

УДК 576.353:591.044

ФИЗИОЛОГИЯ

В. Я. БРОДСКИЙ, Е. В. КУЗНЕЦОВ, Ю. Д. ЧУГУНОВ

**ЗАВИСИМОСТЬ СУТОЧНОГО РИТМА МИТОЗОВ В ЭПИТЕЛИИ  
ХРУСТАЛИКА *RANA TEMPORARIA L.*  
ОТ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ**

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 9 VI 1970)

В литературе неоднократно высказывалось суждение, что суточный ритм митозов находится в обратной зависимости от локомоторной активности животных (<sup>1-9</sup>). В свою очередь, на ритм локомоторной активности может влиять ряд внешних и внутренних факторов, как биотических, так и абиотических. К числу наиболее важных для земноводных абиотических факторов, выполняющих роль вторичных синхронизаторов суточного ритма митозов, относятся температура и влажность воздуха, освещенность и атмосферное давление.

Целью данной работы было установить количественную зависимость между локомоторной активностью и интенсивностью клеточной пролиферации в эпителии хрусталика травяных лягушек, а также между важнейшими для жизнедеятельности лягушек физическими параметрами погоды и митотической и локомоторной активностью.

Для измерения активности популяции травяных лягушек был использован метод учета на кольцевом маршруте, предложенный П. В. Терентьевым (<sup>10</sup>). Учеты проводили непрерывно на протяжении пяти суток в 1; 4; 7; 10; 13; 16; 19 и 22 часа. В те же часы, когда совершались обходы по маршруту, осуществляли синхронную фиксацию материала. На каждый срок было взято по 4—8 половозрелых травяных лягушек. Всего в опыте для целей гистологического исследования было использовано 214 животных. Энуклеированные глаза фиксировали в 10% нейтральном формалине. Тотальные препараты однослойного эпителия хрусталика были приготовлены по методике Говард (<sup>11</sup>). Митотический индекс вычисляли на основании просмотра 12—22 тыс. ядер для каждого препарата, при этом учитывали процентное соотношение отдельных фаз митоза.

Измерения метеорологических факторов: температуры и влажности воздуха, освещенности и атмосферного давления — производили непрерывно на протяжении 5 суток через каждый час (табл. 1).

Полученные данные по подсчету числа митозов, активности популяции травяных лягушек и метеорологические наблюдения обрабатывали статистически. Достоверность различия средних оценивали по методу Фишера — Стьюдента. Разность считали достоверной, если вероятность случайного различия между средними не превышала 0,03.

Для выяснения закономерностей влияния метеорологических факторов на активность популяции травяных лягушек и на величину митотического индекса, а также для определения силы связи между локомоторной и митотической активностью были проведены корреляционный, регрессионный и дисперсионный анализ. При оценке одновременного влияния физических параметров погоды на двигательную активность и на интенсивность пролиферации клеток исходили из вида эмпирических графиков влияния каждого из факторов на указанные признаки и из рассуждения, что для жизнедеятельности лягушек должен существовать оптимум.

Таблица 1

Вариабильность сравниваемых величин в течение 5 суток

Дата (июнь 1969 г.)	Время фиксаций, час суток	Локо- моторная активн.*	Т-ра, °С	Освещен- ность, лк	Относит. влаж- ность, %	Атмосф. давление, мбар	Ср. митотич. индекс
13	22	22	16,2	7	79	985	2,71±0,61
14	1	8	13,0	0	89	986	3,46±0,67
	4	4	12,2	100	100	987	2,31±0,44
	7	8	13,6	9480	57	989	1,86±0,74
	10	7	18,7	36000	46	990	5,41±1,10
	13	11	20,0	24900	72	991	3,18±0,65
	16	8	23,0	30000	59	988	6,58±0,59
	19	23	19,8	21000	47	987	3,00±0,54
	22	20	15,4	35	89	985	2,19±0,43
15	1	16	12,6	0	89	991	2,98±0,89
	4	6	13,1	651	77	990	2,63±0,56
	7	10	15,0	5780	89	992	4,03±1,13
	10	6	22,2	30000	66	989	9,04±1,69
	13	4	25,0	28120	68	988	4,06±0,75
	16	2	21,0	3800	49	988	5,78±1,24
	19	9	19,6	1900	64	988	4,58±0,91
	22	23	17,0	35	90	988	1,10±0,23
16	1	14	15,0	0	89	989	2,18±0,47
	4	10	14,0	175	89	989	2,95±0,69
	7	5	15,4	3934	58	990	1,94±0,19
	10	0	21,3	23160	74	989	5,48±1,06
	13	3	23,4	24880	100	985	2,27±0,56
	16	2	19,0	18000	54	984	5,64±0,52
	19	2	19,2	6720	63	988	6,63±0,97
	22	30	16,0	63	59	990	3,13±0,59
17	1	7	13,8	0	89	991	5,86±1,09
	4	6	12,2	531	43	989	1,71±0,45
	7	0	14,4	6800	78	993	6,29±0,66
	10	0	16,9	11340	61	987	6,29±0,95
	13	5	19,0	23000	46	989	4,47±0,71
	16	8	19,0	14000	63	989	3,38±0,88
	19	17	18,2	5950	53	987	4,48±0,80
	22	14	14,8	35	78	986	4,56±0,71
18	1	3	10,2	0	87	988	4,12±0,56
	7	1	12,6	6700	91	991	7,23±0,51
	10	2	20,8	34800	74	990	6,15±0,41
	13	21	20,4	33500	59	987	2,10±0,35
	16	1	20,0	38600	74	986	6,61±0,49
	22	24	16,3	30	70	987	1,85±0,27

\* Число лягушек, встреченных в маршруте.

Зависимость двигательной активности от факторов погоды была представлена в виде полинома

$$y = a + b_1x^{(1)} + b_2x^{(2)} + b_3x^{(3)} + b_{11}x^{(1)2} + b_{12}x^{(1)}x^{(2)} + b_{13}x^{(1)}x^{(3)} + b_{22}x^{(2)2} + b_{23}x^{(2)}x^{(3)} + b_{33}x^{(3)2}, \quad (1)$$

где  $y$  — локомоторная активность,  $x^{(1)}$  — температура,  $x^{(2)}$  — влажность,  $x^{(3)}$  — освещенность.

После перехода к стандартизованному масштабу и решения системы нормальных уравнений были определены коэффициенты уравнения множественной регрессии активности по метеорологическим факторам. Аналогичный расчет производили для определения зависимости митотической активности от факторов погоды. Все операции по вычислению коэффициентов множественной регрессии, оценке их достоверности и проверке адекватности полученных уравнений были выполнены на электронно-счетной машине М-220. Программа была составлена на языке «Алгол».

Нормированное уравнение множественной регрессии локомоторной активности по метеорологическим факторам имеет следующий вид:

$$t^{(v)} = 5,83t^{(1)} - 1,03t^{(2)} - 0,49t^{(3)} - 7,12t^{(4)} + 1,08t^{(5)} + 6,30t^{(6)} + 0,26t^{(7)} - 1,71t^{(8)} + 0,40t^{(9)}, \quad (2)$$

где  $t^{(v)}$  — локомоторная активность,  $t^{(1)}$  — температура,  $t^{(2)}$  — влажность,  $t^{(3)}$  — освещенность,

$$t^{(4)} = t^{(1)2}, \quad t^{(5)} = t^{(1)}t^{(2)}, \quad t^{(6)} = t^{(1)}t^{(3)}, \\ t^{(7)} = t^{(2)2}, \quad t^{(8)} = t^{(2)}t^{(3)}, \quad t^{(9)} = t^{(3)2}.$$

Из уравнения следует, что локомоторная активность травяных лягушек в наибольшей степени зависит от температуры воздуха. Можно также ут-

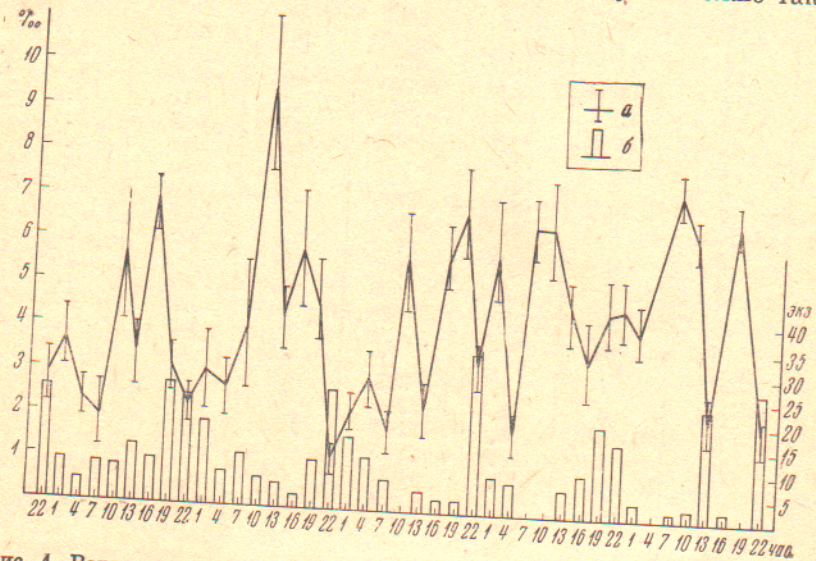


Рис. 1. Вариации митотического индекса в эпителии хрусталика травяных лягушек (а) в зависимости от их локомоторной активности (б) на протяжении 5 суток

верждать, что на активность лягушек оказывает сильное влияние температура в сочетании с освещенностью, хотя сама по себе освещенность оказывает слабое влияние. Фактор влажности также действует сильнее в сочетании с фактором освещенности.

Аналогичное уравнение для митотического индекса имеет вид:

$$t^{(2)} = -1,65t^{(1)} + 0,42t^{(2)} + 0,64t^{(3)} + 1,35t^{(4)} - 3,31t^{(5)} - 2,4t^{(6)} - 1,63t^{(7)} + 2,11t^{(8)} - 0,05t^{(9)}. \quad (3)$$

Следует отметить, что зависимость митотического индекса от какого-нибудь одного фактора при неизменных значениях остальных факторов имеет экстремальный характер, и по обе стороны оптимума характер корреляции противоположен. Полученные нами результаты хорошо согласуются с данными других исследователей, обнаруживших эмпирически положительную корреляцию между величиной митотического индекса в эпителии хрусталика и температурой (<sup>12</sup>, <sup>13</sup>). Уравнение (3) позволяет определить оптимум температуры для процесса митоза при фиксированных значениях влажности и освещенности. Отметим, что в уравнениях (2) и (3) знаки при соответственных членах противоположные, что свидетельствует об отрицательной корреляции между спонтанной активностью и интенсивностью размножения клеток. Вычисленный нами коэффициент корреляции между локомоторной активностью популяции травяных лягушек и митотическим индексом оказался равным  $-0,545$  и высокодостоверным. Уравнение прямолинейной регрессии митотического индекса по локомоторной активности имеет следующий вид

$$Z \approx 5,35 - 0,13 y, \quad (4)$$

где  $Z$  — митотический индекс,  $y$  — число встреченных на маршруте лягушек.

Вариации митотического индекса на протяжении 5 суток исследования представлены на рис. 1. Обращает на себя внимание то, что кривая суточного ритма митозов имеет трехвершинный характер, хотя и не всегда максимумы митотической активности достоверны по отношению к среднесуточному значению митотического индекса. В 10 час. на протяжении всех суток исследования отмечается высокий уровень митотической активности. Что касается второго и третьего максимумов, то они обнаруживаются в 1; 4; 16 или 19 час., что коррелирует с метеорологическими факторами.

Для решения вопроса о силе влияния на величину митотического индекса таких факторов, как локомоторная активность и время фиксации материала, был применен дисперсионный анализ по двухфакторной схеме для неравномерных комплексов. Результаты анализа позволили прийти к следующему выводу: величина митотического индекса в сильной степени зависит от физиологического состояния животных. Показатель силы влияния, равный отношению факториальной дисперсии к общей, оказался для этого фактора равным 0,385 и достоверным по третьему порогу вероятности безошибочных прогнозов. Но для фактора времени этот показатель оказался также достаточно большим по абсолютной величине (0,125) и высокодостоверным, что свидетельствует о независимом и сильном влиянии срока фиксации на величину митотического индекса.

Результаты дисперсионного анализа представлены на рис. 2. Для проверки предположения о параллельном изменении во времени величины митотического индекса у пассивных и активных лягушек мы вычислили степень достоверности трех критериев: 1) среднего различия отдельных градаций; 2) превышения одного ряда над другим; 3) непараллельности рядов. Расчет подтвердил правильность вывода о сильном влиянии срока фиксации на величину митотического индекса, независимо от физиологического состояния животных.

Таким образом, мы получили результат, говорящий в пользу существования эндогенной составляющей суточного ритма митозов в эпителии хрусталика травяных лягушек, не зависящей от экологических факторов. Это объясняет, почему коэффициент отрицательной корреляции между локомоторной активностью травяных лягушек и величиной митотического индекса характеризуется умеренной величиной: в противном случае интенсивность клеточной пролиферации зависела бы всецело от двигательной активности.

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Институт биологии развития  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
8 VI 1970

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> И. А. Алов, Очерки физиологии митотического деления клеток, М., 1964.  
<sup>2</sup> В. Н. Доброхотов, Вестн. акад. мед. наук СССР, 7, 50 (1963). <sup>3</sup> С. Я. Залкин и др. Усп. совр. биол., 33, № 3, 431 (1952). <sup>4</sup> Г. В. Кузнецов, ДАН, 191, № 2, 461 (1970). <sup>5</sup> W. S. Bullough, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B, 135, № 879, 212 (1948). <sup>6</sup> W. S. Bullough, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B, 135, № 879, 233 (1948). <sup>7</sup> W. S. Bullough, E. Laurence, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B, 154, № 957, 540 (1961). <sup>8</sup> A. L. Ferreira, G. R. Pinto, L. Lison, C. R., 252, № 25, 4058 (1961). <sup>9</sup> K. Peter, Zs. Zellforsch., 30, № 5, 721 (1940). <sup>10</sup> П. В. Терентьев, Зоол. журн., 17, в. 3, 549 (1938). <sup>11</sup> A. Howard, Stain Technology, 27, № 6, 313 (1952). <sup>12</sup> Г. С. Лебедева, Цитология, 11, № 7, 815 (1969). <sup>13</sup> Л. М. Масальская, В. В. Попов, Вестн. Моск. унив., 6, 10 (1969).

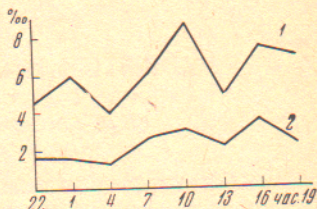


Рис. 2. Изменение величины митотического индекса на протяжении суток у пассивных (1) и активных (2) лягушек. Суммарные кривые