

Раздел 2
Оценка действия загрязнителей окружающей среды
на биоту и здоровье населения

УДК 57034

Л.Ж. ГУМАРОВА

О ВЛИЯНИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ РИТМОВ НА ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ
ГОРМОНОВ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ СТРЕССЕ

(Казахский национальный университет имени аль-Фараби)

Анализируется влияние сезонов года на среднесуточное содержание гормонов надпочечников при хроническом стрессе в периферической крови крыс в условиях естественного освещения. В зимний и осенний периоды содержание катехоламинов на вторые сутки гипокинезии снижается, весной и летом при той же продолжительности стрессового воздействия наблюдается стабилизация уровня катехоламинов. Среднесуточное содержание кортикостерона в плазме крови крыс на вторые сутки гипокинезии повышается в течение всего года, наиболее высокие значения концентрации кортикостерона наблюдаются в весенние и летние месяцы. Наиболее высокий показатель прироста общего кортикостерона в ответ на стрессовое воздействие наблюдается в зимние месяцы.

Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система – важная физиологическая система, способная вызывать и адаптивные реакции, и неадекватные, имеющие негативный эффект для выживания, реакции /1/. Кратковременная реакция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) весьма эффективна при появлении опасности, но в то же время длительное напряжение ГГНС ослабляет организм, потребляя значительное количество запаса энергии, необходимого для зимнего выживания /2, 3/. Фотопериодическое регулирование ГГНС может обеспечить баланс между положительным и отрицательным влиянием гормонов стресса. О влиянии фотопериодизма, сезонов года на ГГНС млекопитающих сообщается в научной литературе /4, 5, 6/, однако различия во времени суток в различных работах не дают возможности их однозначной интерпретации. Зависимость ответа гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси от времени дня, в который применен стрессор, также активно изучалась различными исследователями /7, 8/. Однако исследований, анализирующих влияние на ГГНС и сезонов года, и времени суток, в научной литературе мы не обнаружили. Целью данного исследования было изучение влияния сезонов года на изменение среднесуточного уровня (учитывая, таким образом, циркадианные ритмы) адреналина, норадреналина и кортикостерона в плазме крови крыс при стрессе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования служили беспородные крысы обоего пола в возрасте от 2 до 5 месяцев весом $0,3 \pm 0,03$ кг. Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде. Стресс моделировали помещением крыс в клетки-пеналы (7 мм × 12 мм) сверху натягивалась металлическая сетка. Крыс забивали мгновенной декапитацией, которую начинали с 24-го часа, т.е. на 2-сутки гипокинезии, ежедневно.

В каждой серии экспериментов (на сезон) использовано по 144 особи. Анализировали на содержание адреналина, норадреналина, «свободного» и «общего» кортикостерона. Для определения катехоламинов использовали спектро-флюорометрический метод Матлиной Э.Ш., в модификации, подробно изложенной нами ранее /9/. Содержание «свободного» кортикостерона определялось флюорометрическим методом /10/. Содержание «общего» кортикостерона определяли по методике Черкасовой О.Р. /11/, методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Полученные результаты обрабатывали с применением t-критерия Стьюдента с помощью статистических программы Past и SPSS.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольных группах животных наблюдается постепенное снижение среднесуточного уровня катехоламинов в плазме крови от зимы к весне и далее к летним месяцам (рис.1). Статистически достоверно снижение между весенними и летними месяцами по концентрации адреналина ($p < 0,01$), также достоверна разница в сезонных различиях зима-лето по адреналину ($p = 0,01$) и по норадреналину ($p = 0,01$).

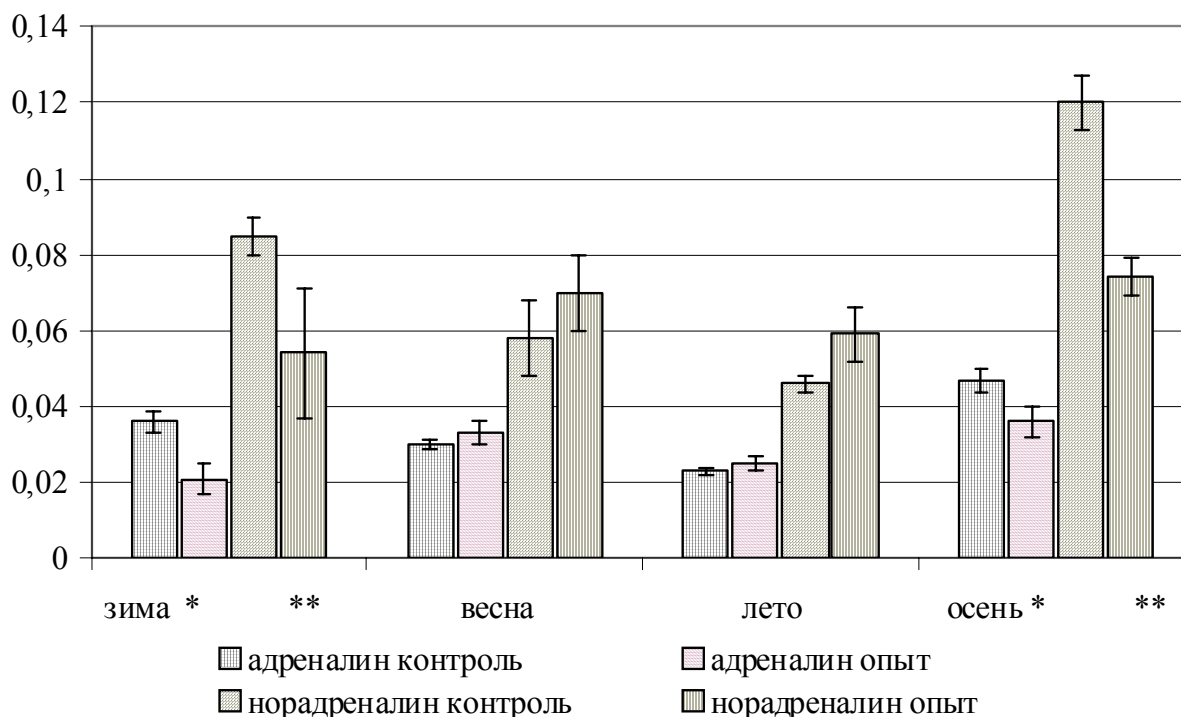


Рисунок 1. Среднесуточное содержание катехоламинов (нг/мл) в плазме крови крыс при стрессе в различные сезоны года (n=144, * - $p < 0,01$, ** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем).

Среднесуточное содержание катехоламинов у контрольных животных максимально осенью (рис.2), достоверно выше ($p < 0,001$) по сравнению с другими сезонами для норадреналина, и по сравнению с зимними ($p < 0,01$) и весенними ($p < 0,001$) показателями для адреналина. При стрессе, согласно полученным данным, среднесуточное содержание катехоламинов меняется неоднозначно и зависит от сезона года (рисунок 1). Зимой и осенью среднесуточное содержание адреналина и норадреналина под влиянием стресса уменьшается ($p < 0,001$), что можно рассматривать как переход организма ко 2-м суткам в стадию

резистентности общего адаптационного синдрома (ОАС). Весной и летом же 1-суточная гипокинезия не приводит к статистически достоверному изменению концентрации катехоламинов в плазме крови крыс, наблюдается лишь слабо выраженная тенденция к ее повышению, более выраженная для норадреналина. Известно, что норадреналин не только влияет на интенсивность энергообмена, но и вызывает некоторую констрикцию магистральных сосудов и дилатацию периферических сосудов [12, 13]. У крыс, содержащихся в условиях длинного светового дня, вазомоторное действие норадреналина преобладало над калоригенным. Прирост теплоотдачи у них, по-видимому, был обусловлен увеличением коэффициента теплопроводности в большей степени, чем повышением теплопродукции. Следовательно, в зимние месяцы экспозиция в условиях короткого светового дня приводит к повышению калоригенного эффекта норадреналина, играющего существенную роль в адаптации животных к холоду. Условия же длинного дня, с одной стороны, ограничивают вызванный норадреналином термогенез, с другой – стимулируют вазомоторное действие этого нейромедиатора. Повышение теплопроводности под влиянием норадреналина, являющегося гормоном «тревоги», имеет очевидное адаптивное значение для летнего сезона, так как обеспечивает повышенную теплоотдачу при интенсификации теплообмена в условиях эмоционального напряжения и активной деятельности животных.

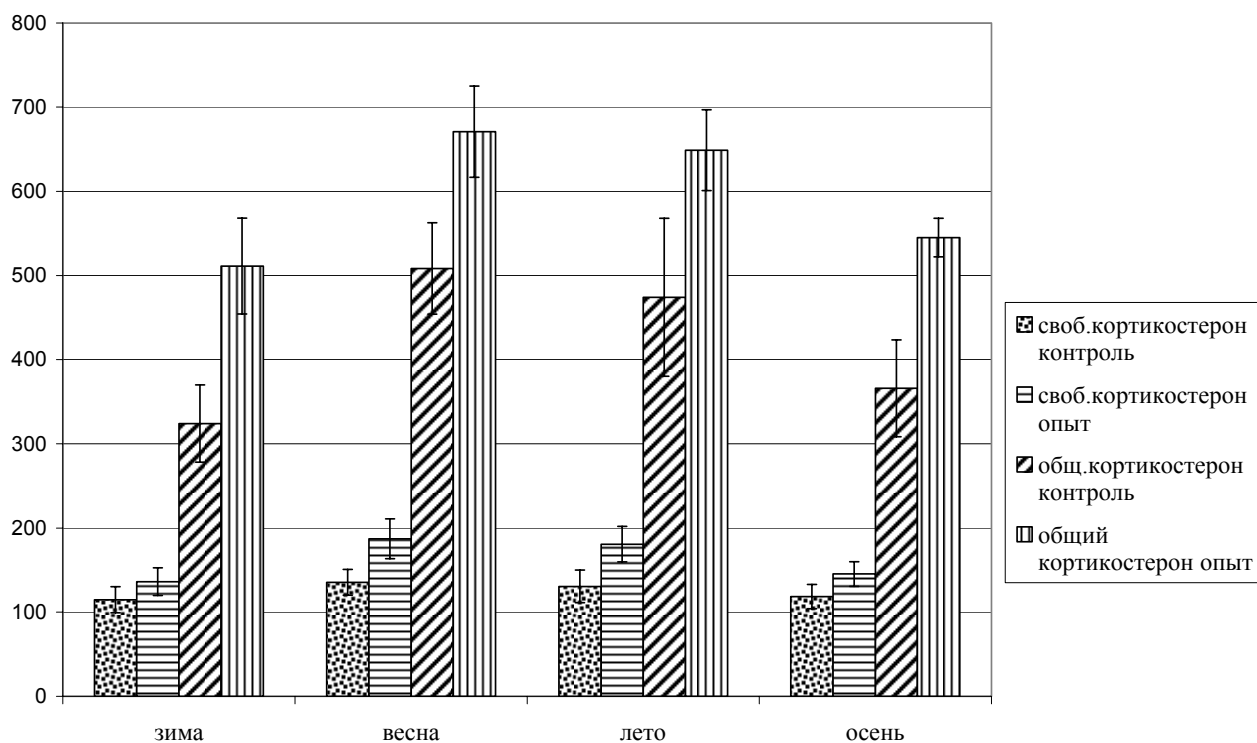


Рисунок 2. Среднесуточное содержание кортикостерона (нг/мл) в плазме крови крыс при гипокинезии ($p < 0,001$ по сравнению с контролем во всех выборках).

Среднесуточное содержание кортикостерона в плазме крови контрольной группы животных достоверно выше ($p < 0,005$) в весенне-летние месяцы по отношению к осенне-зимним. Сезонные ритмы, будучи эволюционно закрепленной формой адаптации организмов к регулярно изменяющимся условиям окружающей среды, зависят от ареала обитания (географической зоны), а также от биологического вида животных. Так, в экспериментах, проведенных на песчаных крысах (*Psammomys obesus*), обитающими в пустыне Сахаре, было установлено, что под влиянием гипокинезии продолжительностью 12-24 часа секреция

кортикоостерона максимална весной и зимой (эксперименты проводились между 9 и 12 часами дня) /14/. Содержание глюкокортикоидов в плазме периферической крови было выше в течение лета (без покрытия снега), чем весной (с покрытием снега) у леммингов (*Lemmus trimicronatus*), выше во время размножения, чем перед бездействием у белок (*Spermophilus saturatus*), и выше пострепродуктивно, чем во время размножения у бурундуков (*Tamias amoenus*) /15/. Полученные нами данные, таким образом, характерны для данного вида лабораторных животных при адаптации к условиям нашего региона и согласуются с современными представлениями об аллостазе, отвечая физиологическому состоянию В в «ожидаемых» сезонных изменениях уровня глюкокортикоидов /1/.

Среднесуточное содержание кортикоостерона в плазме крови этих животных повышается ($p < 0,001$) на вторые сутки гипокинезии в течение всего года, наиболее высокие значения концентрации кортикоостерона наблюдаются в весенние и летние месяцы (рис.2). Однако в зимние месяцы в ответ на стрессовое воздействие наблюдается наиболее высокий показатель прироста общего кортикоостерона ($324,02 \pm 45,9$ нмоль/л в контроле, $511,22 \pm 57,0$ нмоль/л при стрессе), что согласуется с данными авторов /6/, где в ответ на кратковременные воздействия (1 час гипокинезии, 1 мин в водном лабиринте) у мышей прирост кортикоостерона в короткие световые дни, имитирующие зимние, выше, чем в длинные (летние) дни, что расценивается авторами как более эффективный ответ ГНС зимой. Уровень кортикоостерона после 1-часовой гипокинезии в данной работе /10/ также выше в дни с кратким фотопериодом, т.е., в зимние, по сравнению с длинными световыми днями, что отличается от полученных нами данных при 24-48 часовой гипокинезии, что вероятно объясняется сокращением длительности фаз ОАС в зимние месяцы, в связи с чем на вторые сутки эксперимента мы регистрируем уже стабилизацию ГНС и даже спад (рис.1), соответствующие 2 и 3 фазе общего адаптационного синдрома (по Селье) /16/.

Роль кортикоидных гормонов в синхронизации суточных ритмов физиологических функций с факторами среды на протяжении года в значительной степени зависит как от особенностей внутрисистемных взаимоотношений между центральными периферическими звеньями в механизме кортикоостероидной регуляции, так и от специфики адаптивных перестроек эффекторных гормонально-зависимых функций в различные сезоны года. Изменения функционального состояния ГНС в различные сезоны связаны с уровнем обменных процессов качественными перестройками энергетического обмена, и системы терморегуляции, активностью систем, определяющих скорость катаболизма гормонов.

В осенние и зимние месяцы вторые сутки гипокинезии сопровождаются снижением среднесуточного уровня адреналина и норадреналина, но в то же время повышением содержания кортикоостерона в плазме периферической крови крыс, что указывает на 2 стадию ОАС (завершение 1 фазы стресса в течение первых суток). В весенние и летние месяцы при стрессе среднесуточное содержание (мезор) адреналина остается на исходном уровне, среднесуточное содержание норадреналина и кортикоостерона повышается. Перечисленные изменения свидетельствуют о том, что на вторые сутки гипокинезии в весенние и летние месяцы продолжается 1 фаза ОАС, т.е. ее продолжительность в этот сезон длится до 48 часов.

Таким образом, в зимние (краткодневные) месяцы 1 стадия (тревоги) ОАС, будучи наиболее эффективной в первые часы, наиболее коротка во времени по сравнению с другими сезонами года. Длительный хронический стресс, потребляя значительные энергозапасы, ослабляет организм, что делает целесообразным более «краткую» по продолжительности стратегию адаптации к неспецифическим стресс-факторам в зимние месяцы по сравнению с другими сезонами года.

ЛИТЕРАТУРА

1. Landys M.M., Ramenofsky M., Wingfield J.C. Action of glucocorticoids at seasonal baseline as compared to stress-related levels in the regulation of periodic life processes. // General and Comparative Endocrinology. - 2006 Sep 1; Vol. 148 (2), pp. 132-149.
2. Korte SM, Koolhaas JM, Wingfield JC, McEwen BS. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. – 2005. - Feb; Vol. 29 (1), pp. 3-38.
3. McEwen BS. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. // Brain Research. – 2000. - Dec 15; Vol. 886 (1-2), pp. 172-189.
4. Amirat Z; Brudieux R. Seasonal changes in in vivo cortisol response to ACTH and in plasma and pituitary concentrations of ACTH in a desert rodent, the sand rat (*Psammomys obesus*). // Comparative Biochemistry and Physiology. – 1993. - Vol. 104A, No.1, pp. 29-34.
5. Bilbo SD, Nelson RJ. Sex differences in photoperiodic and stress-induced enhancement of immune function in Siberian hamsters. // Brain, Behavior, and Immunity. – 2003. - Dec; Vol. 17 (6), pp. 462-72.
6. Pyter L.M., Adelson J.D., Nelson R.J. Short days increase hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness. Endocrinology. – 2007. - Jul; Vol.148 (7), pp. 3402-3409
7. Retana-Marquez S., Bonilla-Jaime H., Vazquez-Palacios G., Dominguez-Salazar E., Martinez-Garcia R. Velazquez-Moctezuma J. Body weight gain and diurnal differences of corticosterone changes in response to acute and chronic stress in rats. //Psychoneuroendocrinology. - Feb2003, Vol. 28 Issue 2, p207, 21p.
8. Buckley T.M., Schatzberg A.F. On the interactions of the hypothalamic-pituitary-adrenal (*HPA*) axis and sleep: normal *HPA* axis activity and circadian rhythm, exemplary sleep disorders. //The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. - 2005 May; Vol. 90 (5), pp. 3106-3114.
9. Жумабаева Г.М., Тулеуханов С.Т., Гумарова Л.Ж. Влияние гипокинезии на суточную динамику содержания катехоламинов в плазме крови крыс в летние месяцы. // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. 2005, № 4. - Алматы: НИЦ Ғылым. - с. 80-84.
10. Резников А.Г. Методы определения гормонов. – К.: Наукова думка. 2000 - 400 с.
11. Черкасова О.П., Федоров В.И. Одновременное исследование содержания кортикостерона и 11-дегидрокортикостерона в надпочечниках и плазме крови при остром стрессе. // Проблемы эндокринологии – 2001 - №1, с. 37-39.
12. Федоров Б.М. Стресс и система кровообращения. // М.: Медицина. – 1990. – 320 с.
13. Деряпа Н.Р., Мошкин М.П., Посный В.С. Проблемы медицинской биоритмологии. / АМН СССР. – М.: Медицина. – 1985. - 208 с.
14. Amirat Z., Brudieux R. Seasonal changes in in vivo cortisol response to ACTH and in plasma and pituitary concentrations of ACTH in a desert rodent, the sand rat (*Psammomys obesus*). // Comparative Biochemistry Physiology. – 1993, Vol.104A, No.1, pp.29-34
15. Romero L.M., Meister C.J., Cyr N.E., Kenagy G.J., Wingfield J.C. Seasonal glucocorticoid responses to capture in wild free-living mammals. // American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. – Feb2008, Vol.63, Issue 2, pR614-R622, 9 p.
16. Черешнев В.А., Юшков Б.Г. Патопфизиология: Учебник. – М.: Вече, 2000. – 704 с.

Созылмалы стресс жағдайында егеуқұйрықтардың перифериялық қанында бүйрек үсті бездерінің гормондардың ортатәуліктік мөлшеріне жыл маусымдарының әсері қарастырылған. Қыс және күз маусымдарында гипокинезияның екінші тәулігінде катехоламиндердің мөлшері төмендейді, кортикостерон мөлшері жоғарылайды, жазда және көктемде стрестің әсерінің ұзақтығы өзгермелі болғанымен катехоламиндердің мөлшері бір деңгейде сақталады. Гипокинезияның екінші тәулігінде егеуқұйрық қан плазмасында кортикостерон ортатәулік мөлшері жыл бойы жоғарылайды, кортикостерон концентрациясының ең жоғары мәндері көктем және жаз айларында байқалады. Стресс әсеріне жауабы ретінде жалпы кортикостеронның көбеюі қыс айларында байқалды.

The influence of the seasons of the year on the daily average maintenance of hormones of adrenal glands is analyzed during chronic stress in the peripheral blood of rats in conditions of natural light-dark cycle. During the winter and autumn periods, the maintenance of catecholamines for the second 24-hour period of immobilization decreases. In the spring and summer periods, at the same duration of stressful influence, the stabilization of catecholamines is observed. The daily average maintenance of corticosterone in the plasma of rats for the second 24-hour-period of immobilization rises in the course of the whole year, and the highest concentrations of corticosterone are observed in the spring and summer months. The highest indicator of the gain of general corticosterone in response to stressful influences is observed in winter months.

Г.С. ДАУЛБАЕВА

НАБЛЮДЕНИЯ НАД ХАРАКТЕРОМ РОСТА ЦИТРУСОВЫХ РАСТЕНИЙ В ЗАКРЫТОМ ГРУНТЕ Г. АЛМАТЫ

(Институт ботаники и фитоинтродукции КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан)

В работе изложены результаты многолетних наблюдений за ростом, развитием, цветением и плодоношением саженцев цитрусовых, выращиваемых в оранжерее Института ботаники и фитоинтродукции. В частности наблюдениями установлено, что при оранжерейной культуре рост цитрусовых происходит значительно медленнее, чем в открытом грунте, но цветение в оранжерее начинается на месяц раньше.

В установлении степени соответствия того или иного сорта новым условиям, важным является познание биологических особенностей роста, развития и плодоношения. Изучение сезонного ритма роста развития позволит выяснить, как реагируют сорта на новые условия жизни.

При интродукции большое значение имеет изучение продолжительности и динамики роста побегов, установление сроков его начала и окончания, что является важным показателем перспективности разведения интродуцентов.

Условия роста для любых растений в закрытом грунте, в любом случае отличаются от естественных условий. Это же касается и цитрусовых, поэтому, данные по фенологии могут отличаться от многих или стандартных данных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наше фенологическое наблюдение охватывало период с 2001 по 2005 годы. Целью исследования было изучение закономерности и характеристики роста, цветения и плодоношения. За это время проводились измерения роста и наблюдались этапы развития за определенные промежутки времени.

Объектами исследования являлись однолетние укорененные саженцы из семейств: Рутовые /*Rutaceae*/- сорт Мейера (*Citrus. limonia* Osb x *C sinensis* Osb), Сорт Павловский (*Citrus limonia* Osb.). Однолетние сеянцы посева 1999 г. - цитрумело (гибрид грейпфрута x понцирус трифолиата), однолетние окулянты 1999 г., полученные путем прививки на подвое саженцев лимона, апельсин Вашингтон Навель (*Citrus sinensis* L.), мандарин Уншиу широколистный (*Citrus reticulata* Blanco var. Unshiu) и маточники – цитрусы, высаженные в 1971 гг.

Изучение индивидуального развития саженцев (черенков) начиналось с момента появления корней, а сеянцев - с появлением всходов. Прирост побегов наблюдали с момента их образования в пазухах листьев, а привитых на подвое саженцев - с момента приживания глазков. Однолетние побеги измерялись от их основания и до вершины побега. Измерение динамики роста побегов проводилось через каждые 10 дней.

Важным показателем биологических свойств интродуцентов в новых условиях произрастания является их рост. Все цитрусовые растут не постоянно, а периодами. Новый прирост начинается тогда, когда полностью заканчивается вызревание молодых листьев /1/. В условиях закрытого грунта, где зимой температура держалась в пределах +10-12° С, все молодые цитрусовые имели малый прирост и один период роста. И это продолжалось до пяти лет.