

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**

**АВТОРЕФЕРАТ**

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

**Москва – 2015**

**Работа выполнена в ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» РАМН**

**Научные консультанты:**

Доктор медицинских наук, профессор

**Макарова Ольга Васильевна**

Доктор биологических наук,

**Кондашевская Марина Владиславовна**

доцент

**Официальные оппоненты:**

Главный научный сотрудник лаборатории цитологии ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор

**Бродский Всеволод Яковлевич**

Заведующий кафедрой биологии, экологии и природопользования ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», доктор биологических наук, доцент

**Слесарев Сергей Михайлович**

Профессор кафедры нормальной физиологии медицинского факультета ФГАОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», доктор медицинских наук

**Северин Александр Евгеньевич**

**Ведущая организация:** ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова МЗ РФ (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2)

Защита состоится 23 апреля 2015 г. в 12 часов на заседании диссертационного совета Д 001.004.01 при ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН по адресу: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН по адресу: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3 и на сайте института [www.morfolhum.ru](http://www.morfolhum.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

**Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук**

Л.П. Михайлова

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Актуальность темы.** *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).

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, 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).

Инфраниантные 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., Темурыянц Н.А., 2009).

Таким образом, немногочисленные и фрагментарные данные литературы об инфраниантных биоритмах эндокринной и иммунной системы не дают систематизированного представления об их универсальности, длительности периодов и механизмах формирования.

**Цель исследования** – изучить динамику морфофункциональных параметров эндокринной и иммунной системы и пролиферативной активности эпителия в инфраниантном диапазоне биоритмов у млекопитающих и птиц для установления универсальных закономерностей инфраниантных 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 инфраниантном диапазоне биоритмов
2. Установить инфраниантные 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 инфраниантном диапазоне биоритмов
4. Изучить инфраниантные 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 инфраниантном диапазоне биоритмов
6. Охарактеризовать морфофункциональные изменения тимуса и селезенки у половозрелых самцов крыс Вистар в инфраниантном 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 батиразу уровня глюкокортикоидных гормонов повышается продукция провоспалительных цитокинов ИЛ-2 и ИНФ $\gamma$ , а в акрофазу – противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, рецепторного антагониста ИЛ-1 и TGF- $\beta$ 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. Инфраниантные биоритмы необходимо учитывать при оценке функциональной активности иммунной системы в норме и при воспалительных заболеваниях.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедре физиологии и общей патологии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова и кафедре нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Установлены универсальные для млекопитающих и птиц инфраниантные биоритмы морфофункционального состояния эндокринной и иммунной системы и динамики митотической активности эпителия.
2. Инфраниантные 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 инфраниантных биоритмов, что позволяет прогнозировать их фазы.
4. Синфазное проявление инфраниантных биоритмов, как у большинства членов популяции одного вида, так и у разных видов млекопитающих и птиц, сохранение периода и фазы инфраниантных биоритмов в условиях длительной световой депривации и их относительная автономность от циркадианной системы указывают на внешний фактор их синхронизации.

**Апробация работы:** Материалы диссертации доложены на научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2012 г.), I Международной конференции «Морфоклинические аспекты безопасности жизнедеятельности» (Воронеж, 2012 г.), II Российском съезде по хронобиологии и хрономедицине с международным участием (Москва, 2012 г.), XIV Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2012 г.), XIX Межгородской конференции молодых ученых: «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург,

2013 г.), VI Архангельской международной медицинской научной конференции молодых учёных и студентов (Архангельск, 2013 г.), IV Съезде Российского общества патологоанатомов (Белгород, 2013 г.), XXII Съезде Физиологического общества имени И.П. Павлова (Волгоград, 2013 г.), X Международной крымской конференция: «Космос и биосфера» (Коктебель, Украина, 2013 г.), Всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные проблемы морфологии, адаптогенеза и репаративных гистогенезов», посвященной памяти чл.-корр. АМН СССР профессора Ф.М.Лазаренко (Оренбург, 2013 г.), Международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2014 г.)

**Публикации:** По материалам диссертации опубликовано 28 работ, из них 13 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 263 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения и выводов. Работа иллюстрирована 65 рисунками и 10 таблицами. Список литературы включает 290 источников, из них 144 отечественных и 146 зарубежных.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Эксперименты выполнены на 1680 самцах крыс Вистар (питомник «Столбовая») и 538 особях японских перепелов (*Coturnix japonica*) из них 453 самца и 85 самок. Исследование периферической крови проведено у 8 мужчин и 6 женщин в возрасте 23–33 лет с отсутствием соматических заболеваний и не подвергавшихся стрессорному воздействию в период проведения исследования. На проведение этого исследования у них было получено добровольное информированное согласие. Содержание животных и эксперименты выполнены в соответствии с приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. и Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). На проведение исследования получено разрешение биоэтического комитета ФГБУ «НИИМЧ» РАМН, протокол № 8 от 20.01.2009 г.

Забор крови у людей проводили из локтевой вены, а у перепелов из вены голени около 8 ч по местному солнечному времени (Москва), когда уровень исследуемых стероидных гормонов максимален (Дедов И.И., Дедов В.И., 1992; Henshaw I. et al., 2009).

С целью исследования инфраниантных ритмов у самцов крыс Вистар на уровне **популяции** забор крови из хвостовой вены проводили под легким эфирным наркозом ежедневно у разных (n=6–9) 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 состояния хронического стресса, вызванного ежедневной процедурой забора крови.

С целью изучения **индивидуальных** вариаций инфраниантных биоритмов забор крови из хвостовой вены у крыс проводили при

кратковременной иммобилизации ежедневно в 8.00–8.30 ч утра у одних и тех же животных.

Животных выводили из эксперимента ежедневно по 5–9 особей передозировкой диэтилового эфира с учетом формы суточной активности: самцов крыс Вистар около 8 ч, а перепелов около 21 ч. Выбор таких сроков определялся максимальным значением митотического индекса у этих видов в данное время суток (Кудрявцева А.С., 1972; Horseman N.D., Nollin L.J., 1985).

#### **Методы исследования**

**Гистологические и морфометрические.** Фрагменты среднего отдела пищевода и роговицу фиксировали в жидкости Карнуа в течение 2 ч, 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, тимус, левый надпочечник и кусочки правой доли печени фиксировали в жидкости Буэна в течение 24 ч, затем проводили по спиртам восходящей концентрации и заливали в парафин. Изготавливали гистологические срезы толщиной 5–7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. В гистологических срезах селезенки и тимуса методом точечного счета оценивали объемную долю функциональных зон под световым микроскопом при увеличении 200. Для морфометрической оценки структурно-функциональных зон надпочечников использовали 3–5 срезов с наибольшим диаметром из серии ступенчатых срезов. Выраженность патологических изменений в печени оценивали слепым методом полуколичественно в баллах (Косырева А.М. и соавт., 2013).

**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 по методу Д.П. Линднер и соавт. (1980) в гистологических препаратах, окрашенных толуидиновым синим рН 2.0 (Lee T.D. et al., 1985).

**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» (ЗАО «Вектор-Бест»,

Новосибирск). К крови, разведенной в 5 раз ростовой средой, добавляли смесь митогенов, содержащую фитогемагглютинин ФГА-М, ФГА-П, конканавалин А (Кон-А) и липополисахарид (ЛПС) в соотношении 2:2:2:1, в конечной суммарной концентрации – 14 мкг/мл. Затем в течение суток кровь с митогенами инкубировали при 37 °С в СО<sub>2</sub>-инкубаторе.

Клетки из селезенки крыс выделяли с помощью гомогенизатора Поттера. Для индукции синтеза и секреции цитокинов суспензию ядросодержащих клеток селезенки в концентрации  $5 \cdot 10^6$  клеток на 1 мл, культивировали 24 ч в ростовой среде с 5% фетальной сыворотки и добавлением Кон-А в конечной концентрации 5 мкг/мл в СО<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С.

**Метод иммуноферментного анализа (ИФА).** Для определения уровня кортизола и тестостерона в сыворотке крови человека использовали ИФА наборы «DRG» (Германия); ИЛ-2 и ИЛ-1РА – «Bender MedSystems» (Австрия). В супернатантах концентрацию цитокинов ИФН $\gamma$ , ИЛ-2, ИЛ-10 определяли с использованием наборов «Bender MedSystems» (Австрия).

Определение уровня кортикостерона и неоптерина в сыворотке крови крыс проводили ИФА наборами «IBL» (Германия); тестостерона – «DVC» (Канада); TGF- $\beta$ 1 – «Bender MedSystems» (Австрия); мелатонина и С-реактивного белка – «Cusabio biotech co., LTD» (Китай). Концентрацию цитокинов ИЛ-2, -4, -6, -10, ФНО- $\alpha$ , ИФН $\gamma$  в супернатантах определяли с использованием ИФА наборов «Bender MedSystems» (Австрия).

Уровень кортикостерона и тироксина у перепелов в сыворотке крови определяли с использованием ИФА наборов компании «Cusabio biotech co., LTD» (Китай) и «Monobind Inc.» (США), соответственно.

Регистрацию результатов реакции проводили на микропланшетном ИФА анализаторе «ANTHOS 2010» (Австрия).

**Биохимические.** С целью оценки тяжести поражения печени при системном воспалительном ответе (СВО), индуцированном внутрибрюшинным введением высокой (1,5 мг/кг) дозы ЛПС *E. coli* штамма O26:B6 «Sigma», 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).

**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.

**Проточной цитофлуориметрии.** Процентное содержание НК-клеток (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>) и иммунорегуляторный индекс Тх/Тц (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> / CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) лимфоцитов периферической крови у людей определяли с использованием меченных флюорохромами четырехцветных антител «eBioscience» (Австрия). Для фенотипического определения состава лимфоцитов тимуса у крыс клетки выделяли с помощью стеклянного гомогенизатора Поттера.

Процентное содержание CD3<sup>+</sup>; CD4<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup> тимоцитов оценивали с использованием меченных флюорохромами антител «eBioscience» (Австрия). Исследования проводили на проточном цитофлюориметре Cytomics FC500 «Beckman Coulter» (США).

**Радиоизотопный.** С целью оценки пролиферативной активности в тимусе 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 добавляли 100 мкл среды, содержащей <sup>3</sup>H-тимидин с активностью 1 мкCi. Планшет помещали на 4 ч в CO<sub>2</sub>-инкубатор. После этого клетки снимали на фильтры при помощи харвестера. Включение метки <sup>3</sup>H-тимидина оценивали на β-спектрометре «ЛКВ» (Финляндия).

Для оценки корреляционных связей митотической активности эпителия с динамикой гелиогеофизических параметров (*Ap*-индекс, среднесуточное значение Vz-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](http://www.izmiran.rssi.ru) и службы Солнца (США) [www.swpc.noaa.gov](http://www.swpc.noaa.gov).

**Статистические.** 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, 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  $p < 0.05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

**Морфофункциональные изменения параметров эндокринной системы в инфрадианном диапазоне биоритмов у экспериментальных животных и человека**

*Инфрадианные биоритмы эндокринной системы у самцов крыс Вистар.* Исследовали динамику структурных изменений функциональных зон коры надпочечников, уровня кортикостерона, мелатонина и тестостерона в сыворотке крови. Выбор в качестве параметров оценки инфрадианных биоритмов уровня мелатонина и кортикостерона определялся тем, что эти гормоны координируют функциональное состояние всех систем организма в

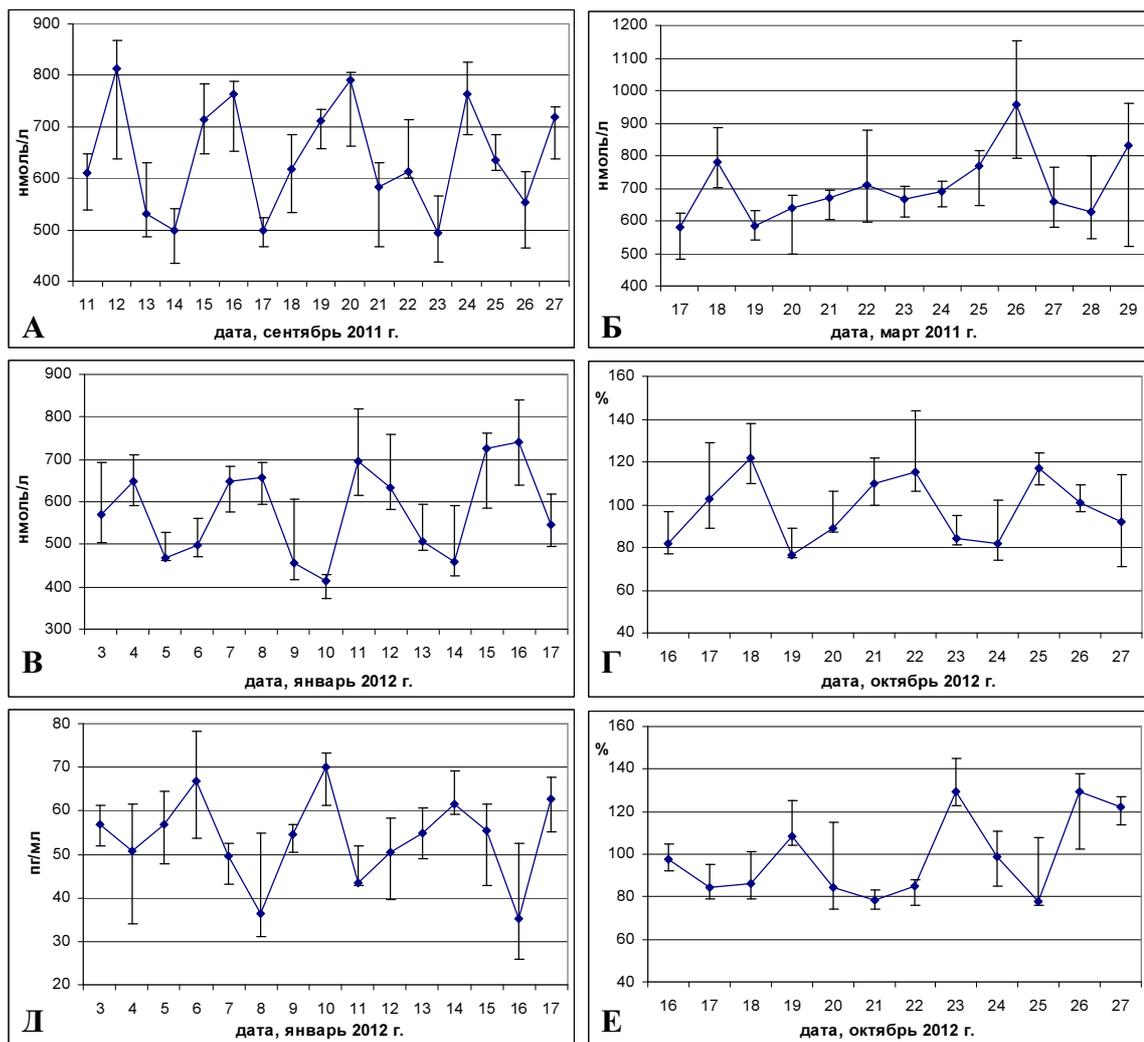
соответствии с изменением режима свет : темнота, сон : бодрствование. Кроме того, в ряде работ выявлено изменение их продукции в ответ на колебания геомагнитного поля (Jozsa R. et al., 2005; Olah A. et al, 2008). Исследование уровня тестостерона проводили связи с тем, что он оказывает выраженное действие на иммунную систему (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 инфрадианный биоритм (рис. 1 А–Г). Другими авторами в кратковременном исследовании динамики уровня кортикостерона у крыс был выявлен 4.2-суточный биоритм (Jozsa R. et al., 2005).

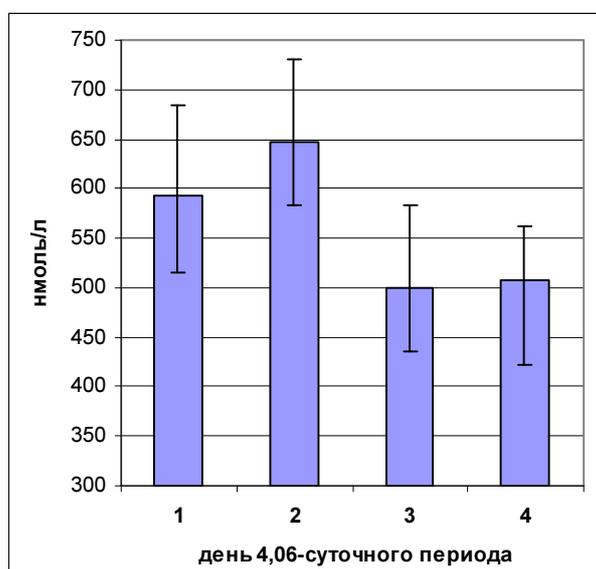
Нами установлено, что хронический стресс-фактор, которым в одном из экспериментов являлся ежедневный эфирный наркоз, вызывает исчезновение инфрадианного ритма уровня кортикостерона. Следует отметить, что в первые 8 суток ежедневного эфирного наркоза, когда инфрадианный ритм еще сохраняется и амплитуда колебаний уровня кортикостерона относительно высокая, период и фаза биоритма этого гормона не изменялись.

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 на 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.

По данным хронологического анализа календарных дат, в которые у самцов крыс Вистар выявлены максимальные значения уровня кортикостерона, нами установлено, смещение акрофазы 4-суточного биоритма каждые 68–72 сут на 1 сутки вперед, что определяет более точный период биоритма этого гормона равный 4.06 сут. При распределении методом наложенных эпох по дням 4.06-суточного периода значений уровня кортикостерона, зарегистрированных в разных сериях исследования в течение полутора лет, выявлена статистическая значимость различия показателей в акрофазе и батифазе этого биоритма (рис. 2). Mori K. и соавт. (1985) в динамике уровня экскреции с мочой 17-оксикортикостероидов у мужчин выявил в весенний сезон 3.87-, летний – 5.16-, осенний 3.87-, зимний 3.44-суточный биоритм, тогда как средний период инфрадианного биоритма



**Рис. 1.** Динамика уровня кортикостерона (А–Г) и мелатонина (Д–Е) в сыворотке крови у половозрелых самцов крыс Вистар. Представлены медианы и интерквартильный размах Med (25–75 %). В период с 16 по 27 октября 2012 г. (Г и Е) показаны отклонения от индивидуальных средних значений в процентах



**Рис. 2.** Суммарные данные уровня тестостерона и кортикостерона в сыворотке крови у самцов крыс Вистар за период с 17 марта 2011 г. по 27 октября 2012 г. Распределение по дням 4,06-суточного периода. Статистическая значимость различий:  $p_{2-4}=0,0001$

уровня кортизола составил 4.08 сут, что согласуется с результатами наших исследований.

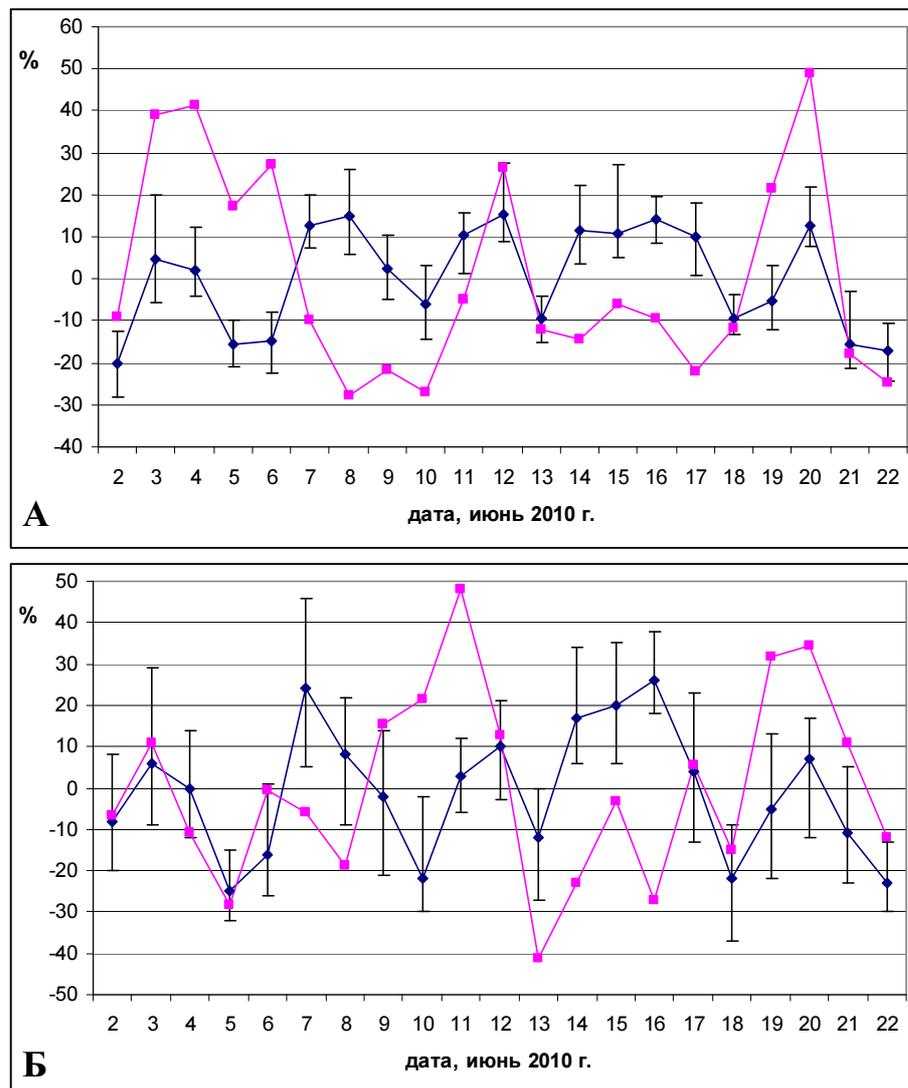
Наряду с кортикостероном, у самцов крыс Вистар во все периоды исследования проводили определение уровня *тестостерона*. Полученные значения уровня тестостерона были распределены методом наложенных эпох по дням 4.06-суточного периода. Показатели уровня тестостерона в акрофазе этого ритма составили 14.7 (9.3–18.5) нмоль/л и статистически значимо различались со значениями в батифазе 8.2 (3.8–12.8) нмоль/л ( $p=0.01$ ). Наблюдалось синфазное проявление 4.06-суточных биоритмов уровня тестостерона и кортикостерона.

В динамике изменений *ширины функциональных зон коры надпочечников* у половозрелых самцов крыс установлена 4-суточная периодичность. Показатели ширины клубочковой и сетчатой зон имели максимальные значения в одни и те же календарные даты, а пучковой – на сутки позже. Показано, что максимальные значения толщины сетчатой зоны коры надпочечников предшествовали акрофазе биоритма уровня тестостерона, в то время как максимальные значения толщины пучковой зоны и уровня кортикостерона в сыворотке крови совпадали.

В динамике уровня мелатонина в сыворотке крови у самцов крыс Вистар обнаружен также 4-суточный инфрадианный биоритм, находящийся в противофазе с 4-суточным ритмом уровня кортикостерона и тестостерона (рис. 1 Д–Е). Между показателями кортикостерона и мелатонина выявлялась достоверная отрицательная корреляционная: 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.  $r=-0.67$  ( $p=0.034$ ), что согласуется с исследованиями других авторов, установивших, что мелатонин оказывает ингибирующее влияние на синтез глюкокортикоидных гормонов и тестостерона (Перцов С.С., 2011; Reiter R.J. et al., 2014).

*Инфрадианные биоритмы эндокринной системы у человека.* 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 наблюдались в одни и те же календарные даты (рис. 3). Сходные 3.5–4.5-суточные периодичности в динамике уровня кортизола и тестостерона установлены другими авторами (Пронина Т.С., 1992; Ермакова И.В., 2002; Maschke C. et al., 2003).

Индивидуальные различия инфрадианных биоритмов уровня кортизола и тестостерона характеризовались у некоторых мужчин двукратным увеличением 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).



**Рис. 3. Динамика уровня кортизола и тестостерона (% от индивидуального среднего уровня) в сыворотке крови у здоровых мужчин в период со 2 по 22 июня 2010 г.**

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

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

Статистическая значимость различий: **А** p<sub>2-4</sub>=0,04; p<sub>6-8</sub>=0,004; p<sub>10-12</sub>=0,03; p<sub>13-16</sub>=0,04; p<sub>16-18</sub>=0,001; p<sub>18-20</sub>=0,02; p<sub>20-22</sub>=0,008. **Б** p<sub>5-7</sub>=0,004; p<sub>7-10</sub>=0,02; p<sub>10-12</sub>=0,04; p<sub>16-18</sub>=0,001; p<sub>18-20</sub>=0,048; p<sub>20-22</sub>=0,04.

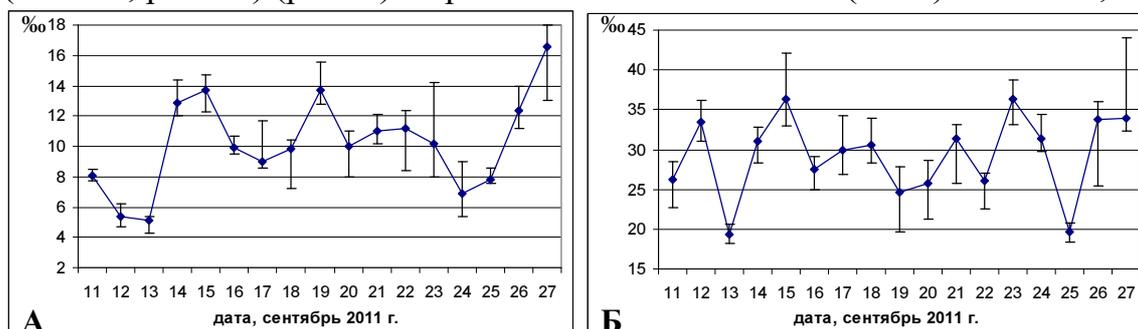
При исследовании динамики уровня кортизола в сыворотке крови у **женщин** репродуктивного возраста в фолликулярную фазу овариально-менструального цикла была выявлена также 4-суточная периодичность, что указывает на отсутствие половых различий длины периода инфрадианного ритма уровня кортизола.

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 4-суточного инфрадианного биоритма уровня глюкокортикоидных гормонов у млекопитающих.

#### **Митотическая активность эпителия в инфрадианном диапазоне периодов**

Пролиферативная активность тканей регулируется нервной, эндокринной и иммунной системами и определяется их функциональным состоянием (Бабаева А.Г., 2009). Глюкокортикоидные гормоны усиливают дифференцировку клеток и одновременно подавляют их способность к делению, являясь одними из главных синхронизаторов митотической активности обновляющихся тканей (Алов А.И., 1964; Романов Ю.А. и соавт., 2002). Поэтому исследование динамики изменения показателя митотического индекса может использоваться для изучения инфрадианных биоритмов.

*Инфрадианные ритмы митотической активности эпителия пищевода и роговицы у самцов крыс Вистар.* Динамика митотической активности эпителия пищевода у половозрелых самцов крыс Вистар характеризовалась 4- и 12-суточными биоритмами. В отличие от эпителия пищевода, митотическая активность эпителия роговицы имела только 12-суточную периодичность. Значения митотического индекса отрицательно коррелировали с уровнем кортикостерона, смещенным на сутки вперед ( $r=-0.42$ ;  $p=0.01$ ) (рис. 4). В работе Н. Schell и соавт. (1980) показано, что



**Рис. 4. Динамика уровня пролиферативной активности эпителия пищевода (А), роговицы (Б) у крыс-самцов Вистар в период с 11 по 27 сентября 2011 г. 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 –  $p_{12-13}=0,004$ ;  $p_{13-15}=0,004$ ;  $p_{23-25}=0,004$ ;  $p_{25-27}=0,004$

пролиферативная активность клеток эпидермиса кожи у человека отрицательно коррелирует с уровнем кортизола в плазме крови с 6-часовой задержкой.

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 в разные сезоны года. Для этого были сформированы две возрастные группы: половозрелые самцы крыс Вистар (возраст 3–4 мес; n=824) и самцы крыс Вистар препубертатного периода развития (возраст 35–45 сут; n=386). Определение митотического индекса эпителия пищевода у половозрелых животных проводили ежедневно в 11 временных периодов 2011–2014 г. со средней продолжительностью каждого в две недели. Динамику митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар в препубертатном периоде развития исследовали ежедневно в 5 временных периодов 2013–2014 г. 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.

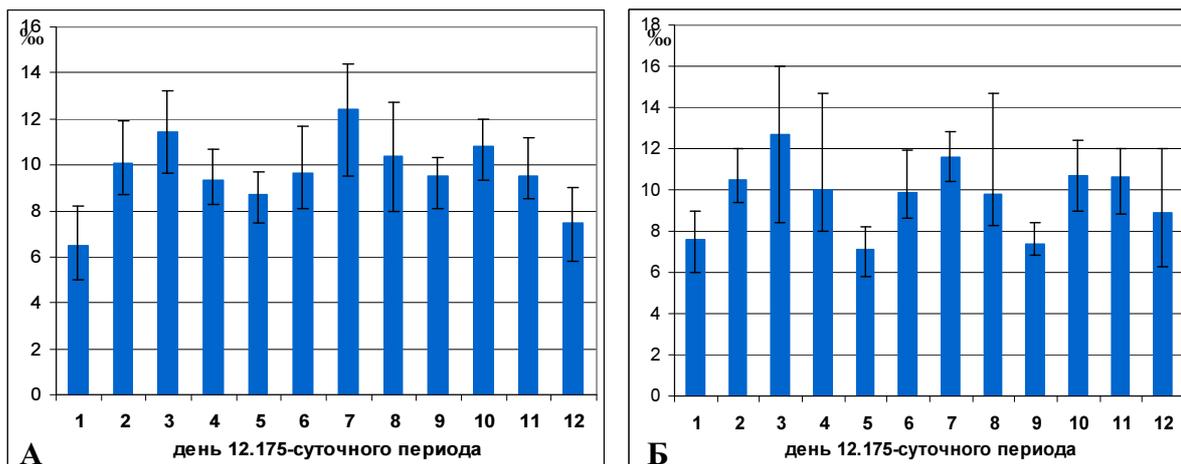
Хронологический анализ дат, в которые зарегистрированы батифазы 12-суточного инфрадианного биоритма митотической активности (таблица), показал, что каждые 60–72 суток, батифаза этого биоритма смещается на сутки вперед. В связи с этим, все полученные нами на протяжении трех лет значения митотического 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 указанные в таблице календарные даты, соответствующие батифазе 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 (со 2 по 11) дни (рис. 5 А). 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 (батифазой) на 1-е, 5-е и 9-е сутки (рис. 5 Б).

**Таблица. Календарные даты батифаз инфрадианного биоритма митотического индекса эпителия пищевода у самцов крыс Вистар**

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

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



**Рис. 5. Распределение по суткам 12.175-суточного периода значений митотического индекса у самцов крыс Вистар в возрасте 3–4 месяцев (n=824) (А) и в возрасте 35–45 суток (n=386) (Б). 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:*

**А** –  $p_{1-2}=0,002$ ;  $p_{1-3}=0,0001$ ;  $p_{1-4}=0,0002$ ;  $p_{1-5}=0,04$ ;  $p_{1-6}=0,0001$ ;  $p_{1-7}=0,00001$ ;  $p_{1-8}=0,035$ ;  $p_{1-9}=0,007$ ;  $p_{1-10}=0,0001$ ;  $p_{1-11}=0,001$ ;  $p_{3-5}=0,0004$ ;  $p_{3-9}=0,015$ ;  $p_{3-12}=0,0001$ ;  $p_{5-7}=0,0006$ ;  $p_{5-10}=0,02$ ;  $p_{9-10}=0,045$

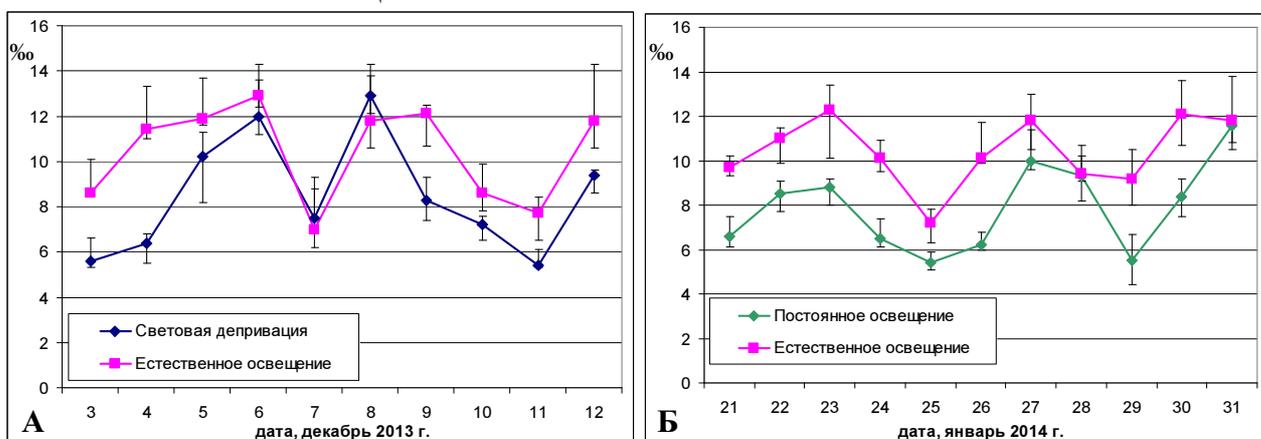
**Б** –  $p_{1-2}=0,004$ ;  $p_{1-3}=0,0014$ ;  $p_{1-7}=0,0001$ ;  $p_{1-8}=0,035$ ;  $p_{1-10}=0,027$ ;  $p_{1-11}=0,01$ ;  $p_{2-5}=0,0004$ ;  $p_{2-9}=0,007$ ;  $p_{3-5}=0,0002$ ;  $p_{3-9}=0,003$ ;  $p_{5-7}=0,00001$ ;  $p_{5-10}=0,004$ ;  $p_{5-11}=0,0014$ ;  $p_{7-9}=0,0003$ ;  $p_{9-10}=0,017$

Таким образом, распределение методом наложения эпох 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.

**Инфрадианные ритмы митотической активности эпителия пищевода у крыс Вистар в условиях световой депривации и постоянного освещения.** До сих пор остается открытым вопрос о механизмах формирования инфрадианных биоритмов и факторах – эндогенных и/или экзогенных, определяющих их синхронизацию, как на организменном, так и на популяционном уровне. С целью установления возможности формирования инфрадианных биоритмов в отсутствие суточного светового синхронизатора было проведено исследование динамики митотической активности эпителия у крыс, с рождения содержащихся в условиях световой депривации.

Инфрадианный биоритм митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар, содержащихся с рождения в условиях **световой депривации**, совпадал по периоду и фазе с таковым у крыс, находившихся при естественном режиме освещения (рис. 6 А). Коэффициент корреляции между динамикой показателей митотического индекса в опытной и

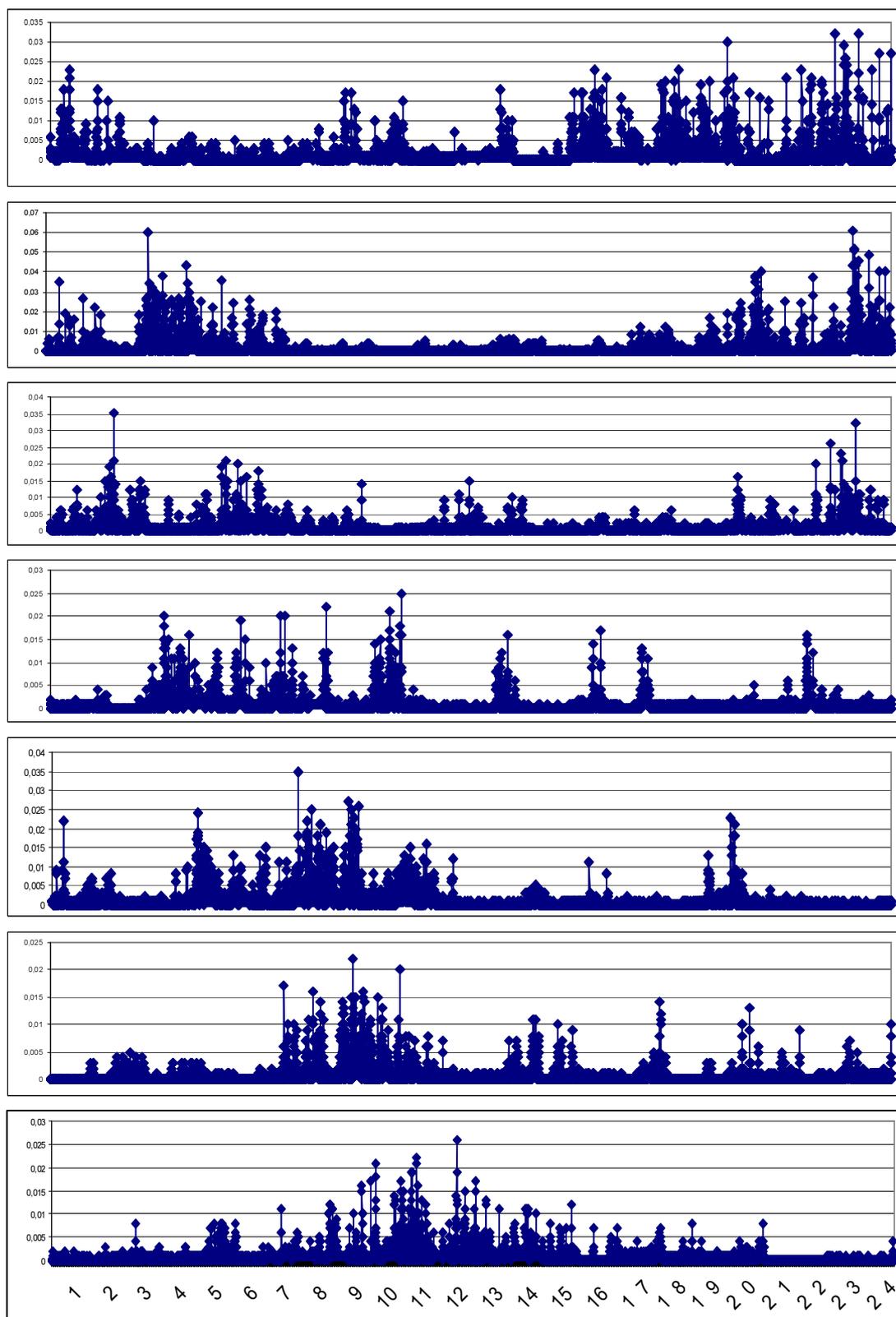
контрольной группе составил 0.72 ( $p=0.019$ ). Полученные данные указывают на то, что формирование инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия не является результатом взаимодействия внутренних ультрадианных и циркадианных биоритмов организма с внешним 24-часовым световым циклом.



**Рис. 6.** Динамика митотического индекса эпителия пищевода самцов крыс Вистар, содержащихся с рождения в условиях световой депривации (А) и крыс Вистар в условиях постоянного неяркого освещения (Б) по отношению к показателям животных, содержащихся при естественном режиме освещения

С целью оценки инфрадианных ритмов при подавлении синтеза мелатонина, самцов крыс Вистар содержали с рождения в условиях *постоянного яркого освещения*, ингибирующего выработку мелатонина и являющегося для животных стресс-фактором. В таких условиях у животных установлено снижение среднего значения митотического индекса эпителия пищевода и амплитуды 4-суточного инфрадианного биоритма вплоть до его исчезновения. По данным литературы условия яркого постоянного белого освещения вызывают исчезновение циркадианной периодичности у половозрелых крыс, как в динамике локомоторной активности, так и показателях, характеризующих функциональное состояние кардиореспираторной системы, а также приводят к появлению 8-и и 12-часовых ультрадианных биоритмов (Шабатура Н.Н., 1989).

С целью выявления взаимосвязи инфрадианных ритмов с циркадианной системой организма, самцов крыс Вистар в возрасте 2-х месяцев, когда циркадианная система ритмов уже сформирована, поместили в условия *постоянного неяркого освещения*. В таких световых условиях у половозрелых самцов крыс Вистар циркадианный ритм локомоторной активности сохранялся и имел характер «свободнотекущего», с периодом около 25 ч (рис. 7). Этот факт согласуется с литературными данными, указывающими на то, что в условиях постоянного освещения у ночных животных период циркадианного ритма физиологических показателей



**Рис. 7. Суточная динамика локомоторной активности половозрелых 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, ч. По оси ординат – локомоторная активность в условных единицах**

увеличивается и составляет более 24 ч (Ашофф Ю., 1984). 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 фаз 4-суточного инфрадианного биоритма митотической активности эпителия пищевода.

Между показателями динамики митотической активности эпителия у крыс опытной и контрольной групп отмечалась положительная корреляционная связь  $r=0.71$  ( $p=0.01$ ). 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. Так при рассогласовании на 2 сут циркадианного ритма локомоторной активности у животных опытной группы с суточным ритмом у крыс, содержащихся при естественном освещении, 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 (рис. 6 Б), что косвенно указывает на существование внешнего фактора, синхронизирующего инфрадианные биоритмы.

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, при отрицательном значении Vz-компоненты, наблюдаются изменения параметров ионосферы, что отражается на физиологическом состоянии организма животных и человека (Бреус Т.К. и соавт., 1995; Мартынюк В.С. и соавт., 2006). 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, что указывает на возможное синхронизирующее действие этого фактора на инфрадианные биоритмы.

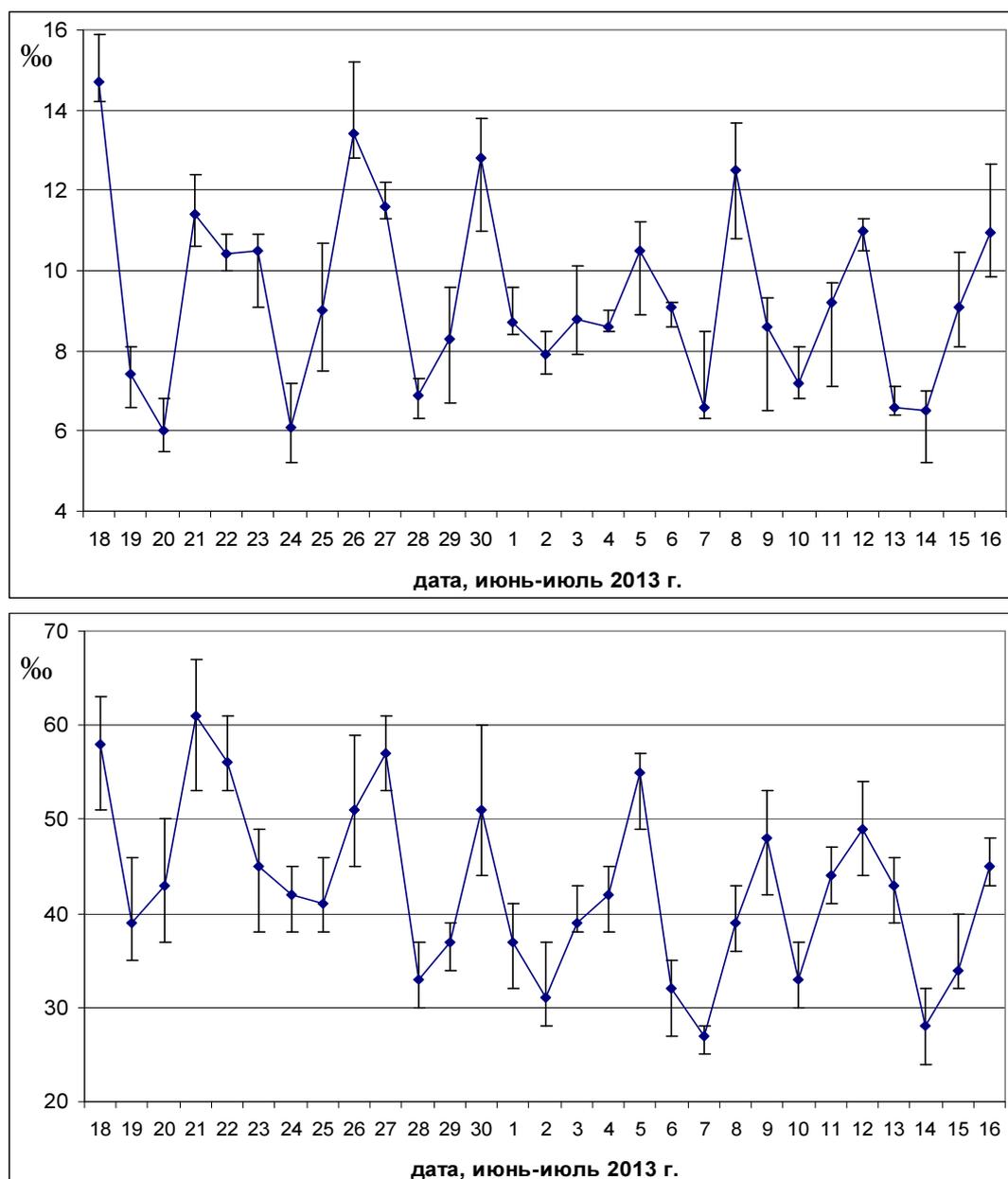
***Инфрадианные ритмы митотической активности эпителия пищевода у перепелов.*** С целью выявления универсальности характера инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия пищевода, нами было проведено исследование динамики этого показателя у японских перепелов с одновременной регистрацией уровня 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 ( $r=-0.60$ ;  $p=0.01$ ). Тогда как динамика уровня тироксина имела 3-суточную ритмичность.

Таким образом, нами было определено, 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. Инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия пищевода у крыс и перепелов оказались синхронными, однако они имели возрастные особенности. В динамике митотического индекса у животных более раннего возрастного периода (возраст 1.5–2.5 мес) выявлялся только 4-суточный биоритм (рис. 8). Коэффициент корреляции между показателями митотического индекса у крыс и перепелов этой возрастной группы составил 0.72 ( $p=0.001$ ).

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 (рис. 9). 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.

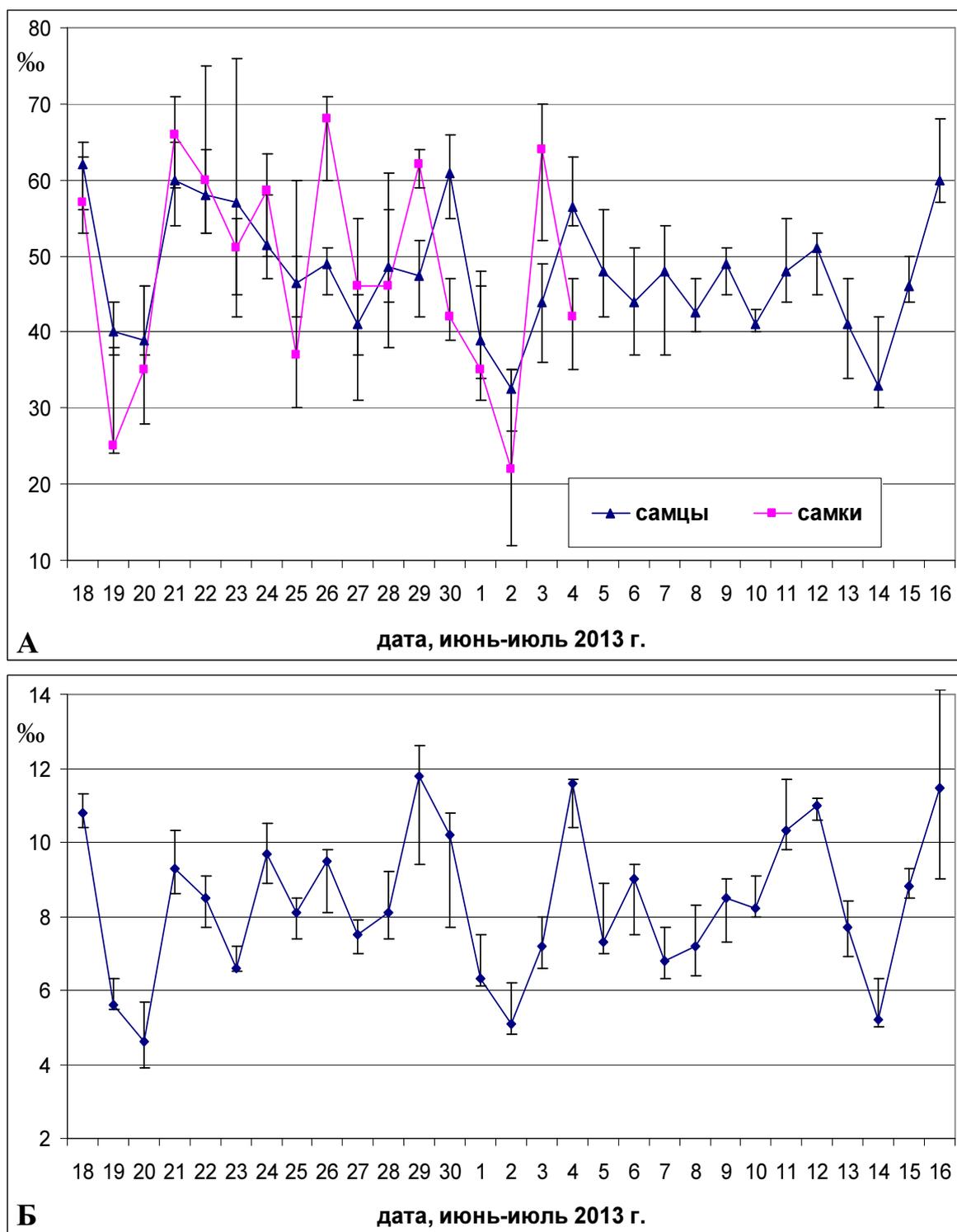
Таким образом, в старшей возрастной группе как у крыс Вистар, так и у японских перепелов выявляются более длинные периоды инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия. Этот факт можно объяснить разной, в зависимости от возраста, чувствительностью организма к внешним синхронизирующим факторам. Так, у крыс чувствительность эпифиза к электромагнитным полям с возрастом снижается (Рапопорт С.И., Голиченков В.А., 2009; Selmaoui B., Touitou Y., 1999).



**Рис. 8. Динамика митотической активности эпителия пищевода у самцов крыс Вистар (А) и самцов японских перепелов (Б) в возрасте 1,5–2,5 мес. в период с 18 июня по 16 июля 2013 г. Представлены медианы и интерквартильный размах (25–75%)**

Статистическая значимость различий:

(А) – p18-20=0,003; p20-22=0,001; p22-24=0,006; p24-26=0,001; p26-28=0,003; p28-30=0,01; p30-2=0,001; p5-7=0,02; p7-8=0,002; p8-10=0,001; p10-12=0,01; p12-14=0,001; p14-16=0,006. (Б) – p18-20=0,01; p20-22=0,01; p22-24=0,02; p24-27=0,006; p27-28=0,001; p28-30=0,005; p30-2=0,01; p2-5=0,001; p5-7=0,0001; p7-9=0,001; p9-10=0,01; p10-12=0,004; p12-14=0,001; p14-16=0,01.



**Рис. 9. Динамика митотического индекса эпителия пищевода у японских перепелов (А) и самцов крыс Вистар (Б) 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:*

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

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

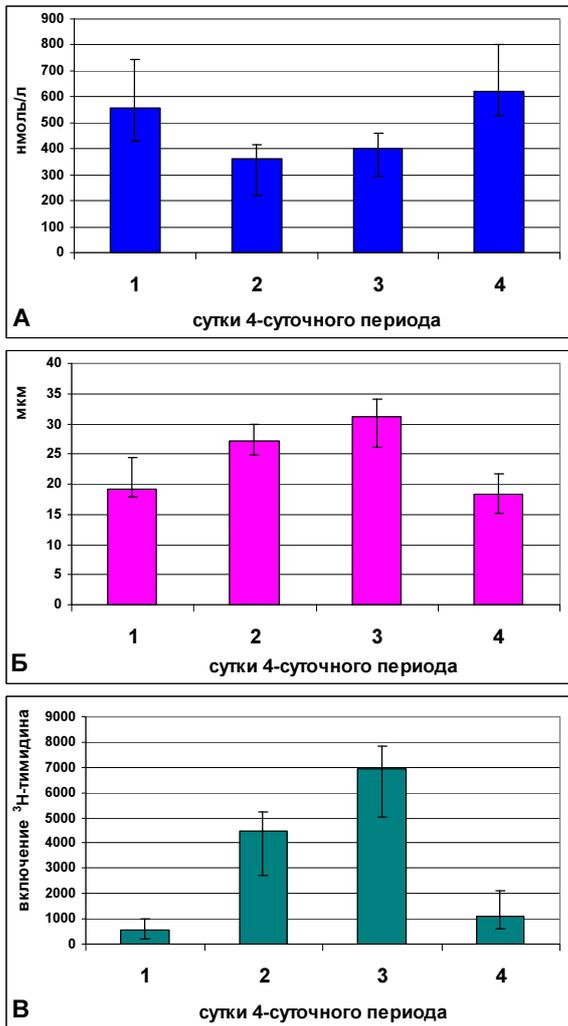
**Б** –  $p_{18-20}=0,004$ ;  $p_{20-22}=0,01$ ;  $p_{27-29}=0,01$ ;  $p_{29-2}=0,0001$ ;  $p_{2-4}=0,0001$ ;  $p_{10-12}=0,006$ ;  $p_{12-14}=0,0001$ ;  $p_{14-16}=0,001$

В ходе одновременного исследования динамики митотического индекса эпителия пищевода у самцов и самок японского перепела в возрасте 4–6 мес была установлена синхронность проявления инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия ( $r=0.91$ ;  $p=0.0001$ ) (Рис. 9 А). Следовательно, период инфрадианного биоритма митотической активности эпителия пищевода у перепелов не зависит от пола.

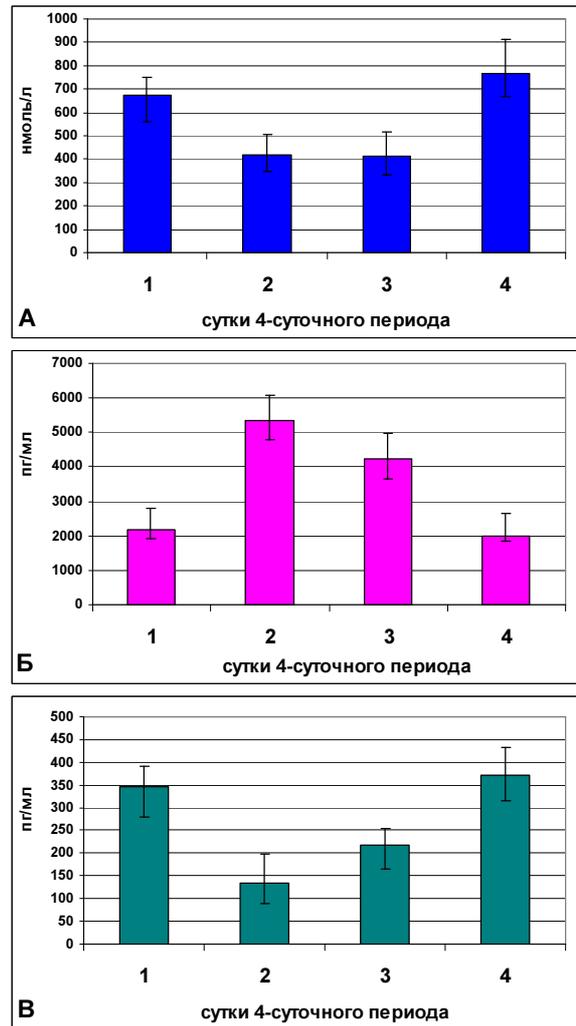
### **Морфофункциональные изменения параметров иммунной системы в инфрадианном диапазоне биоритмов у экспериментальных животных и человека**

*Инфрадианные биоритмы морфофункционального состояния тимуса и селезенки у самцов крыс Вистар.* При исследовании динамики морфофункциональных изменений центрального органа иммунной системы – *тимуса* у половозрелых самцов крыс Вистар был установлен 6-суточный биоритм общего числа лимфоидных клеток и синфазный 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 (рис. 10). 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). 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 наблюдается экспрессия рецепторов к кортикостерону (Vamberger С.М. et al., 1999) и мелатонину (Ahmad R., Halдар С., 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).

Шестисуточный 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. 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.

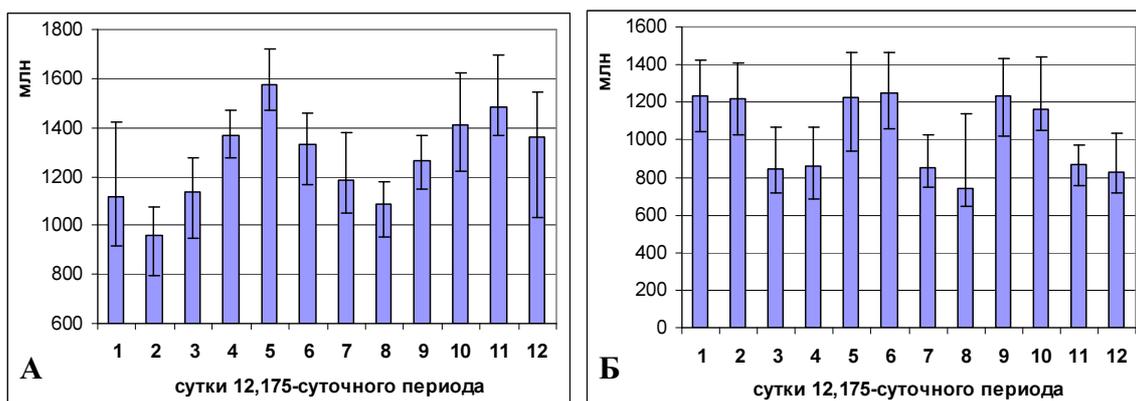


**Рис. 10.** Распределение показателей уровня кортикостерона (А), ширины субкапсулярного слоя тимуса (Б) и пролиферативной активности тимоцитов (В) методом наложенных эпох по суткам 4-суточного периода  
 Статистическая значимость различий:  
 А –  $p_{2-4}=0,001$ ; Б –  $p_{2-4}=0,002$ ;  
 В –  $p_{3-4}=0,001$



**Рис. 11.** Распределение показателей уровня кортикостерона (А), продукции ИЛ-2 (Б) и ИЛ-10 (В) спленocyтocyтaми, активированными митогеном, методом наложенных эпох по суткам 4-суточного периода  
 Статистическая значимость различий:  
 А –  $p_{2-4}=0,01$ ; Б –  $p_{2-4}=0,004$ ;  
 В –  $p_{3-4}=0,003$

Распределение всех значений общего числа тимоцитов, полученных в разные сезоны года по дням 12.175-суточного периода (таблица), позволил более точно установить период инфрадианного биоритма, который составил 6.09 сут (рис. 12 А). Таким образом, миграционные процессы Т-лимфоцитов в тимусе имеют 6.09-суточную периодичность, не связанную с инфрадианным ритмом кортикостерона и мелатонина, но укладывающуюся в систему 12.175-суточных биоритмов.



**Рис. 12. Гистограмма распределения методом наложения эпох по суткам 12.175-суточного периода числа лимфоцитов в тимусе (А) и ядросодержащих клеток в селезенке (Б). Представлены медианы и интерквартильный размах (25–75%)**

*Статистическая значимость различий:*

**А** –  $p_{1-5}=0,001$ ;  $p_{1-11}=0,001$ ;  $p_{2-4}=0,001$ ;  $p_{2-5}=0,00001$ ;  $p_{2-9}=0,02$ ;  $p_{2-10}=0,00001$ ;  $p_{2-11}=0,00001$ ;  $p_{3-11}=0,0015$ ;  $p_{4-8}=0,01$ ;  $p_{5-8}=0,0001$ ;  $p_{8-10}=0,003$ ;  $p_{8-11}=0,00001$

**Б** –  $p_{1-3}=0,00001$ ;  $p_{1-4}=0,0001$ ;  $p_{1-7}=0,002$ ;  $p_{1-8}=0,0001$ ;  $p_{1-11}=0,00001$ ;  $p_{2-3}=0,0001$ ;  $p_{2-4}=0,0006$ ;  $p_{2-7}=0,007$ ;  $p_{2-8}=0,0003$ ;  $p_{2-11}=0,0002$ ;  $p_{3-5}=0,02$ ;  $p_{3-6}=0,0005$ ;  $p_{3-9}=0,001$ ;  $p_{3-10}=0,0002$ ;  $p_{4-5}=0,037$ ;  $p_{4-6}=0,0015$ ;  $p_{4-9}=0,003$ ;  $p_{4-10}=0,001$ ;  $p_{6-7}=0,0084$ ;  $p_{6-8}=0,0006$ ;  $p_{6-11}=0,0012$ ;  $p_{6-12}=0,00001$ ;  $p_{7-9}=0,02$ ;  $p_{7-10}=0,009$ ;  $p_{8-9}=0,001$ ;  $p_{8-10}=0,0005$ ;  $p_{9-11}=0,002$ ;  $p_{9-12}=0,0001$ ;  $p_{10-11}=0,0006$ ;  $p_{10-12}=0,0001$

В динамике показателей объемной плотности лимфоидных узелков и количества ядросодержащих клеток в *селезенке* у 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. 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). Кроме того известно, что 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).

Анализ методом наложения эпох всех полученных нами в разных сериях эксперимента на протяжении 3 лет показателей абсолютного количества ядросодержащих клеток в суспензии селезенки, позволил установить более точное значение периода этого биоритма, которое равно 4.06 сут (рис. 12 Б), 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. Выявлена отрицательная корреляционная связь между показателями уровня *TGF-β1* и концентрацией кортикостерона в сыворотке крови ( $r=-0.42$ ,  $p=0.046$ ).

Динамика уровня *ИЛ-2* в суточной культуре клеток селезенки, активированных конканавалином А, коррелировала отрицательно с содержанием кортикостерона в сыворотке крови ( $r=-0.59$ ,  $p=0.04$ ), а *ИЛ-10* положительно ( $r=0.72$ ,  $p=0.03$ ) и характеризовалась 4-суточной периодичностью (рис. 11). Этот факт можно объяснить как угнетающим действием кортикостерона на синтез провоспалительных цитокинов путем ингибирования активации фактора транскрипции NF-κB (Roumestan C. et al, 2004), так и возможным изменением иммунофенотипического состава клеток селезенки, обусловленным их миграцией.

В динамике уровня продукции *ИФНγ* 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 на протяжении эксперимента ритма не удалось выявить.

Таким образом, нами у половозрелых крыс-самцов Вистар нами установлена 4-суточная ритмичность изменения баланса провоспалительные/противовоспалительных цитокинов, связанная с инфрадианным биоритмом уровня кортикостерона.

***Инфрадианные биоритмы иммунологических показателей у мужчин***  
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 был установлен 4-суточный инфрадианный ритм в показателях уровня ИЛ-2, рецепторного антагониста ИЛ-1, процентного содержания НК-клеток и иммунорегуляторного индекса – Тх/Тс-ц лимфоциты.

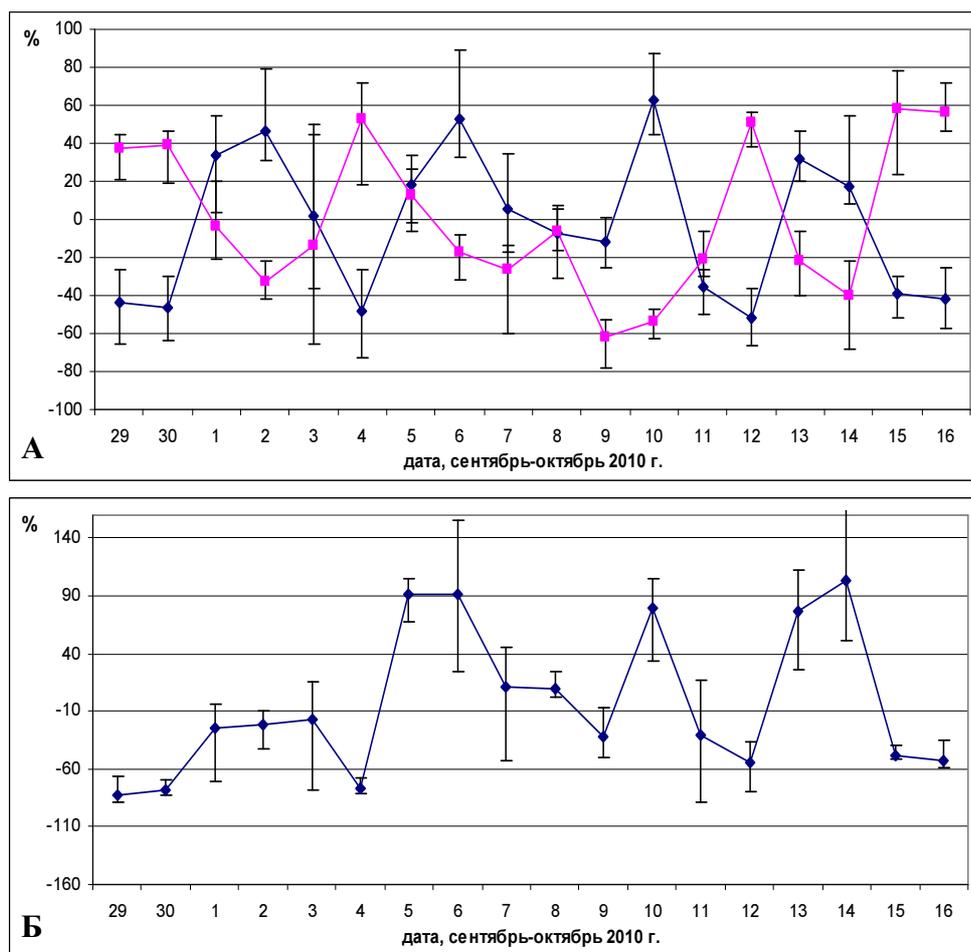
Ритмические изменения уровня рецепторного антагониста ИЛ-1 и процентного содержания НК-клеток наблюдались синфазно по отношению к уровню кортизола ( $r=0.58$ ,  $p=0.005$  и  $r=0.68$ ,  $p=0.006$ , соответственно), а уровня ИЛ-2 и индекса – Тх/Тс-ц лимфоциты противофазно ( $r=-0.60$ ,  $p=0.002$  и  $r=-0.47$ ,  $p=0.01$ , соответственно).

При исследовании у мужчин 24–30 лет зависимости продукции цитокинов клетками периферической крови, активированными смесью митогенов, от уровня кортизола и субпопуляционного состава лимфоцитов, в динамике продукции ИЛ-2 и ИФН $\gamma$  выявлена отрицательная корреляционная связь с уровнем кортизола ( $r=-0.57$ ,  $p=0.01$  и  $r=-0.50$ ,  $p=0.03$ , соответственно) и положительная с иммунорегуляторным индексом Тх/Тс-ц лимфоциты ( $r=0.50$ ,  $p=0.033$  и  $r=0.48$ ,  $p=0.04$ , соответственно). Динамика продукции ИЛ-10, напротив, положительно коррелировала с уровнем кортизола ( $r=0.61$ ,  $p=0.008$ ) и отрицательно с иммунорегуляторным индексом ( $r=-0.51$ ,  $p=0.04$ ). Период этих колебаний у всех обследованных мужчин составлял 4 сут, и акрофазы у разных индивидов наблюдались в одни и те же календарные даты, что позволило представить данные в целом по группе (рис. 13).

***Инфраниантные биоритмы цитофизиологического состояния тучных клеток дермы и содержания нейтрофилов в периферической крови у самцов крыс Вистар.*** 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 быстрореагирующей популяцией тучных клеток.

Динамика числа свободно лежащих гранул тучных клеток в дерме, характеризующих интенсивность дегрануляции, имела 4-суточный биоритм. 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 ( $r=0.58$ ,  $p=0.024$ ). В динамике показателя среднего гистохимического коэффициента также был выявлен 4-суточный период. Значения этого показателя в акрофазе 2.91 (2.77–2.96) и батифазе 2.62 (2.47–2.69) достоверно 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, что отражает усиление дегрануляции этих клеток в этот временной период.



**Рис. 13.** Динамика уровня продукции (— 1) ИЛ-2 и (— 1) ИЛ-10 (А), и ИФН $\gamma$  (Б) у здоровых мужчин 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  
 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 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 ( $r=0.45$ ;  $p=0.02$ ). 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.

С целью выявления связи инфрадианных биоритмов с особенностями течения воспалительных процессов проведено исследование морфологических и лабораторных показателей **системного воспалительного ответа** (СВО), вызванного внутрибрюшинным введением липополисахарида (ЛПС) половозрелым самцам крыс Вистар. 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). 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 минимального уровня кортикостерона (батифазы) в сыворотке крови по сравнению с введением за сутки до максимального уровня кортикостерона (акрофазы) приводит к более выраженному повреждению печени, о чем свидетельствуют более выраженные некротические и дистрофические изменения гепатоцитов, увеличение активности ферментов – аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ), а также более высокий уровень С-реактивного белка. 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 ( $p=0.004$  и  $p=0.002$ , соответственно) в группе животных, которым ЛПС вводили за сутки до акрофазы ритма уровня кортикостерона (43 (39–51) МЕ/л и 98 (89–111) МЕ/л, соответственно) по сравнению с показателями, полученными после введения ЛПС за сутки до батифазы (84 (64–99) МЕ/л и 160 (144–178) МЕ/л), соответственно. Также в этих группах животных наблюдались статистически значимые различия между показателями уровня С-реактивного белка (618 (324–726) нг/мл и 854 (788–972) нг/мл,  $p=0.03$ ).

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. В работе С.В. Lee и соавт. (2006) было показано, что предварительное применение дексаметазона ослабляло повреждающее действие ЛПС на печень.

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.

## 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 отсутствие 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 ядродержащих 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 ИНФ $\gamma$ , а в акрофазу – увеличение уровня противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, рецепторного антагониста ИЛ-1 и TGF- $\beta$ 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 флогогенного агента за сутки до акрофазы.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Диатроптов М.Е. Инфраниантные колебания уровня тестостерона в сыворотке крови лабораторных крыс-самцов. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011 – № 5 – С. 577-580.
2. Диатроптов М.Е. Инфранианный ритм изменения уровня стероидных гормонов и рецепторного антагониста интерлейкина-1 у мужчин зрелого возраста. // Иммунология. – 2011 – № 6 – С. 324-328.
3. Диатроптов М.Е. Многодневные ритмические изменения субпопуляционного состава лимфоцитов, уровня интерлейкина-2 и кортизола в периферической крови здоровых доноров. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011 – № 11. – С. 564-567.
4. Диатроптов М.Е. Инфраниантные ритмические изменения уровней продукции цитокинов клетками крови у мужчин зрелого возраста. // Аллергология и иммунология. – 2012. – Т. 13, № 2. – С. 173-176.
5. Диатроптов М.Е., Диатроптова М.А., Кондашевская М.В. Анализ показателей инфраниантных ритмов стероидных гормонов и процентного содержания нейтрофилов периферической крови у крыс-самцов Вистар. // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 9 (2). – С. 273-279.
6. Диатроптов М.Е. Инфраниантные ритмы митотической активности эпителия пищевода и уровня кортикостерона и тироксина у японских перепелов (*Coturnix japonica*). // Цитология. – 2013. – Т. 55, № 5. – С. 333-337.
7. Диатроптов М.Е., Диатроптова М.А., Макарова О.В. Инфраниантные ритмы морфофункциональных изменений селезенки у крыс-самцов Вистар. // Иммунология. – 2013. – Т. 34, № 4. – С. 185-188.
8. Диатроптов М.Е., Диатроптова М.А., Симонова Е.Ю. Инфраниантные ритмы изменения уровня кортизола и гормонов щитовидной железы у женщин репродуктивного возраста. // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. – 2013. – № 3. – С. 107-113.
9. Диатроптов М.Е., Кондашевская М.В., Макарова О.В. Инфраниантные ритмы морфофункционального состояния тимуса у крыс. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 6. – С. 729-736.
10. Диатроптов М.Е., Косырева А.М., Макарова О.В., Кондашевская М.В., Нечай В.В. Инфраниантные ритмы уровня кортикостерона и выраженности альтеративных изменений печени у крыс Вистар при системном воспалительном ответе. // Морфологические ведомости. – 2013. – № 2. – С. 25-32.
11. Диатроптов М.Е., Нечай В.В., Диатроптова М.А. Инфраниантная модуляция суточных ритмов пролиферативной активности эпителия

пищевода и роговицы. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 4. – С. 495-498.

12. Диатроптов М.Е., Макарова О.В. Инфрадианные биоритмы митотической активности эпителия у самцов крыс Вистар. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, № 9. – С. 370-375.

13. Диатроптов М.Е., Макарова О.В., Диатроптова М.А. Закономерности инфрадианных биоритмов митотической активности эпителия пищевода у японских перепелов (*Coturnix japonica*) и крыс Вистар. // Геофизические процессы и биосфера. – 2014. – Т.13, № 4. – С. 82-96.

#### **Другие публикации**

14. Диатроптов М.Е. Инфрадианный ритм цитофизиологических изменений тучных клеток дермы у самцов крыс Вистар. // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2013. – № 3. – С. 60-64.

15. Диатроптов М.Е., Кондашевская М.В., Мхитаров В.А. Инфрадианные биоритмы изменения структурно-функциональных зон коры надпочечников у половозрелых самцов крыс Вистар. // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2014. – № 2. – С. 27-31.

16. Диатроптов М.Е., Симонова Е.Ю., Макарова О.В. Закономерности проявления 4-суточного биоритма митотической активности эпителия пищевода у крыс Вистар при содержании их в условиях постоянного освещения или световой депривации. // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2014. – № 3. – С. 27-35.

17. Диатроптов М.Е., Кондашевская М.В. Функциональная морфология многодневных биоритмов стероидных гормонов и двигательной активности у крыс Вистар. Труды научной конф. «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии». – Москва. – 2010. – С. 103-106.

18. Диатроптов М.Е. Инфрадианный ритм изменения уровня стероидных гормонов, интерлейкина-2, рецепторного антагониста интерлейкина-1 и субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови у мужчин зрелого возраста. Труды научной конф. «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии». – Москва. – 2012. – С. 61-64.

19. Диатроптов М.Е. Инфрадианные ритмы пролиферативной активности эпителия пищевода и роговицы у крыс-самцов Вистар / Вестник Российского Университета Дружбы Народов. – 2012. – № 7. – С. 92-93.

20. Диатроптова М.А., Диатроптов М.Е., Кондашевская М.В. Корреляция многодневных ритмов процентного содержания нейтрофилов периферической крови и уровня стероидных гормонов у крыс-самцов Вистар / Вестник Российского Университета Дружбы Народов. – 2012. – № 7. – С. 93-94.

21. Диатроптов М.Е. Инфрадианные ритмы уровня кортизола, субпопуляционного состава лимфоцитов и продукции цитокинов клетками цельной крови у мужчин зрелого возраста / Сборник материалов I международной конференции «Морфоклинические аспекты безопасности жизнедеятельности». – Воронеж. – 2013. – С. 57-60.

22. Диатроптов М.Е. Инфранианые ритмы морфофункциональных изменений иммунной системы и уровня кортикоостерона / Тезисы докладов XXII Съезда Физиологического общества имени И.П. Павлова. – Волгоград. – 2013. – С. 150-151.
23. Диатроптов М.Е., Диатроптова М.А. Инфранианые ритмы уровня стероидных гормонов и морфофункциональных изменений селезенки у крыс-самцов Вистар. / Актуальные проблемы патофизиологии: XIX межгородская конференция молодых ученых / под. Ред. Т.Д. Власова, В.И. Николаева – СПб.: Изд. СПбГМУ. – 2013. – С. 35-36.
24. Диатроптов М.Е., Диатроптова М.А. Многодневные биоритмы морфофункционального состояния тимуса, уровня мелатонина и кортикоостерона у самцов крыс Вистар / Бюллетень Северного Государственного Медицинского Университета. – 2013. – № 1. – С. 111-112.
25. Диатроптов М.Е., Диатроптова М.А., Нечай В.В., Макарова О.В. Закономерности проявления инфранианых ритмов митотической активности клеток эпителиальных тканей у самцов крыс Вистар и японских перепелов / Тезисы докладов X Международной крымской конференции: «Космос и биосфера». – Коктебель. – 2013. – С. 132-133.
26. Диатроптов М.Е., Косырева А.М., Макарова О.В., Кондашевская М.В., Нечай В.В. Инфранианые ритмы уровня кортикоостерона и выраженности альтеративных изменений печени у крыс Вистар при системном воспалительном ответе / Материалы IV Всероссийского съезда патологоанатомов. – Белгород. – 2013. – С. 37-39.
27. Диатроптова М.А., Диатроптов М.Е., Макарова О.В. Инфранианые биоритмы морфофункционального состояния органов иммунной системы и уровня кортикоостерона у самцов крыс Вистар / Тезисы докладов X Международной крымской конференции: «Космос и биосфера». – Коктебель. – 2013. – С. 185-187.
28. Диатроптов М.Е. Влияние постоянных световых условий на инфранианые биоритмы митотической активности эпителия пищевода у самцов Крыс Вистар // Материалы международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии». – Москва. – 2014. –С. 90-92.

Соискатель

М.Е. Диатроптов