

УДК 612:591.1:57.034

ИНФРАДИАННЫЕ РИТМЫ КОЛЕБАНИЙ УРОВНЯ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ

Кондашевская М.В., Диатропов М.Е.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»
Российской академии медицинских наук, Москва, e-mail: mariluka@mail.ru

В работе представлены результаты длительных исследований физиологических ритмов уровня глюкозы в крови у половозрелых самцов крыс Вистар и мышей BALB/c, получавших пищу при свободном доступе и при периодической пищевой депривации (по 24 ч депривация и свободный доступ к пище). Через 20 сут пищевую депривацию отменяли и возвращали постоянный свободный доступ к пище, регистрируя уровень глюкозы еще в течение 14 сут. У животных, находящихся на обычном пищевом режиме, выявлен инфрадианный характер изменений уровня глюкозы с 6 сут периодом, совпадающий у обоих видов по фазе и календарным датам. Установлено, что эти биоритмы не изменяются после воздействия такого десинхронизатора, как пищевая депривация. Определено, что уровень глюкозы в крови у крыс ниже, чем у мышей, а у мышей, постоянно находящихся на обычном рационе – ниже, чем у животных, подвергавшихся 20-суточной пищевой депривации, а затем переведенных на свободный доступ к пище. Выявленные инфрадианные ритмы уровня глюкозы следует учитывать в экспериментальных и диагностических исследованиях.

Ключевые слова: крысы Вистар, мыши BALB/c, инфрадианные ритмы, уровень глюкозы в крови, десинхронизаторы, пищевая депривация

INFRADIAN RHYTHMIC OSCILLATION OF GLUCOSE IN THE BLOOD OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Kondashevskaya M.V., Diatroptov M.E.

Federal State Budgetary Institution «Scientific Research Institute of Human Morphology»
under Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, e-mail: mariluka@mail.ru

This work presents the results of the long-term studies of physiological rhythms in blood glucose levels in adult male Wistar rats and BALB/c mice, with free access to food and periodic food deprivation. After 20 days of food deprivation it was abolished while recording blood glucose for 14 days. It was shown 6-day period of the blood glucose levels in the animals at a normal feeding regime, which coincides of phase and calendar dates in rats and mice. It was determined that the blood glucose level in rats is lower than in mice, and in mice residing on a conventional diet is lower than in animals, which subjected twenty days of food deprivation, and then transferred to free access to food. This data should be considered in the experimental and diagnostic studies.

Keywords: Wistar rats, mice BALB/c, infradian rhythms, blood glucose levels, desynchronization, food deprivation

Ключевым источником энергии в организме млекопитающих является глюкоза, поступающая в кровь в основном в результате превращения углеводов, потребляемых с пищей. Существуют три пути трансформации глюкозы в организме:

- 1) немедленное включение в энергетический метаболизм;
- 2) превращение в гликоген для долгосрочного хранения;
- 3) превращение в жир [2].

Полное рассмотрение метаболизма глюкозы не входит в нашу задачу.

Уровень глюкозы в крови не постоянен – он регулируется многими гормонами, увеличиваясь и уменьшаясь в зависимости от потребностей организма. Основными регуляторами уровня глюкозы являются инсулин и глюкагон – гормоны поджелудочной железы. При повышении концентрации глюкозы в крови повышается секреция инсулина и снижается секреция глюкагона. Это происходит как непосредственно в результате стимулирующего влияния глюкозы на рецепторы клеток поджелудочной железы, так и опосредовано, путем активации

парасимпатической нервной системы через глюкозочувствительные рецепторы в гипоталамусе. Кроме глюкагона, повышению уровня глюкозы в крови способствуют гормоны мозгового (адреналин, норадреналин) и коркового (глюкокортикоиды) вещества надпочечников [1, 3, 5].

В современной научной литературе значительное место отводится изучению циркадных и сезонных ритмов изменения уровня глюкозы в крови [4, 7]. Однако до настоящего времени остается открытым вопрос о показателях инфрадианных (многодневных) ритмов уровня глюкозы.

Целью настоящей работы было изучение инфрадианных ритмов уровня глюкозы у лабораторных грызунов – мышей BALB/c и крыс Вистар, выявление влияния на эти процессы пищевой депривации.

Материалы и методы исследования

Объектом исследований были половозрелые самцы мышей BALB/c (18–20 г) и крыс Вистар (масса 190–210 г), полученные из питомника «Столовая». Животных содержали по 10 особей в клетке, в максимально стандартных условиях, изоляции от самок

и один вид от другого. Клетки были расположены так, чтобы исключить возможное влияние зрительно-акустического и ольфакторного каналов передачи информации на синхронизацию активности между животными разных групп. В помещениях поддерживался фотопериод, характерный для естественного в Москве светового дня, и постоянная температура +24°C. Эксперименты проводили с 1-го ноября по 2-е декабря 2011 г. с 10 до 11 ч. Все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с регламентом использования лабораторных животных в ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАН, принятым и утвержденным комиссией по биоэтике.

Были сформированы следующие экспериментальные группы:

1) мыши BALB/c, получающие пищу *ad libitum* ($n = 10$);

2) мыши, подвергаемые в течение 20 сут периодической пищевой депривации (по 24 ч депривация и свободный доступ к пище), затем этих животных переводили на кормление *ad libitum* ($n = 10$);

3) крысы Вистар, получающие пищу *ad libitum* ($n = 10$).

У всех животных ежедневно измеряли уровень глюкозы в капиллярной крови, получаемой из области кончика хвоста (укол стерильной иглой), используя электрохимический биосенсор с автоматическим контролем установки диагностических полосок IME-DC (Германия), с ключом контроля для проверки системы. Прибор соответствует положениям директивы Европейского Сообщества IVDD (98/79/EC). Предварительно было проведено сравнение показателей прибора IME-DC с референтным глюкозооксидазным методом («Diagnostic Systems», GmbH, Германия) определения уровня глюкозы в крови на 45 образцах, коэффициент корреляции 0.965.

В начале эксперимента и через 21 сут определяли массу тела мышей 1-й и 2-й групп.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программного обеспечения Statistica 6.0. (StatSoft Inc., США). В случае соответствия нормальному распределению значений показателей (Shapiro-Wilk'S test), применяли *t*-критерий Стьюдента для независимых выборок. В случае распределения, отличного от нормального, использовали непараметрический критерий U Манна-Уитни для сравнения несвязанных совокупностей. Для выявления периодов биоритмов вычисляли коэффициент автокорреляции. Ранговый корреляционный анализ проводили по методу Спирмена. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

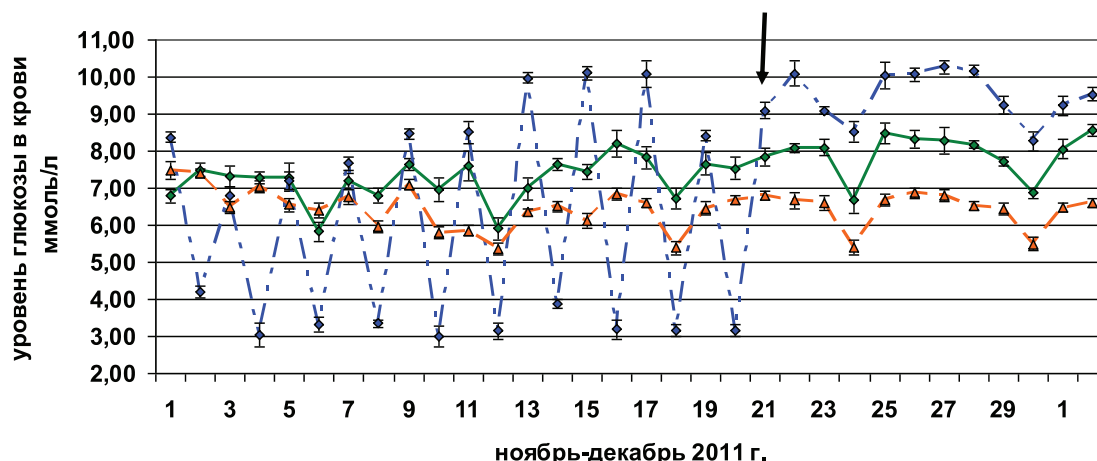
Изучение уровня глюкозы в крови у крыс Вистар с 1-го ноября по 2-е декабря 2011 г. позволило установить, что в период с 10 до 11 ч минимальные показатели уровня глюкозы в крови составляли 5,0, а максимальные – 7,7 ммоль/л. Средние величины показателей уровня глюкозы у крыс были меньше, чем у мышей, находящихся на таком же режиме питания ($6.45 \pm 0,11$ и $7.47 \pm 0,12$ ммоль/л соответственно $p < 0,01$). У мышей BALB/c, получавших пищу *ad libitum* (1-я груп-

па), показатели уровня глюкозы в крови не опускались ниже 5,0 и не поднимались выше 10,7 ммоль/л. В то же время у мышей, подвергавшихся пищевой депривации (2-я группа), минимальные показатели уровня глюкозы в крови на фоне лишения пищи достигали 2,5, а максимальные – 4,6 ммоль/л, а в дни получения пищи *ad libitum* – 7,2 и 11,3 ммоль/л соответственно. Примечательно, что в дни получения пищи *ad libitum* и после отмены пищевой депривации у этой группы мышей наблюдалось достоверно значимое увеличение уровня глюкозы по сравнению с 1-й группой животных ($9,45 \pm 0,39$ и $7,47 \pm 0,12$ ммоль/л соответственно $p < 0,01$) (рисунок). При регистрации массы тела мышей BALB/c у сформированных 1-й и 2-й групп в начале эксперимента ($19,21 \pm 0,75$ и $19,38 \pm 0,8$ г соответственно), а также через 21 сут у подвергавшихся и не подвергавшихся пищевой депривации, не выявлено статистически значимых отличий между группами ($22,16 \pm 1,11$ и $22,68 \pm 1,13$ г соответственно).

У мышей и крыс наблюдались инфраниантные ритмы колебания уровня глюкозы в крови с периодом 6 сут (рисунок). Коэффициент автокорреляции со сдвигом 6 сут составил у мышей 0,55 ($p < 0,005$), а у крыс 0,41 ($p < 0,05$). Следует отметить, что инфраниантные ритмы животных разных видов – мышей и крыс, находящихся на одинаковом режиме питания (1-я, 2-я после отмены пищевой депривации и 3-я группы), совпадали по фазам и датам (рисунок).

У мышей 2-й экспериментальной группы в период чередования пищевой депривации с получением пищи *ad libitum* (по 24 ч, на протяжении 20 сут), инфраниантных ритмов колебания уровня глюкозы в крови выявить не удалось, однако сразу после восстановления свободного доступа к пище, проявились ритмы, аналогичные другим группам животных и совпадающие с ними по фазам и датам (рисунок).

Таким образом, в проведенном исследовании удалось выявить инфраниантные ритмы колебания уровня глюкозы с периодом 6 сут у мышей BALB/c и крыс Вистар. Примечательным является факт совпадения этих ритмов по календарным датам и фазе у животных разных видов, находящихся на обычном режиме питания. Этот факт, вероятнее всего, указывает на наличие внешнего синхронизатора, определяющего 6 сут периодичность колебания уровня глюкозы в крови. Установить природу такого синхронизатора в настоящее время не представляется возможным.



Инфрадианные ритмы колебания уровня глюкозы в крови крыс Вистар, интактных мышей BALB/c и мышей, подвергавшихся периодической пищевой депривации.

По оси ординат – средние значения уровня глюкозы по группе за опыт в ммоль/л: синяя линия – мыши, подвергавшиеся периодической пищевой депривации;

зеленая линия – интактные мыши; оранжевая линия – интактные крысы. Стрелкой указан день отмены пищевой депривации. За время эксперимента все значения уровня глюкозы в крови этих групп животных имели достоверно значимые различия $p < 0,05$

Известно, что пищевой режим является значительным синхронизатором для поведенческих, гормональных, метаболических параметров и параметров нервной системы. Ожидание пищи при изменении режима кормления и ограничении количества пищи повышает активность гипоталамуса у лабораторных грызунов, что обычно сказывается на показателях суточных ритмов [6, 8]. В наших экспериментах установлено, что длительная (на протяжении 20 сут) периодическая пищевая депривация не повлияла на период и фазу инфрадианных ритмов уровня глюкозы после восстановления обычного режима питания.

Обнаруженные нами отличия по уровню глюкозы в крови лабораторных грызунов характеризовались более низкими значениями у крыс, чем у мышей, кроме того, у мышей после отмены пищевой депривации показатели уровня глюкозы были выше, чем у животных того же вида, регулярно получавших пищу *ad libitum*.

Заключение

Проведено исследование уровня глюкозы в крови крыс Вистар и мышей BALB/c, во время которого регистрировали значения этого показателя в строго определенное время суток (с 10 до 11 ч) в течение 30 сут у животных при обычном содержании и кормлении, а также при воздействии такого десинхронизатора, как пищевая депривация. Отмечены межвидовые отличия по уровню глюкозы в крови, а также вну-

тривидовые отличия у мышей BALB/c при свободном доступе к пище, пищевой депривации и после возвращения на обычный режим питания, отражающие особенности метаболизма глюкозы. В частности, у крыс уровень глюкозы в крови ниже, чем у мышей, кроме того, у мышей после отмены пищевой депривации – выше, чем у животных того же вида, регулярно получавших пищу *ad libitum*.

Колебания уровня глюкозы в крови мышей BALB/c и крыс Вистар, находящиеся на обычном режиме питания, а также группы мышей после отмены пищевой депривации, носили инфрадианный характер с периодом 6 сут. Представляет интерес тот факт, что у этих видов лабораторных грызунов наблюдалось совпадение ритмов глюкозы по календарным датам и фазе. Периодическая пищевая депривация, проводимая в течение 20 сут и сопровождающая ее выработка условного рефлекса на наличие или отсутствие пищи, не повлияли на период и фазу инфрадианных ритмов уровня глюкозы после восстановления обычного режима питания мышей BALB/c.

Полученные данные послужат основанием для более точного установления коридора нормы колебаний уровня глюкозы в крови крыс Вистар и мышей BALB/c, дополняют сведения о закономерностях ритмических процессов, чувствительности организма млекопитающих к действию пищевого режима.

Список литературы

1. Малышева Е.В., Засядко К.И., Гулин А.В. Оценка состояния напряженности и адаптации пилота к отрицательным факторам летной деятельности // Вестн. Тамбов. Ун-та. Сер. Естеств. и технич. науки. – 2011. – Т 16, № 1. – С. 316–318.

2. Яглов В.В., Яглова Н.В. Основы частной гистологии; под ред. Н.С. Горянской. – М.: КолосС., 2011. – 431 с.

3. Hager P., Permert J., Wikström A.C., Herrington M.K., Ostenson C.G., Strömmer L. Preoperative glucocorticoid administration attenuates the systemic stress response and hyperglycemia after surgical trauma in the rat // *Metabolism*. – 2009. – Vol. 58, № 4. – P. 449–455.

4. Kamezaki F., Sonoda S., Tomotsune Y., Yunaka H., Otsuji Y. Seasonal variation in metabolic syndrome prevalence // *Hypertens. Res.* – 2010. – Vol. 33, № 6. – P. 568–572.

5. Komesaroff P.A., Funder J.W. Differential glucocorticoid effects on catecholamine responses to stress // *Am. J. Physiol.* – 1994. – Vol. 266, № 1 Pt 1. – P. E118–E128.

6. Morgado E. Juárez C., Melo A.I., Domínguez B., Lehman M.N., Escobar C., Meza E., Caba M. Artificial feeding synchronizes behavioral, hormonal, metabolic and neural parameters in mother-deprived neonatal rabbit pups // *Eur. J. Neurosci.* – 2011. – Vol. 34, № 11. – P. 1807–1816.

7. Shea S.A., Hilton M.F., Orlova C., Ayers R.T., Mantzoros C.S. Independent circadian and sleep/wake regulation of adipokines and glucose in humans // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2005. – Vol. 90, № 6. – P. 2537–2544.

8. Verhagen L.A., Luijendijk M.C., de Groot J.W., van Dommelen L.P., Klimstra A.G., Adan R.A., Roeling T.A. Anticipation of meals during restricted feeding increases activity in the hypothalamus in rats // *Eur. J. Neurosci.* – 2011. – Vol. 34, № 9. – P. 1485–1491.

References

1. Malysheva, E.V., Zasyadko K.I., Gulín A.V. Otsenka sostoyaniya napryazhennosti i adaptatsii pilota k otritsatel'nim faktoram letnoi deyatel'nosti // *Vestn. Tambov. Universit. Ser. Estestvennykh. i tekhn. nauk.* 2011. T. 16, no 1. pp. 316–318.

2. Yaglov V.V., Yaglova N.V. Osnovy chastnoy histologii. p/r, N.S. Goryanskaya. M.: KolosS. 2011. 431 p.

3. Hager P., Permert J., Wikström A.C., Herrington M.K., Ostenson C.G., Strömmer L. Preoperative glucocorticoid administration attenuates the systemic stress response and hyperglycemia after surgical trauma in the rat // *Metabolism*. 2009. Vol. 58, no 4. pp. 449–455.

4. Kamezaki F., Sonoda S., Tomotsune Y., Yunaka H., Otsuji Y. Seasonal variation in metabolic syndrome prevalence // *Hypertens. Res.* 2010. Vol. 33, no 6. pp. 568–572.

5. Komesaroff P.A., Funder J.W. Differential glucocorticoid effects on catecholamine responses to stress // *Am. J. Physiol.* 1994. Vol. 266, no 1 Pt 1. pp. E118–E128.

6. Morgado E. Juárez C., Melo A.I., Domínguez B., Lehman M.N., Escobar C., Meza E., Caba M. Artificial feeding synchronizes behavioral, hormonal, metabolic and neural parameters in mother-deprived neonatal rabbit pups // *Eur. J. Neurosci.* 2011. Vol. 34, no 11. pp. 1807–1816.

7. Shea S.A., Hilton M.F., Orlova C., Ayers R.T., Mantzoros C.S. Independent circadian and sleep/wake regulation of adipokines and glucose in humans // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005. Vol. 90, no 6. pp. 2537–2544.

8. Verhagen L.A., Luijendijk M.C., de Groot J.W., van Dommelen L.P., Klimstra A.G., Adan R.A., Roeling T.A. Anticipation of meals during restricted feeding increases activity in the hypothalamus in rats // *Eur. J. Neurosci.* 2011. Vol. 34, no 9. pp. 1485–1491.

Рецензенты:

Болтовская М.Н., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией клеточной иммунопатологии и биотехнологии ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» РАМН, г. Москва;

Гореликов П.Л., д.б.н., заведующий лабораторией нейроморфологии ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» РАМН, г. Москва.

Работа поступила в редакцию 06.06.2013.