

УДК 612.829.3:591.111.1:599.32:615.849.11

ИЗМЕНЕНИЕ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ ДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В НЕЙТРОФИЛАХ КРОВИ КРЫС ПРИ АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЯХ РАЗЛИЧНОГО ТИПА

Темурьянц Н.А., Шишко Е.Ю., Нагаева Е.И., Минко В.А., Демцун Н.А.

Изучена инфрадианная ритмика дегидрогеназной активности в нейтрофилах периферической крови крыс при развитии неспецифических адаптационных реакций организма различного типа. Выявлено, что гипокинетический стресс приводит к изменениям инфрадианной ритмики исследованных систем, проявляющихся в развитии десинхроноза. Неспецифические адаптационные реакции типа активации и тренировки, вызванные действием низкоинтенсивных ЭМИ КВЧ и ПеМП СНЧ, вызывают увеличение синхронизации между исследованными показателями. Изменения, вызванные действием ПеМП СНЧ, выражены гораздо ярче, чем таковые при действии ЭМИ КВЧ.

Ключевые слова: адаптационные реакции, инфрадианная ритмика, функциональная активность нейтрофилов, гипокинезия, ЭМИ КВЧ, ПеМП СНЧ

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время установлено, что одним из симптомов любой адаптационной реакции является изменение временной организации физиологических систем [1 – 3]. Эти изменения при развитии стресс-реакции выражаются в развитии гиперсинхронизации [1] или десинхроноза [4] в различных системах. Этот вывод был сделан на основе изучения циркадианной ритмики поведенческих реакций, экскреции катехоламинов [5]. Изменения инфрадианной ритмики при развитии гипокинетического стресса описаны нами на примере стресс-реализующих систем [6], а также функциональной активности лимфоцитов [7, 8]. Для уточнения представлений о характере изменения временной организации при стрессе необходимо расширить круг исследований различных физиологических систем. Временная организация различных физиологических систем при развитии неспецифических адаптационных реакций организма (НАРО) активации и тренировки не исследована. В настоящее время установлено, что развитие НАРО такого типа вызывает действие низкоинтенсивных электромагнитных излучений (ЭМИ) крайневысокой (КВЧ) и сверхнизкой (СНЧ) частот.

Известно, что в механизмах развития НАРО важную роль играют нейтрофилы крови. В системе реакций, осуществляющих функциональную активность нейтрофилов, важную роль играют окислительно-восстановительные процессы, маркером которых являются α -глицерофосфатдегидрогеназа (α -ГФДГ) и сукцинатдегидрогеназа (СДГ) [9]. Первая - принимает участие в процессах анаэробного гликолиза, вторая – является одним из ключевых ферментов цикла Кребса

и маркером окислительных процессов в митохондриях. Ритмика этих процессов в нейтрофилах не изучена.

В связи с изложенным, целью настоящего исследования явилось изучение изменения инфрадианной ритмики дегидрогеназ в нейтрофилах периферической крови крыс при развитии НАРО различного типа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 80 беспородных белых крысах-самцах массой 150-200 г. со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определенных в тесте «открытого поля» [10]. Такой отбор позволил сформировать животных с одинаковыми типологическими особенностями, однотипно реагирующих на действие различных факторов.

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

Реакция активации и тренировки моделировалась воздействием низкоинтенсивного ЭМИ: ЭМИ КВЧ и ПеМП СЧЧ.

Все животные были распределены на 4 группы. К первой группе относились животные, содержащиеся в обычных условиях вивария в течение 43 суток – биологический контроль (К). Вторую группу составили крысы, находившиеся в условиях гипокинезии (ГК), третья группа подвергалась воздействию ЭМИ КВЧ, а четвертая воздействию ПеМП СЧЧ.

Воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось ежедневно в течение 43 суток эксперимента по 30 минут на затылочную область животных. Выбор затылочной области для воздействия ЭМИ КВЧ обусловлен тем, что эта зона является одной из рефлексогенных зон, в которых в большом количестве присутствуют первичные мишени для воздействия волн миллиметрового диапазона, а именно, рецепторные окончания, сосуды микроциркуляторного русла, лимфатические сосуды, биологически активные точки и тканевые базофилы [11, 12]. При проведении экспериментов по изучению влияния ЭМИ КВЧ на инфрадианную ритмику исследуемых показателей использовали одноканальный терапевтический генератор «Луч. КВЧ-01» (длина волны 7,1 мм, плотность потока мощности 0,1 мВт/см²), изготовленный Центром радиофизических методов диагностики и терапии «Рамед» Института технической механики НАНУ (г. Днепрпетровск).

Экспозиции в ПеМП частотой 8 Гц индукцией 5 мкТл в течение 3-х часов осуществляли в экранированной камере размером 4 x 4 x 2,5 м, изготовленной из четырехслойного железа «Динамо». ПеМП СЧЧ в камере создавали кольцами Гельмгольца с неравномерностью поля в зоне расположения животных менее 5%. Коэффициент передачи составлял 510 нТл/мА. Источником СЧЧ-тока служил генератор НГПК-3М. Контроль над протеканием тока через кольца осуществляли с помощью миллиамперметра М 2020 и осциллографа Н-303. Оценка всех составляющих погрешностей аппаратуры позволила контролировать амплитуду и частоту ПеМП с точностью не ниже 3,5% от их номинального значения. Во время

ежедневной экспозиции животных ориентировали вдоль вектора магнитной составляющей.

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

В мазках крови цитохимическими методами определяли среднее содержание СДГ и α -ГФДГ в нейтрофилах по методу Р.П. Нарциссова [13, 14].

Для определения степени превалирования активности одного фермента над другим в энергетической системе использовали показатели отношений α -ГФДГ/СДГ [15].

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью косинор-анализа у крыс контрольной группы был выявлен следующий спектр периодов СДГ: $3^d,81 \pm 0,15$; $7^d,42 \pm 0,08$; $9^d,58 \pm 0,37$; $14^d,93 \pm 0,67$; $22^d,28 \pm 0,85$ суток.

В спектре α -ГФДГ выявлены периоды: $3^d,89 \pm 0,45$; $7^d,11 \pm 0,53$; $12^d,17 \pm 1,17$ и $22^d,00 \pm 0,50$ суток (рис. 1, 2). Такие же периоды обнаружены нами ранее [6, 7, 8] и в спектрах показателей функциональной активности нейтрофилов. Обращают на себя внимание некоторые особенности спектров дегидрогеназ: отсутствие $\approx 5^d,0$ периода в спектрах мощности СДГ и α -ГФДГ и ≈ 9 -дневного периода в ритмике α -ГФДГ.

Амплитуды ритмов средней активности α -ГФДГ во всех выделенных периодах превышали соответствующие им значения амплитуд в спектре мощности СДГ. Кроме того, экспоненциальная модель исследуемых показателей позволила выявить тенденции к повышению амплитуд выделенных периодов в спектрах обоих дегидрогеназ (рис. 1, 2). Амплитуды ритмов СДГ колебались в пределах от $0,80 \pm 0,10$ до $1,28 \pm 0,06$ усл.ед., а в ритмике α -ГФДГ - от $1,02 \pm 0,30$ до $1,41 \pm 0,01$ усл.ед. Максимальное повышение амплитудных значений для СДГ и α -ГФДГ было зафиксировано в $\approx 22^d,0$ периоде. Таким образом, доминирующим ритмом в спектрах мощности СДГ и α -ГФДГ был выделен $\approx 22^d,0$ период.

Анализ фазовых взаимоотношений между средними активностями СДГ и α -ГФДГ показал, что из всех выделенных периодов только для ≈ 7 -мидневного была характерна синхронность ритмов СДГ и α -ГФДГ (рис. 3), в периодах $\approx 3,5$ -, $\approx 14,0$ - и ≈ 22 -дневных разность фаз между дегидрогеназными составляла 1,09 радиан, 1,65 и 1,21 радиан соответственно.

Таким образом, инфрадианная ритмика средних активностей СДГ и α -ГФДГ в нейтрофилах крови интактных крыс характеризовалась определенными амплитудно-фазовыми отношениями

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, о том, что инфрадианная ритмика исследованных дегидрогеназ существенно менялась при гипокинетическом стрессе.

ИЗМЕНЕНИЕ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ ДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ

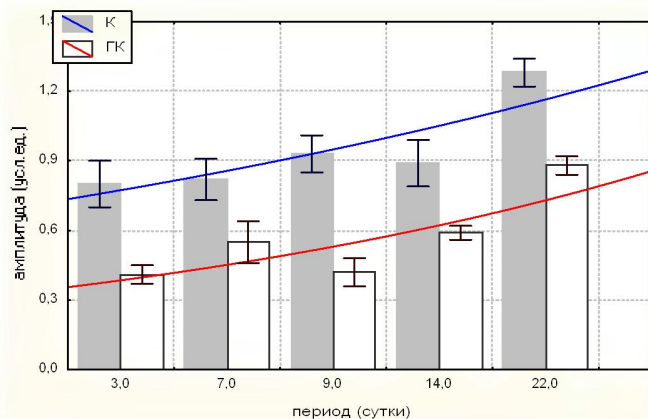


Рис. 1. Экспоненциальная модель амплитуд периодов средней активности СДГ в нейтрофилах крови крыс контрольной группы (К) и у крыс с ограниченной подвижностью (ГК).

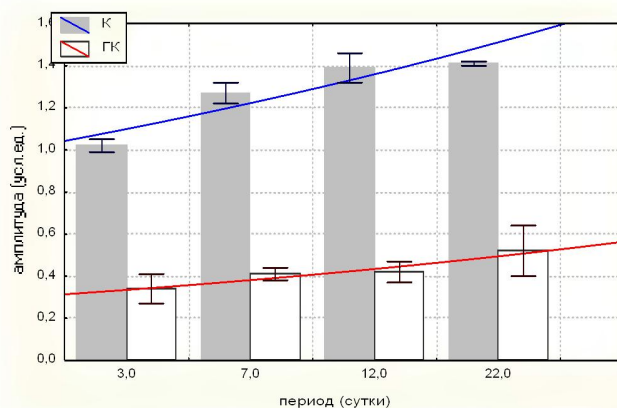


Рис. 2. Экспоненциальная модель амплитуд периодов средней активности α -ГФДГ в нейтрофилах крови крыс контрольной группы и у крыс с ограниченной подвижностью (ГК).

У крыс с ограниченной подвижностью косинор-анализ выявил такие же спектры мощности, т.е. стресс не изменял структуру спектров. Однако в спектре СДГ во всех выделенных периодах было зарегистрировано снижение амплитуд в 1,5-2,2 раза относительно значений контрольной группы. Максимальное снижение амплитуд в 2,21 раза ($p < 0,001$) было зафиксировано в $\approx 9^{\text{д}}$ дневном периоде. Амплитуда в $\approx 22^{\text{д}}$ периоде была выше амплитуд остальных выделенных периодов опытной группы в 1,45 раза ($p < 0,001$) относительно контроля. Воздействие ГК не поменяло доминирующего ритма, им остался $\approx 22^{\text{д}}$ период.

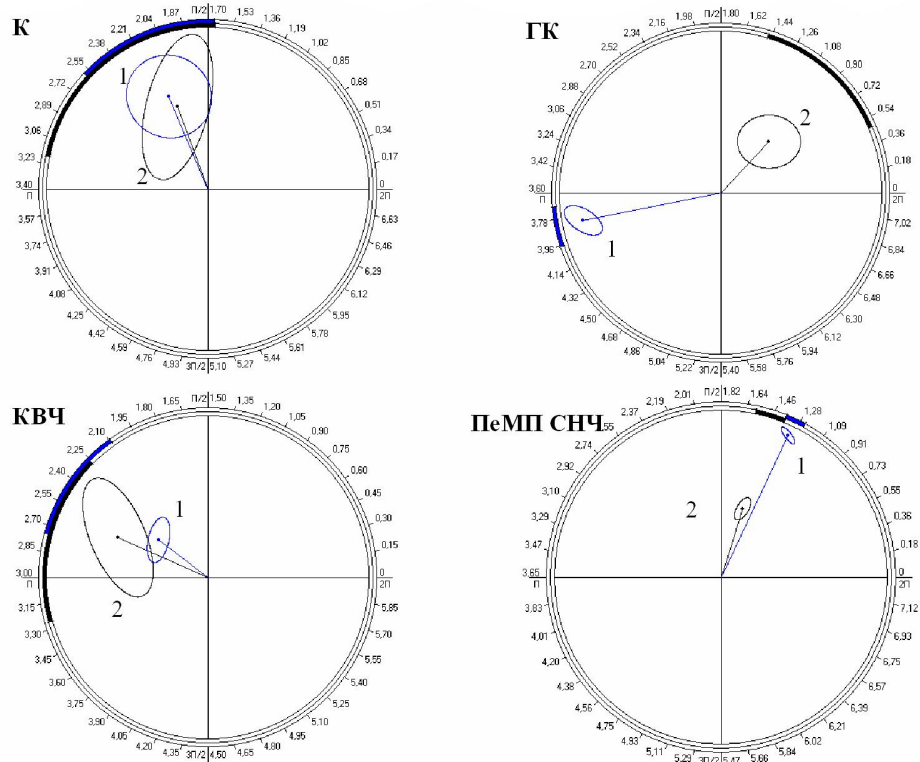


Рис. 3. Соотношение фаз биоритмов средней активности сукцинатдегидрогеназы и α -глицерофосфатдегидрогеназы в нейтрофилах крови крыс при различных воздействиях (К – контроль; ГК – гипокинезия; ЭМИ KBЧ; и ПемП СНЧ в периоде $\approx 7,0$ суток: 1 – СДГ, 2 – α -ГФДГ.

Более существенное снижение амплитуд наблюдалось в спектре мощности средней активности α -ГФДГ в 2,4-3,3 раза ($p < 0,05$; $p < 0,001$) во всех выделенных периодах. Так же как и в спектре мощности СДГ, для α -ГФДГ доминирующий ритм остался $\approx 22,4^0$ период.

Экспоненциальный анализ данных в исследуемых показателях выявил также как и в контрольной группе тенденцию к повышению амплитуд средней активности СДГ (от 0,4 до 0,82 усл. ед) и α -ГФДГ (от 0,36 до 0,58 усл. ед.) с увеличением периода.

Фазовые соотношения также характеризовались перестройкой своих исходных значений. Причем, в большей степени это касалось ритмов α -ГФДГ, где обнаруживались значительные сдвиги фаз относительно значений контрольной группы во всех выделенных периодах. Самое выраженное смещение фаз, составляющее 1,88 радиан ($p < 0,05$) было отмечено в $\approx 3,5$ -дневном периоде. Для

биоритмов СДГ самый значительный сдвиг фаз составил 2,84 радиан ($p < 0,001$) в ≈ 22 -дневном периоде.

При гипокинетическом стрессе резко увеличивалась разница фаз между средней активностью СДГ и α -ГФДГ в 3^д, и 7^д,0 периодах, а близкие фазовые значения, которые не отмечались в контрольной группе наблюдались в 21^д,0 периоде.

Таким образом, ограничение подвижности животных вызывает существенные нарушения инфрадианной ритмики энергетических систем в нейтрофилах периферической крови крыс, что заключается в существенных сдвигах фаз и изменении амплитуд во всех выделенных периодах относительно значений в контрольной группе животных, т.е. развитию десинхроноза. Однако, следует отметить, что гипокинетический стресс не оказал существенного влияния на структуру периодов средней активности СДГ и α -ГФДГ в нейтрофилах крови, и не изменил доминирующего ритма (рис. 1, 2).

Анализ временной организации средней активности СДГ и α -ГФДГ в нейтрофилах при изолированном действии ЭМИ КВЧ выявил изменения инфрадианной ритмики исследуемых показателей, выражающиеся в менее выраженных изменениях амплитудно-фазовых характеристик исследуемых показателей по сравнению с контролем. В спектре СДГ была отмечена тенденция ($p > 0,05$) к снижению амплитуд во всех выделенных периодах кроме ≈ 9 -дневного периода, по сравнению с контрольной группой животных, а для амплитуд ритмов α -ГФДГ тенденция к снижению наблюдалась в $\approx 7^{\text{д}}$,0 и $\approx 12^{\text{д}}$,0 -дневных периодах, а к повышению в $\approx 3,5$ и $\approx 22^{\text{д}}$,0 -дневных (рис. 3).

Воздействие ЭМИ КВЧ привело к незначительным фазовым сдвигам средней активности СДГ и α -ГФДГ. Самый существенный сдвиг фаз составил 36° в околонедельном периоде для ритмов α -ГФДГ. Таким образом, ЭМИ КВЧ вызывает некоторые изменения фаз и амплитуд в выделенных периодах, т.е. некоторое увеличение синхронизации аэробных и анаэробных процессов.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что ПеМП СНЧ также вызывает изменения параметров инфрадианной ритмики средней активности СДГ и α -ГФДГ в нейтрофилах крови крыс. Реакция активации, вызванная действием ПеМП СНЧ частотой 8 Гц характеризовалась более значительными сдвигами амплитуд и фаз, что приводило к уменьшению разности фаз практически во всех выделенных периодах, т.е. к выраженному увеличению синхронизации.

Это может объясняться тем, что ПеМП СНЧ обладая большим проникающим действием, способно изменять функциональную активность эпифиза - основного водителя ритма. Таким образом развитие НАРО активации и тренировки характеризуется некоторым увеличением синхронизации дегидрогеназ нейтрофилов.

ВЫВОД

1. Неспецифические адаптационные реакции различного типа сопровождаются определенными изменениями инфрадианной ритмики дегидрогеназ нейтрофилов крови крыс.

2. ГипокINETический стресс сопровождается существенными сдвигами фаз и изменениями амплитуд во всех выделенных периодах относительно значений в контрольной группе животных, что свидетельствует о развитии десинхроноза.
3. НАРО, вызванные действием ЭМИ КВЧ и ПеМП СНЧ, характеризуется увеличением синхронизации между дегидрогеназами нейтрофилов.
4. Более существенные изменения параметров инфрадианной ритмики дегидрогеназ нейтрофилов вызывает ПеМП СНЧ, чем ЭМИ КВЧ.

Список литературы

1. Агулова Л.П. Биоритмологические закономерности формирования компенсаторно-приспособительных реакций в условиях клинической модели стресса: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. - Томск, 1999.- 22с.
2. Алере И., Алерсова Е., Шмайда В. и др. Многосуточные метаболические ритмы у крыс // Биологические исследования в космической биологии и медицине.– М.: Наука, 1989. – С.178-183 Агаджанян Н.А., Башкирова А.А., Власова И.Г. О физиологических механизмах биологических ритмов // Успехи физиол. наук. – 1987.– Т. 18, № 4. – С. 80-104.
3. Агаджанян Н.А., Шабатура Н.Н. Биоритмы, спорт, здоровье. – М.: Физкультура и спорт, 1989. – 208 с.
4. Бреус Т.К. Влияние солнечной активности на биологические объекты. Автореф.дис... д-ра физико-математических наук. – Москва. - 2003. – 31с.
5. Ефимов М.Л. Биологические ритмы. – Алма-Ата. Наука Казахской ССР., 1973. – 166с.
6. Шишко Е.Ю., Малыгина В.И. Изменение Инфрадианной ритмики активности стресс-реализующих систем при гипокINETическом стрессе // Ученые записки Таврийского национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2005. – Т. 18 (57), № 1. – С. 65-71.
7. Московчук О.Б. Вплив низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвичайно високої частоти на інфрадіанну ритміку фізіологічних процесів: Автореф. дис... канд. біол. наук. 03.00.13 / – ТНУ. – Сімферополь, 2003. – 20 с.
8. Чуян Е.Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокINETического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: СГУ. – Симферополь, 1992. – 25 с.
9. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б. О критериях оценки неспецифической резистентности организма при действии различных биологически активных факторов с позиции теории адаптационных реакций // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 1995, № 6. – С. 11 – 21.
10. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте «открытого поля» // Журн. высш. нервн. деятельности.– 1981. – Т. 31, №2. – С. 301-307
11. Мачерет Е.Л., Самосюк И.З. Руководство по рефлексотерапии. – К.: Выща шк., 1989.– 479 с.
12. Самосюк И.З., Кожанова А.К., Самосюк Н. И., Сопильник А.Н., Комар В.С. Современные принципы выбора зон воздействия в физиотерапии и физиопунктуре // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2000. - №3. – С. 39-46.
13. Нарциссов Р.П. Митохондриальные болезни (Взгляд цитохимика). – М., 1999. – 51 с.
14. Нарциссов Р.Н. Применение п-нитротетразоля фиолетового для количественного цитохимического определения дегидрогеназ димфоцитов человека // Арх. анат., гистол., эмбриол. – 1969, № 8. – С. 73.
15. Робинсон М.В., Топоркова Л.Б., Труфакин В.А. Морфология и метаболизм лимфоцитов. – Новосибирск: Наука, 1986. – 125 с.

Темурьянц Н.А., Шишко О.Ю., Нагаева О.И., Минко В.О., Демцун Н.О. Зміна інфрадіанної ритміки дегидрогеназної активності в нейтрофілах крові щурів при адаптаційних реакціях організму різного типу // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59), – № 4. – С. 88-95.

ИЗМЕНЕНИЕ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ ДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ

Вивчена інфрадіанна ритміка дегідрогеназної активності в нейтрофілах периферичної крові щурів при розвитку неспецифічних адаптаційних реакцій організму різного типу. Виявлено, що гіпокінетический стрес приводить до змін інфрадіанної ритміки досліджених систем, що виявляються в розвитку десинхроноза. Неспецифічні адаптаційні реакції типу активації і тренування, викликані дією нізкоінтенсивних ЕМВ НВЧ і ЗМП ННЧ викликають збільшення синхронізації між дослідженими показниками. Зміни викликані дією ЗМП ННЧ виражені набагато яскравіше, ніж такі при дії ЕМВ НВЧ.

Ключові слова: адаптаційні реакції, інфрадіанна ритміка, функціональна активність нейтрофілів, гіпокінезія, ЕМВ НВЧ, ЗМП ННЧ.

Temurjants N.A., Shishko E.J., Nagaeva E.I., Minko V.A., Demtsun N.A. Change infradian rhythmicity functional activity neutrophils blood of rats at adaptable reactions of the organism of various type // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 4. – P. 88-95.

Infradian rhythmicity functional activity neutrophils blood of rats at development of nonspecific adaptable reactions of an organism of various type. It is revealed, that hypokinetic stress leads to changes infradian rhythmicity of the investigated systems shown in development desynchronize. Nonspecific adaptable reactions of type of activation and the trainings caused by action EMF EHF and VMF of ELF cause increase synchronization between the investigated parameters. Changes caused are expressed by action VMF of ELF much more brightly, than those at action EMF EHF.

Keywords: adaptable reactions, infradian rhythmicity, functional activity neutrophils, hypokinetic stress, EMF EHF, VMF of ELF.

Поступила в редакцію 10.11.2007 г.