

ИГОРЬ ВАЛЕРЬЕВИЧ ГАЙДИН

клинический интерн кафедры фармакологии, организации и экономики фармации медицинского факультета, Петрозаводский государственный университет
ghauz@yandex.ru

ЮЛИЯ ПАВЛОВНА БАРАНОВА

преподаватель кафедры фармакологии, организации и экономики фармации медицинского факультета, Петрозаводский государственный университет
piwitepisma@list.ru

ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА ВИНОГРАДОВА

доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации медицинского факультета, Петрозаводский государственный университет
irinav@petrsu.ru

ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СВЕТОВОГО ДНЯ В УСЛОВИЯХ КАРЕЛИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭСТРАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ У САМОК КРЫС

В условиях естественного освещения Карелии в течение двух лет исследовали влияние продолжительности светового дня на возрастную динамику показателей эстральной функции. Отмечено, что изменение продолжительности светового дня вне зависимости от сезона рождения крыс-самок приводит к нарушению полового созревания и более ранним возрастным изменениям эстрального цикла по сравнению с аналогичными показателями у животных в стандартном световом режиме.

Ключевые слова: естественное освещение, половое созревание, эстральный цикл, крысы, онтогенез, сезонная динамика

Изменение продолжительности светового дня – важный регулятор физиологических ритмов организма, особенно процессов, протекающих циклически [15], [16], [18]. Репродуктивная функция женского организма находится под контролем циркадианной системы, представленной супрахиазматическими ядрами гипоталамуса, сосудистым органом концевой пластинки и шишковидной железой [14], [17], [19]. Клиническими наблюдениями установлено, что нарушения репродуктивной функции у женщин, вызванные воздействием неблагоприятных факторов внешней среды, обусловлены дисфункцией гипоталамо-гипофизарно-гонадных отношений [1]. Обследование женщин с бесплодием установило важное клиническое значение эпифиза и его гормона мелатонина (ингибитора оси гипоталамус – гипофиз – гонады) в развитии нарушений центральных механизмов регуляции репродуктивной функции [9].

Грызуны являются адекватной моделью для изучения влияния сезонного десинхрониза Северо-Запада России на женскую репродуктивную функцию [6].

Целью исследования явилось изучение влияния продолжительности светового дня на Северо-Западе России в течение годового цикла на динамику полового созревания, возрастные изменения эстральной функции и базальную температуру тела у самок крыс в зависимости от сезона рождения.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте были использованы 142 самки крыс собственной разводки. Животных содержали в стандартных пластмассовых клетках при температуре 21–23 °С. Они получали сбалансированный гранулированный корм [12] и питьевую воду без ограничения. Работа с лабораторными животными выполнена с соблюдением принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС), «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Биоэтических правил проведения исследований на человеке и животных» [10].

Для опыта были сформированы 3 экспериментальные группы. Первая (дата рождения – конец апреля – NL-Spring) и вторая (дата рождения – конец октября – NL-Autumn) группы животных находились в условиях естественного освещения Карелии. При анализе полученных данных учитывали особенности годовой фотопериодичности Северо-Запада России. В данном режиме освещенность определялась сезоном года: зимой минимальная продолжительность дня составляла 4,5 ч., а летом продолжительность светового дня достигала 24 ч. (белые ночи). Освещенность в помещении менялась в течение суток (на уровне клеток в утренние часы – 50–200 лк, днем – до 1000 лк в ясный день и 500 лк

в пасмурный день, к вечеру – от 150 до 500 лк). Третья группа являлась контрольной: крысы находились в условиях стандартного чередующегося режима освещения (12 ч. Т:12 ч. С; LD). Люминесцентные лампы (освещенность 750 лк на уровне клеток) освещали помещение в течение 12 дневных часов, на ночь (12 ч.) свет отключали.

Половое созревание регистрировали по времени раскрытия влагалища. Начиная с 3-месячного возраста у самок крыс один раз в 3 месяца ежедневно в течение 2 недель брали влагалищные мазки для изучения эстральной функции. Оценивали следующие параметры: длительность эстрального цикла, соотношение фаз овуляторного цикла; рассчитывали относительное число коротких, средних и длинных циклов, относительное число животных с иррегулярными циклами. В эти же сроки измеряли ректальную температуру, определяя при этом среднюю температуру без учета фаз эстрального цикла, а также среднюю ректальную температуру в фазы эструса и диэструса. Исследование проводили в течение 24 месяцев.

Обработку результатов выполняли с использованием пакетов статистических программ STATGRAPH, STADIA.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Модифицирующее действие постоянного освещения на эстральную функцию изучено многими учеными [2], [8], [17], [19]. Однако влияние сезонных колебаний освещенности как естественного нарушения циркадианного ритма исследовано недостаточно [20]. Проблема нарушенных циркадиантных ритмов наиболее актуальна для жителей Северо-Запада России, а также для всех стран Европейского Севера, учитывая своеобразную фотопериодичность в этих регионах. На Северо-Западе России – короткий световой день в осенне-зимний период (до 4 ч.), при этом большая часть населения подвергается избыточному искусственному освещению, в весенне-летний период – длинный световой день (особенно с середины мая до середины июля – 24 ч.). Следует отметить, что одновременно с воздействием сезонных колебаний светового режима на функционирование репродуктивной системы оказывают влияние околосуточные ритмы.

Характерные различия между группами были выявлены при анализе времени открытия влагалища у самок крыс, которое является показателем полового созревания. В наших исследованиях у самок группы LD оно наступало в среднем на 42-й день жизни, что соответствует физиологическим нормам [4]. У крыс группы NL-Spring период полового созревания совпал с периодом белых ночей, когда продолжительность светового дня достигала 24 ч. В этой груп-

пе половое созревание наступало раньше, в среднем на 37-й день жизни. Причем у некоторых самок открытие влагалища наблюдалось уже на 35-й день жизни. Половое созревание у самок группы NL-Autumn, когда продолжительность светового дня наименьшая, наступало в среднем на 48-й день жизни (рис. 1).

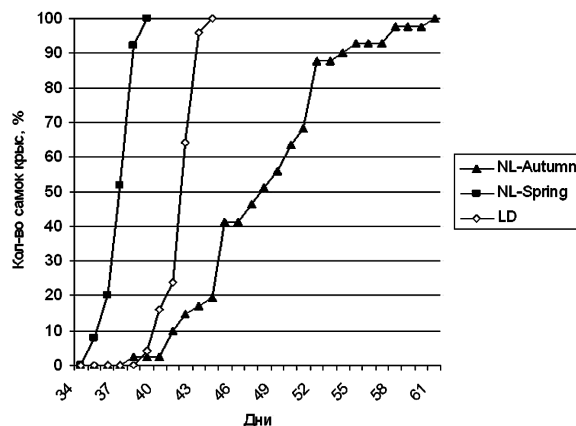


Рис. 1. Динамика полового созревания самок крыс в различных световых режимах: LD – стандартное освещение; NL-Spring – естественное освещение (весна); NL-Autumn – естественное освещение (осень)

Таким образом, в весенний период в условиях Карелии происходило ускоренное половое созревание самок крыс, а в осенний период – запаздывание по сравнению с животными в стандартном режиме освещения. Удлинение фотопериода, подавляющее выработку мелатонина, способствует преждевременному половому созреванию, напротив, уменьшение продолжительности светового дня повышает выработку мелатонина и оказывает антигонадотропное действие [13].

У животных группы LD достоверное увеличение средней продолжительности эстрального цикла наблюдалось в 14 месяцев (с $5,2 \pm 0,3$ до $7,9 \pm 0,9$ дня, $p < 0,05$) (рис. 2). Короткие эстральные циклы сохранялись на протяжении 11 месяцев и исчезали в 14 месяцев, а длинные – появлялись в возрасте 8 месяцев, их число составляло 13 % от общего количества исследованных циклов. К 14 месяцам это значение поднялось до 33 %, а к 23 месяцам увеличилось до 75 %. Иррегулярные циклы в количестве 18 % появились в 11 месяцев и к 23 месяцам выросли до 33 % (рис. 3). Существенных возрастных изменений в соотношении фаз овуляторного цикла в течение первого и второго годов жизни в этой группе зафиксировано не было. Соотношение эструс / диэструс изменялось от 1:1,6 в 3-месячном до 1:1,4 в 14-месячном возрасте в сторону увеличения числа эструсов. К 23 месяцам соотношение эструс / диэструс составляло 1:1,2.

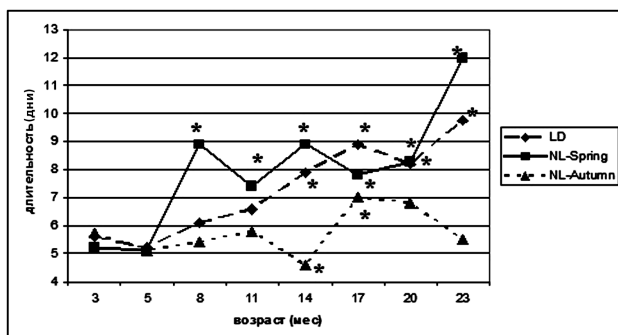


Рис. 2. Динамика средней продолжительности эстрального цикла у самок крыс в различных режимах освещения:
* $p < 0,05$ – различие в группе с соответствующим параметром в 3-месячном возрасте достоверно (критерий Стьюдента)

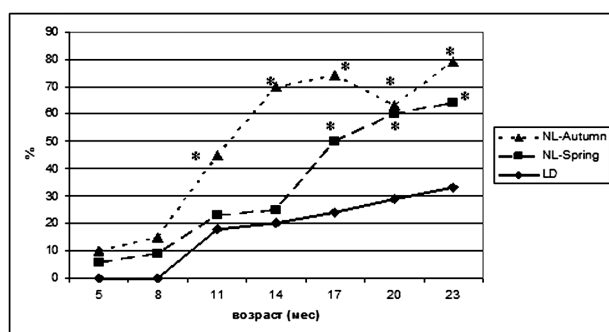


Рис. 3. Динамика возникновения иррегулярных эстральных циклов у крыс в различных режимах освещения:
* $p < 0,05$ – различие с показателем в группе LD в соответствующем месяце достоверно (критерий Стьюдента)

У крыс группы NL-Spring с 8 месяцев отмечалось достоверное увеличение средней продолжительности эстрального цикла (с $5,2 \pm 0,1$ до $8,9 \pm 0,5$ дня, $p < 0,05$) (рис. 2). К 14 месяцам эти значения оставались на том же уровне, а в 23 месяца средняя продолжительность эстрального цикла увеличилась до $12,0 \pm 2,2$ дня ($p < 0,05$). У животных этой группы в 3-месячном возрасте наблюдались только короткие и средние циклы, в возрасте 5 месяцев появлялись длинные (7 %), в 8 месяцев исчезали короткие эстральные циклы и в 23 месяца количество длинных циклов составило 100 %. В 5-месячном возрасте в этой группе появились иррегулярные циклы (6 %), и к 23 месяцам они достигали 64 % от общего количества (рис. 3). Соотношение эструс / диэструс у самок крыс достоверно изменялось от 1:1,4 в 3-месячном возрасте (лето, продолжительность светового дня до 24 ч.) до 1:2,7 к 8 месяцам (зима, продолжительность дня до 4,5 ч.) в сторону увеличения числа диэструсов. В летний период в возрасте 14 месяцев эти показатели стали составлять 1:1,3, а к 23 месяцам – 1:1,8. Изучение соотношения фаз эстрального цикла в этой группе крыс показало зависимость от сезона: в зимний период оно составляло 1:2,0–2,7, в летний – 1:1,3–1,4.

У крыс группы NL-Autumn достоверное изменение средней длительности овуляторного цикла в сторону уменьшения наблюдалось в 14 месяцев (с $5,75 \pm 0,86$ до $4,0 \pm 1,93$ дня, $p < 0,05$), что соответствует зимнему периоду времени. В 17 и 20 месяцев (весенне-летний период) средняя продолжительность эстрального цикла увеличилась и составляла $7,0 \pm 1,4$ ($p < 0,05$) и $6,8 \pm 0,6$ дня соответственно. К 23 месяцам (зимний период) средняя продолжительность цикла вновь уменьшилась до $5,5 \pm 0,63$ дня (рис. 2). Длинные эстральные циклы у самок этой группы появились в возрасте 5 месяцев (7 %), к 14 месяцам наблюдались только короткие и средние. К 17 месяцам количество длинных эстральных циклов составляло 40 %, а к 23 месяцам за счет увеличения иррегулярных циклов количество длинных циклов уменьшилось до 17 %. Иррегулярные циклы, так же как в режиме NL-Spring, появились в 5-месячном возрасте (10 %), и к 23 месяцам они достигли 79 % (рис. 3). Соотношение эструс / диэструс в зимний период изменялось от 1:4,3 в 3-месячном возрасте до 1:15,6 к 23 месяцам. Изучение соотношения фаз эстрального цикла в этой группе также показало зависимость от сезона: в зимний период оно составляло от 1:4,0 у молодых крыс до 1:8,0 у старых, в летний период 1:3,5 и 1:6,7 у молодых и старых самок соответственно.

Эндокринная система является важнейшим регуляторным звеном, поддерживающим гомеостаз [5]. Установлено, что постоянное освещение приводит к увеличению порога чувствительности гипоталамуса к ингибирующему действию эстрогенов. Этот механизм является ключевым в старении репродуктивной системы как у самок крыс, так и у женщин [11]. Исследование эстральной функции у самок крыс указывает на более ранние возрастные изменения, возникающие в условиях естественного освещения Карелии у крыс, рожденных весной и осенью. Известно, что у человека, проживающего в высоких (северных) широтах, функционирование желез внутренней секреции в контрастные периоды года достигает значимых различий [5].

В наших исследованиях у «весенних» крыс удлинение эстрального цикла стало происходить раньше, это связано с тем, что их рождение, половое созревание и фаза прогрессивного роста совпали с периодом белых ночей, когда продолжительность светового дня максимальна (май, июнь, июль – 24 ч.). У «осенних» крыс максимальный световой период пришелся на возраст 7 месяцев, и с этого момента различные нарушения эстральной функции в данной группе стали происходить интенсивнее. Если в группе LD иррегулярные циклы появились только в возрасте 11 месяцев (18 %), что соответствует физиологическим изменениям, и к 23 месяцам составили 33 %, то в экспериментальных груп-

пах вне зависимости от сезона рождения иррегулярные циклы появились у молодых 5-месячных крыс, что уже указывает на патологические изменения репродуктивной функции у части самок. К возрасту 23 месяцев у животных этих групп количество иррегулярных циклов было в 2,4 раза (NL-Autumn) и в 1,9 раза (NL-Spring) больше, чем у самок контрольной группы. При сравнении экспериментальных групп можно отметить, что у «весенних» самок увеличение длительности эстрального цикла происходило более интенсивно и значимо, в то время как число иррегулярных циклов у «осенних» самок практически всегда превышало таковое у «весенних».

Базальная температура тела является важным показателем уровня обмена в организме и его изменений при старении [7]. При анализе данных температуры тела в исследуемых группах отмечено ее достоверное снижение с возрастом, что характерно для стареющего организма (рис. 4).

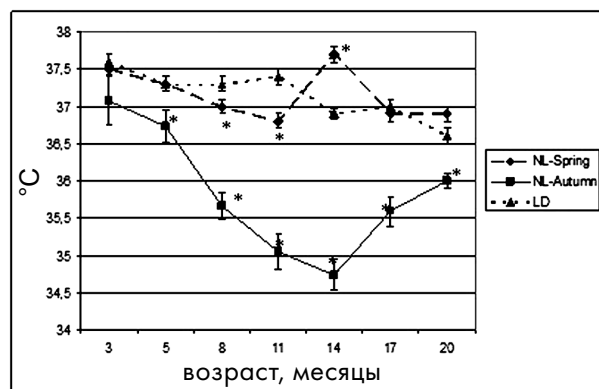


Рис. 4. Возрастная динамика средней ректальной температуры у самок крыс в различных световых режимах

Достоверное снижение средней ректальной температуры наблюдалось в группе NL-Autumn с 5-месячного возраста, в группе NL-Spring – с 8-месячного, а в группе LD – с 14-месячного. В группе NL-Spring было отмечено повышение средней температуры в 14 месяцев, в группе NL-Autumn – в 17 месяцев, что, вероятно, связано с сезонным удлинением освещенности в этот период. Как видно из рис. 4, базальная температура у самок в режиме NL-Autumn была достоверно ниже на протяжении всего исследования, чем таковая в режиме LD. В возрасте 14 месяцев у крыс группы NL-Spring наблюдалась максимальная базальная температура, что соответствует летнему сезону, а у самок группы NL-Autumn – минимальная (зимний сезон). Начиная с этого же возраста в группе NL-Spring происходило снижение температуры, а в группе NL-Autumn – увеличение по сравнению с предыдущими параметрами (рис. 4).

Достоверное снижение температуры в фазы эструса и диэструса в экспериментальных группах наблюдалось в группе NL-Spring с 5 меся-

цев, в группе NL-Autumn с 8 месяцев, тогда как подобные изменения появились в группе LD только к 14-месячному возрасту, что соответствует физиологическим нормам (рис. 5).

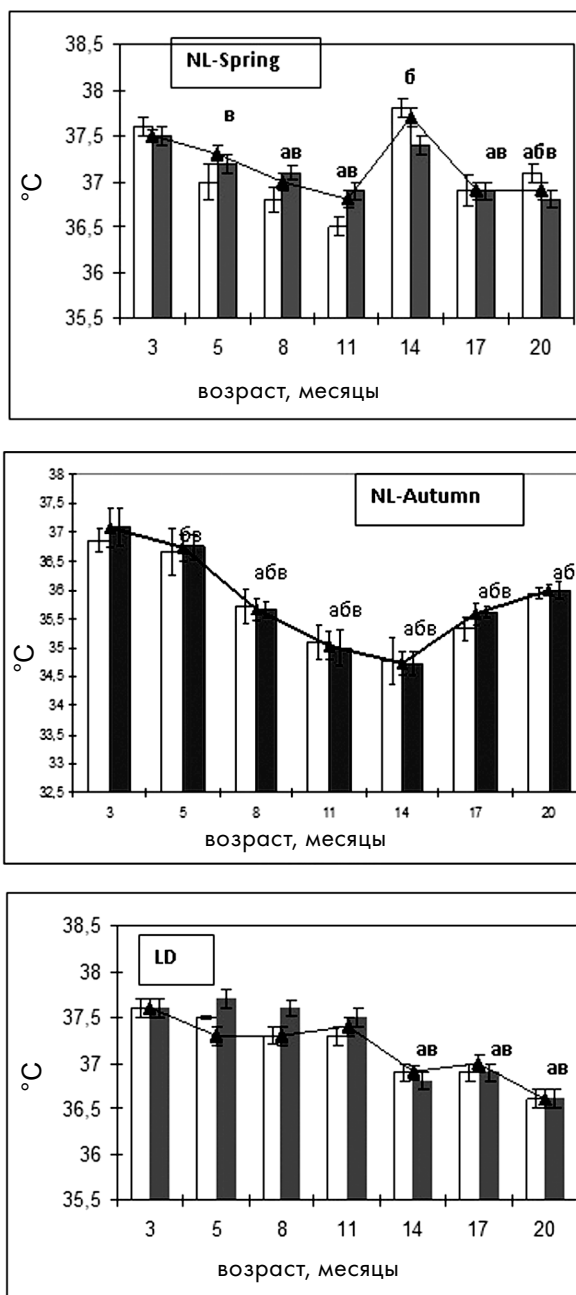


Рис. 5. Возрастная динамика средней ректальной температуры у крыс в зависимости от фаз эстрального цикла:
 ■ – температура тела в фазу эструса;
 □ – температура тела в фазу диэструса;
 ▲ – температура тела без учета фазы цикла;
 а – различие достоверно по сравнению с базальной температурой у 3-месячных крыс;
 б – различие достоверно по сравнению с базальной температурой у крыс соответствующего месяца в стандартном режиме освещения;
 в – различие достоверно по сравнению с температурой в фазу эструса и диэструса у 3-месячных крыс ($p < 0,05$; критерий Стьюдента)

В физиологических условиях температура тела в фазу диэструса выше, чем в фазу эструса, что обусловлено функционирующими желтыми телами в яичниках в диэструсе [3]. У молодых и зрелых крыс, находящихся в условиях NL-Spring и LD, такая тенденция имела место. Физиологическая разница температур между фазами цикла в этих группах сохранялась до 11-месячного возраста. В 14 месяцев наблюдалось повышение температуры в фазу эструса, что указывает на появление возрастных изменений овуляторного цикла. В группе NL-Spring улавливалась тенденция к сезонному повышению температуры в фазу эструса по сравнению с фазой диэструса в 3- и 14-месячном возрасте, что, возможно, указывает на неблагоприятное влияние белых ночей на вторую фазу цикла и нарушение функции желтого тела (рис. 5). Еще одно повышение температуры во время эструса наблюдалось у самок в возрасте 20 месяцев, что подтверждает нарушение терморегуляции и соответствует изменениям овуляторного цикла в этом возрасте.

У крыс группы NL-Autumn тенденция к физиологической разнице между температурами в фазу эструса и диэструса имела место в 3- и 5-месячном возрасте. В дальнейшем разница меж-

фазовых температур практически отсутствовала, что говорит о снижении функционирования желтых тел в фазу диэструса, причиной которого может являться избыток освещения (рис. 5).

Следует отметить, что в экспериментальных группах изменение фотопериода в течение годового цикла вызывало достоверно более раннее снижение базальной температуры тела, что является одним из показателей преждевременного старения организма. В режимах NL-Autumn и NL-Spring раньше, чем в режиме LD, нарушалась физиологическая разница температур, измеряемая в различные фазы эстрального цикла.

Таким образом, происходящие изменения полового созревания, эстральной функции и базальной температуры тела в режимах естественного освещения Карелии зависели от сезона года и продолжительности светового дня. Особенно демонстративны в этом отношении периоды белых ночей (весна – лето) и зимняя фотопериодичность, когда отмечались максимальные различия светового режима [5]. В результате этого развивался целый комплекс последствий: нарушение полового созревания, сокращение продолжительности репродуктивного периода и раннее старение организма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян Э. К. Репродуктивное здоровье женщины как критерий биоэкологической диагностики и контроля окружающей среды // Журнал акушерства и женских болезней. 1997. Т. XLVI. № 1. С. 6.
2. Анисимов В. Н., Батурин Д. А., Айламазян Э. К. Эпифиз, свет и рак молочной железы // Вопросы онкологии. 2002. Т. 48. С. 524–535.
3. Анисимов В. Н., Хавинсон В. Х., Заварзина Н. Ю. и др. Влияние пептида эпифиза на показатели биологического возраста и продолжительность жизни мышей // Российский физиологический журнал. 2001. Т. 87. № 1. С. 125–135.
4. Гладкова А. И., Алесина М. Ю., Карпенко Н. А. и др. Влияние грофоллона на индукцию половозрелости у крыс-самок // Журнал фармакологии и токсикологии. 1992. Т. 55. № 3. С. 26–29.
5. Кубасов Р. В. Цирканнуальная биоритмика гормональных показателей щитовидной и половых желез // Экология человека. 2008. № 2. С. 26–29.
6. Лазарев Н. И., Ирд Е. А., Смирнова И. О. Экспериментальные модели эндокринных гинекологических заболеваний. М.: Медицина, 1976. 175 с.
7. Попович И. Г., Забежинский М. А., Егормин П. А. и др. Влияние антидиабетического препарата диабенон на показатели биологического возраста, продолжительность жизни и развитие новообразований у мышей NMRI и HER-2/NEU // Успехи геронтологии. 2004. Вып. 15. С. 80–90.
8. Савченко О. Н., Стрельцова Н. А., Данилова О. А. Влияние 5,6-окситриптамина и разных световых режимов на гипоталамо-гипофизарно-гонадную систему самок крыс // Физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 1987. Т. 78. № 4. С. 480–482.
9. Фаттахова Ф. А., Гилязутдинова З. Ш., Михайлов М. К. Клиническое значение мелатонина в развитии нарушений центральных механизмов регуляции репродуктивной функции // Казанский медицинский журнал. 1998. № 6. С. 430–433.
10. Этическая экспертиза биомедицинских исследований / Под ред. Ю. Б. Белоусова. М., 2005. 156 с.
11. Anisimov V. N. Light pollution, reproductive function and cancer risk // Neuroendocrinol. Lett. 2006. Vol. 27. P. 35–52.
12. Anisimov V. N., Khavinson V. Kh., Popovich I. G. et al. Inhibitory effect of the peptide epitalon on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice // Int. J. Cancer. 2002. Vol. 101. № 1. P. 7–10.
13. Arendt J. Melatonin and the Mammalian Pineal Gland. London: Chapman & Hall, 1995. 331 p.
14. Barbacka-Surowiak G., Surowiak J., Stoklosowa S. The involvement of the suprachiasmatic nuclei in the regulation of estrous cycles in rodents // Reproduct. Biol. 2003. Vol. 3. P. 99–129.
15. Bell-Pedersen D., Cassone V. M., Earnest D. J. et al. Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms // Nat. Rev. Genet. 2005. Vol. 6. P. 544–556.
16. Froy O., Miskin R. Effect of feeding regimens on circadian rhythms: Implications for aging and longevity // Aging. 2010. Vol. 2. № 1. P. 7–27.
17. Prata Lima M. F., Baracat E. C., Simones M. J. Effects of melatonin on the ovarian response to pinealectomy or continuous light in female rats: similarity with polycystic ovary syndrome // Brazil. J. Med. Biol. Res. 2004. Vol. 37. P. 987–995.
18. Reppert S. M., Weaver D. R. Coordination of circadian timing in mammals // Nature. 2002. Vol. 418. P. 935–941.
19. Van der Beek E. M. Circadian control of reproduction in the female rat // Prog. Brain Res. 1996. Vol. 111. P. 295–320.
20. Vinogradova I. A., Anisimov V. N. et al. Circadian disruption induced by light-at-night accelerates aging and promotes tumorigenesis in rats // Aging. 2009. Vol. 1. № 10. P. 855–865.