

УДК 612.829.3:599.32:615.849.11

ИНФРАДИАННАЯ РИТМИКА СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Шишко Е. Ю., Малыгина В. И.

В формировании ответа организма на действие раздражителей разнообразной природы и интенсивности ведущая роль принадлежит симпатоадреналовой системе (САС), которая вместе с гипоталамическим и периферическими адреномедуллярными звеньями активно участвует в развитии неспецифических адаптационных реакций различного типа (НАРО) [1; 2; 3].

Действие на организм стресс факторов приводит к развитию общего адаптационного синдрома [4; 5; 6; 7]. При действии любого стрессора расстраивается согласованная работа всех систем, нарушается временная организация [8; 9]. Известно, что ограничение подвижности вызывает стресс-реакцию и влечет за собой развитие десинхроноза. А десинхронизация эндокринных механизмов регуляции, где центральное место занимают катехоламины (КА), лежит в основе развития многих патологических процессов.

Однако работ, посвященных исследованию временной организации САС при стрессе, крайне мало, а инфрадианная ритмика экскреции КА с мочой совершенно не изучена.

В связи с этим, задачей настоящего исследования явилось изучение инфрадианной ритмики экскреции КА с мочой и диуреза у интактных животных, а также животных с экспериментально вызванной стресс-реакцией, моделированной гипокинезией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 40 беспородных белых крысах-самцах массой 200-300 г. Для экспериментов отбирали животных одинакового возраста, со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определяемых в тесте «открытого поля» [10]. Таким образом, были отобраны животные с одинаковыми типологическими особенностями, однотипно реагирующие на действие различных факторов. Стресс-реакция моделировалась ограничением подвижности животных (гипокинезией). В повторных опытах всех животных распределяли на 2 равноценные группы. К первой группе относились животные, содержащиеся в обычных условиях вивария (биологический контроль). Вторую группу составили животные, содержащиеся в условиях гипокинезии (ГК). Гипокинезия создавалась помещением крыс в специальные пеналы из оргстекла, которые обеспечивали существенное ограничение подвижности по всем направлениям. В пеналах крысы находились в течение 30-ти суток, 23 часа в

ИНФРАДИАННАЯ РИТМИКА СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

постоянных условиях: свет-темнота-12:12 при обычной интенсивности света, постоянной температуре.

В течение 1-го часа осуществлялось кормление, уход за животными, а также исследования в тесте «открытого поля» и забор мочи.

При исследовании диуреза и экскреции КА интактных крыс, а также крыс, подвергавшихся воздействию гипокинезии, помещали в стеклянные обменные клетки с решетчатым полом из органического стекла со сборником мочи. Такие клетки используются для исследования экскреции различных веществ с мочой при разнообразных воздействиях [11]. У крыс с ограниченной подвижностью мочу собирали в мочеприемники, вмонтированные в дно клетки.

Определение концентрации КА в моче крыс осуществлялось триоксиндоловым методом по В.О. Осинской (1953) [12] в модификации А.М. Бару (1962) [13].

Из суточного объема мочи на флюориметрический анализ брали не более 9 мл.

Для измерения флюоресценции использовали флюориметрическую приставку к спектрофотометру «Спекол-10». Интенсивность свечения определяли по длине волны 510 нм при возбуждении 405 нм. Для увеличения чувствительности флюориметра в качестве регистратора светового потока применяли ФЭУ-79, отобранного по минимуму шумов. Предельная чувствительность метода, примененного в настоящем исследовании, составило 10,0 нмоль/л, что вполне соответствует решению поставленных задач.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение инфрадианной ритмики экскреции КА с мочой и диуреза у интактных животных позволило выявить ритмические изменения исследуемых показателей.

Показатель экскреции КА с мочой и диуреза в контроле колеблется в пределах: А – $66,7 \pm 9,5$ до $138,1 \pm 14,3$ усл.ед. и составляет в среднем $81,95 \pm 9,67$ усл.ед.; НА – $54,7 \pm 9,4$ до $134,0 \pm 7,0$ и составляет в среднем $84,5 \pm 8,28$ усл.ед. и диуреза от $39,4 \pm 5,5$ до $160,8 \pm 7,9$ усл.ед. и в среднем - $91,0 \pm 9,4$ усл.ед.

С помощью корреляционного анализа выявлена достоверная корреляционная связь между показателями экскреции А и НА ($r=+0,61$, $p<0,05$).

Результаты проведенных спектрального и косинор анализов свидетельствуют о том, что экскреция КА и диурез с мочой крыс изменяется в инфрадианном диапазоне.

У интактных животных в процессе экскреции А выявлено 7 ритмов: $2,99 \pm 0,005$ суток; $4,85 \pm 0,05$ суток; $6,55 \pm 0,05$ суток; $12,50 \pm 0,25$ суток; $15,25 \pm 0,25$ суток; $17,05 \pm 0,05$ и $21,70 \pm 0,75$ суток (рис. 1).

В экскреции с мочой НА выделено 8 периодов: $3,13 \pm 0,5$; $5,24 \pm 0,24$; $7,25 \pm 0,25$; $9,74 \pm 0,24$; $11,95 \pm 0,05$; $15,05 \pm 0,05$; $17,05 \pm 0,05$ и $20,06 \pm 0,05$ суток (рис. 2.).

В диурезе интактных животных, как и в экскреции НА обнаружено 8 периодов: $2,74 \pm 0,24$; $5,49 \pm 0,50$; $7,20 \pm 0,30$; $9,25 \pm 0,25$; $11,25 \pm 0,25$; $15,05 \pm 0,05$; $17,00 \pm 0,05$; $20,2 \pm 0,25$ суток (рис. 3.).

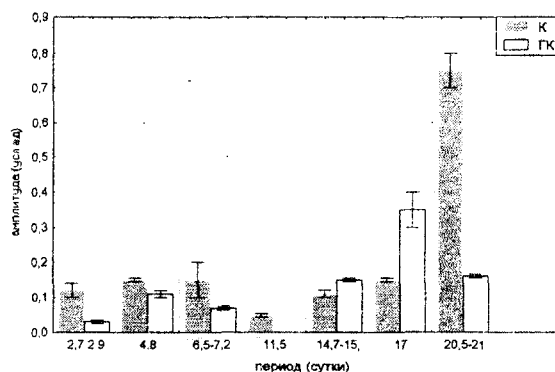


Рис. 1. Интегральные ритмы экскреции А с мочой у intactных животных (К) и у животных при ограничении подвижности (ГК)

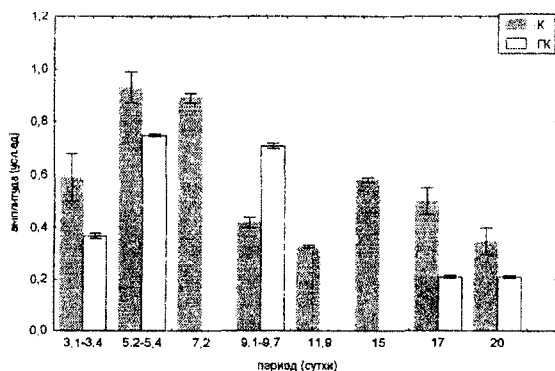


Рис. 2. Интегральные ритмы экскреции НА с мочой у intactных крыс (К) и при ограничении подвижности (ГК).

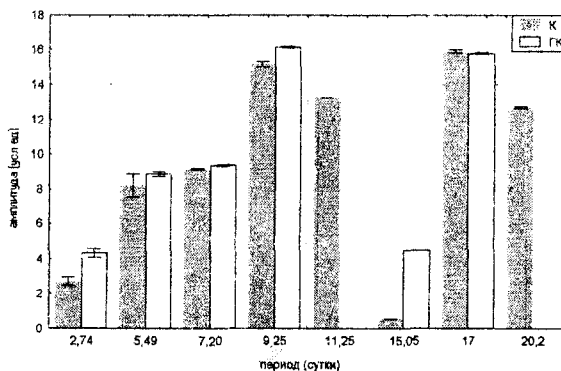


Рис. 3. Интегральные ритмы диуреза у intactных животных (К) и при ограничении подвижности (ГК).

ИНФРАДИАННАЯ РИТМИКА СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Таким образом, спектры экскреции КА с мочой и диуреза в основном совпадают, но отмечены и некоторые особенности. Так, в интегральном ритме экскреции НА присутствует период $\approx 9,0$ суток.

Полученные данные согласуются с результатами исследований, в которых были выделены инфрадианные ритмы: в экскреции с мочой 17-оксикортикостероидов у мужчин [14], в содержании эритроцитов и лейкоцитов [15] в крови, а также фагоцитарной активности нейтрофилов и в уровне неспецифического иммунитета [16; 17].

Инфрадианным ритмам изученных показателей свойственны также и определенные амплитудно-фазовые соотношения. В ритме экскреции А амплитуда выделенных ритмов колеблется от $0,05 \pm 0,005$ до $0,75 \pm 0,05$ усл. ед. Отмечена тенденция к снижению амплитуд более длинных периодов относительно значений более коротких периодов: $\approx 11^d,5$; $\approx 14^d,0$ и $\approx 17^d,0$ (рис. 1). Амплитуда в периоде: $\approx 11^d,0$ отличается от остальных ритмов наиболее низким показателем, а амплитуда в ритме $\approx 21^d,0$ – самым высоким.

В интегральном ритме экскреции НА у животных интактной группы наоборот отмечены самые высокие амплитуды в периодах: $\approx 5^d,0$ и $\approx 7^d,0$ (рис. 2).

Амплитуда перечисленных ритмов колеблется в пределах: от $0,33 \pm 0,005$ до $0,93 \pm 0,06$ усл. ед. В ритме $\approx 5^d,0$ амплитуда зарегистрирована как самая высокая. Она составляет $0,93 \pm 0,06$ усл. ед. Амплитуда в ритме: $\approx 11^d,0$ ниже остальных и составляет $0,33 \pm 0,06$ усл. ед.

В диурезе у интактных животных амплитуда колеблется в пределах $0,56 \pm 0,01$ до $15,89 \pm 0,09$ усл. ед. В ритме $\approx 17^d,0$ зарегистрирована самая высокая амплитуда, составила – $15,89 \pm 0,09$ усл. ед., а в периоде $\approx 15^d,0$ – $0,56 \pm 0,01$ усл. ед. – самая низкая.

Таким образом, инфрадианная ритмика экскреции КА с мочой и диуреза у интактных животных различаются амплитудными характеристиками во всех выделенных периодах.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что инфрадианная ритмика диуреза и экскреции НА и А с мочой крыс, а также степень синхронизации изученных параметров существенно меняется при гипокинезии.

Косинор-анализом в процессе экскреции А у крыс с ограниченной подвижностью выявлено 6 периодов: $2,70 \pm 0,20$; $4,84 \pm 0,05$; $7,25 \pm 0,25$ и $14,75 \pm 0,25$; $17,00 \pm 0,05$ и $20,50 \pm 0,50$ суток. Обращает на себя внимание отсутствие ритма $\approx 11^d,0$ при ограничении подвижности (рис. 1). В структуре спектра экскреции НА у животных экспериментальной группы методом косинор-анализа обнаружено 5 периодов: $3,49 \pm 0,50$; $5,44 \pm 0,05$; $9,13 \pm 0,41$; $17,05 \pm 0,05$ и $20,50 \pm 0,05$ суток, т.е. периоды $\approx 7^d,0$; $\approx 11^d,0$ и $\approx 14^d,0$ при воздействии гипокинезии исчезли (рис. 2.).

Во временной организации диуреза выделено 6 периодов: $2,74 \pm 0,25$; $5,49 \pm 0,50$; $7,05 \pm 0,05$; $9,25 \pm 0,25$; $14,99 \pm 0,005$; $17,05 \pm 0,05$ суток (рис. 3). В отличие от показателей диуреза интактной группы у экспериментальной группы периоды: $\approx 11^d,0$ и $\approx 20^d,0$ исчезают.

Изменение спектральной мощности выявленных ритмов проявляется в соответствующих перестройках амплитуды ритма. Амплитуда экскреции А в перечисленных ритмах колеблется от $0,03 \pm 0,05$ до $0,35 \pm 0,05$ усл. ед. В спектре экскреции А зарегистрирован разнонаправленный сдвиг амплитуд, а именно: амплитуда ритмов данного показателя достоверно уменьшается в периоде $\approx 4^d,84$ в 1,36 раза и в ритме: $\approx 7^d,25$ в 2,14 раза. Максимальное снижение амплитуд зарегистрировано в периоде: $\approx 20^d,5$ в 4,68 раза по сравнению с показателями контрольной группы животных, а в $\approx 14^d,0$ - суточном ритме экскреции А с мочой обнаружено повышение амплитуды в 1,18 раза относительно контроля.

Для ритмов экскреции НА характерно понижение амплитуд в 1,2-1,6 раза во всех выделенных периодах относительно значений контрольной группы. Причем максимальное снижение амплитуд исследуемых показателей зафиксировано в $\approx 17^d,0$ периоде – в 2,08 раза по сравнению с показателями интактной группой животных.

Для ритмов диуреза у экспериментальной группы животных свойственно повышение амплитуд в периодах: $5^d,49 \pm 0,50$; $7^d,05 \pm 0,05$; $9^d,25 \pm 0,25$ и $14^d,99 \pm 0,005$. В интегральном ритме: $\approx 14^d,9$ амплитуда данного показателя достоверно увеличивается в 8,07 раза. В периодах: $2,74 \pm 0,25$ и $17,05 \pm 0,05$ зарегистрировано понижение амплитуды в 1-1,06 раза.

Кроме того, гипокинезия вызывает не только существенные сдвиги амплитуд, но, также и фазовые сдвиги. Обнаружено смещение фаз экскреции А во всех выделенных ритмах относительно контрольных значений. Фаза в интегральном ритме $2^d,70$ изменяется на $136,4^\circ$, в ритме $4^d,84$ на $148,4^\circ$, в $7^d,25$ - на $60,1^\circ$. Зафиксирован максимальный фазовый сдвиг в периоде: в $\approx 17^d,0$ - на 169° относительно показателей интактной группой животных (рис. 4).

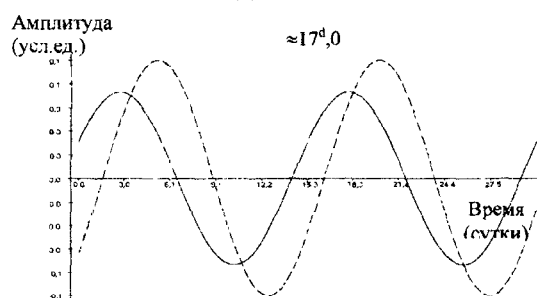


Рис. 4. Фазовые соотношения биоритмов экскреции А с мочой у интактных животных и с ограниченной подвижностью.

Гипокинетический стресс приводит к отчетливому сдвигу фазы во всех выявленных ритмах и в экскреции НА. Фазовые сдвиги гипокинезированных животных отличаются от фаз показателей интактной группы животных, они смещаются в 1,1- 1,6 раз.

Фаза в ритме $3^d,49$ изменяется на $26,4^\circ$, в ритме $5^d,44$ на $10,9^\circ$. Отмечен максимальный фазовый сдвиг в ритме $\approx 20^d,5$ на 159° относительно показателей интактной группой животных.

ИНФРАДИАННАЯ РИТМИКА СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Также отмеченные фазовые сдвиги регистрируются и в диурезе. Фаза в ритме $9^{\text{д}},25$ - на 113° , в ритме $14^{\text{д}},99$ на $56,1^{\circ}$ (рис. 5).

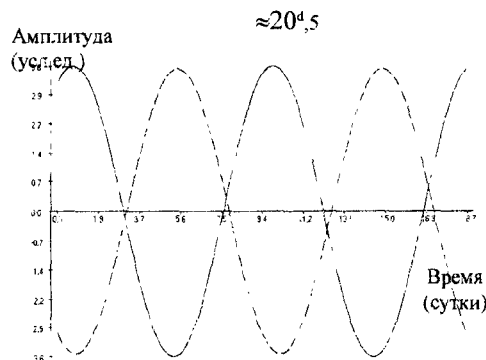


Рис. 5. Фазовые соотношения биоритмов диуреза у интактных животных и с ограниченной подвижностью.

Выявлен максимальный фазовый сдвиг в ритме: $\approx 2^{\text{д}},74$ на 229° относительно показателей интактной группы животных (рис. 5), а минимальный фазовый сдвиг - в интегральном ритме: $\approx 5^{\text{д}},49$ на $2,3^{\circ}$ относительно значений интактной группы. В периоде: $\approx 17^{\text{д}},0$ смещение фаз не зарегистрировано.

Ограничение двигательной активности приводит к изменению временной организации диуреза и экскреции КА с мочой. У животных, находившихся в условиях ГК, обнаружено изменение интегральных выявленных ритмов, что проявляется в соответствующих перестройках амплитуды ритмов, уменьшением амплитуды и сдвига фаз.

Таким образом, гипокинезия вносит свои коррективы в амплитудно-фазовые характеристики и приводит к ярко выраженному рассогласованию диуреза и экскреции КА с мочой.

Сопоставляя результаты собственных исследований с литературными данными можно представить механизм нарушения временной организации при гипокинетическом стрессе. Известно, что развитие стресс-реакции начинается с активации САС. В наших исследованиях об активации САС свидетельствует резкое возрастание экскреции катехоламинов с мочой в первые сутки ограничения подвижности. Так, на 1-3 сутки ограничения подвижности выделение А с мочой возрастает до $214,3 \pm 19,2\%$ ($p < 0,001$), а НА только на 14% относительно исходного уровня.

Такое возрастание экскреции КА связано с выделением НА из гипоталамического депо, и А — из надпочечников [18; 19]. Повышение уровня А в надпочечниках вместе со снижением НА в гипоталамусе характеризует «рецепторные» взаимоотношения [13], которые имеют существенное значение для эндокринной адаптации к действию стресс-факторов. Следствием этих изменений является активация периферических отделов САС, о чем свидетельствует возрастание концентрации КА в плазме крови [20].

В механизме нарушения временной организации при хроническом стрессе существенное значение имеют выделения и повышенная утилизация НА при разворачивании адаптационных реакций на уровне гипоталамуса, в том числе и в пептидэргических системах, обеспечивающих перестройку гипофизарно-адренкортикальной активности [21; 22]. Важное значение имеет увеличение обратного захвата НА адренергическими нервными окончаниями, наблюдаемые обычно при стрессе [23]. Таким образом, достигается своеобразная «экономия» НА повторное его использование нейронами, подзарядка гранул нервного окончания возвращенным в него медиатором [24]. Как показывают многочисленные данные эти процессы, модулируют чувствительность β -адренорецепторов, находящихся во многих внутренних органах, а также в различных отделах мозга [25].

Показано что хронический иммобилизационный стресс уменьшает плотность β -адренорецепторов и в пинеалоцитах, что сопровождается дисфункцией внутриклеточной серотонин N-ацетилтрансферазы, и как следствие уменьшением N-ацетилсеротонина и мелатонина. [26]. Авторы подчеркивают, что эти изменения обусловлены не стрессиндуцированным повышением уровня катехоламинов в циркулирующей крови, а снижением «симпатического входа».

Таким образом, одним из результатов активации центральных звеньев САС является изменение содержания мелатонина в эпифизе. Важным являются данные, о том, что при хроническом стрессе не столько изменяется содержание мелатонина в эпифизе, сколько смещается акрофаза циркадианного ритма его секреции [27].

Поскольку существует тесная взаимосвязь между ритмами различной продолжительности, можно полагать, что при хроническом стрессе происходит смещение фаз секреции мелатонина и в ритмах большей продолжительности, в том числе и инфрадианных. Следствием этого является изменение инфрадианной ритмики физиологических систем, в том числе САС, обнаруженного в нашем исследовании. Изменение ритмики проявляется в изменении спектров мощности, смещении фаз, изменении амплитуд, снижением коэффициента корреляции ГК ($r=0,21$, $p>0,05$) между А и НА выявленная у животных контрольной группы ($r=0,61$, $p<0,05$). Все это свидетельствует о развитии десинхроноза.

Таким образом, гипокинетический стресс приводит к выраженным нарушениям инфрадианной ритмики САС.

Список литературы

1. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И. Стресс и система крови. - М.: «Медицина», 1983.-235 с.
2. Гриневич В.В., Поскребышева Е.А., Савелов Н.А. Иерархические взаимоотношения между органами гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС) при воспалении // Успехи физиол. наук. – 1999. - Т. 30, №4. – С. 50-66.
3. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Пат. Физиол. – 2001. – № 2. – С 26-30.
4. Селье Г. Очерки об адапционном синдроме. – М.: Медицина, 1960. – 254 с
5. Португалов В.В., Ильина - Какуева Е.И., Старостин В.И., Рохленко К.Д., Савик З.Ф. Структурные и цитохимические изменения скелетных мышц при ограничении подвижности // Арх. Анат., гистол., эмбриол. – 1971. - Т. 61, № 11. – С. 82-90.
6. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 307 с.

**ИНФРАДИАННАЯ РИТМИКА СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ
ГИПОКИНЕТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

7. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипокинезии: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.00.23 // Крым. Мед. ин-т. - Симферополь, 1986. - 25 с.
8. Степанова С.И. Биоритмологические аспекты проблемы адаптации М.: Наука.-1986.-244 с.
9. Бреус Т.К., Чибисов С.М., Баевский Р.М., Шебзухов К.В. Хроноструктура ритмов сердца и факторы внешней среды. - М., 2002.- 232 с.
10. Маркель А.Л. // Журнал высшей нервной деятельности. - 1981.- Vol. 31, №2.-301 с.
11. Бойко Т.П. Изменение уровня катехоламинов в тканях белых крыс в условиях формирования алкогольной мотивации и их фармакологическая регуляция Автореф. дисс... д-ра биол. наук, – Харьков, 1987. – 16 с.
12. Осинская В.О. Данные об окислении адреналина, норадреналина, адреналона, норадреналона во флюоресцирующие соединения // Биохимия. – 1953. – Т. 1. -вып. 18.-. С. 594-595.
13. Бару А.М. Значение норадреналина головного мозга в возникновении гормонально-медиаторной диссоциации как формы изменения симпато-адреналовой активности // Физиология и биохимия биогенных аминов. М.: Наука, 1969. – С. 64-70.
14. Mori K., Yano T., Matumoto T, et al. Chronobiological Studies of 17-ketosteroid excretion // J. Biometeorol. – 1985. – Vol. 29, №1. – P. 116.
15. Ковальчук А.В., Чернышев М.К. Многодневные биоритмы физиологических процессов и некоторые вопросы связи организма человека с динамикой внешней среды. // Теоретические и прикладные аспекты временной организации биосистем. – М.: Наука, 1976. – С.112
16. Потапов В.Н. Многодневная периодичность в состоянии неспецифических факторов иммунитета и их математическое моделирование // Тез. Докл. Всесоюзн. конф. «Хронобиология и хронопатология». – Москва: Медицина. – 1981. – С. 199.
17. Reiman H.A. Medical importance of long biorhythms in aeromedicine // Aerospace Med. – 1971. – Vol. 42, №10. – P. 1086-1987.
18. Кассиль В.Г., Бондаренко М.Ю., Михайленко В.А. Реакция симпато-адреналовой системы на действие безусловного и условного стимулов при формировании и угашении условнорефлекторной вкусовой аверсии у половозрелых крыс линии Вистар // Успехи физиол. наук. – 1994. – Т. 25. - № 3. – С. 32.
19. Kvetnansky R., Mikulay L. Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress // Endocrinology. – 1970. –Vol. 87, № 4. – P. 738-743.
20. Korin L. and Klein D. Stress increases pineal epinephrine. Commun. Psychopharmacol. – P. 69-72.
21. Маглина С.Ш. Обмен катехоламинов в гормональном и медиаторных звеньях при стрессе // Успехи физиол. наук. – 1972. - № 4. – С. 92-130.
22. Шаляпина В.Г. Участие катехоламинов мозга в регуляции гипофизарно-адреналовой системы // Гипофизарно-адреналовая система и мозг. – 1976. –С. 49-66.
23. Rosencrans J. Brain amine changes in stressed and normal rats pretreated with various drugs // Arch. Internat. Pharmacodyn. – 1969. – Vol. 180, №2. – P. 460-470.
24. Утевский А.М. Биохимия адреналина. – Харьков, 1979. – 129 с.
25. Шурлыгина А.В., Труфакин В.А. Гушин Г.В., Корнева Е.А. Суточные вариации содержания адреналина, норадреналина и β -адренорецепторов в крови и лимфоидных органах здоровых крыс // Бюллетень экспер. биологии и медицины. - 1999. - Т. 128, №9. - С. 344-346.
26. Yocca F. D. and Friedman E. Parallel but Separate Release of Catecholamines and Acetylcholinesterase from Stimulated Adrenal Chromaffin Cells in Culture // J. of Neuroendocrinology. - 1984. – Vol. 42. – P. 1433-1438.
27. Арушанян Э.Б. Эпифиз и организация поведения // Успехи физиол. наук. – 1991. – Т. 22, № 4. – С. 122 - 141.

Поступила в редакцию 09.12.2003 г.