

УДК 613.98:615.35.7

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ЭПИФИЗА НА ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТАТИЧЕСКОЙ И ДИНАМИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ У КРЫС ПРИ НАРУШЕНИИ ФОТОПЕРИОДИЗМА

И.А. Виноградова, В.Д. Юнаш

Петрозаводский государственный университет

Установлено, что у самцов крыс, содержащихся при различных световых режимах в течение 2-х лет (естественное и постоянное освещение, 12-часовое чередование дня и ночи), возрастное изменение статической (подвешивание на экран-сетку) и динамической (плавательная проба) физической активности определяется световым режимом. Нарушение фотопериодизма в виде постоянного освещения приводит к более раннему снижению выносливости у животных по сравнению с особями, содержащимися в условиях фиксированного чередования дня и ночи. Аналогичные результаты получены у крыс, находящихся в условиях естественного освещения Северо-Запада России. Мелатонин и эпیتالон, вводимые с 4-х месячного возраста, не влияют на физическую активность молодых и зрелых крыс. Препараты замедляют возрастное снижение физической работоспособности, оказывая на физическую активность старых крыс однонаправленное стимулирующее действие.

На сегодняшний день придается большое значение проблеме влияния различных биологических ритмов на жизнедеятельность, состояние здоровья и, в частности, на физическую и умственную работоспособность [1, 2, 3]. Смена дня и ночи является важным регулятором физиологических реакций организма. Пусковой механизм этого процесса – выработка индольного гормона эпифиза, мелатонина, ответственного за циркадианные ритмы [4]. Различные изменения режима освещения могут стать причиной нарушения эпифизарной функции и развития патологических состояний, связанных с явлением десинхрона. Так, вследствие нарушения нормального соотношения продолжительности дня и ночи, могут развиваться депрессия, бессонница, неврозоподобные состояния, синдром хронической усталости, что, как следствие, ведет к снижению физической работоспособности [5, 6].

Представляется целесообразным изложить экспериментальные данные по влиянию различных фотопериодов на физическую работоспособность лабораторных животных в онтогенезе, а также исследовать корригирующее влияние мелатонина и синтетического аналога эпیتالамин – эпیتالона при нарушении околосуточных ритмов на данный параметр.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследования проведены на 180 половозрелых крысах-самцах ЛИО [7]. Все животные, составив-

шие экспериментальные группы, были рождены в условиях нашего вивария в конце апреля – начале мая. С июня крысы 1-месячного возраста были рандомизировано разделены на 3 группы и помещены в стандартные помещения вивария площадью 25 м² каждое. Крыс содержали по 10 животных в клетках размером 44x25x62 см при температуре окружающего воздуха 22±2°С. Все крысы получали стандартный лабораторный корм [8] и имели свободный доступ к отстоянной водопроводной воде. Работа выполнена с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным.

Каждая группа животных содержалась при определенном световом режиме. Первая группа (60 животных) находилась при искусственно созданном фиксированном режиме освещения 620-650 лк (12 часов свет и 12 часов темнота). Вторая группа (60 животных) находилась в условиях естественного освещения. В данном случае учитывались особенности светового режима Европейского Севера (“белые ночи” в весенне-летний период и укороченный световой день в осенне-зимний период). Третья группа (60 животных) находилась при постоянном искусственном освещении (24 часа в сутки). Освещение осуществлялось лампами дневного света (650-720 лк).

Ежемесячно у крыс определяли вес и количество потребляемого корма. При достижении зрелого возраста, начиная с 4-х месяцев, животных ран-

© И.А. Виноградова, В.Д. Юнаш, 2006

домизировано разделили на три подгруппы по 20 животных в каждой. Особи первой подгруппы получали 5 дней в неделю вместе с питьевой водой в ночное время (с 20 часов вечера до 8 часов утра) мелатонин (Sigma, США) в дозе 10 мг/л [9]. Крысам второй подгруппы ежемесячно курсами 5 дней в неделю подкожно вводили эпиталон (СПб институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН) по 0,1 мкг на крысу [10]. Крысы третьей подгруппы являлись контрольными. В этой группе выделялись две подгруппы: одни животные получали эквивалентную инъекцию физиологического раствора в те же часы, когда производилась инъекция эпиталона, другие – питьевую воду в ночное время.

С 1-месячного возраста и далее ежемесячно в течение 2-х лет крысы подвергались серии экспериментов для определения физической работоспособности. Освещенность в помещении, где проводился эксперимент, составляла 350-400 лк. Наблюдения производили в вечерние часы (с 17 до 20 часов).

Статическую работоспособность оценивали при подвешивании крыс на горизонтальный экран-сетку. Тест, принцип которого основан на подвешивании животного на горизонтальный экран, при этом крыса пыталась удержаться, противодействуя силе тяжести. Экран размером 40х60х1 см представлял собой металлическую сетку 4 мм в диаметре, которую устанавливали горизонтально на высоте 80 см от уровня пола. Крыса помещалась на горизонтальную сетку, плавно отпускалась, экран переворачивался. Животное оставалось висеть, зацепившись за сетку лапами. Продолжительность те-

ста – 3 минуты. Регистрировали длительность удержания животного на экране и число (процент) животных в группе, способных удержаться на сетке до конца тестирования. Если в течение этого времени крыса падала вниз, ее сажали на сетку снова, в общей сложности до трех раз. Подсчитывали суммарное время удержания по всем трем повторам вместе и латентность первого падения [11].

Для определения динамической работоспособности животных применяли тест принудительного плавания. Тест осуществлялся в цилиндрическом сосуде диаметром 70 см, высотой слоя воды 1 м и температурой воды 33°C. Учитывали продолжительность плавания крыс с грузом (8% от массы тела) до появления первых признаков утомления [12].

Результаты опытов подвергали статистической обработке. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ статической работоспособности крысамцов показал, что имеет место возрастное снижение продолжительности удержания на горизонтальном экране, причем уменьшается как латентное время первого удержания, так и суммарное время. Как мелатонин, так и эпиталон замедляют процесс снижения статической работоспособности в различной степени [13, 14].

Как видно на рис. 1, контрольные крысы, находящиеся в постоянном режиме освещения, в 2-х месячном возрасте висели на сетке гораздо дольше, чем животные, находящиеся в фиксированном режиме освещения ($p < 0,05$). Аналогичные пара-

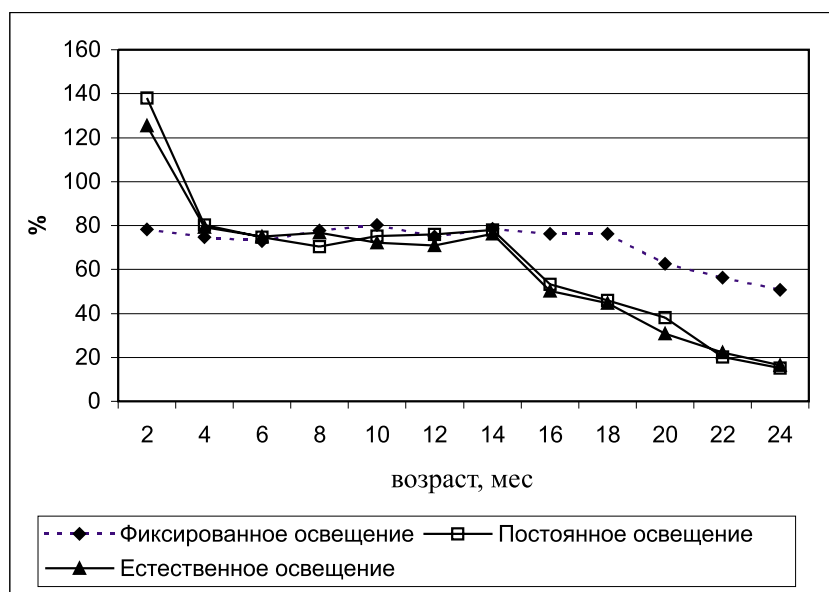


Рис. 1. Возрастная динамика латентного времени первого удержания в различных световых режимах.

Примечание. * – отличия достоверны от значений, полученных в фиксированном режиме освещения ($p < 0,05$)

Возрастная динамика суммарного времени удержания (%) крыс на горизонтальном экране-сетке

Месяцы		октябрь	апрель	октябрь	декабрь	апрель
Продолжительность дня (часы)		9,5	14,6	9,5	4,1	14,6
Возраст (месяц)		6	12	18	20	24
Световые режимы	Группы					
Фиксированный режим освещения (12:12)	Контроль	79,91±3,21	73,72±2,57	58,17±1,34*	52,12±2,18	50,36±3,11
	Мелатонин	79,51±2,44	50,96±3,14*	49,32±3,42	50,33±1,18	50,44±2,08
	Эпиталон	119,34±1,38	81,73±2,19*	62,94±1,78*	62,11±4,08	60,34±4,51
Постоянный режим освещения	Контроль	74,83±4,11	47,64±1,48*	29,02±1,16*	20,64±2,31*	19,83±2,58
	Мелатонин	90,96±5,34	66,19±3,15 ^a	56,98±2,32 ^a	54,69±3,14 ^a	48,87±3,52 ^a
	Эпиталон	87,99±2,31	65,95±3,06 ^a	64,23±3,11 ^a	60,44±3,12 ^a	58,37±4,07 ^a
Естественное освещение	Контроль	77,66±3,42	37,64±2,66*	31,87±3,15	30,08±1,37	25,64±1,78
	Мелатонин	70,89±3,67	66,78±3,43 ^a	56,57±2,82*	55,43±2,22	53,72±5,67 ^a
	Эпиталон	113,57±6,09	110,22±4,41 ^a	87,6±2,54 ^a	80,07±3,55 ^a	75,11±3,18 ^a

Примечание. Исходные данные приняты за 100%. * – отличия достоверны от значений, полученных в предыдущем месяце (p<0,05); ^a – отличия достоверны от значений в группе контроля, полученных в данном месяце в данном световом режиме (p<0,05).

метры получены и в естественном режиме. Учитывая, что в данное время (июнь) продолжительность светового дня составляла 24 часа (“белые ночи”), световые режимы в этих двух группах были идентичны, чем можно объяснить сходные результаты. В дальнейшем у молодых и зрелых крыс (с 4-го по 14-й месяц) не наблюдалось каких-либо различий в статической выносливости в различных световых режимах. Начиная с 16-месячного возраста латентное время первого удержания в постоянном и естественном режимах освещения стало уменьшаться значительно быстрее и больше, чем аналогичный показатель у крыс в фиксированном световом режиме. Суммарное время удержания достоверно уменьшалось в фиксированном режиме освещения с 18-го месяца, а в по-

стоянном и естественном режимах освещения – с 12-го месяца (табл. 1). Таким образом, очевидно, что темп снижения статической выносливости в трех исследуемых группах различны. Согласно данному тесту на выносливость в постоянном и естественном режимах освещения происходит существенное отклонение биологического возраста особей от календарного и более высокие темпы старения организма.

При применении мелатонина и эпиталона в постоянном режиме освещения достоверные отличия с контрольной группой наблюдались к 12 месяцу исследования по суммарному времени удержания (табл. 1) и к 16 месяцу исследования по латентному времени первого удержания (рис. 2). Как видно, латентное время первого удержания падало гораздо

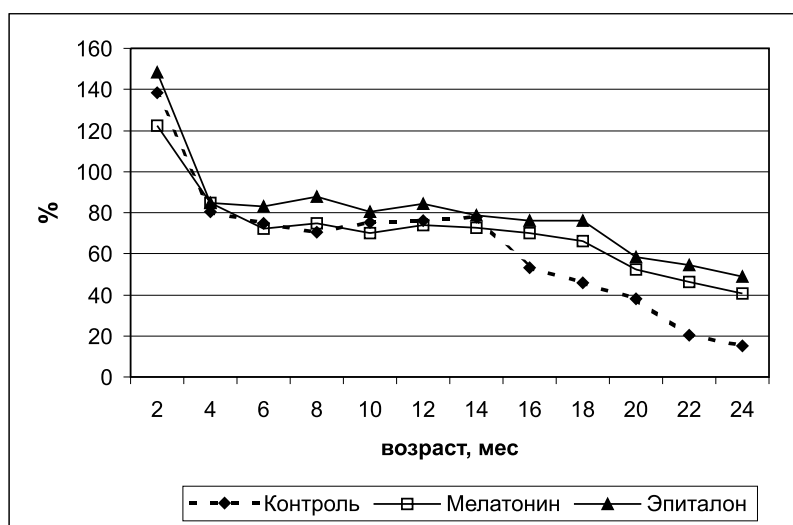


Рис. 2. Возрастная динамика латентного времени первого удержания в постоянном режиме освещения
Примечание. * – отличия достоверны от значений, полученных в контрольной группе (p<0,05)

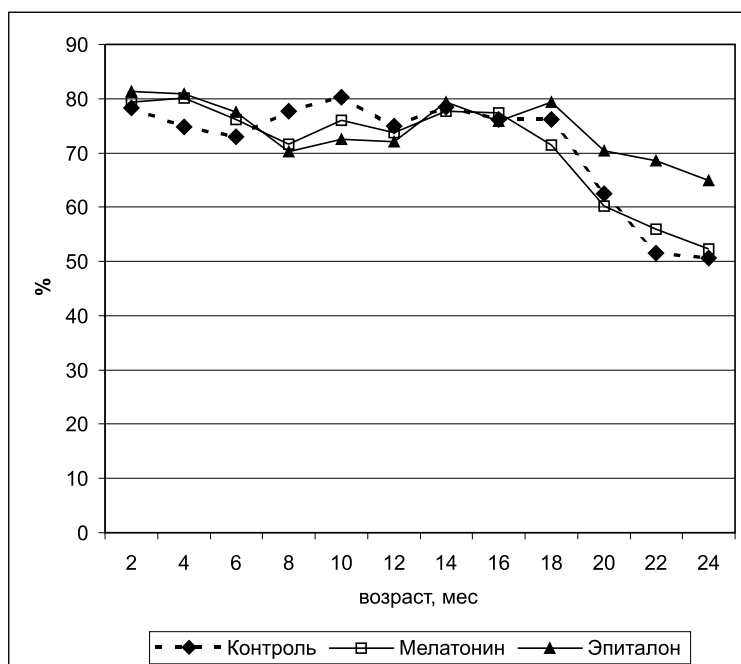


Рис. 3. Возрастная динамика латентного времени первого удержания в фиксированном режиме освещения
Примечание. * – отличия достоверны от значений, полученных в контрольной группе ($p < 0,05$)

быстрее в группе контроля и в 2 года составляло менее 20% от показателя первого месяца (рис. 2). Применение мелатонина и эпиталона задерживало, начиная с 12-го месяца, возрастное падение времени суммарного удержания. К 2-м годам суммарное время удержания при применении мелатонина и эпиталона уменьшилось приблизительно в 2 раза (табл. 1).

Статическая работоспособность в фиксированном режиме освещения находилась на одном уровне во всех трех исследуемых группах в течение 18

месяцев (рис. 3, табл. 1). Начиная с 20-месячного возраста, животные, получающие эпиталон, имели гораздо лучшие показатели, чем крысы, получающие физиологический раствор или мелатонин.

В естественном режиме освещения, учитывая продолжительность светового дня, можно отметить увеличение показателей у всех крыс в 2-месячном возрасте (июнь, “белые ночи” – продолжительность светового дня 24 часа), что можно объяснить увеличением выработки серотонина и снижением сек-

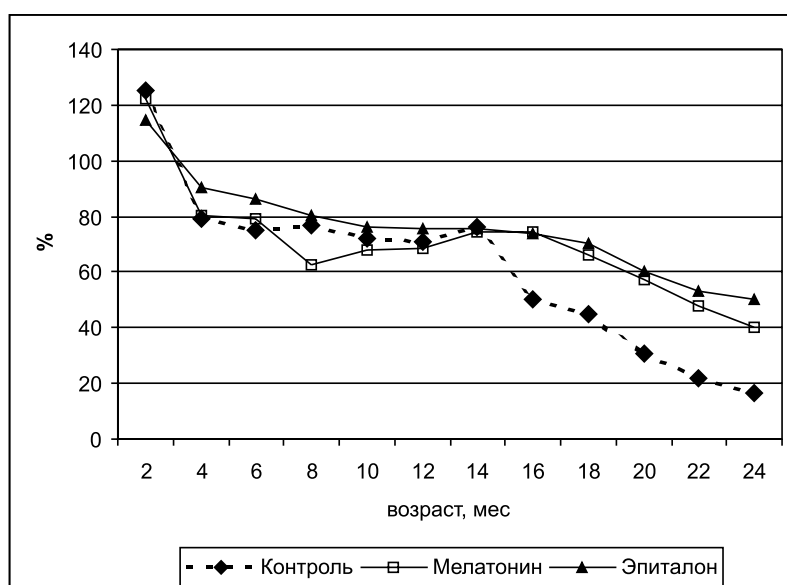


Рис. 4. Возрастная динамика латентного времени первого удержания в естественном режиме освещения
Примечание. * – отличия достоверны от значений, полученных в контрольной группе ($p < 0,05$)

Возрастная динамика продолжительности плавания (сек) крыс до первого утомления

Возраст (месяц)	2	4	6	12	18	20	24
Месяцы	июнь	август	октябрь	апрель	октябрь	декабрь	апрель
Продолжительность дня (часы)	21	15,5	9,5	14,6	9,5	4,1	14,6
Группы	Фиксированный режим освещения (12:12)						
Контроль	227,8±17,6	254,8±10,6	286,3±7,6	241,7±7,5	282,3±5,9	148,7±3,5*	122,1±4,8
Мелатонин		241,9±9,8	262,9±6,7	253,3±10,1	245,0±6,4	189,1±6,5	138,6±3,9
Эпиталон		252,7±8,5	235,5±7,4	221,3±9,5	267,2±11,4	167,1±3,2	185,4±3,9
Группы	Постоянный режим освещения						
Контроль	566,7±21,1	303,5±15,2	205,5±8,3	209,4±5,3	107,5±3,8*	84,8±9,1	60,3±5,4
Мелатонин		245,7±12,4	298,1±5,3	293,2±9,9	266,6±7,6 ^a	158,0±4,1 ^{*a}	108,5±3,9 ^a
Эпиталон		278,6±11,6	267,8±9,5	298,3±3,6	252,3±6,1 ^a	182,2±6,9 ^a	115,4±4,6 ^{*a}
Группы	Естественное освещение						
Контроль	447,5±28,3	210,7±12,6	202,6±4,9	258,4±5,8	110,1±4,3*	98,3±3,1	80,6±8,1
Мелатонин		247,6±11,7	255,9±3,7	267,6±11,1	277,4±6,2 ^a	174,3±3,7 ^{*a}	166,2±8,4 ^a
Эпиталон		263,1±13,1	229,7±6,9	209,4±6,9	203,6±6,3 ^a	169,0±4,3 ^a	153,1±7,5 ^a

Примечание. * – отличия достоверны от значений, полученных в предыдущем месяце ($p < 0,05$); ^a – отличия достоверны от значений в группе контроля, полученных в данном месяце в данном световом режиме ($p < 0,05$).

реции мелатонина в светлое время суток. Так же получено снижение суммарного времени удержания в 8-месячном возрасте у группы, получающей мелатонин (декабрь – продолжительность дня 5,25 часа), что в свою очередь объясняется повышенным содержанием мелатонина в организме в это время года и дополнительным введением экзогенного мелатонина, который, как известно, обладает седативным действием. Затем с 12-месячного возраста наблюдается достоверное снижение суммарного времени удержания (табл. 1), а с 16-месячного возраста – достоверное снижение латентного времени первого удержания в группе контроля, в то время как в двух других группах этот показатель снижается плавно и постепенно. Причем наилучшие результаты показали крысы, получающие эпиталон. У старых крыс, как видно из рисунка 4 и таблицы 1, изменение статической выносливости не зависит от длины светового дня.

В результате исследований в тесте принудительного плавания оказалось, что животные, находящиеся при фиксированном освещении в течение 18 месяцев, характеризовались незначительными изменениями продолжительности плавания до первого утомления. Длительность плавания варьировала в пределах 227,8±17,6–286,3±7,6 сек. Начиная с 20-го месяца, у крыс контрольной группы средняя продолжительность плавания достоверно снизилась (табл. 2), в то время в двух дру-

гих группах достоверное снижение продолжительности плавания по отношению к 18-му месяцу отмечалось в 24 месяца.

У крыс, содержащихся в условиях режима постоянного освещения, наблюдалось резкое снижение длительности заплыва с первого по четвертый месяц во всех трех группах. Снижение времени продолжительности плавания у контрольной группы животных наблюдалось на восемнадцатом месяце исследования, а у крыс, получающих мелатонин или эпиталон, на двадцатом и двадцать четвертом месяцах, соответственно.

Аналогичные результаты наблюдались и в условиях естественного освещения (табл. 2). Продолжительность плавания в июне у 2-х месячных крыс при непрерывном световом дне соответствовала таковой у животных находящихся в условиях постоянного освещения. Некоторая тенденция к снижению времени заплыва наблюдалась в осенне-зимнее время у молодых крыс, но эти изменения были недостоверны. Как и при исследовании статической выносливости, у старых крыс не наблюдалось каких-либо видимых изменений в продолжительности плавания в зависимости от сезона года.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, очевидно, что в онтогенезе с течением времени отмечалось снижение физической выносливости у исследуемых животных. При-

чем в различных световых режимах темпы снижения не одинаковы. В постоянном и естественном режимах освещения при нарушении циркадианных ритмов, которое ведет в свою очередь к нарушению функционированию эпифиза, снижение физической работоспособности, как статической, так и динамической, наблюдалось в более ранние сроки: снижение суммарного времени удержания на сетке – с 12-го месяца, латентного времени удержания – с 16-го месяца и продолжительности плавания – с 18-го месяца. В фиксированном режиме освещения снижение физической активности животных наблюдалось в более поздние сроки: суммарное время удержания на горизонтальном экране-сетке снизилось на 18-м месяце, а средняя продолжительность плавания и латентное время первого удержания – на 20-м месяце. Это говорит о том, что по показателям данных тестов темп старения организма в постоянном и естественном режимах освещения более высокий, чем в у животных, находящихся в условиях фиксированного чередования света и темноты [15]. Эффект изучаемых препаратов (мелатонина и эпیتالона) на физическую работоспособность (замедление развития утомления) проявляется при нарушенном фотопериодизме (в условиях постоянного или естественного освещения Карелии) только у старых животных и не проявляется у молодых и зрелых крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов В. Н. Физиологические функции эпифиза (геронтологический аспект). Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 83(8) : 1–13. 1997.
2. Мелатонин в норме и патологии. Под. ред. Комарова Ф. И., Рапопорта С. И., Малиновской Н. К., Анисимова В. Н. М., ИД Медпрактика-М, 2004.
3. *Hatonen T., Alila A., Laakso M.* Exogenous melatonin fails to counteract the light-induced phase delay of human melatonin rhythm. *Brain Res.* (2) : 125–130. 1996.
4. *Anisimov V.N.* Effects of exogenous melatonin – a review. *Toxicol. Pathol.* 31(6) : 589–503. 2003.
5. Арушанян Э. Б. Хронофармакология. Изд. СГМА, Ставрополь. 2000.
6. *Кветная Т.В., Князькин И.В.* Мелатонин: роль и значение в возрастной патологии. СПб, ВМедА, 2003.
7. *Anisimov V.N., Pliss G.B., Iogannsen M.G., Popovich I.G., Romanov K.P., Averyanova T.K.* Spontaneous tumors in outbred LIO rats. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 8(4) : 254–262. 1989.
8. *Anisimov V.N., Khavinson V.Kh., Popovich I.G., Zabezinski M.A., Alimova I.N., Provinciali M., Franceschi C.* Inhibitory effect of the peptide epitalon on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Int. J. Cancer.* 101(1) : 7–10. 2002.
9. *Pierpaoli W., Maestroni G.J.M.* Melatonin: a principal neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone: anti-aging effect. *Immunol. Lett.* 16(2): 355–362. 1987.
10. *Хавинсон В. Х., Анисимов В.Н.* Пептидные биорегуляторы и старение. Наука, СПб. 2003.
11. *Анисимов В. Н., Хавинсон В. Х., Заварзина Н. Ю., Забегинский М. А., Зимина О. А., Попович И. Г., Штылик А. В., Арутюнян А. В., Опарина Т. И., Прокопенко В. М.* Влияние пептида эпифиза на показатели биологического возраста и продолжительность жизни мышей. *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 87(1) : 125–135. 2001.
12. *Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.Ф., Лосев С.С., Смирнов А.В.* Фармакологическая коррекция утомления. М., Медицина, 1984.
13. *Виноградова И. А., Горанский А. И., Шевченко А. И., Чернова И. В., Юнаш В. Д.* Двигательная активность, психоэмоциональные проявления и исследовательское поведение у крыс при нарушениях циркадианного ритма. Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Вып. 59, Пятигорск, 2004, С.258-260.
14. *Виноградова И. А., Горанский А. И., Юнаш В. Д., Шевченко А. И., Чернова И. А., Брайнина И. А., Барсукова Е. Ю.* Влияние препаратов эпифиза на физическую работоспособность и выносливость крыс в эксперименте. 11-й Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”: Тез. докл. М., 2004, С. 772-773
15. *Анисимов В. Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб, Наука, 2003.