоритма различались. Минимальные значения митотического индекса отмечали 26, 30–31 июля, 3, 7, 11, 15 и 16 августа, максимальные – 28 июля, 1–2, 5–6, 9 и 13–14 августа.

Динамика уровня кортикостерона в сыворотке крови у всех особей имела ритм с периодом в 4 сут, проявляющимся синфазно, что позволило обобщить данные и представить результаты по группе в целом (рис. 43 А). В дни, когда уровень кортикостерона был максимально высоким, наблюдались минимальные показатели митотической активности эпителия пищевода в вечернее время. Коэффициент корреляции (r) между показателями уровня кортикостерона и митотического индекса составил -0.60 ($p=0.01$).

В динамике уровня тироксина в сыворотке крови перепелов был выявлен биоритм с периодом, равным 3 сут. Максимальные значения уровня тироксина наблюдались 1–2, 5, 7–8, 10–11 и 14 августа, а минимальные – 3, 6, 12–13, 15 августа. Динамика индивидуальных колебаний уровня тироксина у разных особей была относительно синхронной, чтобы можно было представить полученные данные в виде графика усредненного по группе (рис. 43 Б).

Наиболее выраженные максимумы митотической активности эпителия, отмеченные 28 июля и 9 августа, можно объяснить различиями динамики уровня глюкокортикоидных и тиреоидных гормонов. В эти дни отмечался низкий уровень кортикостерона, которому предшествовал на 1 сутки высокий уровень тироксина.

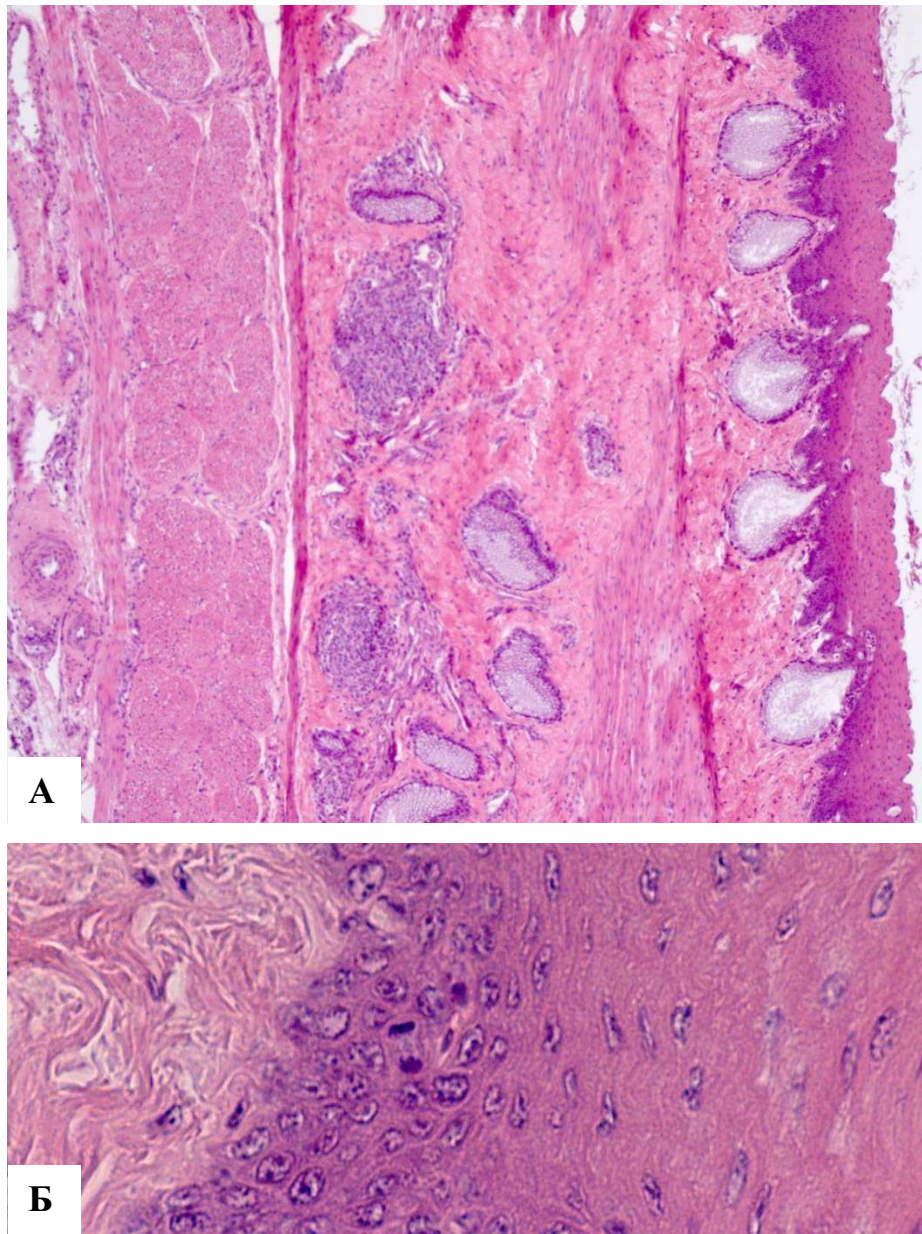


Рис. 41. Стенка пищевода японского перепела.

А. Эпителиальная выстилка представлена многослойным плоским эпителием, в подслизистой основе зрелая соединительная ткань.

Б. В базальном слое эпителия клетка в стадии митоза.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. **А.** 100; **Б** 640.

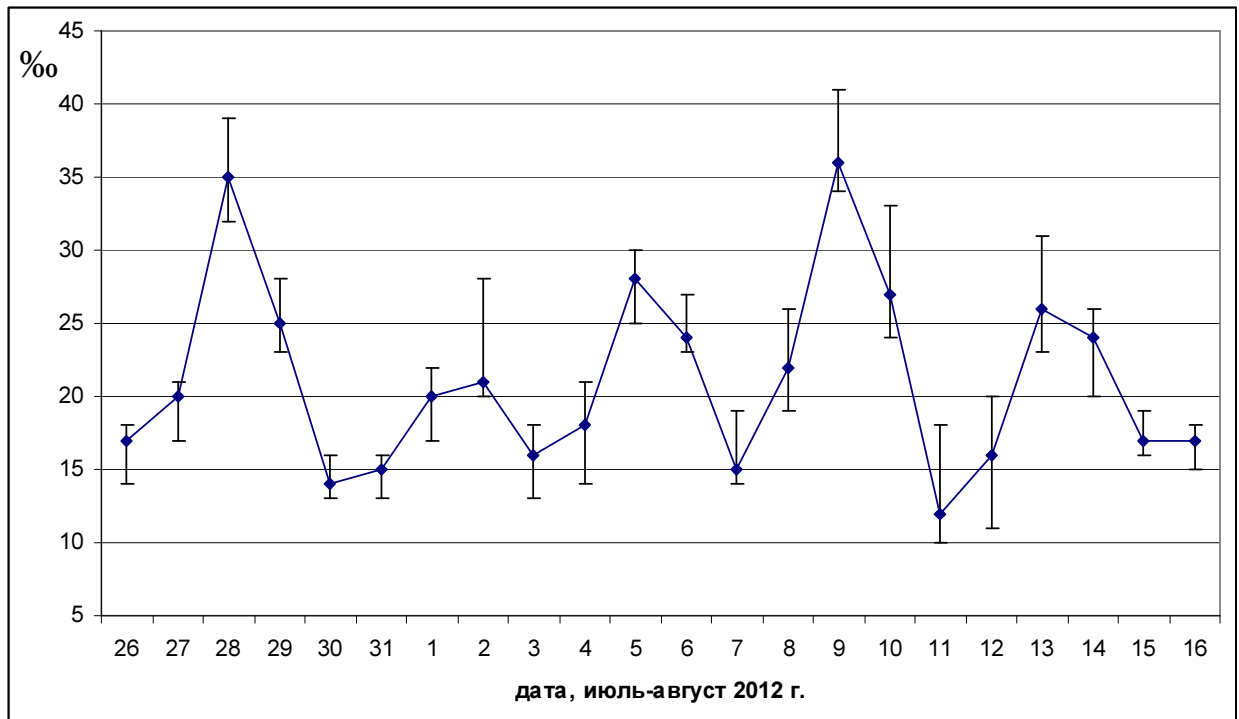


Рис. 42. Динамика митотического индекса эпителия пищевода у самцов японских перепелов в период с 26 июля по 16 августа 2012 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

$p_{26-28}=0,009$; $p_{28-30}=0,006$; $p_{30-1}=0,008$; $p_{1-3}=0,01$; $p_{3-5}=0,013$; $p_{5-7}=0,01$; $p_{7-9}=0,004$; $p_{9-11}=0,004$; $p_{11-13}=0,004$; $p_{13-15}=0,003$

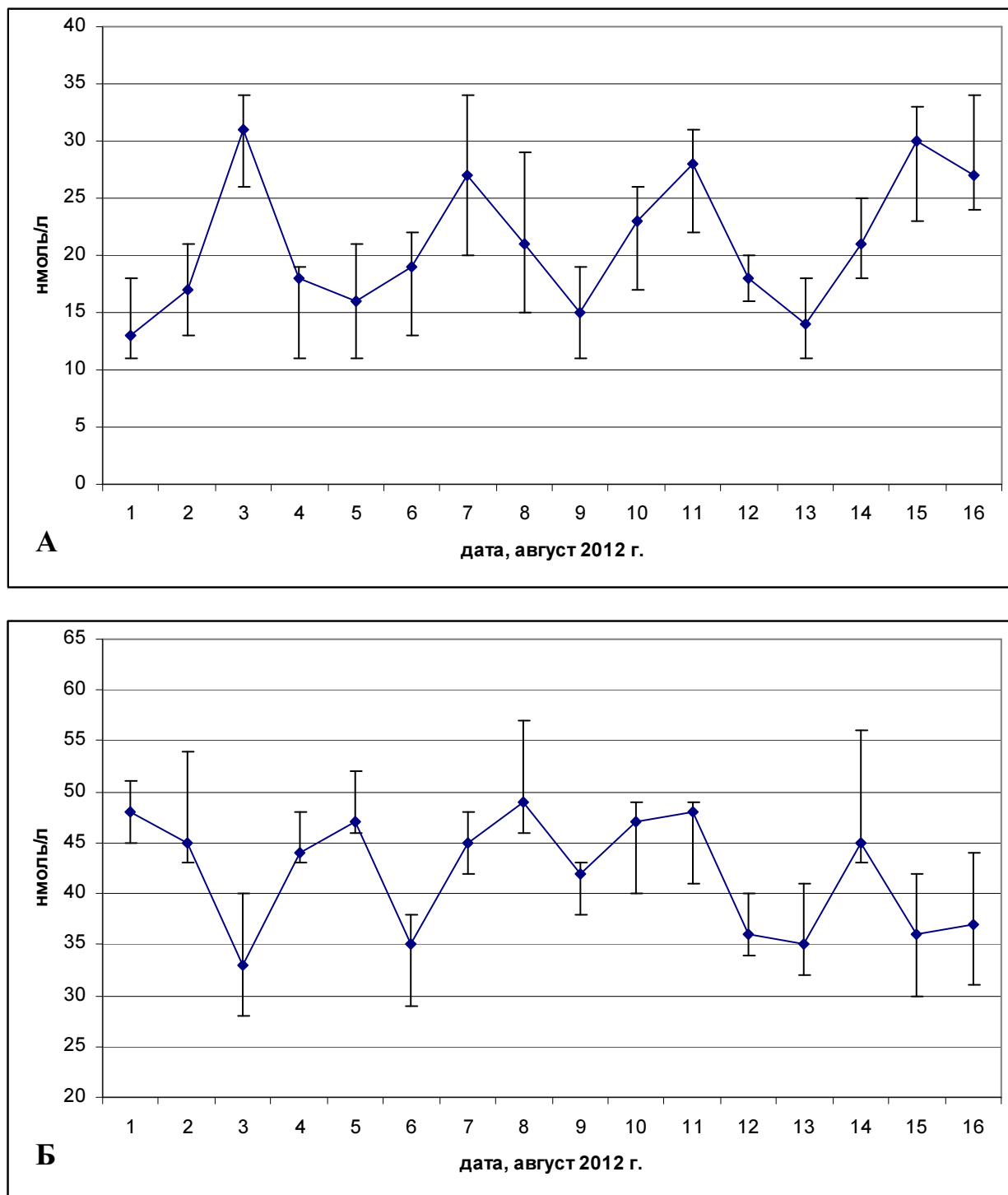


Рис. 43. Динамика уровня кортикостерона (А) и тироксина (Б) в сыворотке крови у самцов японских перепелов в период с 1 по 16 августа 2012 г.

Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

А – $p_{1-3}=0,004$; $p_{3-5}=0,01$; $p_{5-7}=0,013$; $p_{7-9}=0,016$; $p_{9-11}=0,006$; $p_{11-13}=0,004$; $p_{13-15}=0,008$

Б – $p_{1-3}=0,009$; $p_{3-5}=0,02$; $p_{5-6}=0,016$; $p_{6-8}=0,009$; $p_{8-9}=0,009$; $p_{11-12}=0,01$; $p_{12-14}=0,046$

Таким образом, у 2.5–3-х месячных самцов японских перепелов выявлен 4-суточный ритм уровня кортикостерона, синхронно проявляющийся у разных особей. В динамике уровня тироксина установлен 3-суточный биоритм. Показатели митотического индекса эпителия пищевода отрицательно коррелировали с уровнем кортикостерона.

3.2.6. Инфраниантные биоритмы митотической активности эпителия пищевода у японских перепелов в зависимости от пола и возраста

Для выявления закономерностей проявления инфраниантных биоритмов в зависимости от пола и возраста исследуемого вида птиц на следующем этапе работы были сформированы три группы: **первая** – самцы в возрасте 4–6 мес. (n=145); **вторая** – самки в возрасте 4–6 мес. (n=85); **третья** – самцы в возрасте 1.5–2.5 мес. (n=145). Животных разных экспериментальных групп содержали отдельно. В помещениях поддерживалась температура 20–23°C. Использовалось искусственное освещение интенсивностью 800–1000 лк (цветовая температура источника 4200 K) с режимом 17С : 7Т. Выбранный 17-часовой фотопериод соответствовал естественному для этого периода (июнь-июль) года. Середина темнового периода приходилась на астрономическую полночь.

Птиц каждой группы выводили из эксперимента ежедневно по 5 особей в 21 ч по местному солнечному времени (Москва). Исследование митотической активности эпителия пищевода у птиц **первой** и **третьей** экспериментальных групп проводили в период с 18 июня по 16 июля; **второй** группы – с 18 июня по 4 июля 2013 г.

В динамике митотического индекса эпителия пищевода у самцов японского перепела в возрасте 4–6 мес. (**первая** экспериментальная группа) достоверно выявлялся 12-суточный период с минимальными значениями 19 – 20 июня, 2 и 14 июля (рис. 44). В группе половозрелых самок перепелов (**вторая** экспериментальная группа) динамика изменения митотического

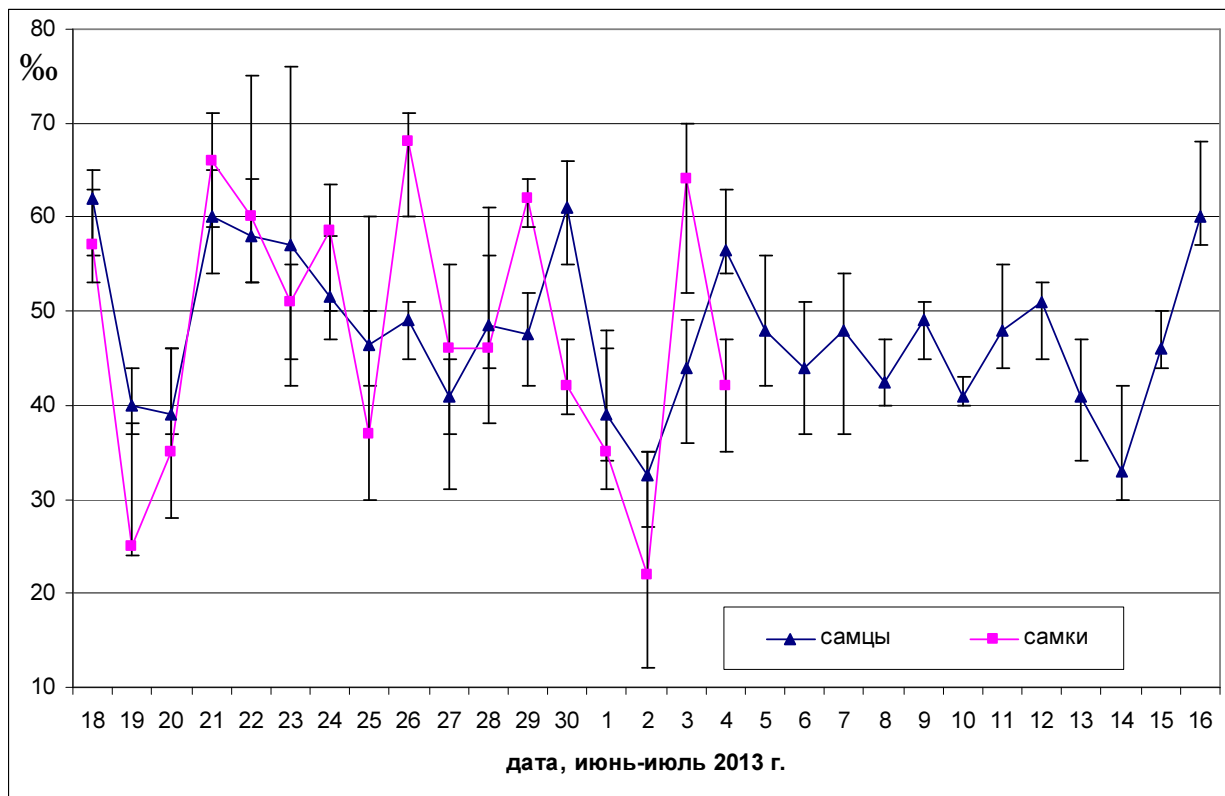


Рис. 44. Динамика митотического индекс эпителия пищевода у японских перепелов в возрасте 4–6 мес в период с 18 июня по 16 июля 2013 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

Самцы – $p_{18-20}=0,003$; $p_{20-22}=0,001$; $p_{27-30}=0,02$; $p_{30-2}=0,0001$; $p_{2-4}=0,0001$; $p_{12-14}=0,007$; $p_{14-16}=0,001$

Самки – $p_{18-20}=0,001$; $p_{20-22}=0,004$; $p_{27-29}=0,04$; $p_{29-2}=0,0001$; $p_{2-3}=0,001$.

индекса также имела 12-суточный ритм (рис. 44) и коррелировала с показателями у самцов этого возраста ($r=0.91$; $p=0.0001$).

У самцов перепелов в возрасте 1.5–2.5 мес (**третья** экспериментальная группа) в динамике значений митотического индекса наблюдался 4-суточный биоритм с минимальными показателями 19-20, 24, 28-29 июня, 2, 6-7, 10 и 14 июля (рис. 45). Календарные даты батифаз 12-суточного ритма митотического индекса, зарегистрированные у половозрелых самцов и самок японского перепела, совпадали с батифазами 4-суточного биоритма этого показателя у 1.5-2.5 мес самцов, а именно 19, 20 июня, 2 и 14 июля.

Таким образом, в зависимости от возраста у самцов японского перепела в динамике митотической активности эпителия пищевода выявляются 4-суточные (возраст 1.5–2.5 мес) или 12-суточные биоритмы (возраст 4–6 мес), имеющие общие даты батифаз. У самцов и самок японского перепела одного возраста динамика показателей митотического индекса синхронна.

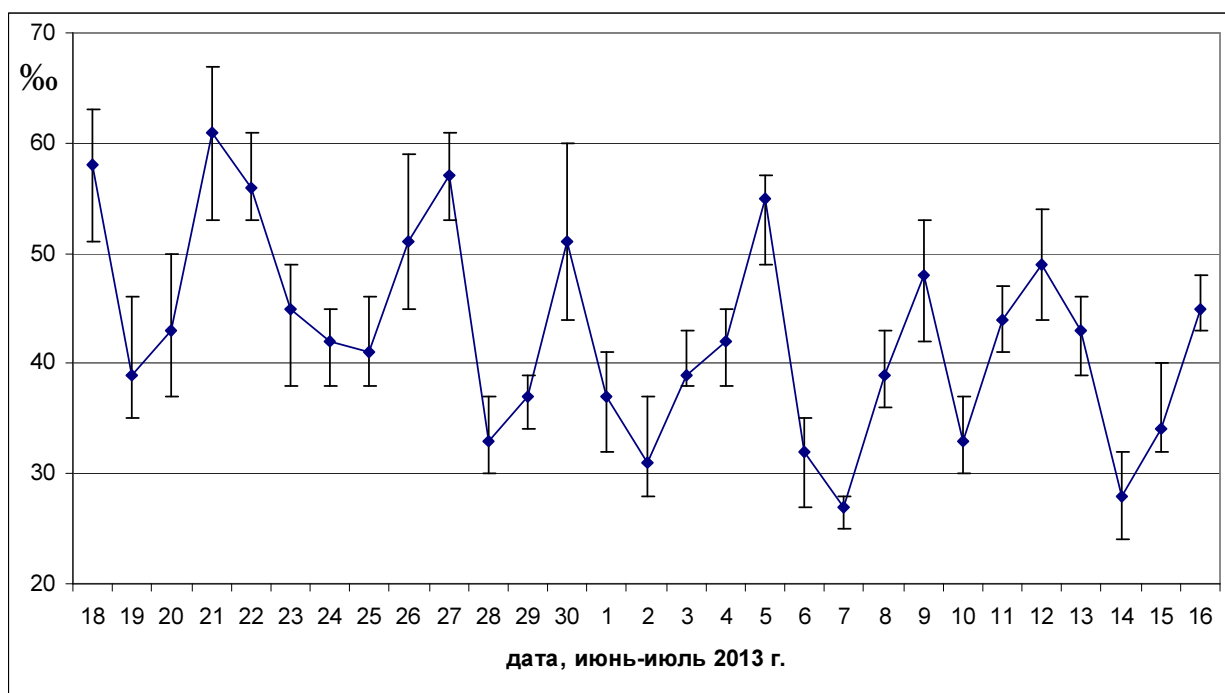


Рис. 45. Динамика митотического индекс эпителия пищевода у самцов японских перепелов в возрасте 1.5–2.5 мес в период с 18 июня по 16 июля 2013 г.

Статистическая значимость различий:

$p_{18-20}=0,01$; $p_{20-22}=0,01$; $p_{22-24}=0,02$; $p_{24-27}=0,006$; $p_{27-28}=0,001$; $p_{28-30}=0,005$;
 $p_{30-2}=0,01$; $p_{2-5}=0,001$; $p_{5-7}=0,0001$; $p_{7-9}=0,001$; $p_{9-10}=0,01$; $p_{10-12}=0,004$; $p_{12-14}=0,001$;
 $p_{14-16}=0,01$.

3.2.7. Сопоставление инфрадианных ритмов митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар и японских перепелов

При одновременном исследовании в период с 18 июня по 16 июля 2013 г. динамики митотической активности эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар и японских перепелов минимальные значения митотического индекса зарегистрированы в одни и те же календарные даты, а именно: 19–20 июня, 2 и 14 июля (рис. 29 и 44). Выявлена положительная корреляционная связь ($r=0.68$; $p=0.004$) между показателями митотического индекса эпителия пищевода у крыс и перепелов, что подтверждает синхронное проявление инфрадианных ритмов митотической активности у данных видов животных.

Динамика митотического индекса у самцов крыс в возрасте 35–50 сут и самцов японских перепелов в возрасте 1.5–2.5 мес в период с 18 июня по 16 июля 2014 г. имела у обоих видов животных 4-суточную периодичность и совпадала по фазе (рис. 29 и 45). Минимальные значения этого показателя у животных обоих видов отмечались 19–20, 24, 28–29 июня, 2, 6–7, 10 и 14 июля. Коэффициент корреляции между показателями митотического индекса у крыс и перепелов составил 0.72 ($p=0.001$).

Таким образом, в динамике митотического индекса у самцов крыс Вистар и японских перепелов наблюдаются одинаковые по периоду и синхронные по фазе инфрадианные биоритмы. В более раннем возрастном периоде в динамике митотического индекса, как у самцов крыс Вистар в возрасте 35–50 сут, так и у японских перепелов в возрасте 1.5–2.5 мес. выявляется 4-суточный биоритм. В более поздний возрастной период у самцов крыс Вистар в возрасте 3–4 мес в динамике митотического индекса эпителия пищевода установлены 4- и 12-суточные биоритмы, а у японских перепелов в возрасте 4–6 мес. только 12-суточный биоритм. Т.е. у старших возрастных групп как у крыс Вистар, так и у японских перепелов выявляются более длинные периоды инфрадианных биоритмов.

Таким образом, в настоящем исследовании в динамике митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар и японских перепелов установлен 4-суточный инфрадианный биоритм, отрицательно коррелирующий с уровнем кортикостерона. Более выраженное снижение числа митозов в эпителии пищевода и роговицы проявляется с 12-суточной периодичностью.

На более ранней стадии постнатального развития как у самцов крыс Вистар в возрасте 35–50 сут, так и у японских перепелов в возрасте 1.5–2.5 мес. в динамике митотического индекса выявляется 4-суточный биоритм. В более поздний период постнатального развития у самцов крыс Вистар в возрасте 3–4 мес в динамике митотического индекса эпителия пищевода установлены 4- и 12-суточные биоритмы, а у японских перепелов в возрасте 4–6 мес. только 12-суточный биоритм.

Установлена синхронность проявления инфрадианных ритмов митотической активности эпителия пищевода у популяций разных видов животных – крыс и перепелов, что косвенно указывает на существование внешнего фактора, синхронизирующего инфрадианные биоритмы митотической активности пищевода.

Исследование митотической активности эпителия на протяжении длительных временных интервалов в течение 3-х лет позволило установить, что ее инфрадианные биоритмы имеют 4.058- и 12.175-суточные периодичности проявления.

Установлено, что отсутствие светового синхронизирующего сигнала с 24-часовой периодичностью не влияет на проявление инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия. Так в динамике митотического индекса эпителия у самцов крыс Вистар, рожденных и содержавшихся в условиях световой депривации, установлен 4-суточный инфрадианный биоритм, совпадающий по фазе с таковым у животных, находившихся при естественном режиме освещения. Содержание животных

с рождения в условиях яркого постоянного освещения (800 лк), являющегося для животных стресс-фактором, обуславливает снижение среднего значения митотического индекса эпителия пищевода и амплитуды 4-суточного инфрадианного биоритма этого показателя.

Исследование динамики митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар, содержащихся в условиях неяркого постоянного освещения (400 лк), при рассогласовании ритмов локомоторной активности на 1, 2 и 3-е сут по отношению к животным, находившимся при естественном режиме освещения, выявило во все эти сроки сохранение периода и фазы 4-суточного инфрадианного биоритма митотической активности, что указывает на некоторую автономность инфрадианных биоритмов от циркадианной системы организма.

3.3. Динамические морфофункциональные изменения иммунной системы в инфранианном диапазоне биоритмов

Суточные биоритмы иммунологических показателей хорошо изучены. Установлено наличие суточных вариаций субпопуляционного состава лимфоцитов в лимфоидных органах и крови, пролиферации и метаболизма лимфоцитов, продукции цитокинов и уровня гуморального иммунного ответа [Труфакин В.А. и соавт., 2005]. У человека максимальные значения уровня провоспалительных цитокинов регистрируется в ночные и ранние утренние часы. Около полудня отмечается резкое снижение уровня провоспалительных цитокинов в крови, связанное с предшествующим этому событию утренним подъемом уровня кортизола, угнетающим воспалительные реакции [Straub R.H., Cutolo M., 2007]. Динамика морфофункционального состояния органов иммунной системы у лабораторных животных также имеет суточную периодичность. Так С.В. Мичуриной и соавт. [2005] установлено, что в дневные часы (15:00), по сравнению с утренними (10:00) и вечерними (19:00), объемная плотность коркового вещества регионарного лимфатического узла печени максимальна, а мозгового – минимальна. Г.И. Литвиненко и соавт. [2000] установила суточные вариации лимфоидных клеток в тимусе и селезенке. Так общее число тимоцитов снижается в период с 10:00 до 15:00 и достигает максимума к 20:00. Показатели числа тимоцитов в период батифазы (15:00) и акрофазы (20:00) различаются примерно в 4 раза. Минимальное число мононуклеаров в селезенке наблюдается в утренние часы, а к вечеру их численность повышается примерно в 3 раза.

Исследования инфраниантных ритмов иммунной системы ограничиваются единичными работами. Так в работе Т.П. Рябых [1996] у лабораторных мышей были установлены инфраниантные 4-суточные ритмические колебания числа лейкоцитов в периферической крови и около недельная периодичность изменения числа лимфоидных клеток в тимусе. Данные о инфранианной

периодичности показателей функционирования иммунной системы необходимы для адекватной диагностики и терапии иммунологических и онкологических заболеваний. Так в работе R.S. Dronca и соавт. [2012] у больных метастазирующей меланомой установлены инфрадианные биоритмы как в динамике числа Т-регуляторных клеток, так и цитокинов (ИЛ-1 рецепторного антагониста и ИЛ-12p70) в периферической крови. Так как установленные инфрадианные ритмы иммунной системы прогнозируемы, авторы обосновывают необходимость проведения химиотерапии с учетом этих биоритмов.

Инфрадианные биоритмы морфофункционального состояния иммунной системы оценивали у самцов крыс Вистар по морфологическим показателям функциональных зон, содержанию в крови лейкоцитов, уровню провоспалительных, иммунорегуляторных и противовоспалительных цитокинов, а также по цитофизиологическому состоянию тучных клеток дермы. Известно, что медиаторы тучных клеток влияют на дифференцировку Т-лимфоцитов и следовательно участвуют в поляризации адаптивного иммунного ответа [Яглова Н.В., Яглов В.В., 2012].

3.3.1. Инфрадианные ритмы морфофункционального состояния тимуса у самцов крыс Вистар

Исследование динамики числа лимфоидных клеток тимуса у половозрелых самцов крыс Вистар проводили ежедневно в период с 11 по 27 сентября 2011 г, с 4 по 23 января и с 16 октября по 2 ноября 2012 г. В последний период помимо общего числа лимфоидных клеток тимуса определяли показатели ширины субкапсулярного слоя, включения ³H-тимидина в тимоциты и субпопуляции лимфоцитов: CD3⁺, CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺.

В динамике общего числа лимфоцитов в тимусе во все периоды исследования и в том числе с 16 октября по 2 ноября 2012 г. была выявлена 6-суточная ритмичность (рис. 46 А). Ритмические изменения процентного и

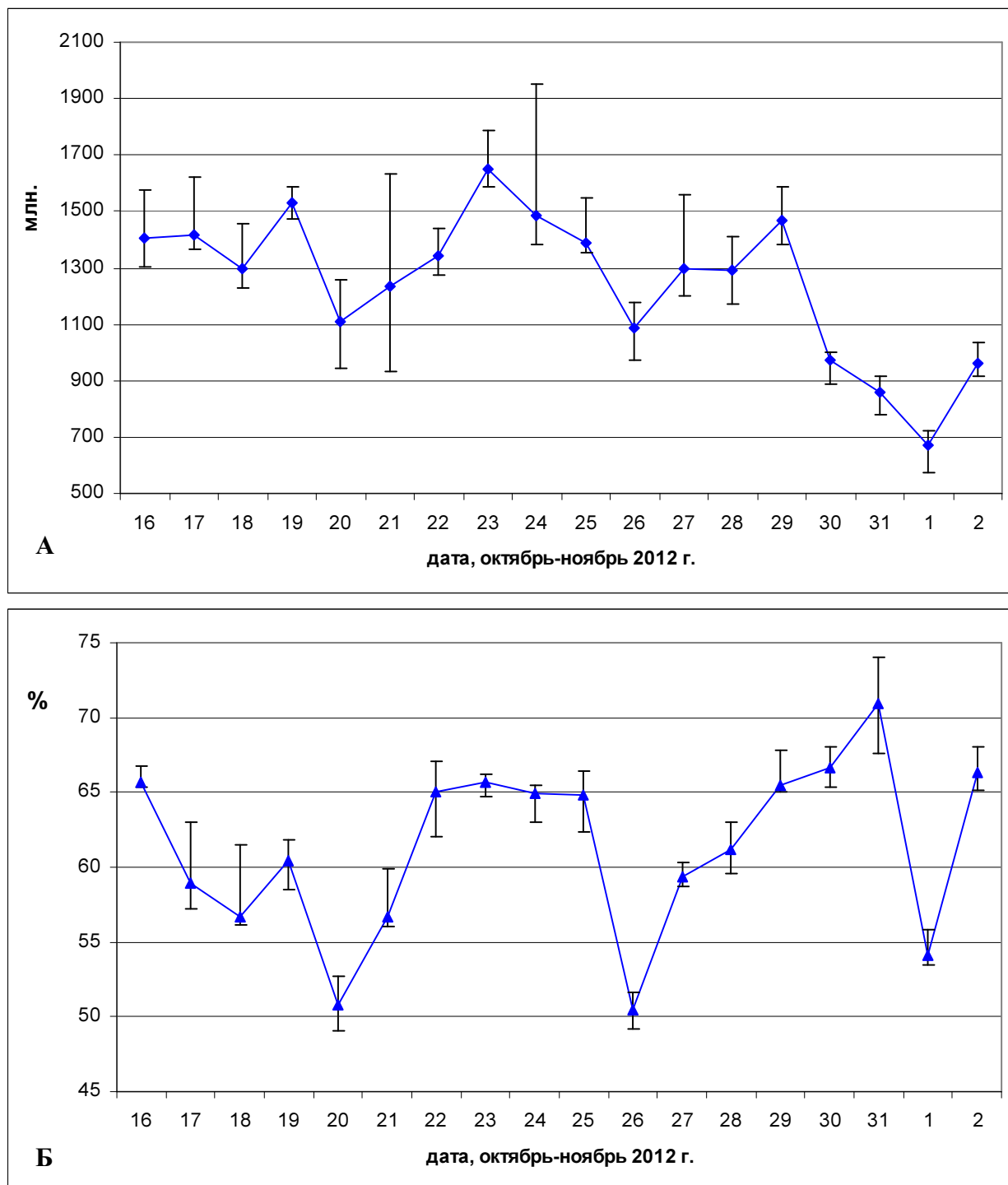


Рис. 46. Динамика общего числа лимфоцитов в тимусе (А) и процентного содержания среди них $CD3^+$ лимфоцитов (Б) у самцов крыс Вистар в период с 16 октября по 2 ноября 2012 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий: А – $p_{17-20}=0,04$; $p_{20-23}=0,001$; $p_{23-26}=0,006$; $p_{26-29}=0,01$; $p_{29-1}=0,0001$; Б – $p_{17-20}=0,005$; $p_{20-23}=0,0001$; $p_{23-26}=0,0001$; $p_{26-29}=0,0001$; $p_{29-1}=0,0001$.

абсолютного содержания $CD3^+$ клеток в тимусе также имели достоверный 6-суточный период и совпадали по фазе с инфрадианными колебаниями общего числа тимоцитов (рис. 46 Б). В динамике процентного содержания клеток с маркером $CD4^+$ 91,3 % (89,8; 92,6) и/или $CD8^+$ 88,5 % (87,0; 90,1) достоверных изменений показателей на протяжении эксперимента не выявлено.

При гистологическом исследовании тимуса крыс границы между корковым и мозговыми слоями были четкими, преобладал корковый слой. Он был плотно заселен лимфоцитами. Субкапсулярная зона была представлена 4-9 рядами лимфобластов (рис. 47). В мозговом слое определялись единичные тимические тельца, образованные скоплениями 4-8 ретикулярных эпителиоцитов.

По данным морфометрического исследования, колебания показателей ширины субкапсулярного слоя тимуса изменялись в инфрадианном режиме с периодом 4 суток. Показатели включения тимидиновой метки, отражающие в основном пролиферативную активность тимоцитов субкапсулярной зоны, имели ритмические изменения с периодом равным 4 суток. Включение тимидиновой метки положительно коррелировало с показателями ширины субкапсулярного слоя тимуса ($r=0.81$; $p=0.004$).

Показатели ширины субкапсулярного слоя коры тимуса и включения тимидиновой метки коррелировали положительно с уровнем мелатонина в сыворотке крови ($r=0.72$, $p=0.036$ и $r=0.65$, $p=0.042$ соответственно) и отрицательно – с показателями уровня кортикостерона ($r=-0.9$, $p=0.002$ и $r=-0.69$, $p=0.024$ соответственно).

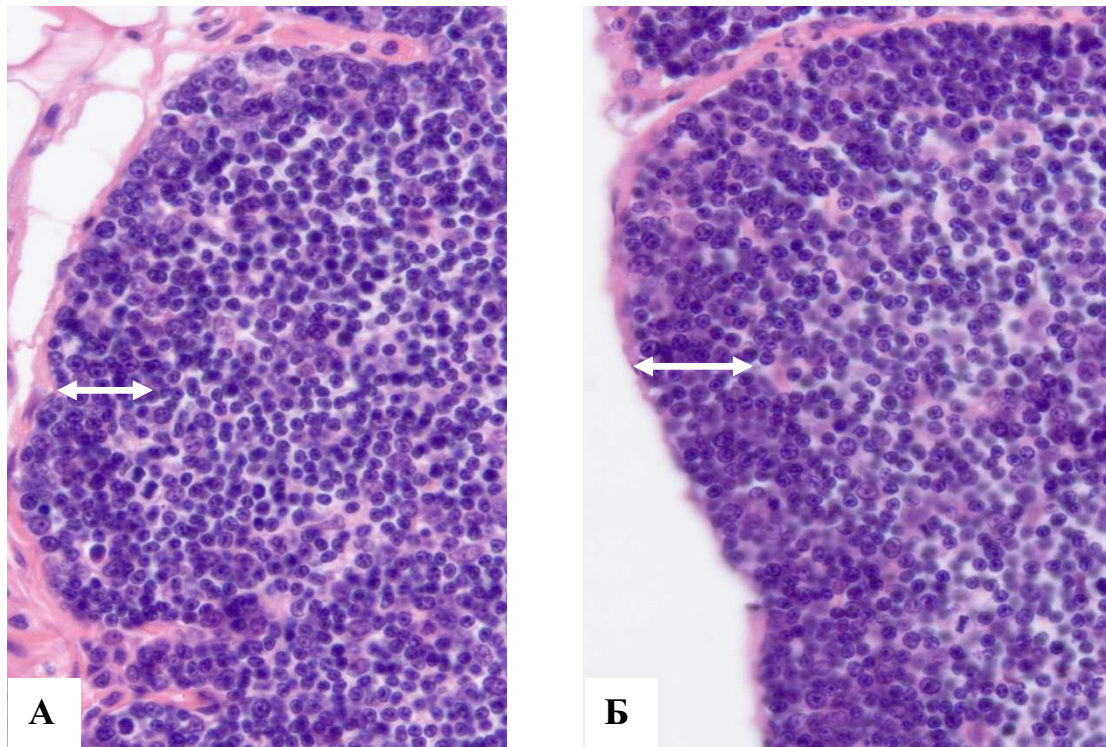
**Акрофаза****Батифаза**

Рис. 47. Субкапсулярная зона тимуса крыс Вистар образована лимфобластами. Ширина субкапсулярной зоны тимуса в батифазе (А) шире, чем в акрофазе (Б) инфранианного 4-суточного биоритма уровня кортикостерона.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 640.

С целью выявления статистической значимости различий показателей ширины субкапсулярного слоя коры тимуса, включения тимидиновой метки и уровня кортикостерона в акрофазе и батифазе инфрадианного 4-суточного биоритма полученные результаты были распределены методом наложения эпох по дням 4-суточного периода. Значения показателей ширины субкапсулярного слоя коры тимуса и включения тимидиновой метки за 19, 23, 27 и 31 октября были отнесены к первому дню 4-суточного периода; значения этих показателей за 16, 20, 24, 28 октября и 1 ноября – ко второму дню, когда уровень кортикостерона был минимален 360 нмоль/л (219; 418); значения этих показателей за 17, 21, 25, 29 октября и 2 ноября – к третьему дню 4-суточного периода; значения этих показателей за 18, 22, 26 и 30 октября – к четвертому дню, когда уровень кортикостерона был максимален 622 нмоль/л (526–804) (рис. 48 А). Значения ширины субкапсулярного слоя коры тимуса и включения тимидиновой метки в акрофазе (16, 20, 24, 28 октября и 1 ноября) составляли 31.2 мкм (26.2–34.1) и 6942 имп/мин (5050–7838), соответственно (рис. 48 Б, В). Значения ширины субкапсулярного слоя коры тимуса и показатели включения тимидиновой метки в батифазе (18, 22, 26 и 30 октября) составляли 19.1 мкм (17.9–24.4) и 542 имп/мин (202–1022), соответственно (рис. 48 Б, В). Значения исследованных показателей в акрофазе статистически значимо отличались от соответствующих показателей в батифазе (для ширины субкапсулярной зоны – $p=0.002$ и включения тимидиновой метки – $p=0.001$).

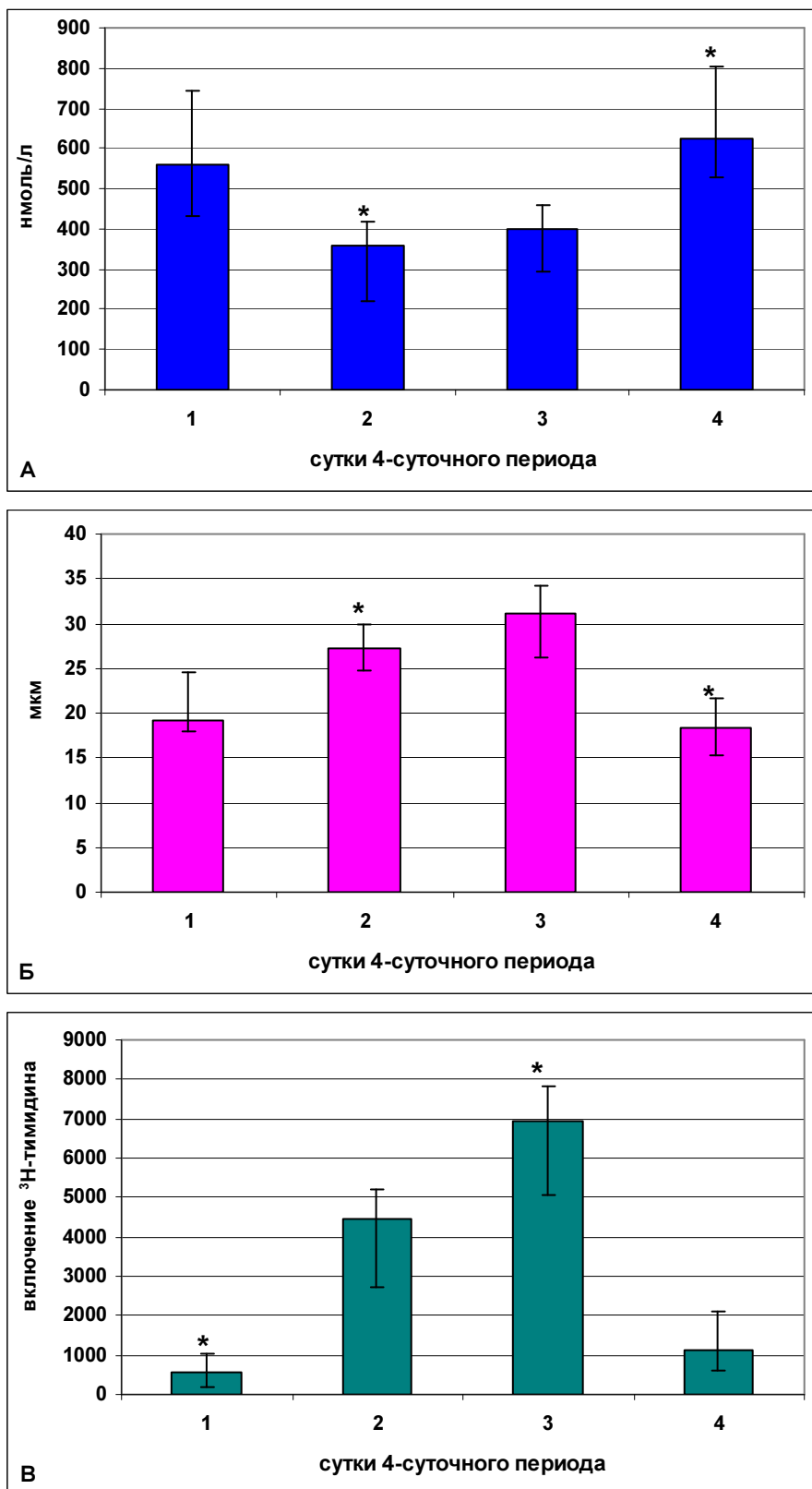
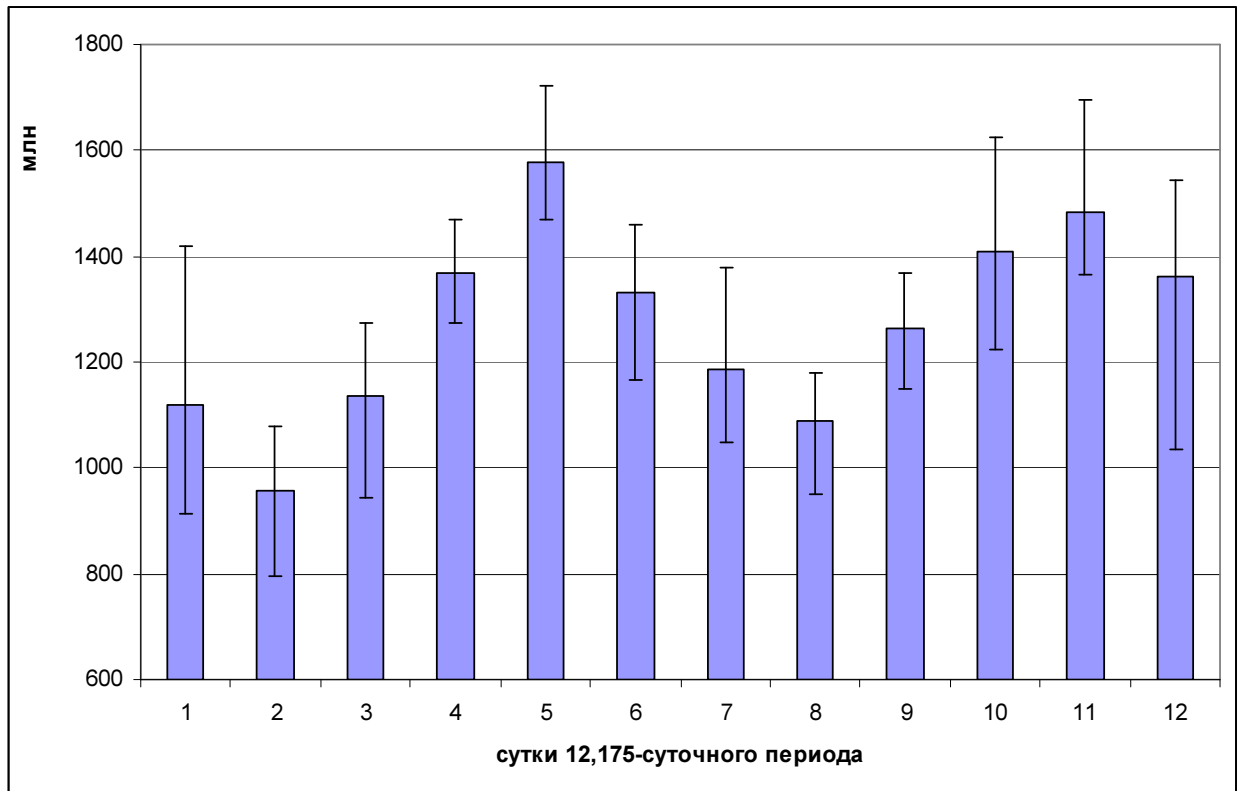


Рис. 48. Распределение показателей уровня кортикостерона (А), ширины субкапсулярного слоя тимуса (Б) и пролиферативной активности тимоцитов (В) методом наложенных эпох по суткам 4-суточного периода. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Условные обозначения: * - показатели в акрофазе и батифазе статистически значимо отличаются

Все полученные значения общего числа лимфоцитов в тимусе за периоды с 11 по 27 сентября 2011 г., с 4 по 23 января и с 16 октября по 2 ноября 2012 г. были распределены методом наложения эпох по дням 12.175-суточного периода. Первому дню 12.175-суточного периода соответствовали даты, представленные в таблице 9. Гистограмма распределения содержания лимфоцитов в тимусе по дням 12.175-суточного периода представлена на рис. 49. Максимальные значения исследованного показателя отмечались на 5-е и 11-е, а минимальные на 2-е и 8-е сутки 12.175-суточного периода. Акрофазы показателя общего числа тимоцитов статистически значимо отличались от соответствующих значений в батифазу. Таким образом, более точный период инфрадианного биоритма абсолютного количества лимфоцитов в тимусе составляет 6.09 сут.

Таким образом, у самцов крыс Вистар в динамике изменений показателей ширины субкапсулярного слоя и включения ^3H -тимидина клетками тимуса выявляется 4-суточный инфрадианный биоритм, находящийся в противофазе с таковым для уровня кортикостерона в сыворотке крови. Динамика уровня мелатонина имеет положительную корреляционную связь с показателями митотической активности клеток тимуса. Изменения общего числа лимфоцитов в тимусе имеет около 6-суточную ритмичность, укладывающуюся в систему 12.175-суточных биоритмов.



Статистическая значимость различий:

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0,7625	1,0000	0,4254	0,0010	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,1748	0,0012	1,0000
2		1,0000	0,0010	0,0000	0,0003	0,4660	1,0000	0,0207	0,0000	0,0000	0,0003
3			0,3429	0,0011	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,1517	0,0014	1,0000
4				1,0000	1,0000	1,0000	0,0119	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
5					1,0000	0,0128	0,0000	0,2679	1,0000	1,0000	0,9906
6						1,0000	0,0662	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
7							1,0000	1,0000	1,0000	0,0213	1,0000
8								1,0000	0,0028	0,0000	0,1037
9									1,0000	0,5218	1,0000
10										1,0000	1,0000
11											1,0000

Рис. 49. Гистограмма распределения методом наложения эпох числа лимфоцитов в тимусе по суткам 12.175-суточного периода. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%).

3.3.2. Инфраниантные ритмы морфофункционального состояния селезенки у самцов крыс Вистар

Определение количества ядродержащих клеток в селезенке у половозрелых самцов крыс Вистар проводили ежедневно у 5-8 особей в периоды: 17 – 29 марта, 11 – 27 сентября, 6 – 11 декабря 2011 г.; 3 – 23 января, 9 – 15 марта, 16 октября – 2 ноября 2012 г.; 21 – 31 января, 17 – 20 февраля, 1 – 5 марта 2014 г. Морфометрическое исследование функциональных зон селезенки исследовали у животных, выведенных из эксперимента ежедневно с 17 по 29 марта 2011 г.

При гистологическом исследовании в селезенке крыс Вистар преобладала белая пульпа, представленная лимфоидными узелками без герминативных и с небольшими герминативными центрами, а также периартериоллярными лимфоидными муфтами (рис. 50).

В динамике объемной доли лимфоидных узелков селезенки наблюдался 4-суточный ритм. Максимальная объемная доля лимфоидных узелков выявлялась 19, 23 и 27 марта, а минимальная 17, 21-22, 24 и 29 марта. Показатели в акрофазе и батифазе статистически значимо различались между собой (рис. 51). Максимальное количество ядродержащих клеточных элементов в суспензии клеток селезенки составляло 1376 ± 187 млн на орган, и оно наблюдалось в те даты, когда была максимальной объемная плотность лимфоидных узелков. В те дни, когда объемная плотность лимфоидных узелков селезенки была минимальной, количество клеточных элементов составляло 720 ± 103 млн на орган. Минимальные значения кортикостерона в этот период наблюдались 19, 23 и 27 марта. Таким образом, максимальные значения объемной плотности лимфоидных узелков и количества мононуклеаров в селезенке наблюдались на фоне низкого уровня кортикостерона в сыворотке крови.

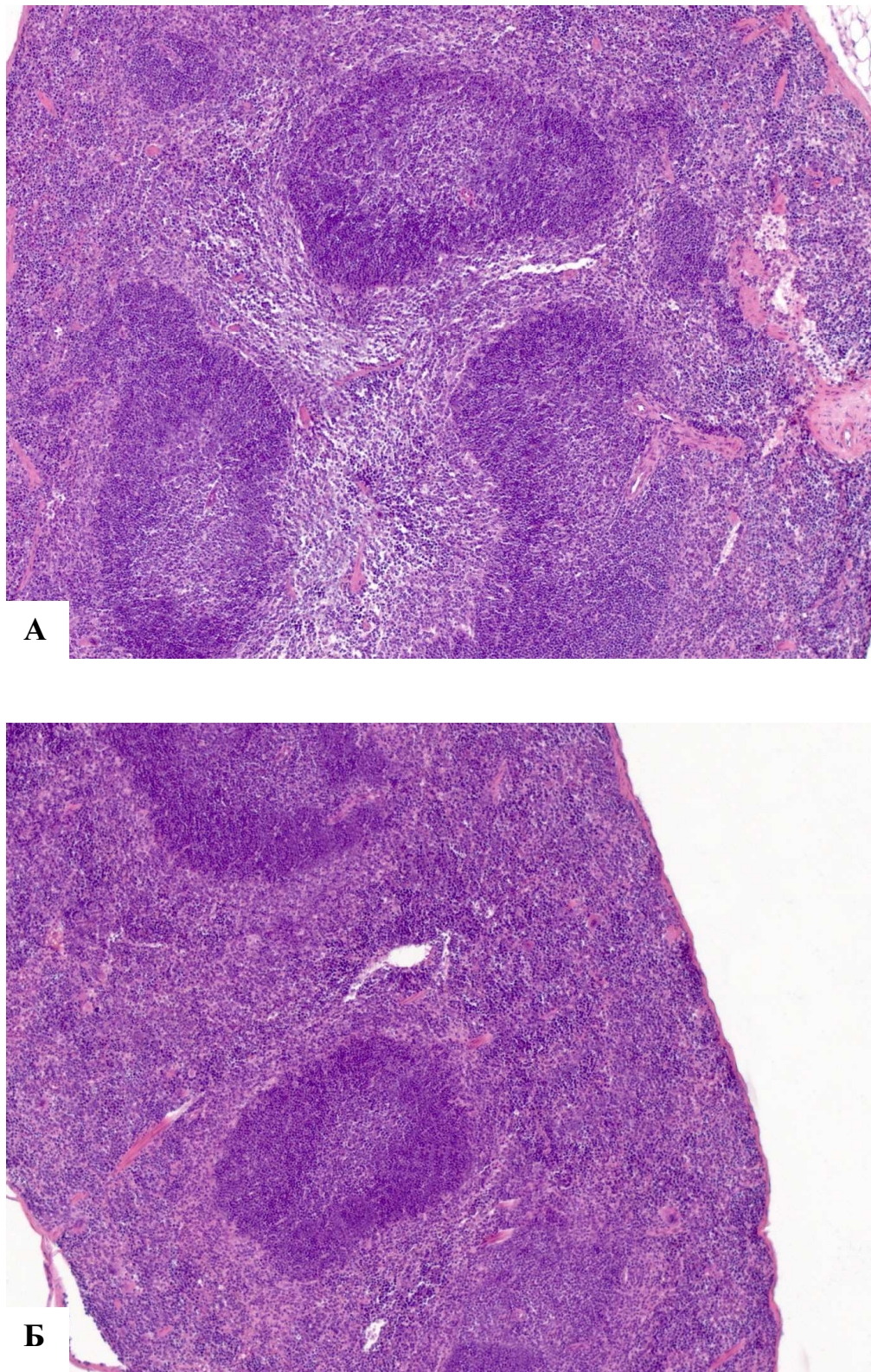


Рис. 50. В селезенке крыс Вистар в бати́фазе (А) и акрофа́зе (Б) инфрадианного 4-суточного биоритма уровня кортикостерона выявляются лимфоидные узелки и ПАЛМ зона.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 640.

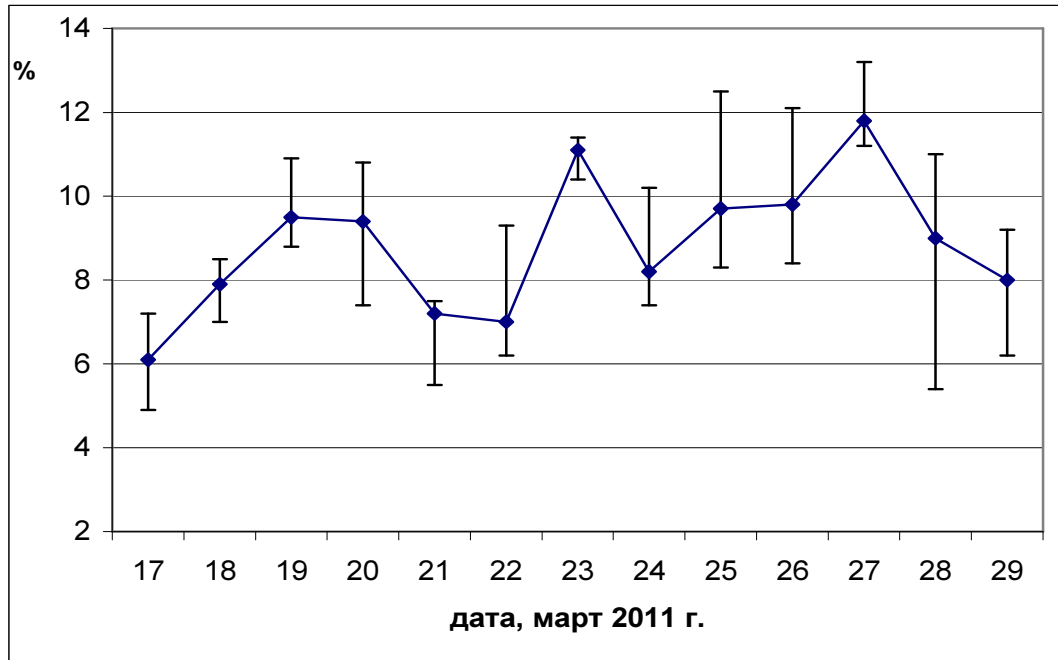


Рис. 51. Динамика объемной плотности лимфоидных узелков у самцов крыс Вистар в период с 17 по 29 марта 2011 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

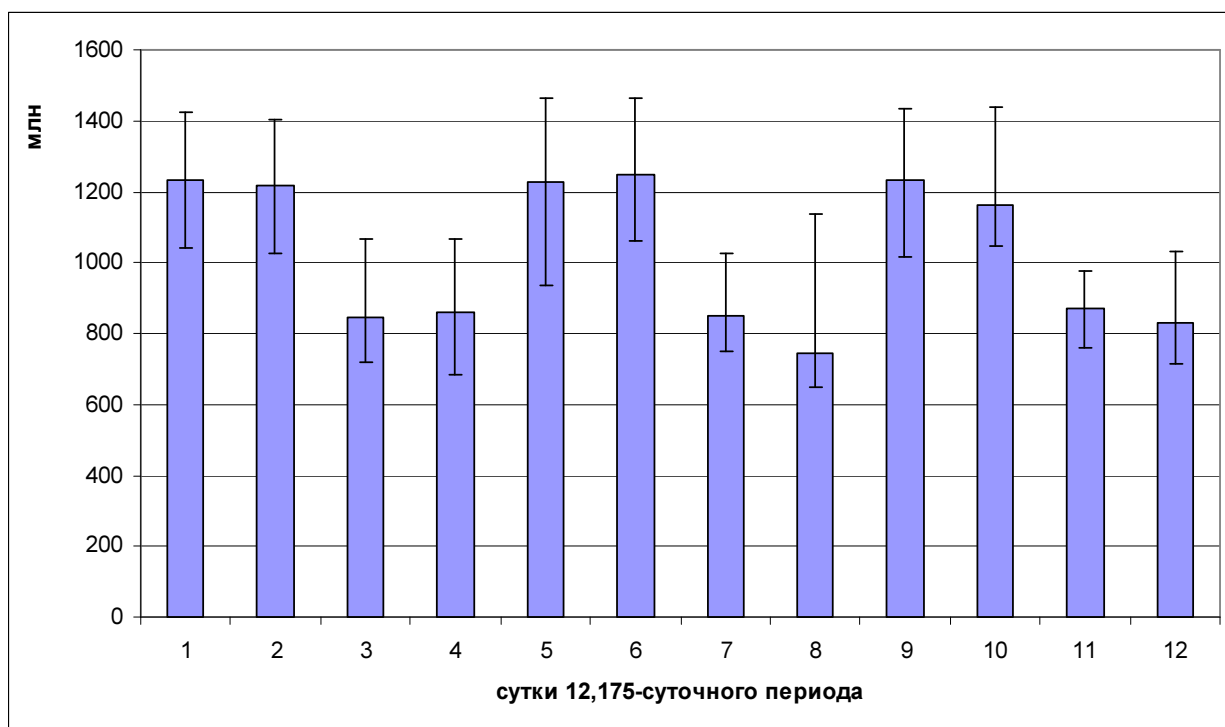
Статистическая значимость различий: $p_{17-19}=0,004$; $p_{19-21}=0,023$; $p_{21-23}=0,001$; $p_{23-24}=0,008$; $p_{24-27}=0,009$; $p_{27-29}=0,003$

Максимальные значения объемной доли периартериальных лимфоидных муфт отмечены 17, 23 и 29 марта. Эти даты соответствуют батифазам 6-суточного ритма числа лимфоцитов в тимусе. Таким образом, очевидно, эти изменения связаны с увеличением миграции Т лимфоцитов из тимуса в Т-зависимую зону селезенки.

Все полученные показатели абсолютного числа клеток в суспензии селезенки в периоды: 17 – 29 марта, 11 – 27 сентября, 6 – 11 декабря 2011 г.; 3 – 23 января, 9 – 15 марта, 16 октября – 2 ноября 2012 г.; 21 – 31 января, 17 – 20 февраля, 1 – 5 марта 2014 г. были распределены методом наложения эпох по дням 12.175-суточного периода, первые сутки которого представлены в таблице 9. Максимальные показатели числа клеточных элементов в селезенке наблюдались на 2-е, 6-е и 10-е сут, а минимальные – на 4-е, 8-е и 12-е сут 12.175-суточного периода. Показатели в акрофазах и батифазах статистически значимо различались между собой (Рис. 52).

Таким образом, в динамике абсолютного числа клеточных элементов в селезенке и уровня кортикостерона установлен 4.06-суточный биоритм. Максимальные значения абсолютного числа клеток в селезенке наблюдались на фоне низкого содержания кортикостерона в сыворотке крови.

Выявлена отрицательная корреляционная связь между инфрадианным биоритмом уровня кортикостерона в сыворотке крови и динамикой объемной плотности лимфоидных узелков и абсолютного количества клеток в селезенке у половозрелых самцов крыс Вистар, которые имеют 4.06-суточную периодичность.



Статистическая значимость различий:

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	1,0000	0,0000	0,0001	1,0000	1,0000	0,0020	0,0001	1,0000	1,0000	0,0000	1,0000
2		0,0001	0,0006	1,0000	1,0000	0,0068	0,0003	1,0000	1,0000	0,0002	1,0000
3			1,0000	0,0223	0,0005	1,0000	1,0000	0,0010	0,0002	1,0000	1,0000
4				0,0373	0,0015	1,0000	1,0000	0,0031	0,0011	1,0000	1,0000
5					1,0000	0,1348	0,0146	1,0000	1,0000	0,0411	0,0023
6						0,0084	0,0006	1,0000	1,0000	0,0012	0,0000
7							1,0000	0,0185	0,0091	1,0000	1,0000
8								0,0012	0,0005	1,0000	1,0000
9									1,0000	0,0022	0,0001
10										0,0006	0,0000
11											1,0000

Рис. 52. Гистограмма распределения методом наложения эпох по дням 12.175-суточного периода численности ядросодержащих клеток в селезенке у половозрелых самцов и крыс Вистар. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%).

3.3.3. Инфраниантный ритм процентного содержания нейтрофилов в периферической крови у самцов крыс Вистар

Исследование индивидуальной динамики процентного содержания нейтрофилов в периферической крови и уровня кортикостерона проводили у половозрелых самцов крыс Вистар в период с 8 по 20 октября 2011 г. ($n=10$) и с 17 по 29 марта 2011 г. ($n=8$). Забор крови из хвостовой вены проводили ежедневно в 8.00–8.30 ч утра при кратковременной иммобилизации животных.

Динамика процентного содержания нейтрофилов периферической крови в период с 8 по 20 октября 2011 г. имела 4-суточную периодичность, максимальные значения (акрофаза) наблюдались 10, 14, 18, а минимальные (батифаза) – 8, 12, 16, 20 октября (рис. 53). Значения показателей в акрофазах статистически значимо отличались от показателей в батифазе. Динамика показателей уровня кортикостерона в сыворотке крови также имела 4-суточную периодичность, совпадала по фазе и коррелировала положительно (коэффициент корреляции $r=0.73$) со значениями процентного содержания нейтрофилов.

В период исследования с 17 по 29 марта 2011 г. максимальные значения процентного содержания нейтрофилов отмечались 18 и 26 марта, а минимальные – 20 и 28 марта. Ожидаемый 22 марта максимум значений содержания нейтрофилов в периферической крови не проявился. В этот же период (20–24 марта) не наблюдались и статистически значимого подъема уровня кортикостерона (таблица 10). Коэффициент корреляции между уровнем кортикостерона и процентным содержанием нейтрофилов в крови составил 0.45 ($p=0.02$).

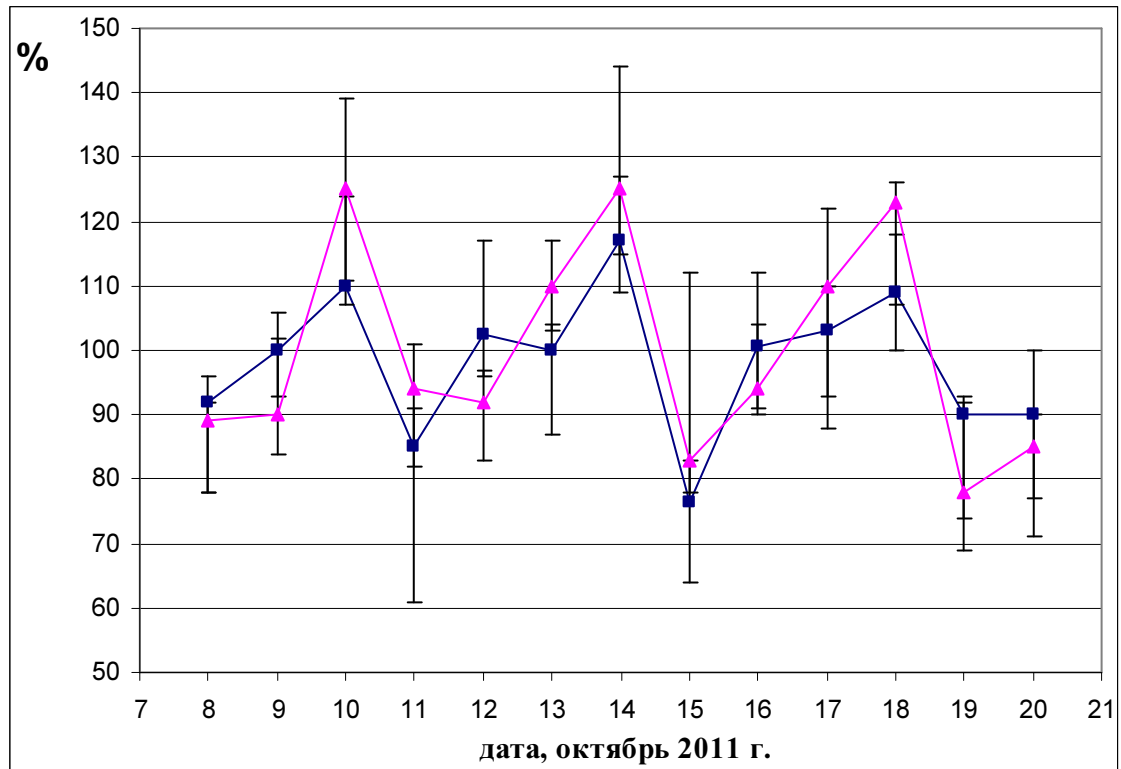


Рис. 53. Инфрадианные ритмы:

- (— 1) процентного содержания нейтрофилов в периферической крови
 (— 2) уровня кортикостерона у половозрелых крыс-самцов Вистар.

По оси ординат – % от индивидуального среднего значения. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

1 – $p_{8-10}=0,02$; $p_{10-11}=0,01$; $p_{11-14}=0,009$; $p_{14-15}=0,001$; $p_{15-17}=0,01$; $p_{17-19}=0,001$;

2 – $p_{8-10}=0,001$; $p_{10-11}=0,01$; $p_{12-14}=0,005$; $p_{14-15}=0,02$; $p_{15-17}=0,03$; $p_{17-19}=0,01$.

Таблица 10. Значение уровня кортикостерона и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови у крыс-самцов Вистар в период акрофаз и батифаз

Фаза периода					
Максимум (акрофаза)			Минимум (батифаза)		
Даты	Кортикостерон (нмоль/л)	Нейтрофилы (%)	Даты	Кортикостерон (нмоль/л)	Нейтрофилы (%)
18.03 2011	779,9 * (702,4; 886,2)	25,5 * (24,3; 27,5)	20.03 2011	638,2 (497,9; 678,4)	20,2 (17,3; 22,5)
22.03 2011	709,3 (598,5; 878,1)	21,5 (17,5; 26,5)	24.03 2011	689,4 (643,7; 721,3)	14,5 (12,5; 20,1)
26.03 2011	955,6 * (792,7; 1151,4)	24,5 * (18,5; 27,2)	28.03 2011	627,1 (547,6; 801,1)	11,5 (10,5; 13,4)

Условные обозначения: * – значения в акрофазе статистически значимо различаются по сравнению с батифазой.

Таким образом, динамика процентного содержания нейтрофилов в периферической крови положительно коррелирует с уровнем кортикостерона и имеет 4-суточный инфрадианный биоритм.

3.3.3. Инфраниантные ритмы уровня цитокинов крови и их продукции клетками селезенки, активированными конканавалином А, у самцов крыс Вистар

Исследование динамики уровня цитокинов крови и их продукции клетками селезенки, активированными конканавалином А, выполнено на 104 половозрелых самцах крыс Вистар. Животных выводили из эксперимента передозировкой диэтилового эфира ежедневно по 8 особей в период с 17 по 29 марта в 8.00-8.30 ч утра по местному солнечному времени (Москва).

Динамика уровня в сыворотке крови неоптерина, являющегося интегративным показателем активации клеточного звена иммунитета, имела 4-суточный период, и показатели в акрофазе и батифазе достоверно различались между собой (рис. 54 А). Однако, в период асинхронной динамики уровня кортикостерона (21–23 марта) ритм изменения показателей неоптерина сохранялся.

Уровень TGF- β 1 в сыворотке крови отрицательно коррелировал с концентрацией кортикостерона ($r=-0.42$; $p=0.046$) (рис. 54 Б).

Динамика уровня ИЛ-2 в суточной культуре клеток селезенки, активированных конканавалином А, коррелировала отрицательно с уровнем кортикостерона в сыворотке крови (коэффициент корреляции $r = -0.59$; $p=0.04$), (рис. 55 А). Ритмичность изменения уровня продукции ИЛ-10 совпадала по фазе с уровнем кортикостерона ($r=0.72$; $p=0.03$) и отрицательно коррелировала с уровнем ИЛ-2 ($r=-0.69$; $p=0.03$).

В динамике уровня продукции ИФН γ в суточной культуре клеток селезенки, активированных конканавалином А, статистически значимо выявлялся 4-суточный период (рис. 56 Б), находящийся в противофазе с уровнем кортикостерона. Продукция ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНО- α не коррелировала с уровнем кортикостерона, однако наблюдались достоверные изменения в динамике этих показателей, но какого-либо ритма в изменении показателей на протяжении эксперимента не удалось выявить.

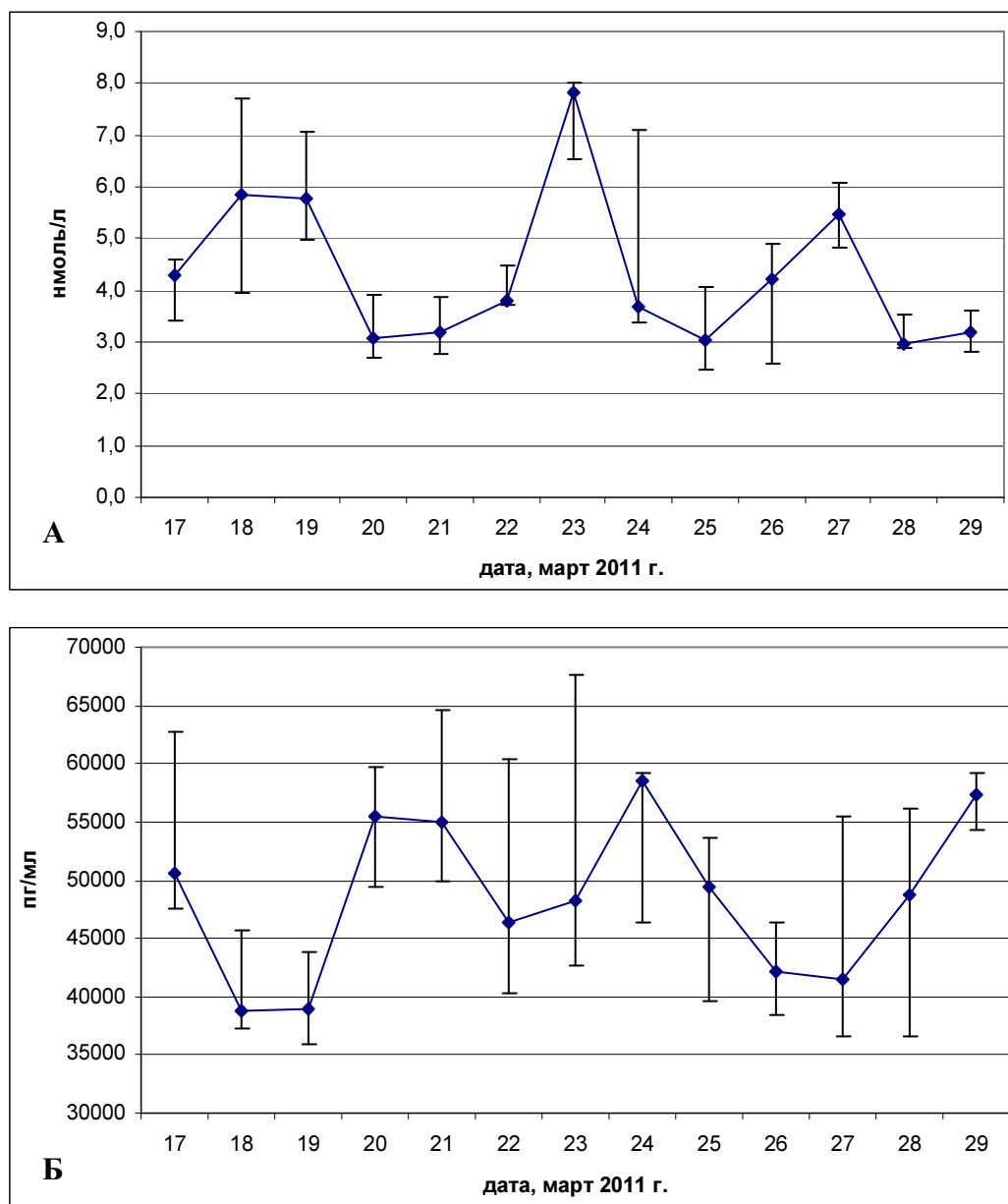


Рис. 54. Динамика уровня неоптерина (А) и TGF-β1 (Б) в сыворотке крови у самцов крыс Вистар в период с 17 по 29 марта 2011 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

А – p17-19=0,004; p19-21=0,004; p21-23=0,003; p23-25=0,002; p25-27=0,004; p27-29=0,003

Б – p17-18=0,009; p18-20=0,004; p24-26=0,01; p26-28=0,015

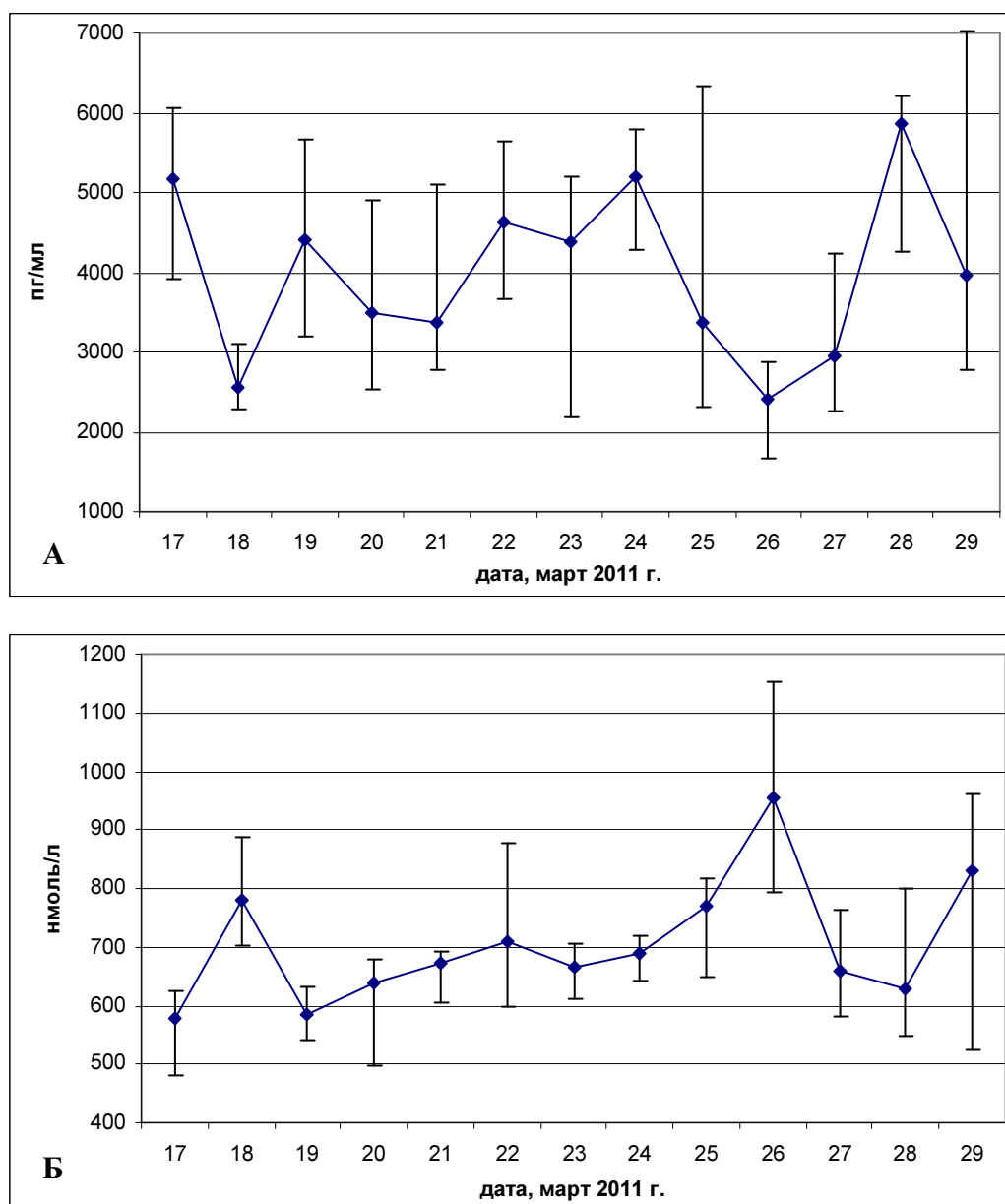


Рис. 55. Динамика уровня продукции ИЛ-2 (А) спленоцитами, активированными конканавалином А и уровня кортикостерона (Б) в сыворотке крови у самцов крыс Вистар в период с 17 по 29 марта 2011 г.

Статистическая значимость различий:

А – $p_{17-18}=0,004$; $p_{18-19}=0,035$; $p_{24-26}=0,013$; $p_{26-28}=0,003$

Б – $p_{17-18}=0,001$; $p_{18-20}=0,006$; $p_{24-26}=0,01$; $p_{26-28}=0,04$

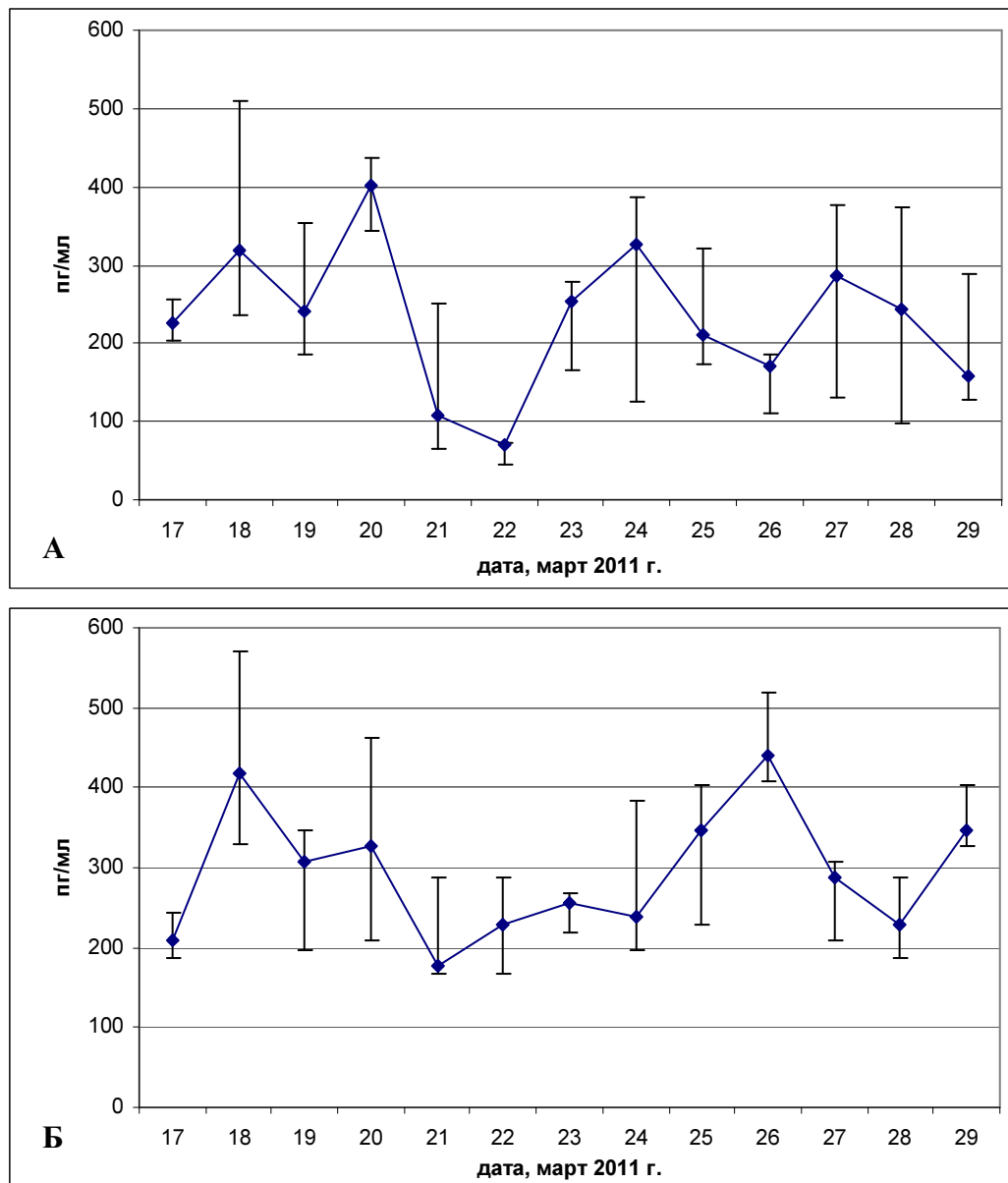


Рис. 56. Динамика уровня продукции ИЛ-10 (А) и ИФНγ (Б) спленocyтaми, активированными конканaвалином А, у самцов крыс Вистар в период с 17 по 29 марта 2011 г. Представлены медианы и интерквaртильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

А – $p_{17-18}=0,008$; $p_{18-21}=0,03$; $p_{24-26}=0,03$; $p_{26-28}=0,001$

Б – $p_{17-20}=0,025$; $p_{20-22}=0,003$; $p_{22-24}=0,01$

Таким образом, у половозрелых крыс-самцов Вистар в динамике уровня неоптерина и TGF- β 1 сыворотки крови и продукции ИЛ-2, ИЛ-10 и ИФН γ клетками селезенки, активированными конканавалином А, установлена 4-суточная ритмичность. Секреция ИЛ-2 клетками селезенки, активированными конканавалином А, и уровень TGF- β 1 в сыворотке крови коррелируют отрицательно с концентрацией кортикостерона, а уровень ИЛ-10 – положительно. Уровень продукции ИФН γ имел слабую отрицательную корреляцию с уровнем кортикостерона в сыворотке крови, а показатели ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНО- α не коррелировали.

3.3.4. Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови и их продукции лимфоцитами периферической крови, стимулированными митогеном, у мужчин первого периода зрелого возраста

Исследование уровня цитокинов и субпопуляционного состава лейкоцитов периферической крови было проведено у 8 мужчин 24-30 лет (первый период зрелого возраста по классификации ВОЗ), соблюдавших режим сна с 22.30 по 7.00 ч и не подвергавшихся патологическому стрессу в период проведения исследования. Забор крови проводился ежедневно со 2 по 22 июня 2010г в 8 ч утра по местному солнечному времени (г. Москва).

В динамике уровня кортизола у 6 из 8 испытуемых наблюдались синхронные 4-сут колебания. Как показано на рис. 57 А в группе здоровых доноров наблюдается достоверное различие в уровне кортизола в зависимости от даты исследования. У 1 из 8 мужчин уровень кортизола имел 8-сут периодичность с проявлением максимумов в дни соответствующие максимальному уровню кортизола в основной группе доноров. У 1 из 8 мужчин статистически значимые колебания уровня кортизола не выявлены.

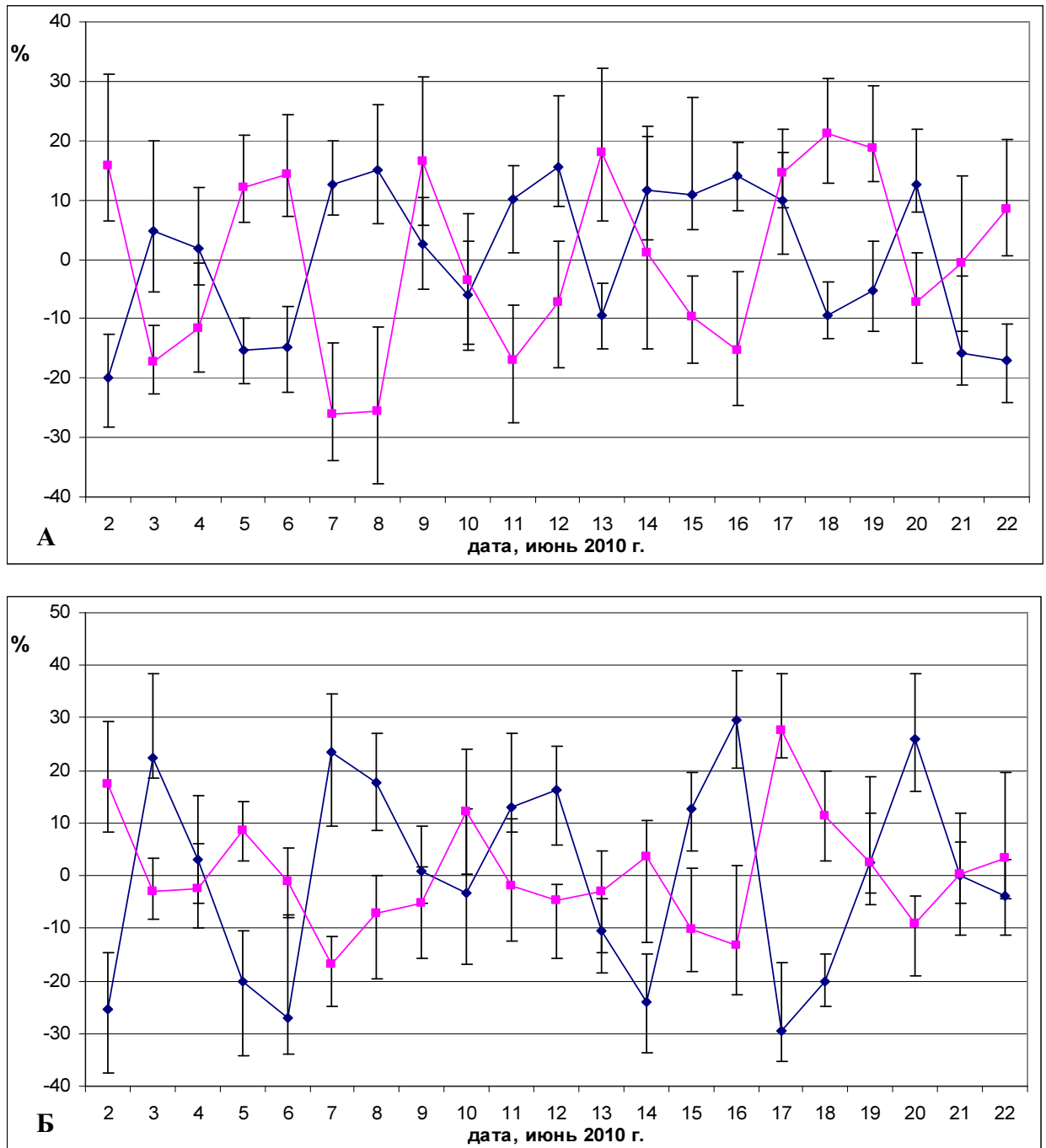


Рис. 57. Динамика уровня: (— 1) кортизола и (— 2) ИЛ-2 (А), (— 1) НК-клеток и (— 1) иммунорегуляторного индекса Тх/Тс (Б) в периферической крови у здоровых доноров в период со 2 по 22 июня 2010 г. По оси абсцисс — календарные даты. По оси ординат — отклонение в процентах от индивидуальных средних уровней.

А (1) — $p_{2-4}=0,04$; $p_{6-8}=0,004$; $p_{10-12}=0,03$; $p_{13-16}=0,04$; $p_{16-18}=0,001$; $p_{18-20}=0,02$; $p_{20-22}=0,008$; (2) — $p_{2-3}=0,007$; $p_{3-5}=0,001$; $p_{5-7}=0,005$; $p_{7-9}=0,009$; $p_{9-11}=0,003$; $p_{11-13}=0,01$; $p_{15-17}=0,001$; $p_{18-20}=0,01$.

Б (1) — $p_{2-4}=0,03$; $p_{4-6}=0,02$; $p_{6-8}=0,003$; $p_{12-14}=0,01$; $p_{14-16}=0,001$; $p_{16-18}=0,001$; $p_{18-20}=0,003$; $p_{20-22}=0,01$; (2) — $p_{2-4}=0,01$; $p_{5-7}=0,02$; $p_{7-10}=0,008$; $p_{10-12}=0,04$; $p_{15-17}=0,001$; $p_{17-20}=0,001$.

В динамике уровня ИЛ-2 в сыворотке крови группы доноров с выраженными колебаниями кортизола достоверно выявляется 4 сут период (рис. 57 А). Уровень ИЛ-2 находится в противофазе с уровнем кортизола. Коэффициент корреляции между уровнем ИЛ-2 и кортизола составил -0.60 ; $p=0.002$. У испытуемого имеющего 8-сут ритм кортизола наблюдался противофазный 8-сут ритм уровня ИЛ-2 ($r=-0.51$; $p=0.02$). У донора с незначительными колебаниями уровня кортизола, уровень ИЛ-2 также не имел ритмических колебаний и был в два раза выше нормы, на основании чего мы исключили этого испытуемого из группы здоровых.

Процентное содержание НК-клеток в периферической крови группы доноров имело четкую 4-сут периодичность, совпадающую по фазе с уровнем кортизола ($r=0.68$; $p=0.006$) (рис. 57 Б). Индекс Тх/Тц также имел 4-сут периодичность и находился в противофазе по отношению к уровню кортизола ($r=-0.47$; $p=0.01$) (рис. 57 Б).

Динамика уровня рецепторного антагониста ИЛ-1 в сыворотке крови у доноров с выраженными колебаниями уровня кортизола также имела 4-суточный ритм (рис. 58). Показатели уровня рецепторного антагониста ИЛ-1 положительно коррелировала с уровнем кортизола ($r = 0.58$; $p=0.005$).

Таким образом, имеющие 4-суточную периодичность колебания уровня кортизола в крови у здоровых мужчин, сопряжены с динамикой уровня ИЛ-2, рецепторного антагониста ИЛ-1, индексом Тх/Тц и относительным содержанием НК-клеток в периферической крови.

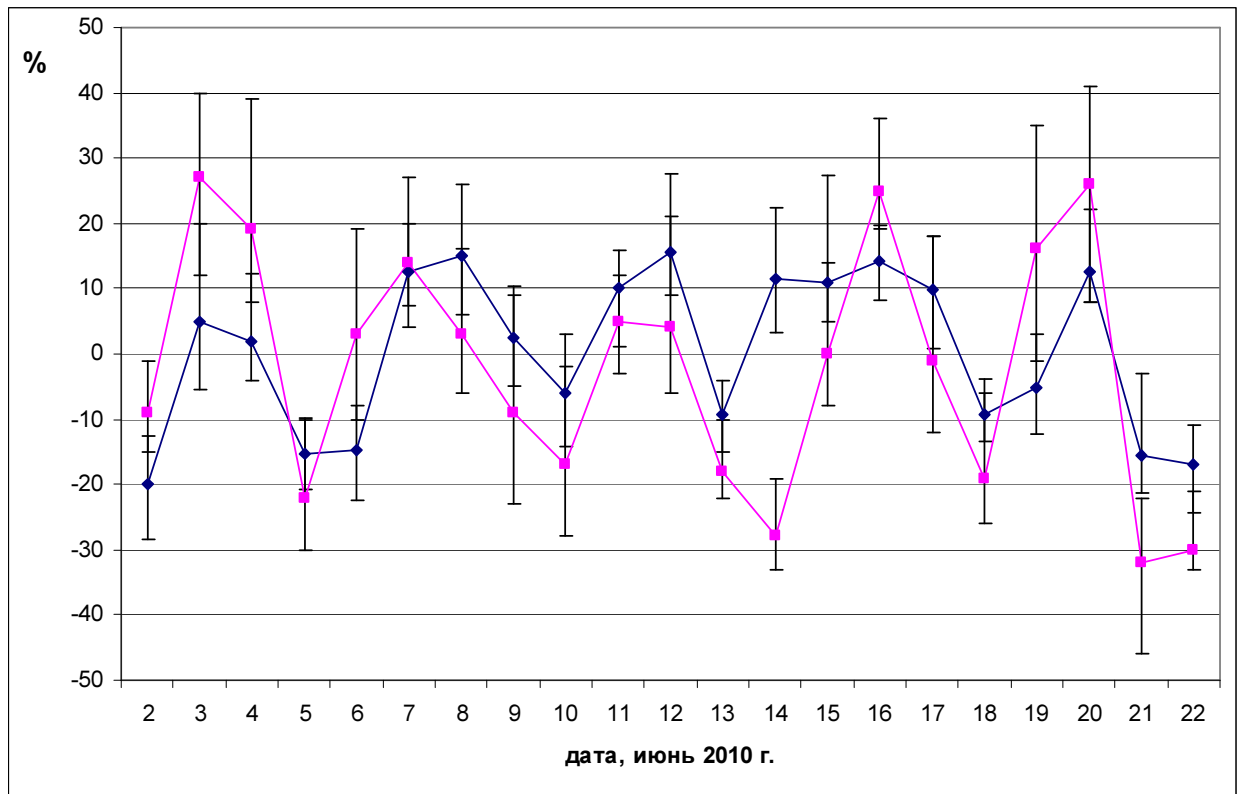


Рис. 58. Динамика уровня (— 1) рецепторного антагониста ИЛ-1 и (— 2) кортизола в периферической крови у здоровых доноров в период со 2 по 22 июня 2010 г. По оси абсцисс — календарные даты. По оси ординат — отклонение в процентах от индивидуальных средних уровней. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

(1) – $p_{2-3}=0,01$; $p_{3-5}=0,007$; $p_{5-7}=0,01$; $p_{11-14}=0,001$; $p_{14-16}=0,003$; $p_{16-18}=0,005$; $p_{18-20}=0,04$; $p_{20-22}=0,001$.

(2) – $p_{2-4}=0,04$; $p_{6-8}=0,004$; $p_{10-12}=0,03$; $p_{13-16}=0,04$; $p_{16-18}=0,001$; $p_{18-20}=0,02$; $p_{20-22}=0,008$.

Следующей задачей было исследование в группе мужчин зрелого возраста инфрадианных колебаний уровня продукции и секреции цитокинов клетками цельной крови, активированными смесью митогенов, и сопоставление этих данных с уровнем кортизола и субпопуляционным составом лимфоцитов.

В исследовании участвовали 6 мужчин 24–30 лет, соблюдавших режим сна с 22:30 по 7:00 ч и не подвергавшихся патологическому стрессу в период проведения исследования. Забор крови проводили ежедневно с 29 сентября по 16 октября 2010 г. в 8 ч утра по местному солнечному времени (г. Москва).

В динамике уровня продукции ИФН γ клетками крови, активированными смесью митогенов (тест набор «Вектор-Бест», Россия), наблюдались синхронные у разных индивидов 4-суточные ритмические изменения, поэтому результаты можно было представить в целом по группе испытуемых (рис. 59 Б). Концентрации ИФН γ в супернатантах суточных культур отличались в разы между днями с максимальным и минимальным уровнем их продукции. Таким образом, были выявлены дни со статистически значимо различающимися максимальным и минимальным уровнями продукции ИФН γ . Продукция ИЛ-2 активированными клетками крови коррелировала с уровнем продукции ИФН γ , коэффициент корреляции – $r=0.69$ ($p=0.006$).

Уровень продукции противовоспалительного ИЛ-10 имел также 4 сут периодичность (рис. 59 А). Дни, в которые были выявлены максимальные уровни продукции ИЛ-10, совпадали с датами дней с минимальным уровнем продукции ИЛ-2 и ИФН γ ($r=-0.66$, $p=0.002$ и $r=-0.58$, $p=0.006$), а именно 29-30 сентября, 4, 8, 12 и 15-16 октября 2010 г. Таким образом, соотношение провоспалительные/противовоспалительные цитокины изменялось в зависимости от даты исследования.

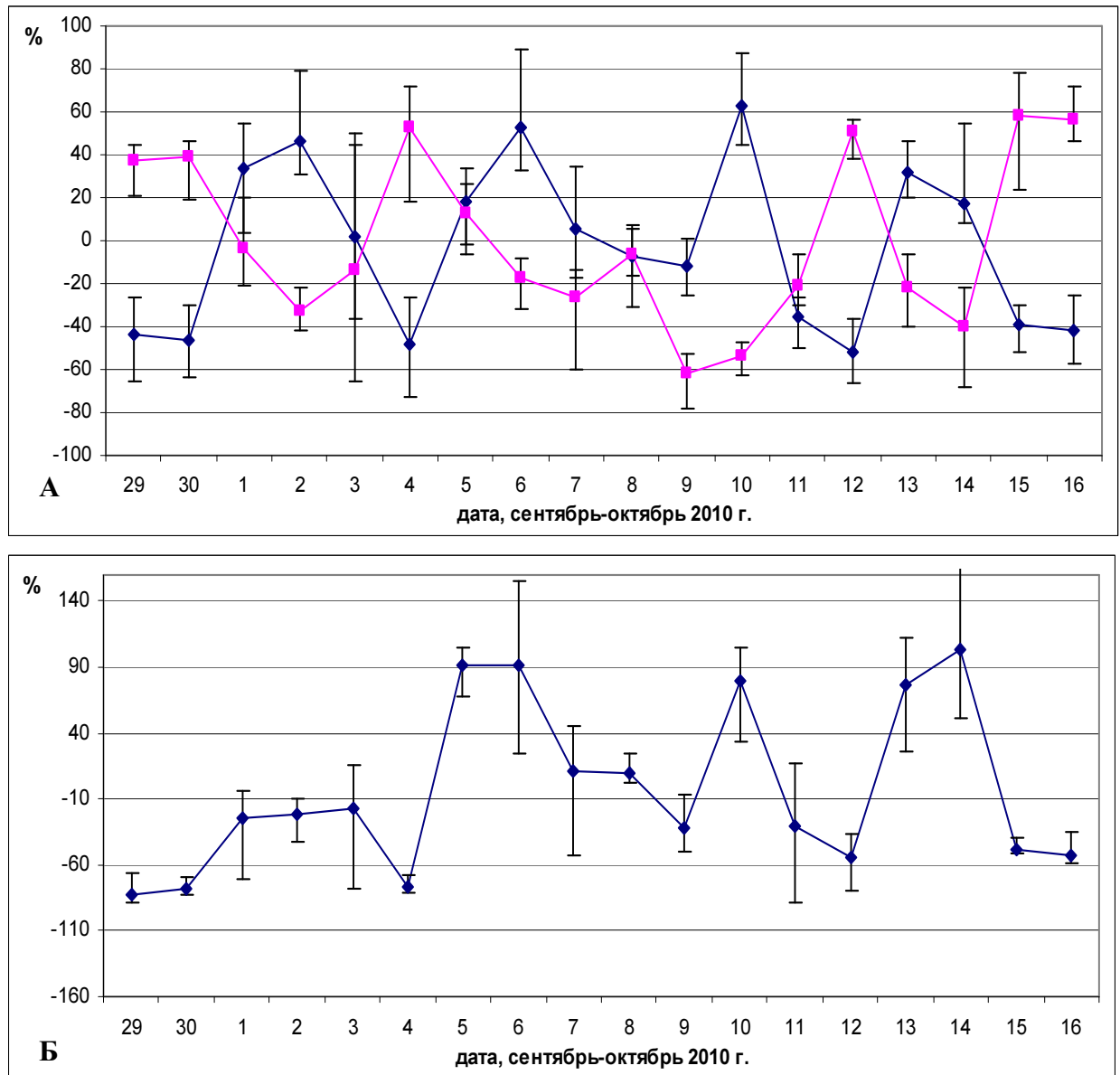


Рис. 59. Динамика уровня продукции (— 1) ИЛ-2 и (— 1) ИЛ-10 (А), и ИФН γ (Б) у здоровых доноров в период с 29 сентября по 16 октября 2010 г. По оси абсцисс – календарные даты. По оси ординат – отклонение в процентах от индивидуальных средних уровней. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

А (1) – $p_{30-2}=0,01$; $p_{2-4}=0,02$; $p_{4-6}=0,02$; $p_{6-8}=0,04$; $p_{8-10}=0,04$; $p_{10-12}=0,004$; $p_{12-14}=0,004$; $p_{14-16}=0,02$; **(2)** – $p_{30-2}=0,01$; $p_{2-4}=0,02$; $p_{4-6}=0,01$; $p_{8-9}=0,04$; $p_{10-12}=0,02$; $p_{12-14}=0,01$; $p_{14-16}=0,001$.

Б – $p_{2-4}=0,04$; $p_{4-6}=0,0001$; $p_{8-10}=0,04$; $p_{10-12}=0,01$; $p_{12-14}=0,01$; $p_{14-16}=0,001$.

В динамике уровня кортизола у всех мужчин наблюдались синхронные 4-суточные колебания. Как показано на рис. 60 в группе здоровых доноров выявлено статистически значимые различия уровня кортизола в зависимости от даты исследования. Выявлена отрицательная корреляционная связь между показателями уровнями кортизола и продукции ИЛ-2 и ИФН γ в крови ($r=-0.57$, $p=0.01$ и $r=-0.50$, $p=0.03$) и положительная – между показателями продукции ИЛ-10 и уровнем кортизола ($r=0.61$; $p=0.008$).

Содержание лимфоцитов и моноцитов в образцах периферической крови не имело достоверных колебаний на протяжении всего эксперимента.

По данным цитофлюориметрического исследования индекс Т-хелперы/Т-супрессорно-цитотоксические лимфоциты (Тх/Тс-ц) также имел 4-сут периодичность и находился в противофазе к уровню кортизола ($r=-0.66$; $p=0.002$) (рис. 60). В дни с преобладанием в периферической крови Т-хелперов наблюдался максимальный уровень продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-2 и ИФН γ и минимальный уровень ИЛ-10. Выявлена положительная корреляционная связь между показателем иммунорегуляторного индекса и уровнем продукции ИЛ-2 и ИФН γ ($r=0.50$; $p=0.033$ и $r=0.48$; $p=0.04$).

Таким образом, данное исследование показывает, что продукция цитокинов, индуцированная смесью митогенов в образце периферической крови, зависит от уровня кортизола и субпопуляционного состава лимфоцитов. Более того, колебания этих показателей обуславливают значительные изменения в балансе провоспалительные/противовоспалительные цитокины, являющемся важным параметром для оценки функциональной активности иммунной системы. В группе испытуемых эти колебания составляли 4 сут и были синхронны у разных индивидов, что позволяет прогнозировать эти изменения.

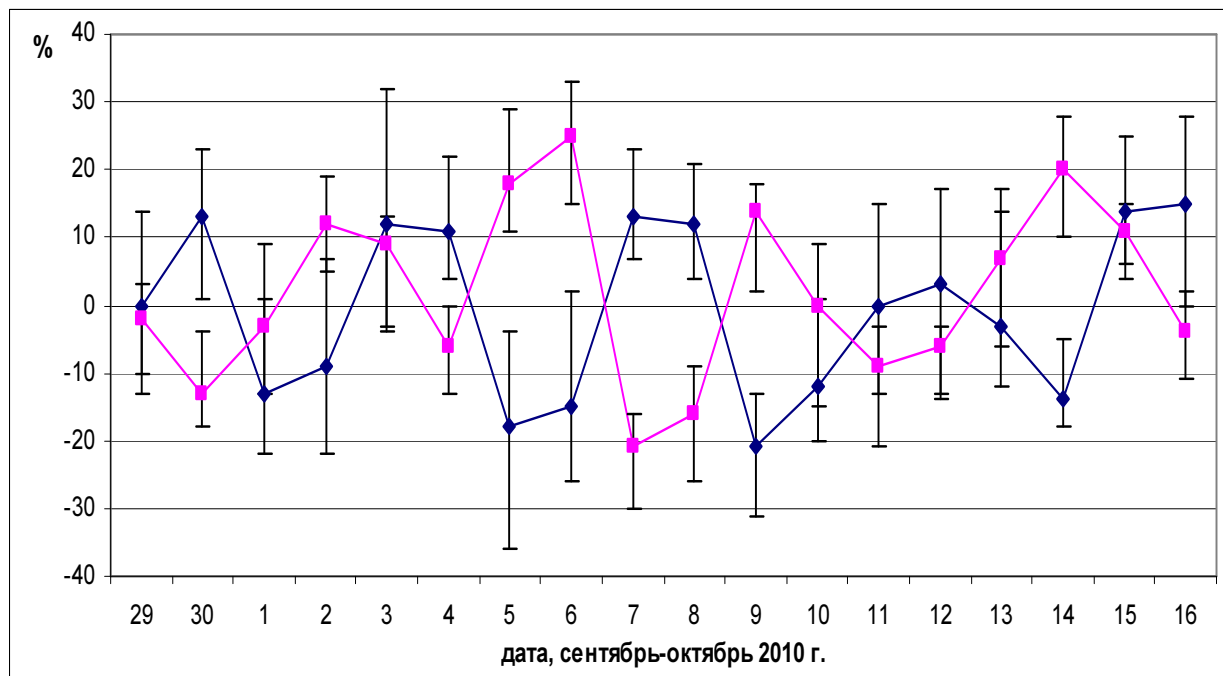


Рис. 60. Динамика уровня (— 1) кортизола и (— 2) индекса Тх/Тс у здоровых доноров в период с 29 сентября по 16 октября 2010 г. По оси абсцисс – календарные даты. По оси ординат – отклонение в процентах от индивидуальных средних уровней. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

Статистическая значимость различий:

(1) – $p_{30-1}=0,02$; $p_{1-4}=0,03$; $p_{4-6}=0,03$; $p_{6-8}=0,04$; $p_{8-9}=0,03$; $p_{9-12}=0,02$; $p_{14-16}=0,04$;

(2) – $p_{30-2}=0,01$; $p_{2-4}=0,04$; $p_{4-6}=0,01$; $p_{6-8}=0,005$; $p_{8-9}=0,04$; $p_{9-12}=0,03$; $p_{12-14}=0,04$; $p_{14-16}=0,03$.

3.3.6. Инфраниантные ритмы цитофизиологии тучных клеток в дерме кожи у половозрелых самцов крыс Вистар

Исследование динамики изменения цитофизиологических характеристик тучных клеток и уровня кортикостерона в крови у половозрелых самцов крыс Вистар проводили в период с 16 по 30 октября 2012 г. Животных выводили из эксперимента ежедневно ($n=6$) передозировкой диэтилового эфира в 10:00 – 10:30 по местному солнечному времени (г. Москва).

При морфологическом исследовании препаратов кожи, окрашенных толуидиновым синим, в дерме у крыс выявлялось большое количество тучных клеток, которые были заполнены плотно упакованными метакроматичными гранулами. В окружающей тучные клетки соединительной ткани определялись мелкие гранулы, как единичные, так и скопления (рис. 61).

В динамике показателей общего числа тучных клеток на протяжении всех 15 дней эксперимента достоверно значимых колебаний показателя не было выявлено. Колебания числа свободно лежащих гранул тучных клеток в дерме, характеризующих интенсивность дегрануляции, имели 4-суточный биоритм (рис. 62 А). Значения этого показателя в акрофазе были выше в 2.8 раза по сравнению с батифазой. Показатель числа свободно лежащих гранул тучных клеток положительно коррелировал с уровнем кортикостерона в сыворотке крови ($r=0.58$, $p=0.024$).

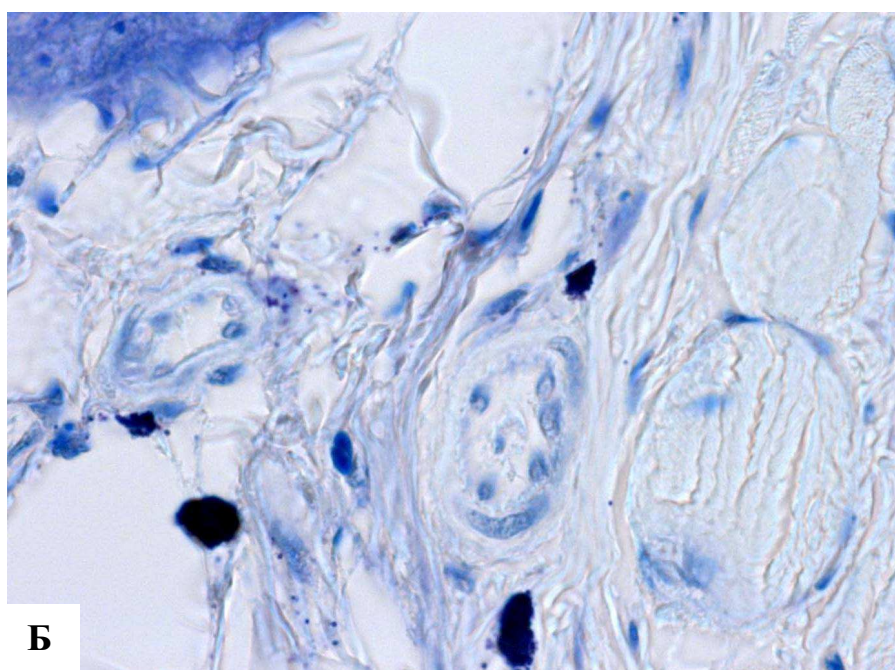
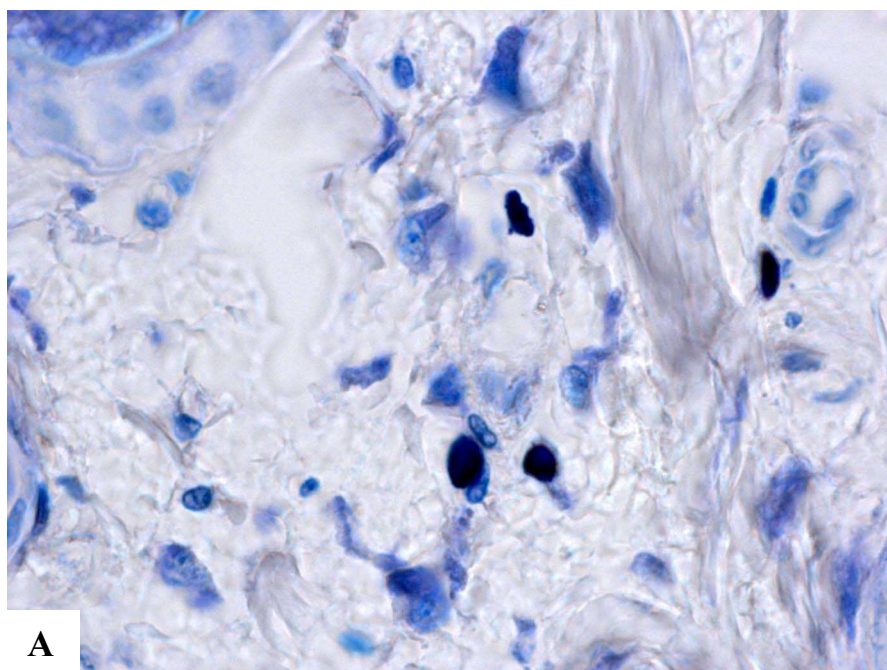


Рис. 61. Тучные клетки в гистологических срезах дермы в дни батифазы (А) и акрофазы (Б) инфрадианного 4-суточного ритма уровня кортикостерона.

А. Цитоплазма тучных клеток плотно заполнена гранулами, вокруг тучных клеток отдельные свободно лежащие гранулы.

Б. Цитоплазма тучных клеток плотно заполнена гранулами, в дерме и вокруг тучных клеток большое количество свободно лежащих гранул.

Окраска толуидиновым синим рН 2.0. Ув. А, Б 1000.

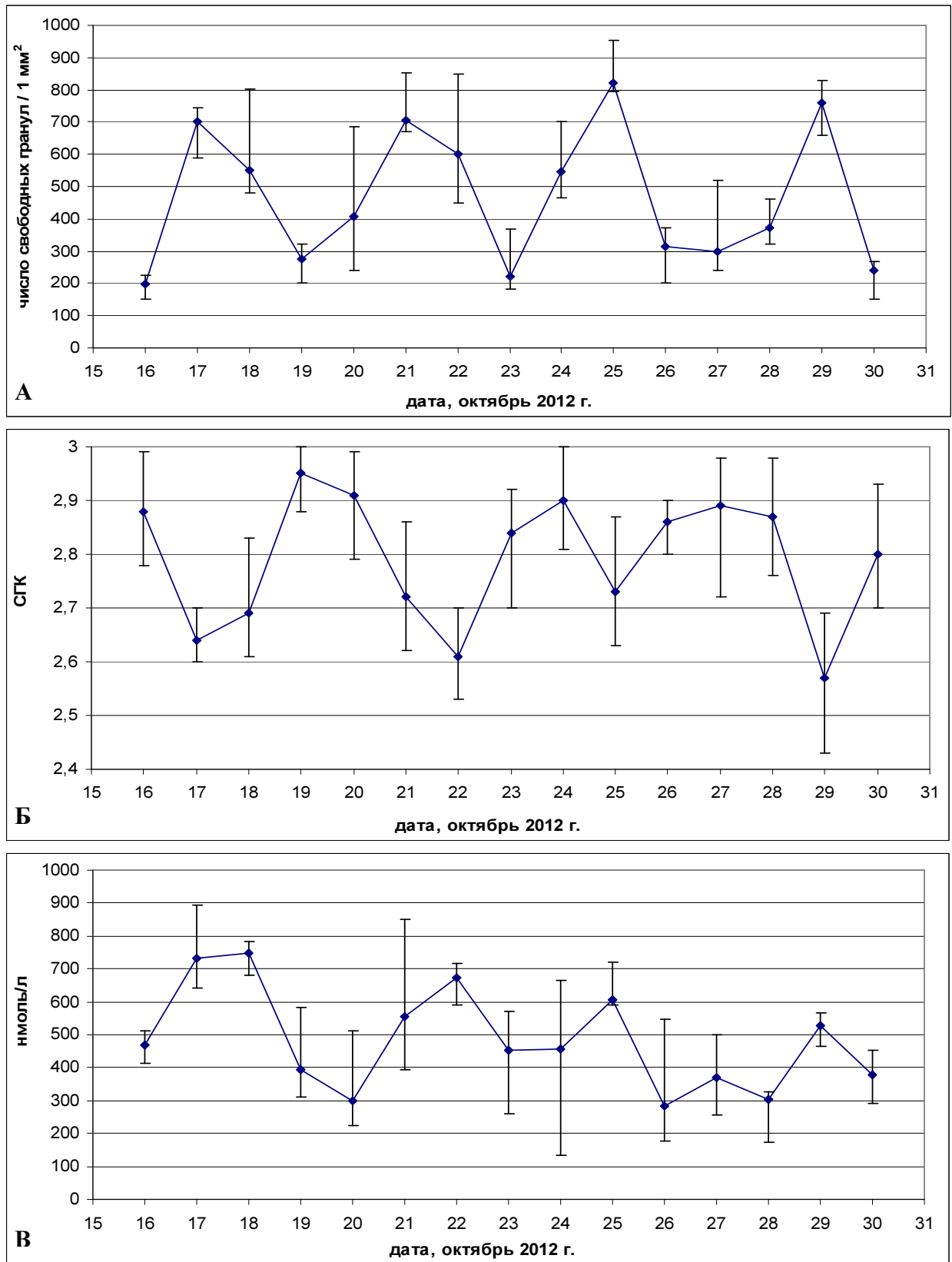


Рис. 62. Динамика числа свободно лежащих гранул (А), и среднего гистохимического коэффициента (Б) тучных клеток и уровня кортикостерона (В) у самцов крыс Вистар в период с 16 по 30 октября 2012 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%). Статистическая значимость различий: А – p16-17=0,009; p17-19=0,01; p19-21=0,008; p21-23=0,001; p23-25=0,0001; p25-27=0,01; p27-29=0,01; Б – p16-17=0,01; p17-19=0,001; p19-21=0,04; p22-24=0,02; p27-29=0,03.

В динамике показателя среднего гистохимического коэффициента также был выявлен 4-суточный период (Рис. 62 Б). Значения этого показателя в акрофазе 2.91 (2.77–2.96) и батифазе 2.62 (2.47–2.69) достоверно значимо различались. Показатель среднего гистохимического коэффициента отрицательно коррелировал с числом свободных гранул ($r=-0.59$, $p=0.02$) и уровнем кортикостерона ($r=-0.68$, $p=0.005$).

Таким образом, в дни, характеризующиеся наибольшим уровнем кортикостерона в сыворотке крови, наблюдается меньшая насыщенность тучных клеток дермы секреторными гранулами и большее число свободно лежащих гранул (Рис. 61), что отражает усиление дегрануляции этих клеток в этот временной период.

Полученные данные указывают на взаимосвязь инфрадианных биоритмов цитофизиологического состояния тучных клеток в дерме и уровня кортикостерона в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар. Установлен 4-суточный инфрадианный ритм показателей среднего гистохимического коэффициента и числа свободно лежащих гранул тучных клеток, на фоне 4-суточного биоритма уровня кортикостерона в сыворотке крови. Между уровнем кортикостерона и средним гистохимическим коэффициентом, отражающим степень насыщенности гранул тучных клеток секретом, выявлена отрицательная корреляционная связь. Показатель числа свободно лежащих гранул тучных клеток в окружающих тканях, отражающий степень их дегрануляции, положительно коррелировал с уровнем кортикостерона.

3.3.7. Взаимосвязь выраженности ЛПС-индуцированного системного воспалительного ответа с инфрадианным биоритмом уровня кортикостерона

С целью моделирования системного воспалительного ответа (СВО) животным внутрибрюшинно вводили ЛПС *E.coli* штамма O26:B6 («Sigma», США) в дозе 1.5 мг/кг, вызывающей, по данным литературы, дистрофические и некротические изменения в печени [Новачадов В.В., Писарев В.Б., 2005]. Животных выводили из эксперимента ежедневно (n=7) с 6 по 17 января 2012 г. передозировкой диэтилового эфира через 24 после введения ЛПС. Выбор сроков забоя определялся тем, что через 1 сут после введения ЛПС развиваются выраженные патологические изменения органов-мишеней – печени и легких [Писарев В.Б. и соавт., 2008].

Для выявления динамики уровня кортикостерона использовали контрольную группу животных (n=14), забор крови у которых проводили ежедневно с 3 по 17 января 2012 г. из хвостовой вены под эфирным наркозом.

В динамике уровня кортикостерона у животных группы контроля наблюдался инфрадианный ритм с периодом 4 сут. Для выявления статистической значимости различий показателей в акрофазе (точка времени в периоде, когда наблюдаются максимальное значение исследуемого параметра) и батифазе (точка времени в периоде, когда наблюдаются минимальное значение исследуемого параметра) был применен метод наложения эпох. С этой целью весь исследуемый временной интервал распределялся на 4-суточные периоды. Значения уровня кортикостерона, зарегистрированные 3, 7, 11 и 15 января, были отнесены к первому дню 4-суточного периода; значения этого показателя 4, 8, 12 и 16 января – ко второму, когда уровень кортикостерона был максимален, что соответствовало акрофазе этого 4-суточного периода; значения этого показателя 5, 9, 13 и 17 января – к третьему; 6, 10 и 14

января – к четвертому, когда уровень кортикостерона был минимален, что соответствовало батифазе (рис. 63, А). Показатели уровня кортикостерона в акрофазе статистически значимо отличались от его значений в батифазе.

При СВО у крыс не удалось выявить инфрадианные ритмы колебаний уровня кортикостерона. Статистически значимых различий между показателями в предполагаемой батифазе (704 (579–807) нмоль/л) и акрофазе (749 (590–867) нмоль/л) не наблюдалось.

Учитывая, что инфрадианный 4-суточный ритм уровня кортикостерона синхронен у разных особей, период и фаза изменения уровня этого гормона должны совпадать у интактных крыс, содержащихся в каждой из клеток. Поэтому для оценки взаимосвязи показателей, определяющих степень проявлений СВО при введении ЛПС с уровнем эндогенного кортикостерона, использовали данные группы контроля.

Выраженность альтеративных изменений в печени и биохимические показатели, характеризующие СВО, варьировали в инфрадианном диапазоне ритмов. Для определения взаимосвязи этих показателей с уровнем кортикостерона, весь исследуемый временной интервал, в который оценивали выраженность альтеративных изменений печени, активность АлАТ, АсАТ и уровень С-реактивного белка, также распределяли на 4-суточные периоды, в зависимости от даты введения ЛПС. Как и в предыдущем случае, суммарные значения этих показателей по группам за 7, 11 и 15 января были соотнесены с первым днем 4-суточного периода уровня кортикостерона, за 8, 12 и 16 января – со вторым, за 9, 13 и 17 января – с третьим, за 6, 10 и 14 января – с четвертым.

Проявления СВО, определяемые по уровню С-реактивного белка в сыворотке крови, были более выражены у крыс, которым ЛПС вводили за сутки до батифазы ритма уровня кортикостерона, выявленной в контрольной группе (рис. 63 Б).

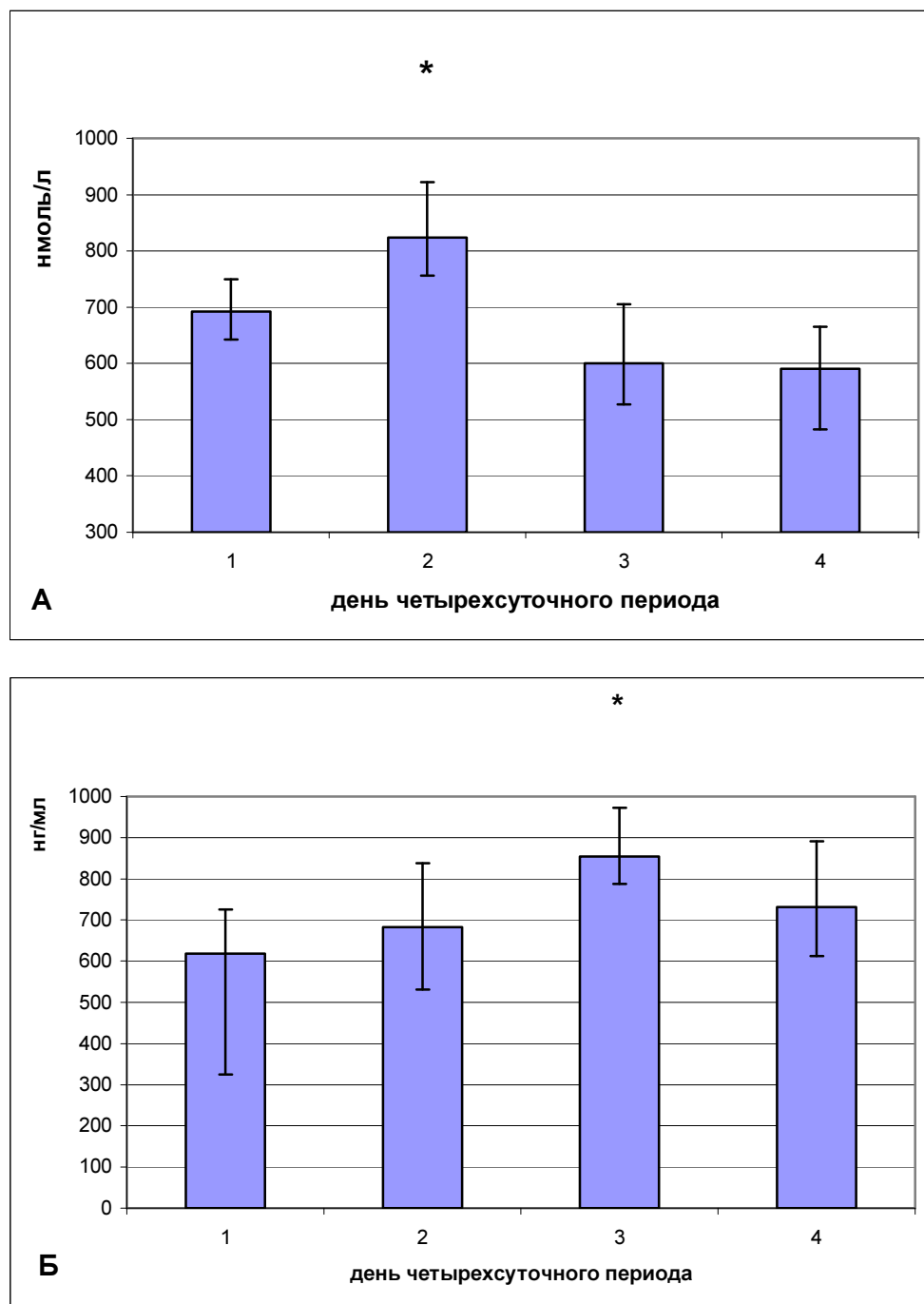


Рис. 63. Распределение значений уровня кортикостерона в сыворотке крови контрольной группы крыс-самцов Вистар (А) и уровня С-реактивного белка через сутки после введения ЛПС (Б) по дням четырехсуточного периода.

Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%).

* - значения показателей в акрофазе статистически значимо различаются по сравнению с показателями в батифазе (А – $p=0,008$; Б – $p=0,03$).

Используя полуколичественный метод оценки выраженности альтеративных – дистрофических и некротических изменений в печени (рис. 64), установлено, что минимальные повреждения наблюдались, при введении ЛПС за сутки до наступления акрофазы ритма уровня кортикостерона, выявленной в контрольной группе, а именно 7, 11 и 15 января (рис. 65, А). И наоборот, после введения ЛПС за сутки до батифазы инфрадианного ритма кортикостерона (9, 13 и 17 января) были выявлены наиболее выраженные изменения. В частности, при введении ЛПС за сутки до акрофазы ритма уровня кортикостерона, в печени были обнаружены различные по выраженности и распространенности дистрофические изменения гепатоцитов, с одновременным выявлением очаговых некрозов у 14% крыс (3 из 22-х). Тогда как при введении ЛПС за сутки до батифазы уровня кортикостерона, в печени наблюдались более выраженные дистрофические изменения гепатоцитов, которые сочетались с очаговыми некрозами у гораздо большего числа особей – 35% (7 из 20-ти).

Уровни активности ферментов АлАТ и АсАТ в сыворотке крови, отражающие повреждение клеток печени, были достоверно более низкими в группе животных, которым ЛПС вводили за сутки до акрофазы ритма уровня кортикостерона по сравнению с показателями, полученными после введения ЛПС за сутки до батифазы (рис. 65 Б). Следует отметить, что максимальные показатели активности АлАТ, АсАТ и уровня С-реактивного белка, свидетельствующие о большей тяжести СВО, наблюдались в дни, когда повреждения печени были максимально выражены.

Таким образом, введение ЛПС самцам крыс Вистар в разные фазы инфрадианного ритма, характеризующиеся различным уровнем кортикостерона в сыворотке крови, приводит к развитию системного воспалительного ответа разной тяжести. Так, введение ЛПС за сутки до батифазы – минимального уровня кортикостерона в сыворотке крови по сравнению с введением за сутки до акрофазы – максимального уровня

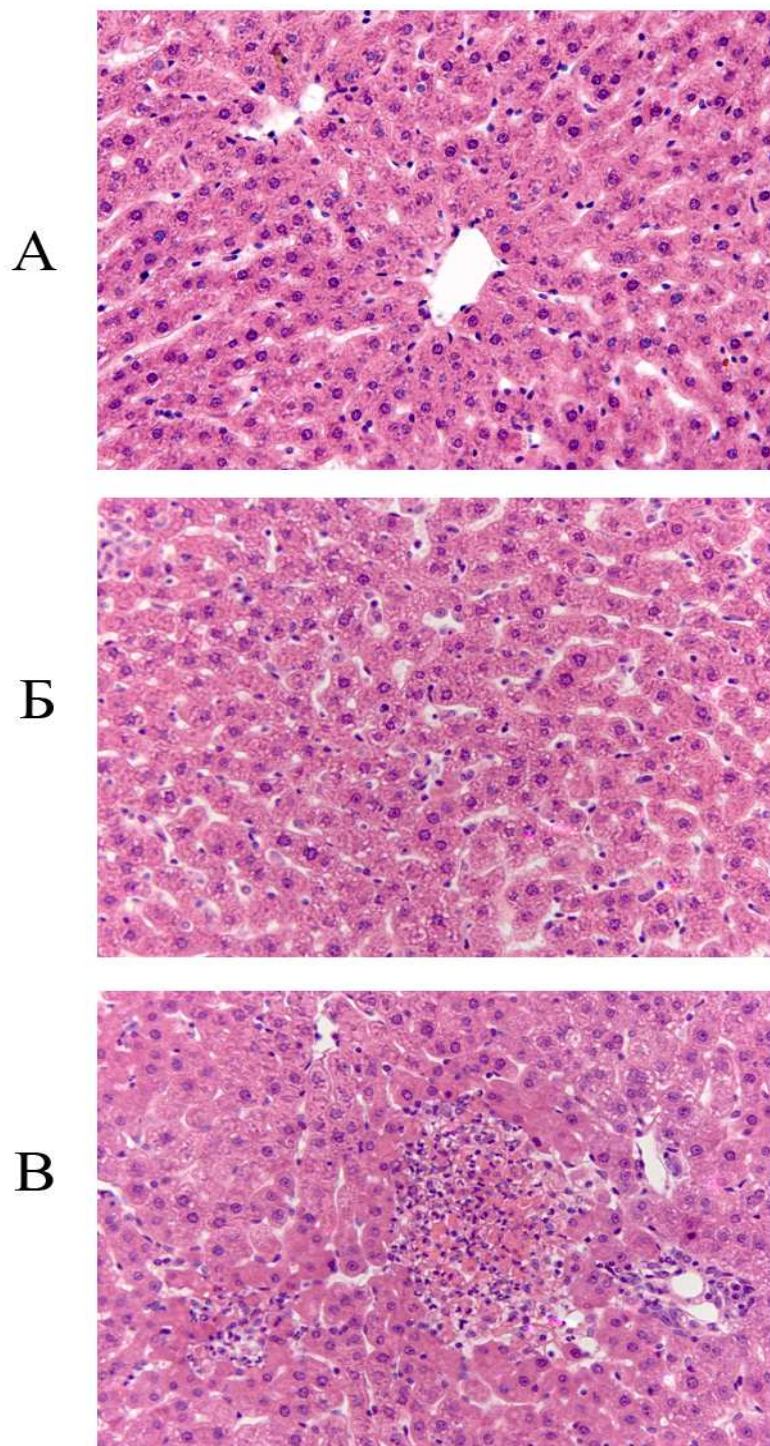


Рис. 64. Морфологические изменения в печени крыс Вистар при системном воспалительном ответе, вызванном введением ЛПС.

А. Контрольная группа. Цитоплазма гепатоцитов с базофильной зернистостью.

Б, В. Через 24 ч после внутрибрюшинного введения ЛПС *E. coli* в дозе 1.5 мг/кг.

Б – Выраженные дистрофические изменения гепатоцитов.

В – Очаговые некрозы, дистрофические изменения гепатоцитов.

А, Б, В – окраска гематоксилином и эозином. Ув. 320.

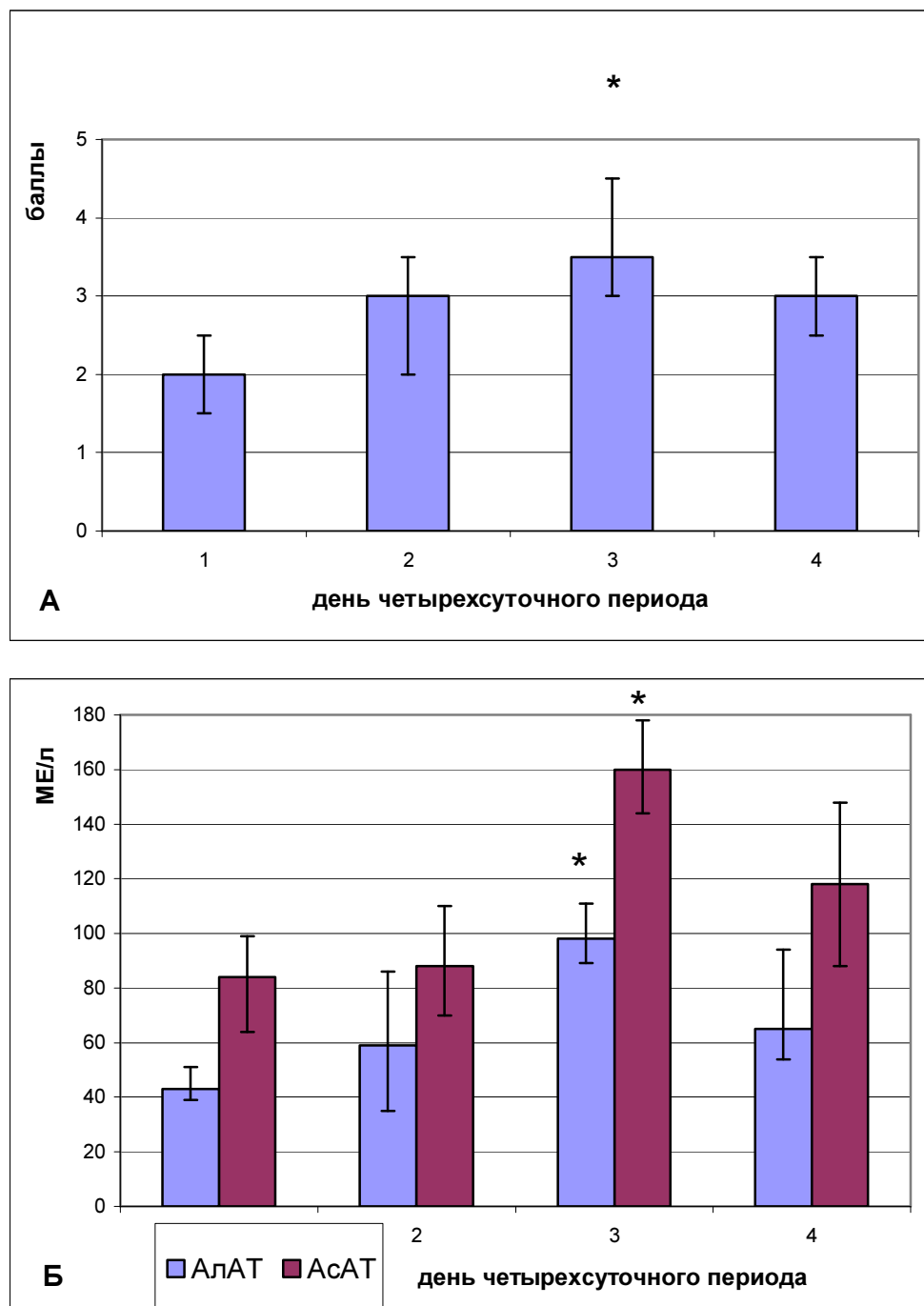


Рис. 65. Распределение показателей Med (25%-75%) выраженности альтеративных изменений печени (А) и уровня активности АлАТ и АсАТ в сыворотке крови крыс-самцов Вистар через сутки после введения ЛПС (Б) по дням четырехсуточного периода.

Представлены медианы и интерквартильный размах (25%–75%)

* - значения показателей в акрофазе статистически значимо различаются по сравнению с показателями в батифазе (А – $p=0,02$; Б – АлАТ $p=0,004$, АсАТ $p=0,002$).

кортикостерона приводит к более выраженному повреждению органа-мишени – печени, о чем свидетельствуют обширные некротические и дистрофические изменения гепатоцитов, увеличение активности ферментов - АлАТ и АсАТ, а также более высокий уровень С-реактивного белка.

Таким образом, выявлены инфрадианные биоритмы морфофункционального состояния иммунной системы по ряду параметров: объемной доли функциональных зон тимуса и селезенки, пролиферативной активности тимоцитов, содержания нейтрофилов, субпопуляционного состава лимфоцитов и уровня цитокинов в периферической крови, индекса дегрануляции тучных клеток. Кроме того, показана зависимость выраженности проявлений СВО от фазы биоритма уровня кортикостерона в крови.

В динамике изменений показателей ширины субкапсулярного слоя тимуса и включения ³Н-тимидина его клетками у самцов крыс Вистар выявляется 4-суточный инфрадианный биоритм, который находится в противофазе с уровнем кортикостерона в сыворотке крови. Динамика уровня мелатонина имеет положительную корреляционную связь с показателями митотической активности клеток тимуса. Изменения общего числа лимфоцитов в тимусе имеет около 6-суточную ритмичность, укладывающуюся в систему 12.175-суточных биоритмов.

Длительное исследование динамики абсолютного количества клеток в суспензии селезенки и уровня кортикостерона в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар позволило более точно установить период инфрадианного биоритма, моделирующего суточные изменения этих показателей, который составил 4.06 суток. Максимальные значения количества клеток в селезенке наблюдались на фоне низкого содержания кортикостерона в сыворотке крови. Выявлена отрицательная корреляционную связь инфрадианного биоритма уровня кортикостерона в

сыворотке крови с динамикой объемной плотности лимфоидных узелков и количества клеток в селезенке.

Показано, что динамика процентного содержания нейтрофилов в периферической крови у самцов крыс Вистар коррелирует с уровнем кортикостерона и имеет 4-суточный инфрадианный биоритм.

В динамике уровня неоптерина и TGF- β 1 сыворотки крови и продукции ИЛ-2, ИЛ-10 и ИФН γ клетками селезенки, активированными конканавалином А, установлена также 4-суточная ритмичность. Продукция ИЛ-2 клетками селезенки, активированными конканавалином А, и уровень TGF- β 1 в сыворотке крови коррелируют отрицательно с концентрацией кортикостерона, а уровень ИЛ-10 – положительно.

Динамика уровня ИЛ-2, рецепторного антагониста ИЛ-1, индекса Тх/Тц и процентного содержания НК-клеток в периферической крови мужчин первого периода зрелого возраста имеет 4-суточный ритм. Изменения процентного содержания НК-клеток в периферической крови были синфазными с инфрадианным биоритмом кортизола, тогда как биоритм уровня ИЛ-2, рецепторного антагониста ИЛ-1, индекса Тх/Тц находились в противофазе по отношению к инфрадианной динамике уровня кортизола. Показано, что продукция цитокинов, индуцированная смесью митогенов в образце периферической крови зависит от уровня кортизола и субпопуляционного состава лимфоцитов в исследуемом образце. Колебания этих показателей обуславливают значительные изменения в балансе провоспалительные/противовоспалительные цитокины, являющемся важным для функциональной оценки активности иммунной системы. В группе испытуемых эти колебания составляли 4 сут и были синхронны у разных индивидов, что позволяет прогнозировать эти изменения.

Установлен 4-суточный инфрадианный ритм показателей среднего гистохимического коэффициента и числа свободнолежащих гранул тучных клеток, связанный с 4-суточным биоритмом уровня кортикостерона в сыворотке крови. В дни, характеризующиеся максимальным уровнем

кортикостерона в сыворотке крови, наблюдается минимальная насыщенность тучных клеток дермы секреторными гранулами и большее число свободнолежащих гранул, отражающее усиление дегрануляции этих клеток. Полученные данные указывают на взаимосвязь инфрадианных биоритмов цитофизиологического состояния тучных клеток в дерме и уровня кортикостерона в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар.

Показано, что введение ЛПС самцам крыс Вистар в разные фазы инфрадианного ритма, характеризующиеся различным уровнем кортикостерона в сыворотке крови, приводит к развитию системного воспалительного ответа разной тяжести. Так, введение ЛПС за сутки до батифазы – минимального уровня кортикостерона в сыворотке крови по сравнению с введением за сутки до акрофазы – максимального уровня кортикостерона приводит к более выраженному повреждению органа-мишени – печени, о чем свидетельствуют обширные некротические и дистрофические изменения гепатоцитов, увеличение активности ферментов - АлАТ и АсАТ, а также более высокий уровень С-реактивного белка.

ГЛАВА 4. Обсуждение результатов исследований

Проблема инфрадианных биоритмов недостаточно изучена. В литературе только в небольшом числе работ констатируется факт существования инфрадианных биоритмов у экспериментальных животных и человека. Анализ литературных данных по длине периодов инфрадианных ритмов указывает, что большинство выявленных ритмичностей концентрируется в диапазонах 3–4, 6–7, 12–14, 21–24 и 28–30 суток. Однако эти исследования фрагментарны, так как оценка инфрадианных биоритмов проводилась в короткие временные интервалы. Работы, посвященные инфрадианным биоритмам, выполнены только на отдельных видах, причем не учитывался возраст и пол. Поэтому вопрос об универсальности инфрадианных биоритмов остается открытым.

Природа инфрадианных биоритмов не ясна. В литературе обсуждается роль эндогенных и экзогенных факторов, участвующих в формировании и синхронизации инфрадианных биоритмов, как на организменном, так и на популяционном уровнях организации.

Все данные об инфрадианных биоритмах получены при изучении только физиологических и биохимических показателей. Работы по структурным изменениям в инфрадианном диапазоне ритмов эндокринной и иммунной системы в сочетании с оценкой функциональных параметров в литературе отсутствуют.

Известно, что в развитии адаптивных процессов и патогенезе различных заболеваний ключевую роль играют интегративные системы организма: нервная, эндокринная и иммунная. Поэтому в настоящей работе оценивали инфрадианные биоритмы по изменению параметров морфофункционального состояния эндокринной и иммунной системы.

Таким образом, целью исследования было изучить динамические морфофункциональные изменения эндокринной и иммунной системы в

инфранианном диапазоне биоритмов у экспериментальных животных и человека

Для доказательства универсальности инфранианных биоритмов в настоящей работе проводили их исследование на животных двух классов – млекопитающих (крысы и человек) и птиц (перепела) разного пола и возраста.

С целью поиска фактора, влияющего на возникновение и синхронизацию инфранианных биоритмов, изучали их в условиях разных режимов светового воздействия: световой депривации и постоянного освещения разной интенсивности. Кроме того, на основании результатов длительного исследования оценивали взаимосвязь биоритмов митотической активности эпителия с колебаниями среднесуточной величины VZ-компоненты межпланетного магнитного поля.

Изучение инфранианных биоритмов эндокринной системы проводили с помощью оценки структурных изменений функциональных зон коры надпочечников, уровня кортикостерона, мелатонина и тестостерона в сыворотке крови. Выбор для исследования динамики уровня мелатонина и кортикостерона определялся в связи с установленной функцией этих гормонов по координации всех систем организма в соответствии с режимом свет : темнота, сон : бодрствование, а также выявленной в ряде работ изменением их продукции в ответ на колебания геомагнитного поля [Jozsa R. et al., 2005; Olah A. et al, 2008]. Исследование уровня тестостерона проводили по причине тесной связи его метаболизма с глюкокортикоидами, а также выраженным действием этого гормона на иммунную систему [Straub R., 2007; Klein S.L., Roberts C.W., 2010].

В ходе настоящей работы установлено, что динамика уровня кортикостерона в популяции половозрелых самцов крыс Вистар во все сезоны года имеет 4-суточный инфранианный биоритм. Другими авторами, в кратковременном исследовании динамики уровня кортикостерона у крыс был выявлен 4.2-суточный биоритм [Jozsa R. et al., 2005]. По нашему

мнению при анализе динамики биологического параметра динамики в коротком временном интервале указывать не кратный суткам период инфрадианного биоритма не корректно. В случае если мы говорим, что ритм уровня кортикостерона имеет 4.2-суточную периодичность, может казаться, что его акрофаза ежедневно сдвигается на более позднее время примерно на 0.05 сут (72 мин), что не подтверждается многочисленными исследованиями, указывающими, что уровень глюкокортикоидных гормонов в крови имеет выраженный суточный ритм с максимальными значениями перед началом активности животного, и в разные дни его акрофаза может лишь отклоняться от среднего на небольшие временные интервалы [Дедов И.И., Дедов В.И., 1992]. Корректнее употреблять термин – инфрадианная модуляция суточных ритмов, что учитывает главенствующее значение суточных ритмов, а модулирующий инфрадианный биоритм действительно может принимать значения не кратные суткам.

По данным хронологического анализа календарных дат, в которые у самцов крыс Вистар выявлены максимальные значения уровня кортикостерона, нами установлен более точный период биоритма этого гормона равный 4.06 сут. Mori K. и соавт. [1985] в динамике уровня экскреции с мочой 17-оксикортикостероидов у мужчин в весенний сезон выявил 3.87-суточный, в летний – 5.16-суточный, в осенний 3.87-суточный, в зимний 3.44-суточный биоритм, тогда как средний период инфрадианного биоритма уровня кортизола составил 4.08 сут. Факт совпадения среднегодового значения периода инфрадианного ритма кортикостерона в сыворотке крови у крыс и кортизола у человека указывает на общность механизмов их формирования, по крайней мере, у млекопитающих.

В своей работе мы не ставили задачу детального изучения зависимости параметров инфрадианных биоритмов от сезона года. Ранее сезонная зависимость была установлена в динамике среднего периода инфрадианного ритма температуры тела у человека, а именно в феврале–

марте он составляет 6.2 сут, а в остальные месяцы – 5.4 сут [Агаджанян Н.А., Шабатура Н.Н., 1989]. Н.А. Темурьянц и соавт. [2012] при исследовании инфрадианных ритмов регенерации планарий и ноцицептивной чувствительности у моллюсков установила, что спектр инфрадианных ритмов в разные сезоны года отличается. Однако существуют и стабильные инфрадианные ритмы, выявляющиеся во все периоды года, так для ноцицептивной чувствительности моллюсков такими являются ритмы с периодом 2.38; 2.76 и 3.95 сут, а для регенерации планарий – 3.20 и 4.57 сут.

Причины расхождения данных полученных нами и рядом других авторов при изучении влияния сезона на период инфрадианных биоритмов может быть объяснен с одной стороны тем, что в этих работах исследовались различные функции организма, с разной выраженностью сезонной периодичности. С другой стороны, в данных работах для установления периода биоритмов был применен метод Фурье-анализа с дальнейшей статистической обработкой с применением косинор-анализа. Результаты, полученные с помощью Фурье-анализа примененного к короткому временному интервалу наблюдений (15–30 сут) могут содержать излишне строгую оценку периода инфрадианного биоритма [Агаджанян Н.А., Шабатура Н.Н., 1989]. При обработке результатов наших исследований на временных интервалах до 30 сут статистическую значимость оценивали только для периодов инфрадианных биоритмов кратных суткам, и только при анализе нескольких таких серий экспериментов на протяжении 1–3 лет мы позволяли себе уточнить периодичность инфрадианных биоритмов до сотых частей суток. Широко известен факт сохранения среднего периода инфрадианных ритмов при довольно вариабельном интервале отдельных циклов [Шабатура Н.Н., 1989]. Метод наложенных эпох, используемый в настоящей работе, позволяет усреднить разброс и оценить статистическую значимость доминирующего периода, однако он не позволяет выявить скрытые от исследователя другие

гармонические составляющие изучаемого процесса [Дещеревский А.В., Лукк А.А., 2002].

Анализ индивидуальной динамики уровня кортикостерона позволил установить, что у 72.7 % (16 из 22) самцов крыс Вистар синхронный 4-суточный биоритм этого показателя, у 13.6 % (3 из 22) акрофаза ритма наблюдается на сутки раньше основной группы, а у остальных 13.6 % (3 из 22) животных статистически значимых изменений исследуемого показателя не наблюдалось. Синхронность инфрадианного биоритма уровня кортикостерона у большей части популяции крыс может указывать не существование внешнего синхронизирующего фактора, природа которого до сих пор не установлена. С этой точки зрения, отмеченное у небольшой части популяции (13.6 %) наступление акрофазы инфрадианного ритма уровня кортикостерона на 1 сут раньше основной группы можно рассматривать как опережение реакции на внешний синхронизирующий фактор у наиболее чувствительных особей. В работе Темурьянц Н.А. и соавт., [1992] было показано, что между группами крыс со средней, высокой и низкой двигательной активностью, определяемой в тесте «открытое поле», имеются различия в параметрах инфрадианных ритмов, что возможно связано с типом нервной системы и, следовательно, разной реакцией на внешние воздействия. П.Е. Григорьев и В.С. Мартынюк [2003] для установления инфрадианных биоритмов на популяционном уровне отбирали в тесте «открытое поле» крыс со средней двигательной активностью, преобладающих по численности (до 80 %) над животными с высокой и низкой двигательной активностью. Такой подход позволил снизить индивидуальный разброс параметров инфрадианных биоритмов.

Инфрадианный 4-суточный ритм уровня кортикостерона выявлен как при анализе проб крови полученных ежедневно от разных животных, что позволяло избежать состояния хронического стресса животного, связанного с процедурой забора крови, так и при ежедневном заборе крови у одних и тех же особей при кратковременной иммобилизации. Таким образом,

стрессовая ситуация, связанная с кратковременной иммобилизацией и забором крови не отразилась на параметрах инфрадианного ритма уровня кортикостерона у самцов крыс Вистар. После 8-х сут ежедневного забора крови с применением эфирного наркоза наблюдается исчезновение инфрадианного ритма уровня кортикостерона. Таким образом, хронический стресс-фактор, которым в данном случае является ежедневный эфирный наркоз, приводит к потере инфрадианной ритмичности уровня кортикостерона. Следует отметить, что в первые 8 сут ежедневного применения эфирного наркоза, когда амплитуда колебаний уровня кортикостерона еще высока, период и фаза инфрадианного биоритма этого гормона не изменяется. Известно, что эфирный наркоз является сильным стрессорным фактором, угнетающим также и суточную ритмичность глюкокортикоидных гормонов [Деряпа Н.Р. и соавт., 1985]. В ряде работ показано, что при многих патологических состояниях и хроническом стрессе наблюдается снижение амплитуды суточных ритмов физиологических параметров [Хетагурова Л.Г. и соавт., 2004].

В динамике уровня мелатонина в сыворотке крови у самцов крыс Вистар выявлен также 4-суточный инфрадианный биоритм, находящийся в противофазе с 4-суточным ритмом уровня кортикостерона. Известно, что мелатонин оказывает ингибирующее влияние на синтез глюкокортикоидных гормонов [Перцов С.С.. 2011]. Снижение уровня мелатонина может приводить к увеличению уровня кортикостерона. Таким образом, возможно ведущим фактором в формировании 4-суточного инфрадианного ритма уровня кортикостерона является аналогичная ритмичность продукции эпифизом мелатонина.

Во всех сериях исследования проведенных нами в разные сезоны года в динамике уровня тестостерона у самцов крыс Вистар установлена 4-суточная ритмичность. Максимальные значения уровня тестостерона наблюдались в дни акрофаз биоритма кортикостерона и батифаз уровня

мелатонина, что согласуется с данными литературы о ингибирующем действии мелатонина на синтез тестостерона [Reiter R.J. et al., 2014].

При анализе фаз инфрадианного ритма уровня тестостерона у самцов крыс Вистар были выделены две группы: первая с выраженными (более 30%) и вторая невыраженными изменениями (менее 30 %) уровня тестостерона. При сравнительной оценке показателей уровня тестостерона в дни батифазы инфрадианного ритма этого гормона разница между этими группами была статистически не значима ($p > 0.05$), тогда как в дни акрофазы различия показателей были достоверными ($p < 0.05$). Полученные результаты по индивидуальным инфрадианным ритмам уровня тестостерона следует учитывать, например, при более точной оценке состояний гипо и гиперандрогенемии у экспериментальных животных и человека.

Во всех проведенных экспериментах максимальный уровень тестостерона у самцов крыс в вечернее время соответствовал дню, в который наблюдалось максимальное число самок крыс, находящихся в стадии эструса [Диатроптов М.Е., 2011]. Необходимо отметить, что самцы содержались изолированно от самок, и работа с самцами и самками выполнялась разными исследователями, которые в период проведения эксперимента не имели прямого контакта. Объяснить факт синхронизации динамики уровня тестостерона и эстрального цикла между отдельно содержащимися особями разного пола можно только существованием внешнего синхронизатора. Эстральные циклы самок лабораторных крыс имеют в норме 4 сут периодичность [Бессалова Е.Ю., Королев В.А., 2007]. По данным литературы, в условиях совместного содержания грызунов наблюдается синхронизация фаз эстральных циклов [Шорт Р.В., 1987]. Синхронизация половой активности у грызунов биологически целесообразна. Особи в стадии течки в связи с изменением поведения наиболее уязвимы для хищников, поэтому минимизировать потери членов популяции можно путем проявления этого состояния одновременно у

большого числа особей. Кроме того, синхронизация половой активности между самками и самцами обеспечивает максимальную вероятность копуляции.

В настоящей работе установлено, что структурно-функциональные изменения ширины зон коры надпочечника у самцов крыс Вистар имеют 4-суточную периодичность и сопряжены с динамикой уровня кортикостерона и тестостерона. Показатели ширины клубочковой и сетчатой зон имеют максимальные значения в одни и те же календарные даты, а пучковой – на сутки позже. Максимальные значения толщины сетчатой зоны коры надпочечников предшествуют акрофазе в динамике уровня тестостерона, в то время как максимальные значения толщины пучковой зоны и уровня кортикостерона в сыворотке крови совпадали. Вероятно, это объясняется тем, что адренокортикоциты пучковой зоны коры надпочечников секретируют полностью сформированный гормон – кортикостерон, тогда как адренокортикоциты сетчатой зоны продуцируют предшественник тестостерона – дегидроэпиандростерон, который с участием 17β -гидроксистероиддегидрогеназы, локализованной преимущественно в семенниках, преобразуется в тестостерон. Логично предположить, что расширение сетчатой зоны надпочечника, отражающее повышение синтеза дегидроэпиандростендиола, наблюдается перед максимальными значениями уровня тестостерона в крови, что и показано в настоящем исследовании.

Увеличение ширины функциональных зон надпочечника в акрофазе, вероятно связано с гипертрофией адренокортикоцитов за счет накопления специфического для каждой зоны секрета. М.К. Пугачев [1996] исследовал динамику окологасового биоритма морфофункционального состояния коркового вещества надпочечников у крыс и выделил три фазы. Первая фаза - фаза накопления липидов в адренокортикоцитах, связана с увеличением размеров этих клеток и, соответственно, с увеличением ширины функциональных зон. В следующую фазу – фазу делипоидизации,

липиды расходуются на синтез кортикостероидов, при этом размеры эндокриноцитов уменьшаются, соответственно уменьшается ширина функциональных зон. Далее, в последней фазе – фазе покоя, содержание липидов и размеры адренокортикоцитов не изменяются, по сравнению с предыдущей фазой. Очевидно, динамика инфрадианных биоритмов морфофункциональных изменений коркового вещества надпочечников, установленная в нашем исследовании, также связана с накоплением и расходом липидов, используемых в адренокортикоцитах для синтеза кортикостероидов.

В динамике уровня кортизола и тестостерона у мужчин первого периода зрелого возраста в разные сезоны года установлен 4-суточный ритм. Максимальные значения уровня кортизола и тестостерона наблюдаются в одни и те же календарные даты. По амплитуде эти колебания составляют около 30–40 %, что важно учитывать в экспериментальных исследованиях, диагностике и терапии различных заболеваний.

Сходные периодичности в динамике уровня кортизола и тестостерона установлены другими авторами. И.В. Ермаковой [2002] обнаружена 3–4-суточная периодичность изменения уровня кортизола в слюне первоклассников, адаптирующихся к обучению в школе. Т.С. Пронина [1992] указывает на 3.5–4.5-суточные колебания уровня тестостерона в слюне у мальчиков и юношей в возрасте 4–28 лет. С. Maschke и соавт. [2003], исследовавшие на протяжении 40 дней инфрадианные ритмы ночной экскреции катехоламинов и стероидов с мочой у лиц, подвергавшихся воздействию шума самолетов, выявили около 4.2-суточные колебания уровня адреналина и норадреналина, и около 4.7-суточные периодические изменения уровня свободного кортизола.

В наших исследованиях в динамике уровня кортизола в сыворотке крови у женщин репродуктивного возраста в фолликулярную фазу овариально-менструального цикла была выявлена также 4-суточная

периодичность, что указывает на отсутствие половых различий длины периода инфрадианного ритма уровня кортизола.

Таким образом, 4-суточный биоритм в динамике уровня глюкокортикоидных гормонов выявлен не только у половозрелых самцов крыс Вистар, самки которых в норме имеют 4-суточный эстральный цикл, но и у людей обоего пола. Эти данные указывают на универсальный характер выявленного инфрадианного биоритма уровня глюкокортикоидов у млекопитающих.

Синхронность ритмических изменений уровня стероидных гормонов у подавляющего большинства индивидов указывает, по нашему мнению, на внешнюю природу фактора, синхронизирующего инфрадианные биоритмы.

Индивидуальные различия инфрадианных биоритмов уровня кортизола и тестостерона проявляются у некоторых мужчин в двукратном увеличении периода (8 сут) или смещением фазы на 1 сут назад. По данным литературы биологическим системам свойственна кратность ритмов, в частности удвоение периода физиологической функции, позволяющее ей оставаться согласованной с другими физиологическими ритмами организма [Комаров Ф.И., Рапопорт С.И., 2000]. Наблюдающееся у части мужчин, как и у самцов крыс Вистар, смещение фазы инфрадианного ритма на 1 сут назад, возможно объясняется повышенной чувствительностью этих индивидов к фактору, синхронизирующему инфрадианные биоритмы этих гормонов.

Хронологический анализ фаз уровня глюкокортикоидных гормонов и тестостерона в разные сезоны года на протяжении длительных временных интервалов у самцов крыс Вистар и мужчин репродуктивного возраста установил, что каждые 68–72 сут акрофаза 4-суточного биоритма этих гормонов смещается на 1 сут вперед и в разные годы максимальные значения уровня этих гормонов наблюдаются в одни и те же календарные даты (с учетом високосности), что позволило с помощью метода наложенных эпох уточнить период инфрадианного биоритма до 4.06 суток.

Таким образом, можно утверждать, что инфрадианная модуляция суточных биоритмов уровня стероидных гормонов осуществляется с 4.06-суточной периодичностью.

Митотическая активность эпителия является интегративным показателем, поскольку она зависит от воздействия на организм комплекса внешних и внутренних факторов. Пролиферативная активность тканей регулируется нервной, эндокринной и иммунной системами и определяется их функциональным состоянием [Бабаева А.Г., 2009]. Изменения митотического режима наблюдаются при повреждении тканей, нарушении психо-эмоционального состояния, двигательной активности, несбалансированном питании, гипер- и гиповитаминозах и др. [Алов А.И., 1964]. Процессы деления и дифференцировки клеток любой ткани взаимосвязаны и находятся в равновесии, и этот баланс периодически сдвигается то в сторону деления, то в сторону дифференцировки клеток. Важным регулятором этого равновесия являются глюкокортикоидные гормоны, которые усиливают дифференцировку клеток и одновременно подавляют их способность к делению [Алов А.И., 1964; Романов Ю.А. и соавт., 2002]. Поэтому исследование динамики изменения показателя митотического индекса может использоваться для объективизации инфрадианных биоритмов.

Суточные ритмы митотической активности эпителиальных тканей детально изучены. В роговице глаза и пищеводе максимальный митотический индекс у крыс, так же как и у других ночных видов животных, регистрируется около 8 часов утра [Кудрявцева А.С., 1972; Кузин С.М., Романов Ю.А., 1979]. Установлены и ультрадианные (период менее 20 часов) ритмы митотической активности эпителия языка, пищевода, крипт тощей кишки, а также клеток тимуса [Романов Ю.А. и соавт., 2002].

В работе Ю.А. Романова и соавт. [1996] показано, что при инверсии светового режима ритм митотической активности также изменяется и приходится на конец темного – начало светового периода. Эти изменения,

по-видимому, обусловлены действием глюкокортикоидных гормонов, ритм которых изменяется в первую очередь в зависимости от режима свет - темнота [Jozsa R. et al., 2005]. Очевидно, глюкокортикоидные гормоны являются одним из синхронизаторов митотической активности клеток в организме. Однако, инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия и их связь с уровнем глюкокортикоидов не изучены.

Наше исследование динамики митотической активности эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар установило 4- и 12-суточные биоритмы этого показателя. В отличие от эпителия пищевода, митотическая активность эпителия роговицы характеризовалась только 12-суточной периодичностью. Значения митотического индекса отрицательно коррелировали с уровнем кортикостерона, смещенным на сутки вперед. День с максимальным уровнем кортикостерона предшествовал дню с минимальным митотическим индексом. Глюкокортикоидные гормоны контролируют пролиферацию и апоптоз клеток. Известны механизмы антипролиферативного действия глюкокортикоидных гормонов как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне [Almawi W.Y. et al., 2002]. Они ингибируют активацию пролиферативных транскрипционных факторов (nuclear factor κ B (NF- κ B), activating protein – 1 (AP-1)) и угнетают процессы роста и деления клеток [Roumestan C. et al., 2004]. В работе Н. Schell и соавт. [1980] показано, что пролиферативная активность клеток эпидермиса кожи у человека отрицательно коррелирует с уровнем кортизола в плазме крови с 6-часовой задержкой.

Необходимо отметить, что в нашей работе инфрадианные ритмы митотической активности эпителия выявлены у крыс Вистар на популяционном уровне. С этой целью из эксперимента выводили ежедневно по 5–8 животных. Наличие 4- и 12-суточных ритмов митотической активности эпителия в популяции животных предполагает существование индивидуальных биоритмов соответственно синхронно проявляющихся у большинства особей.

Исследования, посвященные изучению инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия, ограничиваются несколькими работами. Т.Н. Tsai и соавт. [1989] установили околонедельную периодичность динамики митотического индекса эпителия роговицы у самцов и самок крыс линии Хольцман. При оценке митотического индекса эпителия роговицы у самок крыс линии Левис была выявлена около 5-суточная периодичность изменения показателей этого параметра [Tsai T.H. et al., 1987]. С. Focan и соавт. [1995] выявили у мышей в динамике митотической активности клеток саркомы около 3.5-суточную периодичность, которая, по мнению авторов, определяется биоритмами организма и, в частности, уровнем глюкокортикоидных гормонов. Выявленная авторами разная длительность инфрадианных биоритмов может быть связано с тем, что исследования выполнены в короткие временные интервалы, и выявить средний статистически значимый период невозможно.

В нашем исследовании был установлен факт синхронного проявления 4.06- и 12.175-суточных инфрадианных биоритмов у большинства членов популяции, что позволяет прогнозировать даты минимальных и максимальных значений митотического индекса и уровня глюкокортикоидных гормонов. Однако для этого необходимы исследования, направленные на выяснение механизмов формирования инфрадианных биоритмов.

Факторы, влияющие на формирование инфрадианных биоритмов, до настоящего времени мало исследованы. В пользу экзогенной гипотезы возникновения инфрадианных ритмов, основная роль в которой отводится внешним факторам, свидетельствует соответствие периодов известных биоритмов ритмическим вариациям гелиогеофизических процессов: активности Солнца, секторной структуры межпланетного магнитного поля, электромагнитного поля Земли и др. [Владимирский Б.М. и соавт., 1995; Мартынюк В.С. и соавт., 2009; Темурьянц Н.А. и соавт., 2012; Jozsa R. et al. 2005]. В ряде работ показано, что при воздействии на организм

электромагнитным полем изменяются параметры инфрадианных биоритмов физиологических процессов. Так при ежедневном воздействии в течение нескольких часов слабого переменного магнитного поля индукцией 50 нТл и частотой 8 Гц у крыс изменяются параметры инфрадианных ритмов симпатoadреналовой системы, локомоторной активности, функционального состояния нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови [Мартынюк В.С. и соавт., 2006]. Еще одним аргументом в пользу экзогенного происхождения инфрадианных ритмов является наличие их как у отдельных индивидуумов, так и в группе животных в целом [Агаджанян Н.А., Шабатура Н.Н., 1989; Диатроптов М.Е., Макарова О.В., 2014]. С точки зрения гипотезы экзогенных механизмов формирования инфрадианного диапазона биологических ритмов, они, очевидно, имеют адаптивный характер, также как суточные и сезонные биоритмы.

Эндогенная гипотеза предполагает, что формирование инфрадианных ритмов осуществляется за счет отрицательных обратных связей в системе нейроэндокринной регуляции, а также фазовых изменений циркадианных колебаний ее различных звеньев. Так если предположить, что в организме существуют взаимосвязанные циркадианные осцилляторы с разницей периодов 80 или 160 мин, то они могут приводить к появлению ритмов с периодом 8 и 4 сут, соответственно [Халберг Ф., 1964]. Эндогенные механизмы инфрадианных биоритмов подтверждаются фактами наличия индивидуальных и сезонных различий в параметрах этих биоритмов [Темурьянц Н.А. и соавт., 2012].

По мнению ряда исследователей инфрадианные ритмы – эндогенные эволюционно закрепленные на генетическом уровне осцилляторы, сформированные для прогностического опережения процесса адаптации к неблагоприятным факторам и выполняющие в организме системообразующую функцию [Рагульская М.В., Чибисов С.М., 2011]. На организменном и популяционном уровнях синхронизация эндогенных инфрадианных биоритмов осуществляется за счет периодических

изменений геофизических параметров [Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А., 2009].

Взаимосвязь инфрадианных и циркадианных ритмов не установлена, и не известно имеют ли инфрадианные биоритмы самостоятельный механизм формирования, или же они связаны с циркадианной системой организма. Механизмы формирования инфрадианных биоритмов могут быть связаны с уровнем глюкокортикоидов и мелатонина, являющимися основными гормонами, отвечающими за адаптивные реакции организма к периодическим изменениям внешних условий среды [Ашофф Ю., 1984; Анисимов В.Н., 2007]. Эти гормоны обуславливают согласование жизнедеятельности организма с сезонными и суточным ритмами освещения. Повышение уровня кортикостерона в крови наблюдается непосредственно перед началом активности: у видов с дневной формой активности максимальные значения уровня кортикостерона регистрируются в ранние утренние, а у ночных животных – в вечерние часы. Уровень мелатонина, вырабатываемого эпифизом, также имеет выраженный суточный биоритм с максимальными значениями в ночные часы. В работе Н.А. Темурьянц и А.В. Шехоткина [1999] показано, что после эпифизэктомии у крыс наблюдается изменение фазы, но не периодов инфрадианных биоритмов физиологических показателей, что указывает на участие эпифиза в синхронизации биоритмов в широком диапазоне периодов, включая не только циркадианные и сезонные, но и инфрадианные. Взаимосвязь циркадианных и инфрадианных биоритмов можно установить при исследовании инфрадианных биоритмов в условиях постоянного освещения и темноты, в которых циркадианные биоритмы приобретают характер «свободнотекущих» с периодом отличным от 24 ч.

В ходе поставленных нами экспериментов было установлено, что инфрадианный биоритм митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар, рожденных и содержавшихся в условиях световой депривации, совпадает по периоду и фазе с таковым у крыс, находившихся

при естественном режиме освещения. Полученные данные указывают на то, что формирование инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия не является результатом взаимодействия внутренних ультрадианных и циркадианных биоритмов организма с внешним 24-часовым световым циклом. По-видимому, внешним синхронизирующим биоритмы фактором может быть не только режим освещения, а, к примеру, электромагнитное поле Земли, колеблющееся с 24-часовой периодичностью [Дубров А.П., 1974; Владимирский Б.М. и соавт. 2004].

По нашим данным содержание самцов крыс Вистар с рождения в условиях яркого постоянного освещения, ингибирующего выработку мелатонина и являющегося для животных стресс-фактором, обуславливает снижение среднего значения митотического индекса эпителия пищевода и амплитуды 4-суточного инфрадианного биоритма этого показателя. По литературным данным условия яркого постоянного белого освещения вызывают исчезновение у половозрелых крыс циркадианной периодичности, как в динамике локомоторной активности, так и показателях, характеризующих функциональное состояние кардиореспираторной системы, и приводят к появлению 8-и и 12-часовых ультрадианных биоритмов [Шабатура Н.Н., 1989].

В условиях постоянного неяркого освещения у половозрелых самцов крыс Вистар циркадианный ритм локомоторной активности сохраняется и имеет характер «свободнотекущего», с периодом около 25 ч. Этот факт согласуется с литературными данными, указывающими на то, что в условиях постоянного освещения у ночных животных период циркадианного ритма физиологических показателей увеличивается и составляет более 24 ч [Ашофф Ю., 1984]. В нашей работе исследование динамики митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар, проведенное при рассогласовании циркадианных биоритмов локомоторной активности на 1, 2 и 3-е сут между животными, содержащимися в условиях постоянного неяркого освещения, имевших

«свободнотекущий» циркадианный биоритм и крысами, содержащимися при естественном 24-часовом режиме освещения, выявило в указанные периоды совпадение фазы 4-суточного инфрадианного биоритма митотической активности эпителия пищевода. Выявленный факт, по нашему мнению, указывает на определенную автономность инфрадианных и циркадианных биоритмов. В случае формирования инфрадианного биоритма в рамках циркадианной системы организма, у животных этих групп ожидалось бы расхождение фазы 4-суточного ритма митотической активности эпителия. В случае рассогласования на 2 сут циркадианного ритма локомоторной активности у животных опытной группы с суточным ритмом у крыс контрольной группы 4-суточный инфрадианный биоритм митотической активности эпителия пищевода находился бы в противофазе. На самом деле, в этот период времени 4-суточный инфрадианный биоритм митотического индекса эпителия в опытной и контрольной группах совпадал по фазе.

Одна из гипотез механизма формирования инфрадианных биоритмов объясняет их возникновение как результат наложения ультрадианных и циркадианных биоритмов [Агаджанян Н.А., Шабатура Н.Н., 1989]. В этом случае при содержании животных в условиях постоянного освещения, приводящих к изменению суточного 24-часового на «свободнотекущий» около 25-часовой циркадианный биоритм, привело бы к изменению периода инфрадианного биоритма. Однако, в настоящем исследовании у крыс в условиях постоянного освещения 4-суточный период инфрадианного биоритма митотической активности эпителия пищевода сохраняется на протяжении 70 дней.

Ранее нами у половозрелых самцов крыс Вистар, содержащихся в условиях естественного освещения, в тесте «открытое поле» установлен 4-суточный ритм локомоторной активности. Максимальные значения локомоторной активности наблюдались в акрофазах 4-суточного биоритма уровня кортикостерона [Диатроптов М.Е., Кондашевская М.В., 2012].

Эффекты кортикостерона, проявляющиеся увеличением уровня локомоторной активности и снижением митотического индекса, широко известны. Так акрофазы уровня кортикостерона в крови и двигательной активности совпадают по времени и с батифазой уровня митотической активности эпителиальных тканей. В нашем исследовании показана отрицательная корреляционная связь между показателями локомоторной активности и митотического индекса эпителия пищевода у животных, содержащихся в условиях постоянного освещения. Таким образом, можно предположить, что в условиях постоянного освещения 4-суточный инфрадианный биоритм уровня кортикостерона сохраняется.

Таким образом, отсутствие светового синхронизирующего сигнала с 24-часовой периодичностью не влияет на проявление инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия. Вероятно, в качестве синхронизатора инфрадианных биоритмов митотической активности выступает не свет, а иной внешний фактор.

С целью выявления универсального характера инфрадианных биоритмов нами было проведено исследование динамики митотической активности эпителия пищевода у японских перепелов с одновременной регистрацией уровня кортикостерона и тироксина. Класс птиц эволюционно разошелся с классом млекопитающих около 310 млн лет назад [Kumar S., Hedges S.B., 1998], однако они имеют сходные с млекопитающими физиологические механизмы эндокринной регуляции.

Динамика митотической активности эпителия пищевода и кортикостерона в сыворотке крови у самцов японского перепела имела 4-суточную периодичность. Между показателями митотического индекса и уровня кортикостерона выявлена отрицательная корреляционная связь. Необходимо напомнить, что забор крови для анализа уровня кортикостерона проводили в утренние часы (8 ч) у отдельной группы птиц, а выведение животных из эксперимента в вечерние (21 ч). Выбор таких сроков обусловлен максимальными значениями исследованных параметров

в данное время суток [Horseman N.D., Nollin L.J., 1985; Jong I.C. et al., 2001; Henshaw I. et al., 2009].

Известно, что глюкокортикоидные гормоны оказывают системные эффекты, в том числе они влияют на пролиферативную активность эпителиальных тканей, усиливая процессы дифференцировки клеток и одновременно подавляя их способность к делению. В работе, проведенной на мышах, показано, что на фоне повышенного уровня кортикостерона наблюдается снижение митотической активности эпителия пищевода и роговицы [Scheving L.E. et al., 1983].

В динамике уровня тироксина выявлен 3-суточный инфрадианный биоритм синхронный у разных особей. Гормоны щитовидной железы также участвуют в синхронизации ритмов пролиферации клеток, стимулируя клеточные деления [Романов Ю.А., Блохина А.Н., 1971]. При воздействиях, приводящих к повышению функциональной активности щитовидной железы, у экспериментальных животных наблюдалось значительное (2-кратное) увеличение пролиферации эпителия в различных органах [Алов А.И., 1964]. В нашем исследовании наиболее выраженные максимумы пролиферативной активности 28 июля и 9 августа 2012 г. можно объяснить различиями динамики уровня глюкокортикоидных и тиреоидных гормонов. В эти дни отмечался низкий уровень кортикостерона на фоне предшествующего высокого уровня тироксина.

Таким образом, нами было установлено, что 4-суточный биоритм митотической активности эпителия выявляется как в популяции крыс Вистар, так и японских перепелов. С целью установления фазового соответствия инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия у крыс и перепелов двух возрастных групп было проведено одновременное исследование митотического индекса у этих видов животных. Самцов крыс Вистар выводили из эксперимента в 8 ч, а перепелов в 21 ч, когда митотический индекс эпителия пищевода имеет максимальные суточные значения [Кудрявцева А.С. 1972; Horseman N.D., Nollin L.J., 1985]. Было

установлено, что инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия пищевода у крыс и перепелов синхронны, однако они имеют возрастные особенности. В динамике митотического индекса у животных более раннего возрастного периода (возраст 1.5–2.5 мес) выявляется 4-суточный биоритм. В более поздний возрастной период у самцов крыс Вистар (возраст 3–5 мес) в динамике митотического индекса эпителия пищевода установлены 4- и 12-суточные биоритмы, а у японских перепелов (возраст 4–6 мес) – только 12-суточный биоритм. Т.е. в старшей возрастной группе как у крыс Вистар, так и у японских перепелов выявляются более длинные периоды инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия. Этот факт можно объяснить разной чувствительностью организма в зависимости от возраста к внешним синхронизирующим факторам. Так, у крыс чувствительность эпифиза к электромагнитным полям с возрастом снижается [Рапопорт С.И., Голиченков В.А., 2009; Selmaoui B., Touitou Y., 1999]. Известно, что с увеличением периода ритма большинства гелиогеофизических факторов увеличивается и их амплитуда [Владимирский Б.М. и соавт., 1995]. Таким образом, в более старшем возрасте чувствительность организма, возможно, сохраняется только к синхронизирующим внешним воздействиям, имеющим больший период. Выявленные возрастные изменения периода инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия могут быть обусловлены тем, что в молодом возрасте функциональное состояние гомеостатических систем – оптимальное и ответ организма на воздействие факторов внешней среды осуществляется без включения в механизмы адаптации каких-либо дополнительных звеньев [Баевский Р.М., 1979]. В более поздние возрастные периоды возможности адаптации ограничиваются и функциональное состояние организма характеризуется относительной неустойчивостью, возможно поэтому, кратковременные инфрадианные биоритмы нивелируются.

Выявление половых особенностей инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия у самок целесообразно проводить на видах, у которых овуляция происходит ежедневно (в частности к такому виду относится японский перепел). Этот прием позволяет исключить влияние на инфрадианные биоритмы эстрального цикла животного, фазы которого характеризуются разным уровнем стероидных гормонов [Шорт Р.В., 1987].

В ходе одновременного исследования динамики митотического индекса эпителия пищевода у самцов и самок японского перепела в возрасте 4–6 мес было установлена синхронность проявления инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия. Таким образом, период инфрадианного биоритма митотической активности эпителия пищевода у перепелов не зависит от пола.

Распределение методом наложения эпох всех полученных на протяжении длительных временных интервалов в течение 3-х лет значений митотического индекса эпителия пищевода у самцов крыс Вистар позволило более точно установить периоды инфрадианных биоритмов этого показателя, а именно их 4.06- и 12.175-суточные периодичности проявления, которые, очевидно, обусловлены воздействием внешних синхронизирующих факторов.

Синхронность инфрадианных ритмов уровня глюкокортикоидных гормонов и митотической активности эпителия пищевода, установленная нами у разных особей одного вида и у разных классов живых организмов (с учетом формы суточной активности), указывает на внешнюю природу синхронизирующего фактора.

Одним из наиболее существенных внешних факторов, синхронизирующих инфрадианные биоритмы, по мнению ряда исследователей, являются естественные электромагнитные поля [Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А., 2009]. При экспериментальном воздействии электромагнитным полем частотой 50 Гц и магнитной

индукцией 100 мкТл у самцов крыс Вистар выявлено снижение продукции мелатонина эпифизом и уровня этого гормона в сыворотке крови [Selmaoui B., Touitou Y., 1999]. Воздействие электромагнитным полем с интенсивностью выше естественных фоновых значений вызывает десинхронизацию биологических ритмов, в том числе в инфранианном диапазоне периодов [Мартынюк В.С. и соавт., 2006]. При естественных геомагнитных бурях, сопровождающихся изменением магнитной индукции в 100-200 нТл, также наблюдается снижение уровня мелатонина, как у животных, так и у человека [Weydah A. et al., 2001]. Показано, что у крыс геомагнитные бури вызывают снижение выработки мелатонина в эпифизе, увеличение его содержания в гипоталамусе, а также увеличение разброса по группе показателей уровня кортикостерона в сыворотке крови [Jozsa R. et al., 2005]. Снижение уровня мелатонина обуславливает активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что приводит к увеличению уровня кортикостерона [Рапопорт С.И., Голиченков В.А., 2009].

Таким образом, эпифизу и его основному гормону – мелатонину придается роль главного синхронизатора инфранианых биоритмов у высших представителей фауны. В работе Н.А. Темурьянц и А.В. Шехоткина [1999] показано, что после эпифизэктомии у крыс наблюдается изменение фазы, но не периодов инфранианых биоритмов ряда физиологических показателей, что указывает на участие эпифиза в синхронизации биоритмов в широком диапазоне периодов, включая не только циркадианные и сезонные, но и инфранианые. Результаты наших исследований показывают, что, по крайней мере, 4-суточные инфранианые биоритмы определяются уровнем мелатонина.

В обзорной работе С.И. Рапопорта и Т.К. Бреус [2011] указано, что механизм воздействия слабых естественных электромагнитных полей на организм человека осуществляется через нарушение гомеостаза ионов Ca^{2+} , являющихся регулятором уровня цАМФ, который в свою очередь участвует

в образовании мелатонина из серотонина, что в итоге приводит к снижению продукции мелатонина.

В качестве внешних факторов, влияющих на митотическую активность эпителия, нами были оценены Ар-индекс, отражающий уровень геомагнитной активности, и среднесуточная величина Vz-компоненты межпланетного магнитного поля (вертикальная составляющая межпланетного магнитного поля, параллельная силовым линиям магнитного поля Земли), являющаяся одним из наиболее значимых индексов магнитосферной активности [Бреус Т.К. и соавт., 2002].

При анализе связи динамики митотической активности с Ар-индексом статистически значимая корреляционная связь была выявлена только в период с 4 по 16 января 2012 г. (коэффициент корреляции $r = -0.52$; $p = 0.03$) и с 3 по 16 июля 2013 г. ($r = -0.48$; $p = 0.05$). В остальные периоды исследований такая связь отсутствовала.

По данным литературы [Бреус Т.К. и соавт., 1995; Мартынюк В.С. и соавт., 2006] при отрицательном значении Vz-компоненты создаются благоприятные условия для развития геомагнитных бурь, источником которых служит солнечный ветер, порождаемый выбросами коронарных масс Солнца, а также наблюдаются изменения параметров ионосферы, что отражается на физиологическом состоянии организма. При анализе методом Фурье динамики среднесуточных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля за 2011–2013 гг. нами выявлены около 12-, 14-, 24- и 28-суточные периодичности, среди которых наиболее выраженная спектральная составляющая – гармоника равна 24.5 сут. Распределение показателей митотического индекса эпителия пищевода и среднесуточных значений Vz-компоненты за 2011–2013 гг. методом наложения эпох по дням 12.175-суточного периода позволило установить, что в дни наиболее выраженных отрицательных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля наблюдаются минимальные показатели митотического индекса [Диатроптов М.Е., Макарова О.В., 2014]. Можно предположить,

что выраженные снижения величины Vz-компоненты межпланетного магнитного поля могут являться фактором, который синхронизирует инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия.

В работе Н.К. Белишевой и соавт. [2005] было показано, что выраженные вариации геомагнитного поля, наблюдаемые в высоких широтах, влияют на культуру онкоген-трансформированных клеток подкожной соединительной ткани мышей, вызывая увеличение количества многоядерных клеток и снижение ДНК-синтетической активности. Возможно, параметры геофизических электромагнитных полей прямо или косвенно связаны с вариациями вектора межпланетного магнитного поля, параллельного магнитному полю Земли. Важно отметить, что Т.К. Бреус и соавт. [1995] установили связь среднесуточных значений Vz-компоненты межпланетного магнитного поля с ежесуточным количеством вызовов скорой помощи по поводу инфаркта миокарда.

В физиологических условиях и при адаптации организма к условиям изменяющейся среды метаболизм органов и тканей варьирует также как интенсивность кровоснабжения сосудами микроциркуляторного русла, которое во многом определяется быстро реагирующей популяцией тучных клеток. Тучные клетки, являясь важным звеном в реакции организма на внешние воздействия, отвечают стереотипной реакцией – дегрануляцией (выбросом гранул, содержащих многие медиаторы тучных клеток), изменением количества тучных клеток, гранулолизисом (выбросом медиаторов из гранул тучных клеток), а также изменением пролиферации и дифференцировки [Трунова Г.В., 2004; Кондашевская М.В., 2011].

Суточные и сезонные биоритмы цитофизиологического состояния тучных клеток хорошо изучены [Catini C., Legnaioli M., 1992; Magnusson J. et al., 2003]. Установлено, что в различные фазы этих ритмов изменяется число тучных клеток, заполнение их цитоплазмы гранулами и содержание в них некоторых медиаторов, а также интенсивность кожных аллергических реакций [Seery J.P. et al., 1998; Nakamura Y. et al., 2011]. Однако в

литературе практически отсутствуют данные об инфрадианных ритмах цитофизиологического состояния тучных клеток и взаимосвязи их с аналогичными ритмами кортикостерона.

Нами выявлены взаимосвязанные инфрадианные биоритмы цитофизиологического состояния тучных клеток в дерме и уровня кортикостерона в сыворотке крови половозрелых самцов крыс Вистар. Установлен 4-суточный инфрадианный ритм показателей среднего гистохимического коэффициента и числа свободнолежащих гранул тучных клеток, а также уровня кортикостерона в сыворотке крови. Между уровнем кортикостерона и средним гистохимическим коэффициентом, отражающим степень насыщенности гранул тучных клеток секретом, выявлена отрицательная корреляционная связь. Показатель числа свободнолежащих гранул тучных клеток в окружающих тканях, отражающий степень их дегрануляции, положительно коррелировал с уровнем кортикостерона.

Таким образом, в дни, характеризующиеся наибольшим уровнем кортикостерона в сыворотке крови, наблюдается меньшая насыщенность тучных клеток дермы секреторными гранулами и большее число свободнолежащих в ткани гранул, что отражает усиление дегрануляции этих клеток.

Известно, что гормоны надпочечника оказывают влияние на функциональную активность тучных клеток. Так, при исследовании у адреналэктомированных крыс реакции тучных клеток в ответ на иммобилизацию было показано, что в опытной группе животных по сравнению с интактными снижается степень дегрануляции [Арташян О.С. и соавт., 2012]. Помимо глюкокортикоидов, дегрануляцию тучных клеток активируют катехоламины [Юшков Б.Г. и соавт., 1999]. В работе С. Maschke и соавт. [2003] выявлен около 4-суточный ритм содержания эпинефрина в моче у лиц, проживавших около аэродрома и подвергавшихся постоянному шуму от взлетающих самолетов. Таким образом, выявленный нами 4-суточный ритм цитофизиологического состояния тучных клеток

может быть опосредован не только уровнем кортикостерона, но и комплексным воздействием других гормонов.

Синхронное проявление инфрадианных ритмов уровня кортикостерона и цитофизиологических изменений тучных клеток у разных особей крыс Вистар, по-видимому, обусловлено воздействием неизвестного фактора или группы факторов, которые синхронизируют эти функции организма. Такими факторами могут быть, например, естественные электромагнитные поля [Мартынюк В.С. и соавт., 2009]. Экспериментальные исследования показывают, что слабые электромагнитные поля активируют гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему [Гаркави Л.Х. и соавт., 1990]. Важную роль в реакции организма на природные электромагнитные поля играет эпифиз. Воздействие электромагнитных полей снижает уровень продукции мелатонина, тем самым уменьшая ингибирующее влияние этого гормона на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему [Перцов С.С., 2011].

В наших исследованиях в динамике показателя процентного содержания нейтрофилов в периферической крови, которые также как и тучные клетки, наиболее быстро реагируют на внешние воздействия, у самцов крыс Вистар была установлена 4-суточная периодичность. Между значениями уровня кортикостерона и процентным содержанием нейтрофилов в периферической крови установлена положительная корреляционная связь. В период нарушения инфрадианного биоритма уровня кортикостерона (20–24 марта 2011 г.) в динамике процентного содержания нейтрофилов периферической крови также наблюдалась потеря ритмичности, что указывает на взаимосвязь этих показателей. Известно, что показатель процентного содержания нейтрофилов периферической крови коррелирует с уровнем глюкокортикоидных гормонов [Горизонтов П.Д. и соавт., 1983]. В работе Т.П. Рябых и соавт. [1994] установлен 4-суточный ритм изменения числа лейкоцитов в периферической крови у лабораторных

мышей, однако авторы не проводили сопоставления с уровнем стероидных гормонов.

Таким образом, в динамике цитофизиологических изменений тучных клеток дермы и процентного содержания нейтрофилов в периферической крови у половозрелых самцов крыс Вистар установлена 4-суточная ритмичность, связанная с инфрадианным биоритмом уровня кортикостерона. При исследовании у крыс функционального состояния нейтрофилов периферической крови, оцененное по активности в этих клетках сукцинатдегидрогеназы, В.С. Мартынюк и Н.А. Темурьянц [2009] установили около 4-, 8- и 12-суточные биоритмы этого показателя, что согласуется с полученными нами данными.

Наряду с эндокринной системой функции организма в физиологических условиях и при адаптации определяются иммунной системой. Учитывая, что глюкокортикоидные гормоны модулируют морфофункциональное состояние иммунной системы, нами у половозрелых самцов крыс Вистар было проведено исследование динамики изменений объемной плотности структурно-функциональных зон тимуса и селезенки, уровня неоптерина и TGF- β 1 в сыворотке крови и продукции цитокинов клетками селезенки, активированными конканавалином-А.

Как показывают исследования других авторов оценка структурно-функциональных изменений тимуса и селезенки при адаптивных процессах высоко информативна. В литературе представлен ряд работ, в которых выявлены изменения морфометрических показателей тимуса и селезенки при адаптации к факторам внешней среды и в частности к кратковременному холодовому воздействию, информационной нагрузки и введению липополисахарида [Трунова Г.В., 2004; Косырева А.М. и соавт., 2011].

При исследовании динамики морфофункциональных изменений тимуса у половозрелых самцов крыс Вистар был установлен 6-суточный биоритм общего числа лимфоидных клеток и синфазный ему ритм

процентного содержания среди тимоцитов $CD3^{+}$ лимфоцитов. В динамике показателей ширины субкапсулярного слоя и включения тимидиновой метки клетками тимуса, отражающих пролиферативные процессы в органе, выявлена 4-суточная периодичность. В акрофазе инфрадианного 4-суточного биоритма уровня кортикостерона наблюдаются минимальные значения ширины субкапсулярного слоя и включения тимидиновой метки клетками тимуса, тогда как показатели уровня мелатонина имеют положительную корреляционную связь с уровнем митотической активности тимуса. Этот факт согласуется с данными литературы. Установлено, что на лимфобластах субкапсулярной зоны выражена экспрессия рецепторов к кортикостерону [Bamberger C.M. et al., 1999; Leposavic G. et al., 2011] и мелатонину [Ahmad R., Halder S., 2010]. Кортикостерон угнетает митотическую активность клеток тимуса, а мелатонин способствует пролиферации тимоцитов и снижает уровень кортикостерона [Кветной И.М. и соавт., 2005; Tian Y.M. et al., 2001].

6-суточный биоритм общего числа тимоцитов и процентного содержания среди них $CD3^{+}$ лимфоцитов, по нашему мнению, нельзя связать с изменениями митотической активности клеток органа, имеющей 4-суточную периодичность. Скорее всего, снижение общего числа тимоцитов и процентного содержания среди них $CD3^{+}$ лимфоцитов обусловлено более интенсивной миграцией Т-лимфоцитов в периферические ткани. Это предположение подтверждается установленным нами фактом достоверного повышения числа Т-лимфоцитов в периферической крови в дни минимальных значений общего числа лимфоцитов тимуса. Т.П. Рябых и соавт., [1994] впервые описавшая 6–7-суточную периодичность изменения массы тимуса у лабораторных мышей, также связала это явление с процессами миграции Т-лимфоцитов.

Распределение всех полученных значений общего числа тимоцитов, полученные в разные сезоны года по дням 12.175-суточного периода, позволил более точно установить период инфрадианного биоритма,

который составил 6.09 сут. Таким образом, миграционные процессы Т-лимфоцитов в тимусе имеют 6.09-суточный периодичность, не связанную с инфрадианным ритмом кортикостерона и мелатонина, но укладывающуюся в систему 12.175-суточных биоритмов.

В динамике показателей объемной плотности лимфоидных узелков и количества клеток в селезенке половозрелых самцов крыс Вистар нами установлена 4-суточная периодичность. Максимальные значения объемной плотности лимфоидных узелков и количества клеток в селезенке наблюдались на фоне низкого содержания кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови. Более выраженная отрицательная корреляционная связь показателей объемной плотности лимфоидных узелков и количества клеток в селезенке была установлена для кортикостерона, по сравнению с тестостероном. По данным литературы, повышение уровня глюкокортикоидов при стрессе, вызванном иммобилизацией или раздражением электрическим током, сочетается со значительным снижением ядросодержащих клеток в основном в В-зависимой зоне [Горизонтов П.Д. и соавт., 1983]. Наши исследования указывают на отсутствие 4-суточной периодичности в изменениях показателя объемной плотности периартериальных лимфоидных муфт, являющихся Т-зависимой зоной. Также, кортикостерон тормозит пролиферацию и индуцирует апоптоз лимфоцитов [Кветной И.М. и соавт., 2005; Roumestan C. et al., 2004], однако такие резкие колебания численности В-лимфоцитов (до 50 % за сутки) могут объясняться только их миграцией из селезенки [Горизонтов П.Д. и соавт., 1983]. Другими авторами установлены и суточные ритмы численности лимфоидных клеток в селезенке крыс, проявляющиеся плавным повышением этого показателя к полудню и резким снижением в вечерние часы, что также связывают с процессами их миграции [Литвиненко Г.И. и соавт., 2000].

Анализ всех полученных нами в разных сериях эксперимента на протяжении 3 лет показателей абсолютного количества клеток в суспензии

селезенки методом наложения эпох позволил установить более точное значение периода этого биоритма, которое равно 4.06 сут, что указывает на связь этого показателя с инфрадианным ритмом уровня кортикостерона, имеющим такую же периодичность.

В динамике изменения уровня неоптерина в сыворотке крови, являющегося интегративным показателем активации клеточного звена иммунитета [Яглова Н.В., Березов Т.Т., 2010], установлен 4-суточный ритм. В период асинхронной динамики уровня кортикостерона (20–24 марта 2011 г.) ритм изменения показателей неоптерина сохранялся. В работе Р. Deprés-Brummer и соавт. [1997] было показано, что при содержании крыс в условиях постоянного освещения на фоне нарушения суточных ритмов уровня катехоламинов в плазме крови, двигательной активности и температуры тела сохраняется ритмическая функциональная активность Т-лимфоцитов. Авторы сделали вывод об относительной автономности суточных ритмов функционирования иммунной системы.

Нами установлена отрицательная корреляционная связь между показателями уровня TGF- β 1 и концентрацией кортикостерона в сыворотке крови. TGF- β 1 продуцируется большим числом клеток, включая стромальные эпителиальные клетки, макрофаги, регуляторные Т-лимфоциты [Ярилин А.А., 1997]. Выявленное нами снижение уровня TGF- β 1 при увеличении концентрации кортикостерона в сыворотке крови можно объяснить как супрессией глюкокортикоидами синтеза индуцибельной фракции белка TGF- β 1 лимфоцитами [Baumgartner R.A. et al., 1996], так и угнетением этими гормонами его продукции другими клетками [Batuman O.A. et al., 1995].

Динамика уровня ИЛ-2 в суточной культуре клеток селезенки, активированных конканавалином А, коррелировала отрицательно с содержанием кортикостерона в сыворотке крови, а ИЛ-10 положительно. Этот факт можно объяснить как угнетающим действием кортикостерона на синтез провоспалительных цитокинов путем ингибирования активации

фактора транскрипции NF- κ B [Roumestan C. et al, 2004], так и возможным изменением иммунофенотипического состава клеток селезенки, обусловленной их миграцией.

В динамике уровня продукции ИФН γ в суточной культуре клеток селезенки, активированных конканавалином А, статистически значимо выявлялся 4-суточный период, находящийся в противофазе с уровнем кортикостерона. Продукция ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНО- α не коррелировала с уровнем кортикостерона, однако наблюдались достоверные изменения в динамике этих показателей, но ритма на протяжении эксперимента не удалось выявить. Секреция цитокинов клетками иммунной системы контролируется не только глюкокортикоидами, но и множеством других механизмов эндокринной и нервной регуляции, а также ауторегуляцией, реализуемой с участием факторов самой иммунной системы. Так известны десятки рецепторов клеток иммунной системы для гормонов и нейроэндокринных факторов, таких как тироксин, инсулин, соматотропный гормон, пролактин, половые стероидные гормоны, α - и β -эндорфины, катехоламины, адренэргические и холинэргические нервные стимулы [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008].

Таким образом, нами у половозрелых крыс-самцов Вистар установлена связь баланса провоспалительных/противовоспалительных цитокинов с 4-суточным инфрадианным биоритмом уровня кортикостерона. В последние десятилетия в экспериментальных исследованиях широко используется методика функциональной оценки состояния иммунной системы с помощью митогенной стимуляции продукции цитокинов в суточной культуре клеток селезенки лабораторных животных, позволяющая оценить потенциальную способность этих клеток к синтезу и секреции цитокинов [Palumbo M.L. et al., 2010]. Известно, что продукция провоспалительных цитокинов имеет суточную периодичность с максимумом в ночные и ранние утренние часы. Динамика уровня провоспалительных цитокинов связана с суточными колебаниями

глюкокортикоидов [Straub R.H., Cutolo M. 2007]. Выявленный нами инфрадианный 4.06-суточный биоритм уровня кортикостерона также необходимо учитывать при проведении экспериментальных исследований с оценкой функционального состояния эндокринной и иммунной системы.

С целью выяснения универсального характера инфрадианных биоритмов иммунной системы исследование ее функционального состояния проводили не только у крыс, но и у человека. Изменения иммунологических показателей у человека в инфрадианном диапазоне биоритмов не изучены, тогда как эти данные могут быть использованы для разработки новых хронобиологических подходов в диагностике и лечении различных заболеваний.

В результате нашего исследования динамики уровня цитокинов и субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови у мужчин 24–30 лет была установлена положительная корреляционная связь 4-суточного инфрадианного ритма уровня кортизола с показателями уровня рецепторного антагониста ИЛ-1 и процентным содержанием НК-клеток. Значения уровня ИЛ-2 и иммунорегуляторного индекса – Тх/Тс-ц лимфоциты имели отрицательную корреляционную связь с уровнем кортикостерона. Повышение уровня ИЛ-2 обуславливает поляризацию иммунного ответа по клеточному Тх1-типу [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008]. Тогда как глюкокортикоидные гормоны поляризуют иммунный ответ по Тх2 типу [Almawi W.Y. et al., 1999]. Установлено, что ИЛ-2 стимулирует синтез и секрецию таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-6 и ФНО- α [Новиков А.А. и соавт., 2010]. Таким образом, полученные данные о связи физиологических колебаниях уровня ИЛ-2 с инфрадианным 4-суточным ритмом уровня кортикостерона необходимы для понимания физиологических изменений баланса Тх1 и Тх2 – типов иммунного ответа.

Выявленный нами факт синфазного проявления 4-суточного биоритма уровня кортизола и процентного числа НК-клеток в периферической крови у человека согласуется с данными литературы. Установлено, что

кортикостероиды оказывают активирующее действие на НК-клетки. В физиологических условиях наблюдается положительная корреляция между кортизолом и числом НК-клеток в кровотоке с 2-х часовым лаг периодом [Kronfol Z. et al., 1997]. Взаимосвязь этих показателей доказана экспериментально: назначение кортизола обезьянам значительно увеличивает процентное содержание НК-клеток в периферической крови [Terao K. et al., 2002]. При введении дексаметазона добровольцам, также отмечается повышение в крови числа НК-клеток [Chiappelli F. et al., 1992].

НК-клетки являются важной частью иммунологической защиты и значимые 4 сут колебания их числа в периферической крови могут, в частности, определять временную устойчивость к вирусным заболеваниям.

Для оценки функционального состояния иммунной системы широко используется показатель соотношения Тхелперы-Тсупрессорно-цитотоксические лимфоциты (иммунорегуляторный индекс), содержащихся в периферической крови. Снижение функции Т-супрессоров приводит к преобладанию стимулирующего влияния Тхелперов, следствием чего является развитие гиперергических реакций иммунной системы. И наоборот, снижение индекса Тх/Тц приводит к супрессии реакций клеточного иммунитета [Назаренко Г.И., Кишкун А.А., 2006]. В ходе нашего исследования установлена 4-суточная ритмичность изменения показателя иммунорегуляторного индекса, проявляющаяся в противофазе по отношению к инфрадианному ритму уровня кортизола в сыворотке крови.

Весьма важным с практической точки зрения представляется установленный в нашей работе 4-суточный биоритм уровня рецепторного антагониста ИЛ-1 в сыворотке крови. Одним из главных медиаторов воспаления является ИЛ-1, который костимулирует активацию Т-клеток и синтез ИЛ-2 и его рецептора, стимулирует пролиферацию и созревание В-клеток, а также цитотоксическую активность НК-клеток и продукцию провоспалительных цитокинов макрофагами, тем самым, запуская

цитокиновый каскад воспалительной реакции [Рабсон А. и др., 2006]. Рецепторный антагонист ИЛ-1 (ИЛ-1РА) подавляет провоспалительные эффекты ИЛ-1. В сыворотке крови здорового человека ИЛ-1РА выявляется в высокой концентрации, что связано с его постоянным синтезом тканевыми макрофагами и гепатоцитами [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008]. Тем самым ИЛ-1РА, присутствующий в циркуляторном русле, блокирует действие ИЛ-1 и препятствует активации каскада провоспалительных реакций. Изменение уровня ИЛ-1РА в периферической крови, является одним из важных факторов, от которых зависят триггерные механизмы воспалительного процесса. По литературным данным даже физиологический стресс, вызывающий повышение уровня кортизола, приводит и к повышению ИЛ-1РА в сыворотке крови у человека [Rohleder N. et al., 2006]. Кроме того, применение глюкокортикоидной терапии у больных с аутоиммунной патологией приводит к повышению содержания ИЛ-1РА в сыворотке крови [Sulli A. et al., 2006]. Эти данные литературы согласуются с полученным нами фактом синфазного проявления 4-суточных инфрадианных ритмов уровня кортизола и рецепторного антагониста ИЛ-1.

Таким образом, установленный в настоящем исследовании 4-суточный ритм синхронных изменений ряда иммунологических показателей у разных индивидов, связанных с инфрадианным ритмом уровня кортизола, необходимо учитывать при оценке иммунного статуса здоровых лиц и разработке методов коррекции его нарушений.

Наиболее информативные показатели функционального состояния иммунной системы могут быть получены при применении различных митогенов. В последние годы методика функциональной оценки иммунной системы с помощью митогенной стимуляции продукции цитокинов в образце цельной или разбавленной культуральной средой крови получила широкое распространение [Останин А.А., Черных Е.Р., 2005; Eriksson M. et al., 2007]. Митоген-индуцированная стимуляция клеток крови позволяет

оценить их потенциальную способность к секреции цитокинов. Метод, основанный на анализе продукции иммунокомпетентными клетками в образце цельной крови ИФН γ в ответ на контакт со специфическим антигеном, используется для диагностики ряда заболеваний, в том числе латентной формы туберкулеза [Александрова Е.Н. и др., 2010; Menzies D. et al., 2007].

Однако интерпретация полученных данных затруднена из-за отсутствия стандартизации этих методов. Помимо функционального состояния клеток крови, продукция цитокинов в образце цельной крови может зависеть от ряда других факторов. Так, возможно, немаловажное значение имеет физиологическая концентрация глюкокортикоидных гормонов, не удаляемых из образца крови при постановке реакции. Известно, что глюкокортикоидные гормоны оказывают ингибирующее действие на синтез провоспалительных цитокинов как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне. Глюкокортикоиды, связываясь со своим цитозольным рецептором, транслоцируются в ядро и там связываются с промоторным регионом генов, отвечающих за синтез цитокинов. Помимо непосредственного связывания с ДНК, глюкокортикоиды оказывают ингибирующий эффект на факторы транскрипции NF- κ B и AP-1, что приводит к снижению синтеза цитокинов [Almawi W.Y., et al., 2002]. Более того, глюкокортикоиды стимулируют экспрессию иммуносупрессорного фактора TGF- β , который угнетает продукцию провоспалительных цитокинов [Roumestan C. et al., 2004].

Нами было проведено исследование зависимости индуцированной смесью митогенов продукции цитокинов клетками периферической крови у мужчин 24–30 лет от уровня кортизола и субпопуляционного состава лимфоцитов. В динамике продукции ИЛ-2 и ИФН γ выявлена отрицательная корреляционная связь с уровнем кортизола и положительная с иммунорегуляторным индексом Тх/Тс-ц лимфоциты. Динамика продукции ИЛ-10 напротив положительно коррелировала с уровнем кортизола и

отрицательно с иммунорегуляторным индексом. В группе испытуемых период этих колебаний составлял 4 сут, а акрофазы у разных индивидов наблюдались в одни и те же календарные даты, что позволяет прогнозировать эти изменения.

Факт изменения уровня продукции ИФН γ при инкубации образца крови с митогеном в зависимости от даты исследования, необходимо учитывать, в частности, при проведении диагностических тестов основанных на продукции этого цитокина в ответ на специфический антиген. Можно предположить, что в определенные дни с низким содержанием кортизола в сыворотке крови чувствительность таких тестов увеличивается, а в другие – с высоким уровнем сывороточного кортизола, снижается.

Таким образом, данное исследование показывает, что продукция цитокинов, индуцированная смесью митогенов в образце периферической крови, зависит от уровня кортизола и субпопуляционного состава лимфоцитов в исследуемом образце. Более того, 4-суточные колебания этих показателей обуславливают значительные изменения в балансе провоспалительные/противовоспалительные цитокины, являющемся важным для функциональной оценки активности иммунной системы.

Связь инфрадианных биоритмов с особенностями течения воспалительных процессов не изучена. Поэтому нами проведено исследование морфологических и лабораторных показателей при системном воспалительном ответе (СВО), вызванном липополисахаридом (ЛПС). Можно предположить, что выявленный 4-суточный биоритм уровня глюкокортикоидных гормонов и морфофункциональных изменений органов иммунной системы отражается на тяжести течения системных заболеваний, в частности, синдроме системного воспалительного ответа. В патогенезе синдрома СВО эндотоксину или липополисахариду, источником которого является сапрофитная грамотрицательная микрофлора желудочно-кишечного тракта, в настоящее время отводится ключевая роль.

Клинически синдром СВО характеризуется гипотензией и полиорганной недостаточностью. Развитие синдрома СВО обусловлено активацией реакций врожденного иммунитета, повышением продукции провоспалительных цитокинов и воспалительных медиаторов, эндотелиальной дисфункцией и гиперкоагуляцией [Bernard A.M., Bernard G.R., 2012].

В развитии СВО при введении эндотоксина грамотрицательных бактерий – липополисахарида – ключевую роль играют толл-подобные рецепторы 4-го типа (Toll-like receptors, TLRs). Активация TLR-4 после взаимодействия с ЛПС приводит к стимуляции экспрессии фактора транскрипции – нуклеарного фактора κB (Nuclear factor κB – NF- κB) и увеличению уровня продукции провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы [Bernard A.M., Bernard G.R., 2012].

В работе M. Debono и соавт. (2011) показано, что в послеоперационном периоде у пациентов со сниженным эндогенным уровнем кортизола клинические проявления синдрома СВО более выражены, что позволяет обосновать применение для его коррекции глюкокортикоидных препаратов. По данным T.W. Rice и G.R. Bernard [2005] терапия синдрома СВО низкими дозами кортикостероидов снижает выраженность клинических проявлений заболевания, а введение стресс доз гидрокортизона после хирургических вмешательств на сердце уменьшает частоту развития синдрома СВО [Kilger E. et al., 2011].

Таким образом, выраженность клинических проявлений СВО во многом определяется уровнем глюкокортикоидных гормонов, оказывающих иммуносупрессорный и противовоспалительный эффекты, воздействуя на экспрессию фактора транскрипции генов воспалительного ответа – NF- κB и поляризуя иммунный ответ по Т хелпер 2 типу [Almawi W.Y. et al., 1999; Roumestan C. et al., 2004].

Основным органом-мишенью при введении высоких доз ЛПС является печень, в которой при СВО наблюдаются дистрофические и некротические

изменения гепатоцитов [Новочадов В.В., Писарев В.Б., 2005]. В работе Y. Kitoh и соавт. [2005] было показано, что выраженность повреждения печени у лабораторных крыс зависит от времени суток, в которое вводили ЛПС.

В нашем исследовании СВО был вызван внутрибрюшинным введением ЛПС *E. coli* штамма O26:B6 самцам крыс Вистар в дозе 1.5 мг/кг. Было показано, что введение ЛПС животным в разные фазы инфрадианного 4-суточного ритма уровня кортикостерона в сыворотке крови приводит к развитию СВО разной тяжести. Так, введение ЛПС за сутки до батифазы – минимального уровня кортикостерона в сыворотке крови по сравнению с введением за сутки до акрофазы – максимального уровня кортикостерона приводит к более выраженному повреждению органа-мишени – печени, о чем свидетельствуют более выраженные некротические и дистрофические изменения гепатоцитов, увеличение активности ферментов - АлАТ и АсАТ, а также более высокий уровень С-реактивного белка.

Протективное действие кортикостерона на печень при введении ЛПС можно объяснить как мембраностабилизирующим, так и иммуносупрессорным действием этого гормона. Так, купферовские клетки, активированные ЛПС, секретируют ФНО- α и увеличивают экспрессию ICAM-1 эндотелиальными клетками синусоидных капилляров, что стимулирует адгезию и миграцию нейтрофилов. Тогда как дексаметазон и другие глюкокортикоидные препараты ингибируют продукцию клетками Купфера провоспалительных цитокинов, в частности, ФНО- α и тем самым снижают выраженность альтеративных изменений в печени [Sakamoto S. et al., 2002]. По-видимому, ингибирование кортикостероном внутриклеточного каскада синтеза провоспалительных цитокинов в органах-мишенях приводит к менее выраженным альтеративным и воспалительным изменениям печени у крыс, которым вводили ЛПС на фоне более высокого уровня кортикостерона. Глюкокортикоиды также стабилизируют клеточные мембраны и снижают уровень перекисного

окисления липидов [Колосова Н.Г. и др., 1983]. В работе С.W. Lee и соавт. [2006] было показано, что предварительное применение дексаметазона ослабляло повреждающее действие ЛПС на печень, оцениваемое по уровню малонового диальдегида.

Выявленную взаимосвязь выраженности морфологических изменений печени при системном воспалительном ответе с уровнем эндогенного кортикостерона необходимо учитывать при выполнении экспериментальных исследований, а также при разработке подходов к прогнозированию тяжести течения и терапии воспалительных заболеваний у человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы установлены инфрадианные биоритмы морфофункциональных изменений иммунной системы, во многом определяющиеся 4-суточными ритмическими изменениями уровней глюкокортикоидных гормонов и мелатонина. Показано, что инфрадианные ритмы проявляются синфазно у популяций крыс Вистар, перепелов и человека, но имеют возрастные и индивидуальные особенности. Период инфрадианных биоритмов не зависит от пола. Выявлена система связанных между собой 4-, 6- и 12-суточных инфрадианных биоритмов морфофункциональных параметров эндокринной и иммунной системы и пролиферативной активности эпителия у млекопитающих и птиц. При хронологическом анализе фаз инфрадианных биоритмов в разные сезоны в течение нескольких лет установлено смещение акрофазы на 1 сутки вперед каждые 60–72 сут, в связи с чем, более точные периоды этих инфрадианных ритмов составляют 4.06, 6.09 и 12.175 суток. Синфазное проявление инфрадианных биоритмов, как у большинства членов популяции одного вида, так и между разными видами и классами (млекопитающие и птицы), сохранение периода и фазы инфрадианных биоритмов в условиях длительной световой депривации и некоторая их автономность от циркадианной системы указывает на существование внешнего

синхронизирующего воздействия. Приспособление всех форм жизни к условиям существования заключается в формировании реакций, как на благоприятные, так и неблагоприятные изменения окружающей среды. Периодичность изменений окружающей среды неизбежно вызывает сходную ритмичность метаболизма у живых объектов, а принимая во внимание величайшее многообразие природных ритмов, существовавших параллельно развитию жизни на Земле, логично предположить ведущую роль экзогенных ритмических факторов в формировании эндогенного ответа организмов [Владимирский Б.М. и соавт., 1995]. Согласно результатам проведенного исследования можно предположить, что внешний синхронизирующий фактор имеет периодичности в 4.06, 6.09 и 12.175 сут. По нашему мнению, существование строго упорядоченной во времени системы внешних ритмических сигналов, синхронизирующих инфрадианные ритмы эндокринной и иммунной системы, очевидно в глобальном масштабе, подразумевает возможность их использования для регуляции и координации процессов жизнедеятельности организма. Выявление таких периодов в космофизических процессах может быть крайне важным для хронобиологии и хрономедицины.

Таким образом, результаты выполненного исследования расширяют представление о закономерностях проявления инфрадианных биоритмов морфофункциональных параметров эндокринной и иммунной системы и пролиферативной активности эпителия у млекопитающих и птиц. Уточненные в ходе работы длины периодов инфрадианных биоритмов и выявленные их универсальные закономерности позволили разработать алгоритм прогноза фаз инфрадианных биоритмов исследованных параметров. Полученные данные указывают на возможные механизмы формирования инфрадианных биоритмов, что открывает новое направление исследованиям природы экзогенных синхронизаторов биоритмов в инфрадианном диапазоне периодов.

ВЫВОДЫ

1. Структурные и функциональные параметры, отражающие состояние иммунной и эндокринной системы, и динамика пролиферативной активности эпителия у крыс, птиц и человека синхронно ритмически изменяются в инфрадианном диапазоне биоритмов с периодами 4, 6 и 12 суток. При хронологическом анализе фаз инфрадианных биоритмов в разные сезоны в течение нескольких лет установлено смещение акрофазы на 1 сутки вперед каждые 60–72 сут, в связи с чем, более точные периоды этих инфрадианных ритмов составляют 4.06, 6.09 и 12.175 суток.
2. Динамика уровня кортикостерона, мелатонина и тестостерона в популяции половозрелых самцов крыс Вистар имеет 4.06-суточный инфрадианный биоритм. Ритмические изменения уровня кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови синфазны, а мелатонина – противофазны по отношению к уровню кортикостерона и тестостерона. Четырехсуточная периодичность изменения показателей ширины пучковой зоны коры надпочечника у самцов крыс Вистар синфазна с биоритмами уровня кортикостерона.
3. Период ритмических изменений уровня тестостерона в сыворотке крови у мужчин первого периода зрелого возраста и кортизола у женщин и мужчин составляет 4 суток и не зависит от пола.
4. Выявлены индивидуальные различия инфрадианных биоритмов уровня стероидных гормонов у самцов крыс Вистар и человека. Синхронный 4-суточный биоритм кортикостерона обнаружен у 72.7 % самцов крыс Вистар, у 13.6 % животных акрофаза проходит на 1 сутки раньше, а у 13.6 % достоверных колебаний уровня кортикостерона не выявлено.
5. В динамике митотического индекса эпителия пищевода в популяции половозрелых самцов крыс Вистар и японских перепелов установлен отрицательно коррелирующий с уровнем кортикостерона 4-суточный инфрадианный биоритм и 12-суточный – с более выраженной амплитудой.

6. Инфрадианные ритмы митотической активности эпителия пищевода в соотносимых по возрасту популяциях самцов крыс Вистар и японских перепелов обоего пола синхронны.

Выявлены возрастные особенности инфрадианных биоритмов уровня митотической активности эпителия пищевода. У животных обоих видов в возрасте 1.5–2.5 мес выявлен только 4-суточный биоритм, а в более старшей возрастной категории (3–5 мес) доминирует 12-суточный.

7. Динамика 4-суточного биоритма митотического индекса эпителия пищевода у самцов крыс Вистар, рожденных и содержавшихся в условиях световой депривации, совпадает по фазе с ритмом у животных, находившихся при естественном режиме освещения, что указывает на возможность формирования инфрадианных ритмов в отсутствии суточных изменений освещенности.

8. Инфрадианные биоритмы относительно автономны от циркадианной системы организма. При длительном содержании крыс Вистар в условиях неяркого постоянного освещения 4-суточный инфрадианный биоритм митотической активности эпителия сохраняется и, в отличие от циркадианного ритма локомоторной активности, проявляется синфазно по отношению к ритму у животных, содержащихся при естественном режиме освещения.

9. Морфофункциональные параметры состояния органов иммунной системы – объемная доля лимфоидных узелков и количество клеток в селезенке, ширина субкапсулярной зоны тимуса и пролиферативная активность тимоцитов у половозрелых самцов крыс Вистар имеет 4-суточную ритмичность, которая характеризуется отрицательной корреляционной связью с уровнем кортикостерона и положительной – с уровнем мелатонина.

10. Инфрадианные 4-суточные биоритмы цитофизиологического состояния тучных клеток дермы у половозрелых самцов крыс Вистар сопряжены с уровнем кортикостерона. Максимальные показатели дегрануляции тучных клеток наблюдаются в период акрофазы уровня кортикостерона.

11. Клинически значимым для хрономедицины является установленный 4-суточный биоритм в динамике продукции цитокинов у крыс и человека, зависящий от фазы биоритма глюкокортикоидных гормонов: в батифазу наблюдается повышение продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-2 и ИЛ-6, а в акрофазу – увеличение уровня противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, рецепторного антагониста ИЛ-1 и TGF- β 1.
12. Морфологические и биохимические проявления системного воспалительного ответа, вызванного высокой дозой липополисахарида, у крыс Вистар более выражены при введении липополисахарида за сутки до батифазы 4-суточного биоритма уровня кортикостерона, чем при введении этого флогенного агента за сутки до акрофазы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Агаджанян Н.А., Шабатура Н.Н. Биоритмы, спорт, здоровье. М.: Физкультура и спорт. 1989. 208 с.
- Александров В.В. Экологическая роль электромагнетизма. СПб.: Изд-во Политехнического университета. 2005. 716 с.
- Александрова Е.Н., Диатроптов М.Е., Насонов Е.Л. Новые лабораторные тесты, основанные на определении продукции интерферона γ in vitro, в диагностике латентной туберкулезной инфекции у больных ревматическими заболеваниями при планировании и проведении лечения ингибиторами фактора некроза опухоли α . Научно-практическая ревматология. – 2010. – № 4 – С. 54-59.
- Алов И.А. Очерки физиологии митотического деления клеток. М.: Медицина. 1964. 302 с.
- Алпатов А.М. Циркадианные ритмы в условиях измененной силы тяжести. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М. 2000. 32 с.
- Алпатов А.М., Климовицкий В.Я., Березкин В.Е. Ансамбль циркадианных ритмов у обезьян в условиях космического полета и на Земле. Атлас временных вариаций природных, антропогенных и социальных процессов. Т.3. М.: Янус-К. 2002. – С. 421-429.
- Алякринский Б.С. Биологические ритмы и организация жизни человека в космосе / Проблемы космической биологии. Т. 46. М.: Наука, 1983. 247 с.
- Анисимов В.Н. Возрастные изменения функции эпифиза // Мелатонин в норме и патологии / Под ред. Ф.И. Комарова и др. М., 2004. С. 20-33.
- Анисимов В.Н. Мелатонин: роль в организме, применение в клинике. – СПб: Система. 2007. 40 с.
- Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. В 2-х томах. СПб.: Наука, 2008. Т.1. 481с. Т.2 434 с.

- Анисимов В.Н. Эпифиз, мелатонин и старение. В кн. Хронобиология и хрономедицина. М.: МИА. 2012. – С. 284-332.
- Антохин А.И. Пространственно-временная организация пролиферативной системы эпителия крипты тонкой кишки в норме и при различных воздействиях. Диссертация ... д-ра биол. наук. М. 2001. 446 с.
- Антохин А.И., Жаркова Н.А., Захарченко А.В., Романов Ю.А. Разнопериодические ритмы деления клеток эпителия крипты тонкой кишки, и их вклад в формирование суточного ритма // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 2011. – Т. 152, № 10. – С.470-472.
- Аптикаева О.И., Костенко К.А., Селюков Е.И., Стигнеева Л.Т., Черепанов О.А. Особенности ритмической структуры рядов объемной активности радона при регистрации в условиях мегаполиса. Атлас временных вариаций природных, антропогенных и социальных процессов. 2013. Т. 5. М.: «Янус-К». – С. 255-266.
- Арав В.И., Сыч В.Ф., Железняк Е.В. Влияние эпифизэктомии на суточную ритмичность сперматогенеза // Бюл. экспер. биол. мед. – 2003. – Т. 136. – № 12. – С. 683-685.
- Арташян О.С. Юшков Б.Г., Храмцова Ю.С. Морфологические аспекты участия тучных клеток в формировании общего адаптационного синдрома // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15. – № 3. – С. 22-25.
- Арушанян Э.Б. Эпифиз и организация поведения // Успехи физиол. наук. – 1991. – № 4. – С. 122-144.
- Арушанян Э.Б., Батурин В.А., Попов А.В. Супрахиазматическое ядро гипоталамуса как регулятор циркадианной системы млекопитающих // Успехи физиол. наук. – 1988. – № 2. – С. 67-87.
- Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. Супрахиазматические ядра гипоталамуса и организация суточного периодизма. В кн. Хронобиология и хрономедицина. М.: «Триада – Х». 2000. – С. 50-64.

- Асланян Н.Л. О хронобиологическом подходе к диагностике сердечнососудистой системы/ // Терапевтический архив. – 1986. – Т. 63. – вып.1. – С. 45-47.
- Ашофф Ю. Экзогенные и эндогенные компоненты циркадных ритмов. В кн. Биологические часы. М.: Мир. 1964. – С. 27-59.
- Ашофф Ю. Свободнотекущие и захваченные циркадианные ритмы. В кн. Биологические ритмы Т. 1. М.: Мир. 1984. – С. 54-69.
- Бабаева А.Г. Регенерация: факты и перспективы. М.: Изд-во РАМН. 2009. 334 с.
- Баевский Р.М. Прогнозирование состояний на грани нормы и патологии. М.: Медицина. 1979. 298 с.
- Белишева Н.К., Кужевский Б.М., Вашенюк Э.В., Жиров В.К. Связь динамики слияния клеток, растущих *in vitro*, с вариациями интенсивности нейтронов у поверхности земли // Докл. АН. – 2005. – Т.402, № 6. – С. 831-834.
- Белишева Н.К., Кужевский Б.М., Сигаева Е.А., Панасюк М.И., Жиров В.К. Модуляция функционального состояния крови вариациями интенсивности нейтронов у поверхности Земли // Докл. АН. – 2006. – Т.407, № 5. – С. 687-691.
- Бессалова Е.Ю., Королев В.А. Показатели эстральных циклов белых крыс в норме и при парентеральном введении ксеногенной спинномозговой жидкости // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 2007. – Т. 144, № 8. – С. 213-215.
- Бородин Ю.И. Труфакин В.А., Летягин А.Ю., Шурлыгина А.В. Циркадные биоритмы иммунной системы. Новосибирск, РИПЭЛ, 1992.
- Браун Ф. Геофизические факторы и проблема биологических часов. В кн. Биологические часы. М.: Мир. 1964. – С. 103-125.
- Бреус Т.К. Халберг Ф., Корнелиссен С.Ж. Влияние солнечной активности на физиологические ритмы биологических систем // Биофизика. – 1995. – Т. 40, № 4. – С. 737-747.

- Бреус Т.К., Рапопорт С.И. Магнитные бури: медико-биологические и геофизические аспекты. М.: Советский спорт. 2003. 192 с.
- Бреус Т.К., Чибисов С.М., Баевский Р.М., Шебзухов К.В. Хроноструктура биоритмов сердца и факторов внешней среды. М.: Изд-во РУДН. 2002. 220 с.
- Бродский В.Я., Мальченко Л.А., Дубовая Т.К., Конченко Д.С., Звездина Н.Д. Дофамин, введенный крысе, дезорганизует ритм синтеза белка в гепатоцитах. // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 2014. – Т. 157, № 2. – С. 182-185.
- Василик П.В., Галицкий А.К. Ритмы изменения свойств воды как фактор формирования биологических ритмов // Кибернетика и вычислительная техника. – 1985. – Вып. 66. – С. 11-19.
- Василик П.В., Василега А.Г. Особенности изменения массы тела морских свинок как индикатор флуктуаций неравномерности вращения Земли, обусловленных влиянием Луны // Геофизические процессы и биосфера. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 58-62.
- Винниченко М.Б., Белишева Н.К., Жиров В.К. Модуляция свойств воды вариациями космических лучей // Докл. АН. – 2009. – Т. 429, № 6. – С. 816-820.
- Владимирский Б.М., Нарманский В.Я., Темурьянц Н.А. Космические ритмы. Симферополь. 1994. 176 с.
- 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. Рост. ун-та. 1990. 224 с.
- Гедерим В.В., Соколовский В.В., Горшков Э.С., Шаповалов С.Н., Трошичев О.А. Периодические изменения некоторых гематологических показателей, характеризующих процесс адаптации в

- организме человека, и вариации гравитационного поля // Биофизика. – 2001. – Т. 46. – С. 833-834.
- Горго Ю.П., Дидык Л.А. Биологическая активность и значимость сверхнизкочастотных колебаний атмосферного давления. В кн. Биотропное воздействие космической погоды. Москва, Киев, СПб: ВВМ, 2010. – С. 259-289.
- Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. М.: Медицина. 1983. 135 с.
- Григорьев П.Е., Мартынюк В.С. Вариации индексов космической погоды и инфрадианные ритмы физиологических процессов // Уч. зап. Таврич. нац. ун-та им.В.И. Вернадского. Сер. Биология, химия. – 2003. – Т. 16, № 4. – С. 43-49.
- Губин Г. Д., Герловин Е. Ш. Суточные ритмы биологических процессов и их адаптивное значение в онто- и филогенезе позвоночных. Новосибирск: Наука. 1980. 278 с.
- Дедов И.И., Дедов В.И. Биоритмы гормонов. М.: Медицина. 1992. 256 с.
- Деряпа Н.Р., Мошкин М.П., Посный В.С. Проблемы медицинской биоритмологии. М.: Медицина. 1985. 208 с.
- Детари Л., Карцаги В. Биоритмы. М.: Мир. 1984. 160 с.
- Дещеревский А.В., Лукк А.А. Выделение регулярных составляющих во временных вариациях геофизических параметров методом разложения на негармонические компоненты // Вулканология и сейсмология. – 2002. – № 5. – С. 65-78.
- Диатроптов М.Е. Инфрадианные колебания уровня тестостерона в сыворотке крови лабораторных крыс-самцов // Бюл. эксперим. биол. мед. – 2011. – Т. 151, № 5. – С. 577-580.
- Диатроптов М.Е., Кондашевская М.В. Инфрадианная ритмика показателей физиологических и метаболических процессов у самцов крыс Вистар // Российский физиологический журнал. – 2012. – Т. 98, № 3. – С. 410-416.

- Диатроптов М.Е., Макарова О.В. Инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар // Бюл. exper. биол. и мед. – 2014. – Т. 158, № 9. – С. 370-375.
- Дольник В.Р. Миграционное состояние птиц. М.: Наука. 1975. 400с.
- Дубров А.П. Геомагнитное поле и жизнь. Л. Гидрометеиздат, 1974. 176 с.
- Дубров А. П. Лунные ритмы у человека. М.: Медицина, 1990. 160 с.
- Ермакова И.В. Изменение глюкокортикоидной функции надпочечников у мальчиков-первоклассников в период адаптации к началу обучения в школе и в течение учебного года // Физиология человека. – 2002. – Т. 28, № 1. – С. 35-41.
- Заславская Р.М. Хронодиагностика и хронотерапия заболеваний сердечно-сосудистой системы. М.: Медицина, 1991. 320 с.
- Заславская Р.М., Бунятян Н.Д., Сергеев С.В., Лукашев А.М., Леднев О.А. Эффективность традиционной терапии и хронотерапии престариумом у пожилых больных с полиморбидным синдромом // Клиническая медицина. – 2010. – № 2. – С. 71-72.
- Заславская Р.М., Васькова Л.Б., Болсуновская Ю.Р. Хронофармакология и хрономедицина как новый методологический подход к оптимизации лечения // Пространство и время. – 2012. – № 1. – С. 195-198.
- Кветной И.М., Ярилин А.А., Полякова В.О., Князькин И.В. Нейроэндокринология тимуса. СПб. ДЕАН. 2005. 160 с.
- Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: ФОЛИАН. 2008. 550 с.
- Кириллов О.И. Стрессовая гипертрофия надпочечников: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Владивосток. 1996. 43 с.
- Ковшик И.Г., Шурлыгина А.В., Силков А.Н. и др. Продукция цитокинов клетками лимфоидных органов мышей под влиянием введения интерлейкина-2 в разное время суток // Бюл. СО РАМН. – 2004 – № 4. – С. 66-80.
- Ковшик И.Г., Шурлыгина А.В., Сенников С.В., Силков А.Н., Труфакин В.А. Суточная динамика пролиферативной и

- цитокинпродуцирующей активности клеток тимуса и селезенки интактных мышей // Иммунология. – 2007. – Т. 28, № 4. – С. 205-208.
- Колесник А.Г., Побаченко С.В., Соловьев А.В. Оценка сопряженности показателей ЭЭГ мозга человека с параметрами фоновых инфразвуковых колебаний давления по данным мониторинговых исследований // Геофизические процессы и биосфера. – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 70-80.
- Колосова Н.Г., Мельников В.Н., Шорин Ю.П. Хаснулин В.И. Роль фотопериодики и суточного ритма глюкокортикоидов в синхронизации колебаний свободнорадикального окисления липидов у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1983. – Т. 95, № 9. – С. 99-101.
- Комаров Ф.И., Малиновская Н.К., Рапопорт С.И. Мелатонин и биоритмы организма. В кн. Хронобиология и хрономедицина. М.: «Триада – Х». 2000. – С. 82-90.
- Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. М.: «Триада – Х». 2000. 488 с.
- Комаров Ф.И., Романов Ю.А., Хетагурова Л.Г. Дизрегуляторная патология: Руководство для врачей и биологов. / Под ред. Г.Н. Крыжановского. М.: Медицина. 2002. 632 с.
- Кондашевская М.В. Гепарин – новая парадигма эффектов действия. М.: МДВ. 2011. 274 с.
- Косырева А.М., Симонова Е.Ю., Макарова О.В. Сравнительная характеристика реакции иммунной системы самцов и самок крыс Вистар в ответ на введение липополисахарида // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 4-5. – С. 319-320.
- Кравченко К.Л., Баженов А.А., Воронов В.А., Прикоп М.В. Анализ двигательной активности лабораторной популяции *Drosophila melanogaster* и ее связь с параметрами космической погоды // Космос и

- биосфера: тезисы докладов X Международной крымской конференции. Симферополь: АРИАЛ. 2013. С. 88–89.
- Крымский Г.Ф. Космические лучи и околоземное пространство // Солнечно-земная физика. ИСЗФ СО РАН. Иркутск. – 2002. – Вып. 2 (115). – С. 42-45.
- Кудрявцева А.С. // В кн.: Суточные ритмы физиологических процессов организма. М., 1972. С. 9-14.
- Кузин С.М., Романов Ю.А. Исследование параметров кинетики клеток эпителия пищевода мышей в зависимости от времени суток // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1979. – Т. 88, № 9. – С. 341-343.
- Кучеров И.С., Ритмичность трофических процессов в организме человека и животных. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Киев. 1971. 50 с.
- Линднер Д.П. Поберий И.А., Розкин М.Я., Ефимов В.С. Морфометрический анализ популяции тучных клеток // Арх. патол. – 1980. – № 6. – С. 60-64.
- Литвиненко Г.И. Морфоцитохимические особенности лимфоцитов крови человека в разные фазы суточного и годового циклов в норме и при развитии иммунодефицитного состояния. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск. 1998. 27 с.
- Литвиненко Г.И., Вербицкая Л.В., Тараданова Л.В. и др. Влияние амитриптилина на суточные колебания клеточного состава органов иммунной системы у крыс при экспериментальном десинхронозе // Бюлл. exper. биол. – 2000. – № 11. – С. 589-592.
- Мартынюк В.С., Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А. Биологические ритмы и электромагнитные поля среды обитания // Геофизические процессы и биосфера. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 5-23.
- Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М. У природы нет плохой погоды: космическая погода в нашей жизни. Киев. Издатель В.С. Мартынюк. 2008. 212 с.

- Мартынюк В.С., Темурьянц Н.А. Магнитные поля крайне низкой частоты как фактор модуляции и синхронизации инфранианых биоритмов у животных // Геофизические процессы и биосфера. – 2009. – Т.8, № 1. – С. 36-50.
- Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. М.: Наука. 1981. 278 с.
- Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: МИА. 2006. 544 с.
- Негода А.А., Сорока С.А. Акустический канал космического влияния на биосферу Земли // Космическая наука и технология. – 2001. – Т. 7, № 5/6. – С. 85-93.
- Николаев Ю.С., Рудаков Я.Я., Мансуров С.М., Мансурова Л.Г. Секторная структура межпланетарного магнитного поля и нарушения деятельности центральной нервной системы. В кн.: Проблемы космической биологии. Т. 43. М.: Наука. 1982. – С. 51-59.
- Новиков А.А., Александрова Е.Н., Диатроптова М.А., Насонов Е.Л. Роль цитокинов в патогенезе ревматоидного артрита // Научно-практическая ревматология. – 2010. – № 2. – С. 71-82.
- Новочадов В.В., Писарев В.Б. Эндотоксикоз: Моделирование и органопатология. Волгоград: ВолГМУ. 2005. 208 с.
- Оловников А.М. Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии // Биохимия. – 2003. – Т. 68, вып. 1. – С. 7-41.
- Останин А.А., Черных Е.Р. Сравнительная оценка уровня 17 цитокинов в сыворотке и цельной крови здоровых доноров методом проточной флюориметрии // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 25-32.
- Перцов С.С. Мелатонин в системных механизмах эмоционального стресса. М.: Изд. РАМН. 2011. 232 с.
- Писарев В.Б., Богомолова Н.В., Новочадов В.В. Бактериальный эндотоксикоз: взгляд патолога . Волгоград: ВолГМУ, 2008. 208 с.

- Питтендрих К. Циркадианные системы: захватывание. В кн. Биологические ритмы. Т. 1. М.: Мир. 1984. – С. 87-124.
- Пронина Т.С. Циркадные и инфрадианные ритмы экскреции тестостерона и альдостерона у детей // Проблемы эндокринологии. – 1992. – Т. 38, № 1. – С. 38-42.
- Пугачев М.К. Динамика макро-, микро- и ультраструктуры коры надпочечников крысы в ходе околочасового биоритма // Математическая морфология: электронный математический и медико-биологический журнал. – 1996. – Т. 1, № 1. – С. 83-88.
- Рабсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. М.: Мир. 2006. 320 с.
- Рагульская М.В., Хабарова О.В. Влияние солнечных возмущений на человеческий организм // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2001. – №2. – С. 5-15.
- Рагульская М.В., Чибисов С.М. Биотропное воздействие космической погоды: новые направления исследований // Владикавказский медико-биологический вестник. – 2011. – Т. 12, № 9. – С. 141-150.
- Рапопорт С.И., Большакова Н.Д., Малиновская Н.К., Бреус Т.К. Магнитные бури как стресс // Биофизика. – 1998. – Т. 43. Вып. 4. – С. 632-639.
- Рапопорт С.И., Бреус Т.К., Клейменова Н.Г., Козырева О.В., Малиновская Н.К. Геомагнитные пульсации и инфаркты миокарда // Тер арх. – 2006. – № 4. – С. 56-60.
- Рапопорт С.И., Голиченков В.А. Мелатонин: теория и практика. М.: Медпрактика-М. 2009. 100 с.
- Рапопорт С.И., Бреус Т.К. Мелатонин как один из важнейших факторов воздействия слабых естественных электромагнитных полей на больных гипертонической болезнью и ишемической болезнью сердца. Часть. 1. // Клиническая медицина. – 2011. – № 3. – С. 9-14.

- Романов Ю.А., Блохина А.Н. Изменение под влиянием тироксина действия адреналина на деление клеток // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1971. – Т. 72, № 9. – С. 94-97.
- Романов Ю.А. Междисциплинарный характер исследований временной организации биологических систем и их значение для медицины. В кн.: Биология и медицина. М.: Наука. 1985. – С. 90-103.
- Романов Ю.А., Ириков О.А., Филиппович С.С., Евстафьев В.В. 1996. Влияние инверсии фоторежима на разнопериодические биологические ритмы митотического индекса в эпителии пищевода мышей // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1996. – Т. 121, № 1. – С. 94-97.
- Романов Ю.А., Евстафьев В.В., Рыбаков В.П., Ириков О.А. 2002. Околочасовые биологические ритмы размножения клеток // Бюл. эксперим. биол. мед. – 2002. – Т. 134, № 7. – С. 97-100.
- Рябых Т.П., Модянова Е.А., Касаткина Н.Н., Бодрова Н.Б. Канцероген уретан индуцирует высокоамплитудные циркасептанные колебания в ткани-мишени и нарушает ритмику численности клеток в лимфоидных органах // Биофизика. – 1994. – № 5. – С. 931–938.
- Рябых Т.П. Биологические ритмы и ранние стадии опухолевого роста. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М. 1996. 33 с.
- Самохвалов В.П. Эффекты космофизических флуктуаций при психических заболеваниях // Проблемы космической биологии. Л.: Изд-во Наука. 1989. Т. 65. – С. 65–80.
- Саркисов Д.С. Очерки по структурным основам гомеостаза. М.: Медицина. 1997. 351 с.
- Селятицкая В.Г., Обухова Л.А. Эндокринно-лимфоидные отношения в динамике адаптивных процессов. Новосибирск.: СО РАМН. 2001. 168 с.
- Сидякин В.Г., Темуриянец Н.А., Макеев В.Б., Тишкин О.Г. Чувствительность человека к изменению солнечной активности // Успехи современной биологии. – 1983. – Т. 96, № 4. – С. 151-160.

- Слесарев С.М. Эпифизарная и тканевая регуляция временной организации пролиферации обновляющихся тканей. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М. 2009. 47 с.
- Слоним А.Д. Среда и поведение. Л.: Наука. 1976. 211с.
- Слепушкин В.Д., Пашинский В.Г. Эпифиз и адаптация организма. Томск: Издательство томского университета. 1982. 210 с.
- Степанова С.И. Биоритмологические аспекты проблемы адаптации. М.: Наука. 1986. 244 с.
- Струков А.И., Хмельницкий О.К., Петленко В.П. Морфологический эквивалент функции. М.: Медицина. 1983. 208 с.
- Суслов А.П., Рябых Т.П. Пульсация лимфоидных органов // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1981. – Т. 92., №7. – С. 85-87.
- Сушко Е.П. Биоритмы и клинические проявления инфекционных заболеваний у детей. Минск.: Беларусь. 1982. 93 с.
- Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М., Тишкин О.Г. Сверхнизкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире. Киев: Наук. думка. 1992. 188 с.
- Темурьянц Н.А., Шехоткин А.В. Хронобиологический анализ поведения интактных и эпифизэктомизированных крыс в тесте открытого поля // Журн. высш. нерв. деятельности им. И.П. Павлова. – 1999. – Т. 49. № 5. – С. 839-846.
- Темурьянц Н.А., Чужан Е.Н., Костюк А.С., Туманянц К.Н., Демцун Н.А., Ярмолук Н.С. Эффекты слабых электромагнитных факторов у беспозвоночных животных. Симферополь. ДИАЙПИ. 2012. 303 с.
- Трунова Г.В. Гистофизиология иммунной системы мышей Balb/c и C57B1/6 при холодовом стрессе. Автореф. ... канд. биол. наук. М. 2004. 26 с.
- Труфакин В.А., Шурлыгина А.В., Дергачева Т.И., Литвиненко Г.И. Циркадные вариации метаболической реакции лимфоцитов крови

- людей на гормональные стимулы в норме и при развитии иммунодефицита // Бюлл. эксп. биол. мед. – 1995. – № 2. – С. 181-183.
- Труфакин В.А., Шурлыгина А.В., Робинсон М.В. Функциональная морфология клеток иммунной системы в эксперименте и клинике // Морфология. – 2005. – Т. 128, № 4. – С. 20-25.
- Уинфри А.Т., Время по биологическим часам. М.: Мир. 1990. 208 с.
- Уорд Р.Р. Живые часы. М.: Мир. 1974. 242 с.
- Федоров В.И. Рост, развитие и продуктивность животных. М.: Колос. 1973. 272 с.
- Халберг Ф. Временная координация физиологических функций. В кн. Биологические часы. М.: Мир. 1964. – С. 475-509.
- Хетагурова Л.Г., Салбиев К.Д. Хронопатофизиология доклинических нарушений здоровья. Владикавказ: Проект-Пресс. 2000. 176 с.
- Хетагурова Л.Г., Салбиев К.Д., Беляев С.Д., Датиева Ф.С., Катаева М.Р., Тагаева И.Р. Хронопатология. М.: Наука. 2004. 355 с.
- Чернышев В.Б. Суточные ритмы активности насекомых. М.: Изд-во МГУ. 1984. 216 с.
- Чибисов С.М., Бреус Т.К., Левитин А.Е., Дрогова Г.М. Биологические эффекты планетарной магнитной бури // Биофизика. – 1995. – Т. 40, Вып. 5. – С. 959-960.
- Чибисов С. М., Катинас Г. С., Рагульская М. В. Биоритмы и Космос: мониторинг космобиосферных связей. М.: 2013. 442 с.
- Чижевский А.Л. Земное эхо солнечных бурь. М.: Мысль. 1976. 367 с.
- Шабатура Н.Н. Механизм происхождения инфраничных биологических ритмов // Успехи физиологических наук. – 1989. – Т. 20, № 3. – С. 86-103.
- Шорт Р.В. Гормональная регуляция размножения у млекопитающих / Под ред. К. Остин, Р. Шорт. М.: Мир. 1987. – С. 145-192.
- Шурлыгина А.В., Ковшик И.Г., Вербицкая Л.В., Труфакин В.А. Хронозависимое влияние введения интерлейкина-2 на соотношение

- субпопуляций клеток тимуса у мышей // Иммунология. – 2000. – № 1. – С. 21-24.
- Шурлыгина А. В., Дергачева Т. И., Ковшик И. Г., Старкова Е.В., Пантелеева Н.В., Абдалова А.М., Труфакин В.А. Клеточный состав лимфоидных органов крыс-самок с экспериментальным острым воспалением внутренних половых органов после введения интерферона- γ в разных суточных режимах // Иммунология. – 2008. – Т. 29, № 2. – С. 114-116.
- Щербань Э.А., Заславская Р.М., Тейблём М.М. Меланоксен как метеопротектор у больных с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца по данным эхокардиографии // Владикавказский медико-биологический вестник. – 2011. – Т. 13, № 20-21. – С. 17-20.
- Юшков Б.Г., Климин В.Г., Северин М.В. Система крови и экстремальные воздействия на организм. Екатеринбург: УрО РАН. 1999. 200 с.
- Яглова Н.В., Березов Т.Т. Роль тиреотропного гормона в изменении гормонального и цитокинового профиля при экспериментальном синдроме нетиреоидных заболеваний // Иммунология. – 2010. – № 3. – С. 146-151.
- Яглова Н.В., Яглов В.В. Биология секреции тучных клеток // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2012. – № 4. – С. 4-10.
- Язан О.Я., Байбиков Е.В. Анализ ритмического роста молодняка норки (*Mustela vison*) // Журн. общей биологии. – 1980. – Т. 41, №1. – С. 150-152.
- Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и патологии // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 7-14.
- Ahmad R., Halдар C. Photoperiodic regulation of MT1 and MT2 melatonin receptor expression in spleen and thymus of a tropical rodent *Funambulus pennanti* during reproductively active and inactive phases. // Chronobiol. Int. – 2010. – V. 27, N 3. – P. 446-462.

- Akashi M., Tsuchiya Y., Yoshino T., Nishida E. Control of intracellular dynamics of mammalian period proteins by casein kinase I epsilon (CKIepsilon) and CKIdelta in cultured cells. // *Mol. Cell. Biol.* – 2002. – V. 22. – P. 1693-1703.
- Almawi W.Y., Melemedjian O.K., Rieder M.A. An alternate mechanism of glucocorticoid anti-proliferative effect: promotion of a Th2 cytokine-secreting profile // *Clin. Transplant.* – 1999. – V. 13, N 5. – P. 365-374.
- Almawi W.Y., Abou Jaoude M.M., Li X.C. Transcriptional and post-transcriptional mechanisms of glucocorticoid antiproliferative effects. // *Hematol. Oncol.* – 2002. – V. 20, N 1. – P. 17-32.
- Alvarez J.D., Chen D., Storer E., Sehgal A. Non-cyclic and developmental stage-specific expression of circadian clock proteins during murine spermatogenesis. // *Biol. Reprod.* – 2003. – V. 69, N 1. – P. 81-91.
- Arendt J. Melatonin and the mammalian pineal gland. London.: Chapman and Hall. 1995.
- Arendt J. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. // *Rev. Reprod.* – 1998. – V. 3, N 1. – P. 13-22.
- Arjona A., Boyadjieva N., Sarkar D.K. Circadian rhythms of granzyme B, perforin, IFN-gamma, and NK cell cytolytic activity in the spleen: effects of chronic ethanol. // *J. Immunol.* – 2004. – V. 172, N 5. – P. 2811-2817.
- Aslam H., Rosiepen G., Krishnamurthy H., Arslan M., Clemen G., Nieschlag E., Weinbauer G.F. The cycle duration of the seminiferous epithelium remains unaltered during GnRH antagonist-induced testicular involution in rats and monkeys. // *J. Endocrinol.* – 1999. – V. 161, N 2. – P. 281-288.
- Bamberger C.M., Else T., Bamberger A.M., Beil F.U., Schulte H.M. Dissociative glucocorticoid activity of medroxyprogesterone acetate in normal human lymphocytes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1999. – V. 84, N 11. – P. 4055-4061.
- Batuman O.A., Ferrero A., Cupp C., Jimenez S.A., Khalili K. Differential regulation of transforming growth factor beta-1 gene expression by

- glucocorticoids in human T and glial cells. // J. Immunol. – 1995. – V. 155, N 9. – P. 4397-4405.
- Baumgartner R.A., Deramo V.A., Beaven M.A. Constitutive and inducible mechanisms for synthesis and release of cytokines in immune cell lines. // J. Immunol. – 1996. – V. 157, N 9. – P. 4087-4093.
- Bernard A.M., Bernard G.R. The immune response: targets for the treatment of severe sepsis. // Int. J. Inflam. – 2012. doi: 10.1155/2012/697592.
- Bertolucci C., Sovrano V.A., Magnone M.C., Foa A. Role of suprachiasmatic nuclei in circadian and light-entrained behavioral rhythms of lizards. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Physiol. – 2000. – V. 279, N 6. – P. 2121-2131.
- Bjarnason G.A., Jordan R. Circadian variation of cell proliferation and cell cycle protein expression in man: clinical implications. // Prog. Cell. Cycle Res. – 2000. – N 4. – P. 193-206.
- Bruce J.N., Ogden A.T. Surgical strategies for treating patients with pineal region tumors. // J. Neurooncol. – 2004. – V. 69, N 1-3. – P. 221-236.
- Cailotto C., La Fleur S.E., Van Heijningen C., Wortel J., Kalsbeek A., Feenstra M., Pévet P., Buijs R.M. The suprachiasmatic nucleus controls the daily variation of plasma glucose via the autonomic output to the liver: are the clock genes involved? // Eur. J. Neurosci. – 2005. – V. 22, N 10. – P. 2531-2540.
- Calvo J.R., Raffi-El-Indrissi M., Pozo D., Guerrero J.M. Immunomodulatory role of melatonin: specific binding sites in human and rodent lymphoid cells. // J. Pineal Res. – 1995. – V.18. – P.119-126.
- Carrillo-Vico A., Guerrero J.M., Lardone P.J., Reiter R.J. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system. // Endocrine. – 2005. – V. 27, N 2. – P. 189-200.
- Catini C., Legnaioli M. Role of mast cells in health: daily rhythmic variations in their number, exocytotic activity, histamine and serotonin content in the rat thyroid gland. // Eur. J. Histochem. – 1992. – V. 36, N 4. – P. 501-516.

- Celec P., Ostatnikova D., Putz Z., Kudela M. The circalunar cycle of salivary testosterone and the visual-spatial performance. // Bratisl. Lek. Listy. – 2002. – V. 103, N 2. – P. 59-69.
- Cherry N. Schumann Resonances, a plausible biophysical mechanism for the human health effects of Solar/Geomagnetic Activity. // Natural Hazards. – 2002. – V. 26. – P. 279-331.
- Ceinos R.M., Rábade S., Soengas J.L., Míguez J.M. Indoleamines and 5-methoxyindoles in trout pineal organ in vivo: daily changes and influence of photoperiod. // Gen. Comp. Endocrinol. – 2005. – V. 144, N 1. – P. 67-77.
- Chiappelli F., Gormley G.J., Gwirstman H.E., Lowy M.T., Nguyen L.D., Nguyen L., Esmail I., Strober M., Weiner H. Effects of intravenous and oral dexamethasone on selected lymphocyte subpopulations in normal subjects. // Psychoneuroendocrinology. – 1992. – V. 17, N 2-3. – P. 145-152.
- Cornélissen G., Portela A., Halberg F., Bolliet V., Falcon J. Toward a chronome of superfused pike pineals: about-weekly (circaseptan) modulation of circadian melatonin release. // In Vivo. – 1995. – V. 9, N 4. – P. 323-329.
- Debono M., Sheppard L., Irving S., Jackson P., Butterworth J., Brookes Z.L., Newell-Price J., Ross J.J., Ross R.J. Assessing adrenal status in patients before and immediately after coronary artery bypass graft surgery. // Eur. J. Endocrinol. – 2011. – V. 164, N 3. – P. 413-419.
- Delyukov A., Gorgo Y., Cornélissen G., Otsuka K., Halberg F. Infradian, notably circaseptan testable feedsideways among chronomes of the ECG and air temperature and pressure. // Biomed. Pharmacother. – 2001. – V. 55, Suppl 1. – P. 84-92.
- Demitrack M.A., Lewy A.J., Reus V.I. Pineal-adrenal interactions: the effect of acute pharmacological blockade of nocturnal melatonin secretion. // Psychiatry Res. – 1990. – V. 32, N 2. – P. 183-189.

- Deprés-Brummer P., Bourin P., Pages N., Metzger G., Lévi F. Persistent T lymphocyte rhythms despite suppressed circadian clock outputs in rats. // *Am. J. Physiol.* – 1997. – V. 273, N 6 Pt 2. – P. 1891–1899.
- Doehring C.H., Kraemer H.C., Keith H., Brodie H., Hamburg D.A. A cycle of plasma testosterone in the human male. // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1975. – V. 40, N 3. – P. 492-500.
- Dollins A.B., Lynch H.J., Wurrman R.J., Deng M.H., Lieberman H.R. Effects of illumination on human nocturnal serum melatonin levels and performance. // *Physiol. Behav.* – 1993. – V. 53, N 1. – P. 153-160.
- Dronca R.S., Leontovich A.A., Nevala W.K., Markovic S.N. Personalized therapy for metastatic melanoma: could timing be everything? // *Future Oncol.* – 2012. – V. 8, N 11. – P. 1401-1406.
- Duffield C.E. DNA microarray analyses of circadian timing: the genomic basis of biological time. // *J. Neuroendocrinol.* – 2003. V. 15. – P. 991-1002.
- Dunlap J.C. Molecular bases for circadian clocks. // *Cell.* – 1999. – V. 96. – P. 271-290.
- Empson J. Periodicity in body temperature in man. // *Experientia.* – 1977. – V. 33, N 3. – P. 342-343.
- Eriksson M., Sartono E., Martins C.L., Balé C., Garly M.L., Whittle H., Aaby P., Pedersen B.K., Yazdanbakhsh M., Erikstrup C., Benn C.S. A comparison of ex vivo cytokine production in venous and capillary blood. // *Clin. Exp. Immunol.* – 2007. – V. 150, N 3. – P. 469-476.
- Focan C., Cornélissen G., Halberg F. Chronometanalysis: circasemiseptan (3.5-day) pattern in mitotic activity of murine sarcoma after treatment with cyclophosphamide. // *In Vivo.* – 1995. – V. 9, N 4. – P. 401-406.
- Froy O. The relationship between nutrition and circadian rhythms in mammals. // *Front Neuroendocrinol.* – 2007. – V. 28, N 2-3. – P. 61-71.
- Fu L., Pelicano H., Liu J., Huang P., Lee C. The circadian gene *Period2* plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo. // *Cell.* – 2002. – V. 111. – P. 41-50.

- Fuentes-Pardo B, Guzmán-Gómez A.M., Lara-Aparicio M., López de Medrano S. A qualitative model of a motor circadian rhythm. // *Biosystems*. – 2003. – V. 71, N 1-2. – P. 61-69.
- del Gobbo V., Libri V., Villani N., Calio R., Nistico G. Pinealectomy inhibits interleukin-2 production and natural killer activity in mice. // *Int. J. Immunopharmacol.* – 1989. – V. 11, N 5. – P. 567-573.
- Halberg F., Nelson W. Chronobiologic optimisation of aging. // *Aging and Biological Rhythms*. N. Y. – L.: Plenum press, 1978. – P. 5-49.
- Halberg F., Sothorn R.B., Cornélissen G., Czaplicki J. Chronomics, human time estimation, and aging. // *Clin. Interv. Aging*. – 2008. – V. 3, N 4. – P. 749-760.
- Hamner W.M. Diurnal Rhythm and Photoperiodism in Testicular Recrudescence of the House Finch. // *Science*. – 1963. – V. 142, N 3597. – P. 1294-1295.
- Hattar S., Liao H.W., Takao M., Berson D.M., Yau K.W. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. // *Science*. – 2002. – V 295, N 5557. – P. 1065-1070.
- He P.J., Hirata M., Yamauchi N., Hashimoto S., Hattori M.A. The disruption of circadian clockwork in differentiating cells from rat reproductive tissues as identified by in vitro real-time monitoring system. // *J. Endocrinol.* – 2007. – V. 193, N 3. – P. 413-420.
- Henshaw I., Fransson T., Jakobsson S., Jenni-Eiermann S., Kullberg C. Information from the geomagnetic field triggers a reduced adrenocortical response in a migratory bird. // *J. Exp. Biol.* – 2009. – V. 212, N 18. – P. 2902-2907.
- Horseman N.D., Nollin L.J. The mitogenic, but not differentiative, response of crop tissue to prolactin is circadian phase dependent. // *Endocrinology*. – 1985. – V. 116. – P. 2085-2089.
- Ibata Y., Takahashi Y., Okamura H. The Suprachiasmatic Nucleus: A Circadian Oscillator. // *Neuroscientist*. – 1997. – V. 3. – P. 215-225.

- Inouye S. T., Kawamura H. Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1979. – V. 76, N 11. – P. 5962-5966.
- Jolley C.C., Ukai-Tadenuma M., Perrin D., Ueda H.R. A Mammalian circadian clock model incorporating daytime expression elements. // *Biophys. J.* – 2014. – V. 107, N 6. – P. 1462-1473.
- de Jong I.C., van Voorst A.S., Erkens J.H., Ehlhardt D.A., Blokhuis H.J. Determination of the circadian rhythm in plasma corticosterone and catecholamine concentrations in growing broiler breeders using intravenous cannulation. // *Physiol. Behav.* – 2001. – V. 74, N 3. – P. 299-304.
- Jozsa R., Halberg F., Cornélissen G., Zeman M., Kazsaki J., Csernus V., Katinas G.S., Wendt H.W., Schwartzkopff O., Stebelova K., Dulkova K., Chibisov S.M., Engebretson M., Pan W., Bubenik G.A., Nagy G., Herold M., Hardeland R., Hüther G., Pöggeler B., Tarquini R., Perfetto F., Salti R., Olah A., Csokas N., Delmore P., Otsuka K., Bakken E.E., Allen J., Amory-Mazaudin C. Chronomics, neuroendocrine feedsideways and the recording and consulting of nowcasts-forecasts of geomagnetics. // *Biomed. Pharmacother.* – 2005. – V. 59, Suppl 1. – P. 24–30.
- Jozsa R., Olah A., Cornélissen G., Csernus V., Otsuka K., Zeman M., Nagy G., Kazsaki 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.
- Kalsbeek A., van der Spek R., Lei J., Endert E., Buijs R.M., Fliers E. Circadian rhythms in the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. // *Mol. Cell Endocrinol.* – 2012. – V. 349, N 1. – P. 20-29.
- Kilger E., Heyn J., Beiras-Fernandez A., Luchting B., Weis F. Stress doses of hydrocortisone reduce systemic inflammatory response in patients

- undergoing cardiac surgery without cardiopulmonary bypass. // *Minerva Anesthesiol.* – 2011. – V. 77, N 3. – P. 268-274.
- Kitoh Y., Ohmori M., Araki N., Miyashita F., Ando H., Kobayashi E., Sogawa N., Fujimura A. Dosing-time-dependent differences in lipopolysaccharide-induced liver injury in rats. // *Chronobiol. Int.* – 2005. – V. 22, N 6. – P. 987-996.
- Klein D.C. The mammalian melatonin rhythm-generating system // *Light and Biological Rhythms in Man. Neuroscience* / Ed. L. Wetterberg. - Oxford: Pergamon Press (Wenner-Gren International Series. V. 63). 1993. – P. 55-72.
- Klein S.L., Roberts C.W. Sex Hormones and Immunity to Infection. Heidelberg: Springer. 2010. 329 p.
- Klose M., Grote K., Lerchl A. Temporal control of spermatogenesis is independent of the central circadian pacemaker in Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*). // *Biol. Reprod.* – 2011. – V. 84, N 1. – P. 124-129.
- Kondratov R.V., Kondratova A.A., Gorbacheva V.Y., Vykhovanets O.V., Antoch M.P. Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock. // *Genes Dev.* – 2006. – V. 20, N 14. – P. 1868-1873.
- Kondratov R.V., Antoch M.P. Circadian proteins in the regulation of cell cycle and genotoxic stress responses. // *TRENDS in Cell Biology.* – 2007. – V. 17, N 7. – P. 311-316.
- Konopka R.J., Benzer S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1971. – V. 68, N 9. – P. 2112-2116.
- Kretschmannova K., Svobodova I., Balik A., Mazna P., Zemkova H. Circadian rhythmicity in AVP secretion and GABAergic synaptic transmission in the rat suprachiasmatic nucleus. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2005. – V. 1048. – P. 103-115.
- Kronfol Z., Nair M., Zhang Q., Hill E.E., Brown M.B. Circadian immune measures in healthy volunteers: relationship to hypothalamic-pituitary-

- adrenal axis hormones and sympathetic neurotransmitters. // *Psychosom Med.* – 1997. – V. 59, N 1. – P. 42-50.
- Kumar S., Hedges S.B. A molecular timescale for vertebrate evolution. // *Nature.* – 1998. – V. 392, N 6679. – P. 917-920.
- Laitinen J. T., Saavedra J. M. Differential sensitivity to cations of the melatonin receptors in the rat area postrema and suprachiasmatic nuclei. // *J. Neurochem.* – 1990. – V. 55, N 4. – P. 1450-1453.
- Lee C.W., Chuang J.H., Wang P.W., Chang N.K., Wang H.C., Huang C.C., Tiao M.M., Lo S.K. Effect of glucocorticoid pretreatment on oxidative liver injury and survival in jaundiced rats with endotoxin cholangitis. // *World. J. Surg.* – 2006. – V. 30, N 12. – P. 2217-2226.
- Lee T.D. Shanahan F., Miller H.R., Bienenstock J., Befus A.D. Intestinal mucosal mast cells: isolation from rat lamina propria and purification using unit gravity velocity sedimentation. // *Immunology.* – 1985. – V. 55. – P. 721-728.
- Leposavić G., Pilipović I., Perišić M. Cellular and nerve fibre catecholaminergic thymic network: steroid hormone dependent activity. // *Physiol. Res.* – 2011. – V. 60, Suppl 1. – P. 71-82.
- Lévi F.A., Canon C., Touitou Y., Reinberg A., Mathé G. Seasonal modulation of the circadian time structure of circulating T and natural killer lymphocyte subsets from healthy subjects. // *J. Clin. Invest.* – 1988. – V. 81, N 2. – P. 407-413.
- Lewy A.J., Wehr T.A., Goodwin F.K., Newsome D.A., Markey S.P. Light suppresses melatonin secretion in humans. // *Science.* – 1980. – V. 210, N. 4475. – P. 1267-1269.
- Lewy H., Massot O., Touitou Y. Magnetic field (50 Hz) increases N-acetyltransferase, hydroxy-indole-O-methyltransferase activity and melatonin release through an indirect pathway. // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2003. – V. 79, N 6. – P. 431-435.

- Li J., Nguyen V., French B.A., Parlow A.F., Su G.L., Fu P., Yuan Q.X., French S.W. Mechanism of the alcohol cyclic pattern: role of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2000. – V. 279, N 1. – P. 118-125.
- Lissoni P., Rovelli F., Brivio F., Brivio O., Fumagalli L. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans. // *Nat Immun.* – 1998. – V. 16, N 1. – P. 1-5.
- Liu C., Weaver D.R., Jin X., Shearman L.P., Pieschl R.L., Gribkoff V.K., Reppert S.M. Molecular dissection of two distinct actions of melatonin on the suprachiasmatic circadian clock. *Neuron.* – 1997. – V. 19, N 1. – P. 91-102.
- Lopez-Gonzalez M.A., Martin-Cacao A., Calvo J.R., Reiter R.J., Osuna C., Guerrero J.M. Specific binding of 2-[125I]melatonin by partially purified membranes of rat thymus. // *J. Neuroimmunol.* – 1993. – V. 45, N 1-2. – P. 121-126.
- Lu W., Meng Q-J., Tyler N. J. C., Stokkan K-A., Loudon A. S. I. A circadian clock is not required in an arctic mammal. // *Current biology : CB.* – 2010. – V. 20, N 6. – P. 533-537.
- Macchi M.M., Bruce J.N. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. // *Front Neuroendocrinol.* – 2004. – V. 25, N 3-4. – P. 177-195.
- Maestroni G.J.M. T-helper-2 lymphocytes as a peripheral target of melatonin. // *J. Pineal Res.* – 1995. – V.18. – P. 84-89.
- Maestroni G.J.M. Melatonin as a therapeutic agent in experimental endotoxic shock. // *J. Pineal Res.* – 1996. – V.20. – P.84-89.
- Magnusson J., Lin X.P., Dahlman-Höglund A., Hanson L. L.A., Telemo E., Magnusson O., Bengtsson U., Ahlstedt S. Seasonal intestinal inflammation in patients with birch pollen allergy. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – V. 112, N 1. – P. 45-50.

- Martin-Cacao A., Lopez-Gonzalez M.A., Reiter R.J., Calvo J.R., Guerrero J.M. Binding of 2-[125I]melatonin by rat thymus membranes during postnatal development. // *Immunol. Lett.* – 1993. – V. 36, N 1. – P. 59-63.
- Maschke C., Harder J., Cornélissen G., Hecht K., Otsuka K., Halberg F. Chronoeoeidemiology of "strain": infradian chronomics of urinary cortisol and catecholamines during nightly exposure to noise. // *Biomed. Pharmacother.* – 2003. – V. 57. – P. 126-135.
- Masri S., Patel V. R., Eckel-Mahan K. L., Peleg S., Forne I., Ladurner A. G., Baldi P., Imhof A., Sassone-Corsi P. Circadian acetylome reveals regulation of mitochondrial metabolic pathways. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – V. 110. – P. 3339-3344.
- Masri S., Zocchi L., Katada S., Mora E., Sassone-Corsi P. The circadian clock transcriptional complex: metabolic feedback intersects with epigenetic control. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2012. – V. 1264. – P. 103-109.
- Matsuo T., Yamaguchi S., Mitsui S., Emi A., Shimoda F., Okamura H. Control mechanism of the circadian clock for timing of cell division in vivo. // *Science.* – 2003. – V. 302, N 5643. – P. 255-259.
- Menzies D., Pai M., Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. // *Ann. Intern. Med.* – 2007. – V. 146, N 5. – P. 340-354.
- Meyer A.C., Nieuwenhuis J.J., Kociszewska V.J., Joubert W.S., Meyer B.J. Dihydropyridine calcium antagonists depress the amplitude of the plasma melatonin cycle in baboons. // *Life Sci.* – 1986. – V. 39, N 17. – P. 1563-1569.
- Mitsutake G., Otsuka K., Hayakawa M., Sekiguchi M., Cornélissen G., Halberg F. Does Schumann resonance affect our blood pressure? // *Biomed. Pharmacother.* – 2005. – V. 59, Suppl 1. – P. 10-14.
- Mohawk J. A., Green C. B., Takahashi J. S. 2012. Central and peripheral circadian clocks in mammalian. // *Ann. Rev. Neurosci.* – 2012. – V. 35. – P. 445-462.

- Mori K., Yano T., Matumoto T. Chronobiological studies of 17-ketosteroid excretion. // J. Biometeorol. – 1985. – V. 29, Suppl. 1. – P. 116.
- Morin L. P. Neuroanatomy of the extended circadian rhythm system. // J. Exp. Neurol. – 2013. – V. 243. – P. 4-20.
- Morrey M.K., McLachlan J.A., Serkin C.D., Bakouche O., Activation of human monocytes by the pineal neurohormone melatonin. // J. Immunol. – 1994. – V. 153. – P. 2671-2680.
- Morse D., Cermakian N., Brancorsini S., Parvinen M., Sassone-Corsi P. No circadian rhythms in testis: Period1 expression is clock independent and developmentally regulated in the mouse. // Mol. Endocrinol. – 2003. – V. 17, N 1. – P. 141-151.
- Muir Y., Pownall R. Identification of a seven day biological cycle in the rat // J. Pharm. And Pharmacol. – 1983. – V. 35, N 3. – P. 186-188.
- Nakamura Y., Hara M., Shimokawa N., Hara M., Suzuki R., Tahara Y., Ishimaru K., Katoh R., Okumura K., Ogawa H., Shibata S., Nakao A. Circadian clock gene Period2 regulates a time-of-day-dependent variation in cutaneous anaphylactic reaction. // J. Allergy Clin. Immunol. – 2011. – V. 127, N 4. – P. 1038-1045.
- Olah A., Jozsa R., Csernus V., Sandor J., Muller A., Zeman M., Hoogerwerf W., Cornélissen G., Halberg F. Stress, geomagnetic disturbance, infradian and circadian sampling for circulating corticosterone and models of human depression? // Neurotox. Res. – 2008. – V. 13, N 2. – P. 85-96.
- Oner H., Kus I., Oner J., Ogetürk M., Ozan E., Ayar A. Possible effects of melatonin on thymus gland after pinealectomy in rats. // Neuro Endocrinol. Lett. – 2004. – V. 25, N 1-2. – P. 115-118.
- van Oort B.E., Tyler N.J., Gerkema M.P., Folkow L., Blix A.S., Stokkan K.A. Circadian organization in reindeer. // Nature. – 2005. – V. 438, N 7071. – P. 1095-1096.
- Palumbo M.L., Canzobre M.C., Pascuan C.G., Ríos H., Wald M., Genaro A.M. Stress induced cognitive deficit is differentially modulated in BALB/c and

- C57Bl/6 mice: correlation with Th1/Th2 balance after stress exposure. // J. Neuroimmunol. – 2010. – V. 218, N 1-2. – P. 12-20.
- Pegoraro M., Tauber E. The role of microRNAs (miRNA) in circadian rhythmicity. // J. Genet. – 2008. – V. 87, N 5. – P. 505-511.
- Rabbitt E.H., Gittoes N.J., Stewart P.M., Hewison M. // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2003. – V. 85, N 2-5. – P. 415-421.
- Rice T.W., Bernard G.R. Therapeutic intervention and targets for sepsis. // Annu. Rev. Med. – 2005. – V. 56. – P. 225-248.
- Raffi-El-Idrissi M., Calvo J.R., Pozo D., Harmouch A., Guerrero J.M. Specific binding of 2-(125J) iodmelatonin by rat splenocytes: characterization and its role of regulation of cyclic AMP production. // J. Neuroimmunol. – 1995. – V.57. – P.171-178.
- Rakova N., Jüttner K., Dahlmann A., Schröder A., Linz P., Kopp C., Rauh M., Goller U., Beck L., Agureev A., Vassilieva G., Lenkova L., Johannes B., Wabel P., Moissl U., Vienken J., Gerzer R., Eckardt K.U., Müller D.N., Kirsch K., Morukov B., Luft F.C., Titze J. Long-term space flight simulation reveals infradian rhythmicity in human Na(+) balance. // Cell Metab. – 2013. – V. 17, N 1. – P. 125-131.
- Ramsey K. M., Yoshino J., Brace C. S., Abrassart D., Kobayashi Y., Marcheva B., Hong H.-K., Chong J. L., Buhr E. D., Lee Ch., Takahashi J. S., Imai S., Bass J. Circadian clock feedback cycle through NAMPT-mediated NAD⁺ biosynthesis. // Science. – 2009. – V. 324, N 5927. – P. 651-654.
- Reinberg A., Smolensky M. Chronobiology and thermoregulation. // Pharmacol. Ther. – 1983. – V. 22, N 3. – P. 425-464.
- Reiter R.J., Tamura H., Tan D.X., Xu X.Y. Melatonin and the circadian system: contributions to successful female reproduction. // Fertil. Steril. – 2014. – V. 102, N 2. – P. 321-328.
- Rivera-Bermúdez M.A., Masana M.I., Brown G.M., Earnest D.J., Dubocovich M.L. Immortalized cells from the rat suprachiasmatic nucleus

- express functional melatonin receptors. // *Brain Res.* – 2004. – V. 1002, N 1-2. – P. 21-27.
- Rohleder N., Wolf J.M., Herpfer I., Fiebich B.L., Kirschbaum C., Lieb K. No response of plasma substance P, but delayed increase of interleukin-1 receptor antagonist to acute psychosocial stress. // *Life Sci.* – 2006. – V. 78, N 26. – P. 3082-3089.
- Roumestan C., Gougat C., Jaffuel D., Mathieu M. Glucocorticoids and their receptor: mechanisms of action and clinical implications. // *Rev. Med. Interne.* – 2004. – V. 25, N 9. – P. 636-647.
- Sack R.L., Lewy A.J., Blood M.L., Keith L.D., Nakagawa H. Circadian rhythm abnormalities in totally blind people: incidence and clinical significance. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1992. – V. 75, N 1. – P. 127-134.
- Sakamoto S., Okanoue T., Itoh Y., Nakagawa Y., Nakamura H., Morita A., Daimon Y., Sakamoto K., Yoshida N., Yoshikawa T., Kashima K. Involvement of Kupffer cells in the interaction between neutrophils and sinusoidal endothelial cells in rats. // *Shock.* – 2002. – V. 18, N 2. – P. 152-157.
- Sato T.K., Panda S., Miraglia, L.J. Reyes T.M., Rudic R.D., McNamara P., Naik K.A., FitzGerald G.A., Kay S.A., Hogenesch J.B. A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. // *Neuron.* – 2004. – V. 43, N 4. – P. 527-537.
- Scheving L.E., Tsai T.H., Powell E.W., Pasley J.N., Halberg F., Dunn J. Bilateral lesions of suprachiasmatic nuclei affect circadian rhythms in [3H]-thymidine incorporation into deoxyribonucleic acid in mouse intestinal tract, mitotic index of corneal epithelium, and serum corticosterone. // *Anat. Rec.* – 1983. – V. 205, N 3. – P. 239-249.
- Scheving L.E., Tsai T.H., Pauly J.E., Halberg F. Circadian effect of ACTH 1-17 on mitotic index of the corneal epithelium of BALB/C mice. // *Peptides.* – 1983. – V. 4, N 2. – P. 183-190.

- Schmidt T. M., Do M. T. H., Dacey D., Lucas R., Hattar S., Matynia A. 2011. Melanopsin-positive intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: from form to function. // *J. Neurosci.* – 2011. – V. 31, N 45. – P. 16094-16101.
- Schell H., Hornstein O.P., Schwarz W. Human epidermal cell proliferation with regard to circadian variation of plasma cortisol. // *Dermatologica.* – 1980. – V. 161, N 1. – P. 12-21.
- Seery J.P., Janes S.M., Ind P.W., Datta A.K. Circadian rhythm of cutaneous hypersensitivity reactions in nocturnal asthma. // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 1998. – V. 80, N 4. – P. 329-332.
- Selmaoui B., Touitou Y. Age-related differences in serum melatonin and pineal NAT activity and in the response of rat pineal to a 50-Hz magnetic field. // *Life Sci.* – 1999. – V. 64, N 24. – P. 2291-2297.
- Shibata S., Cassone V.M., Moore R.Y. Effects of melatonin on neuronal activity in suprachiasmatic nucleus in vitro. // *Neurosci. Lett.* – 1989. – V. 97. – P. 140-144.
- da Silva J.C., Vespúcio M.V., Dalio R.B., Guimarães M.A., Pinto A.P., Garcia W.N., Zucoloto S., Garcia S.B. Hyperplasia of the colonic neuroendocrine cells after pinealectomy in rats. The new evidence for the existence of connections between the distant parts of the diffuse neuroendocrine system. // *Neuro Endocrinol. Lett.* – 2005. – V. 26, N 5. – P. 511-514.
- Stokkan K.A., van Oort B.E., Tyler N.J., Loudon A.S. Adaptations for life in the Arctic: evidence that melatonin rhythms in reindeer are not driven by a circadian oscillator but remain acutely sensitive to environmental photoperiod. // *J. Pineal. Res.* – 2007. – V. 43, N 3. – P. 289-293.
- Straub R.H., Cutolo M. Circadian rhythms in rheumatoid arthritis: implications for pathophysiology and therapeutic management. // *Arthritis Rheum.* – 2007. – V. 56, N 2. – P. 399-408.
- Sugden D. Down-regulation of pinealocyte protein kinase C: effect on alpha 1-adrenergic potentiation of beta-adrenoceptor stimulation of cyclic AMP

- accumulation and induction of serotonin N-acetyltransferase activity. // *J. Neurochem.* – 1991. – V. 57, N 1. – P. 216-221.
- Sugden D. Adrenergic mechanisms regulating pineal melatonin synthesis. // *Adv. Pineal Res.* – 1991. – V. 5. – P. 33-38.
- Sulli A., Montecucco C.M., Caporali R., Cavagna L., Montagna P., Capellino S., Fazzuoli L., Seriola B., Alessandro C, Secchi M.E., Cutolo M. Glucocorticoid effects on adrenal steroids and cytokine responsiveness in polymyalgia rheumatica and elderly onset rheumatoid arthritis. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 1069. – P. 307–314.
- Susko I., Mornjakovic Z.M. Effect of pinealectomy on mastocyte count in the thymus of rats. // *Med. Arh.* – 2003. – V. 57, N1 – P. 7-8.
- Suzuki S., Toyabe S., Moroda T., Tada T., Tsukahara A., Iiai T., Minagawa M., Maruyama S., Hatakeyama K., Endoh K., Abo T. Circadian rhythm of leucocytes and lymphocytes subsets and its possible correlation with the function of the autonomic nervous system. // *Clin. Exp. Immunol.* – 1997. – V. 110, N 3. – P. 500-508.
- Terao K., Suzuki J., Ohkura S. Circadian rhythm in circulating CD16-positive natural killer (NK) cells in macaque monkeys, implication of plasma cortisol levels. // *Primates.* – 2002. – V. 43, N 4. – P. 329-338.
- Tian Y.M., Li P.P., Jiang X.F., Zhang G.Y., Dai Y.R. Rejuvenation of degenerative thymus by oral melatonin administration and the antagonistic action of melatonin against hydroxyl radical-induced apoptosis of cultured thymocytes in mice. // *J. Pineal. Res.* – 2001. – V. 31, N 3. – P. 214-221.
- Tsai T.H., Scheving L.E., Marques N., Sánchez de la Peña S., Halberg F. Circadian-infradian intermodulation of corneal epithelial mitoses in adult female rats. // *Prog. Clin. Biol. Res.* – 1987. – V. 227. – P. 193-198.
- Tsai T.H., Scheving L.E., de la Peña S.S., Marques N., Halberg F. Circaseptan (about 7-day) modulation of circadian rhythm in corneal mitoses of Holtzman rats. // *Anat. Rec.* – 1989. – V. 225, N 3. – P. 181-188.

- Turek F.W., Joshu C., Kohsaka A., Lin E., Ivanova G., McDearmon E., Laposky A., Losee-Olson S., Easton A., Jensen D.R., Eckel R.H., Takahashi J.S., Bass J. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. // *Science*. – 2005. – V. 308, N 5724. – P. 1043-1045.
- Ueda H.R., Chen W., Adachi A., Wakamatsu H., Hayashi S., Takasugi T., Nagano M., Nakahama K., Suzuki Y., Sugano S., Iino M., Shigeyoshi Y., Hashimoto S. A transcription factor response element for gene expression during circadian night. // *Nature*. – 2002. – V. 418, N 6897. – P. 534-539.
- Valekunja U.K., Edgar R.S., Oklejewicz M., van der Horst G.T.J., O'Neill J.S., Tamanini F., Turner D.J., Reddy A.B. Histone methyltransferase MLL3 contributes to genome-scale circadian transcription. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2013. – V. 110, N 4. – P. 1554-1559.
- Vazan R., Beder I., Styk J. Melatonin and the heart. // *Cesk. Fysiol.* – 2004. – V. 53, N 1. – P. 29-33.
- Vera L.M., Lopez-Olmeda J.F., Bayarri M.J., Madrid J.A., Sanchez-Vazquez F.J. Influence of light intensity on plasma melatonin and locomotor activity rhythms in tench. // *Chronobiol. Int.* – 2005. – V. 22, N 1. – P. 67-78.
- Vivien-Roels B., Pévet P., Zarazaga L., Malpaux B., Chemineau P. Daily and light-at-night induced variations of circulating 5-methoxytryptophol (5-ML) in ewes with respectively high and low nocturnal melatonin secretion. // *J. Pineal Res.* – 1999. – V. 27, N 4. – P. 230-236.
- Wever R.A. Influence of physical workload on freerunning circadian rhythms of man. // *Pflugers. Arch.* – 1979. – V. 381, N 2. – P. 119-126.
- Weydah A., Sothorn R.B., Cornelissen G., Wetterberg L. Geomagnetic activity influences the melatonin secretion at latitude 70 degrees N. // *Biomed. Pharmacother.* – 2001. – V. 55. – P. 57-62.
- Withyachumnarnkul B., Nonaka K.O., Santana C., Attia A.M., Reiter R.J. Interferon-gamma modulates melatonin production in rat pineal gland in organ culture. // *J. Interferon Rev.* – 1990. – V. 10, N 4. – P. 403-411.

- Wood S., Loudon A. Clocks for all seasons: unwinding the roles and mechanisms of circadian and interval timers in the hypothalamus and pituitary. // J. Endocrinol. – 2014. – V. 222, N 2. – P. 39-59.
- Yamazaki S., Straume M., Tei H., Sakaki Y., Menaker M., Block G.D. Effects of aging on central and peripheral mammalian clocks. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – V. 99, N 16. – P. 10801-10806.
- Zawilska J.B., Berezińska M., Lorenc A., Skene D.J., Nowak J.Z. Retinal illumination phase shifts the circadian rhythm of serotonin N-acetyltransferase activity in the chicken pineal gland. // Neurosci. Lett. – 2004. – V. 360, N 3. – P. 153-156.