

11. Патент 30999 Україна, МПК G01N 1/30. Спосіб оцінки функціонального стану гіпокампу / В.О. Туманський, В.Д. Бовт, В.А. Єщенко, О.М. Кучковський, Ю.В. Єщенко; Запорізький державний університет. – № 98063393; Опубл. 15.12.2003 Бюл. №12 – 2 с.
12. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. – Ростов-на-Дону: Ростовский университет, 1990 – 224 с.
13. Никонов В.В. Стресс: Современный патофизиологический подход к лечению / В.В. Никонов – Х.: Консул, 2002. – 240 с.
14. Райцес В.С. Нейрофизиологические основы действия микроэлементов / В.С. Райцес – Л.: Медицина, 1981. – 152 с.

УДК 611.36:569.32:57.034:577.152.1

## ЦИРКАДНИЙ РИТМ АКТИВНОСТІ ДЕГІДРОГЕНАЗ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТІ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ І КРОЛИКІВ

Омельянчик В.Н., к.м.н., доцент, Новикова К.В., ст. лаборант,

Колесник Н.В., д.б.н., профессор

*Запорожский национальный университет*

В грубых гомогенатах печени мышей и кроликов, которых содержали в условиях естественного освещения в мае, без ограничения доступа к пище. Отбор проб у 6-7 животных производили через каждые 6 часов, исследовали влияние времени суток на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6PGD). С помощью косинор-анализа установлено, что активность обоих ферментов в печени мышей и кроликов изменяется с периодом, близким к 24 часам. Акрофаза активности ферментов в печени мышей наблюдается в первой половине дня с максимумом в 13-14 часов, а в печени кроликов – в первой половине ночи с максимумом в 23-24 часа. Параметры индивидуальных синусоид активности ферментов в печени нелинейных мышей и кроликов имеют широкий диапазон колебаний.

*Ключевые слова:* *мыши, кролики, печень, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, суточный ритм*

Омельянчик В.М., Новикова К.В., Колесник Н.В. ЦИРКАДНИЙ РИТМ АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТІ В ПЕЧІНЦІ МЫШЕЙ І КРОЛИКІВ / Запорізький національний університет, Україна.

У грубих гомогенатах печінки мишей і кроликів, яких утримували в умовах природного освітлення в травні, без обмеження доступу до їжі. Відбір проб у 6-7 тварин проводили через кожні 6 годин, досліджували вплив часу доби на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і 6-фосфоглюконатдегідрогенази. За допомогою косинор-аналізу встановлено, що активність обох ферментів у печінці мишей і кроликів змінюється з періодом, близьким до 24 годин. Акрофаза активності ферментів у печінці мишей спостерігається в першій половині дня з максимумом у 13-14 годин, а в печінці кроликів – у першій половині ночі з максимумом у 23-24 години. Параметри індивідуальних синусоїд активності ферментів у печінці нелінійних мишей і кроликів мають широкий діапазон коливань.

*Ключові слова:* *миші, кролики, печінка, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, 6-фосфоглюконатдегідрогеназа, добовий ритм*

Omelyanchik V.N., Novikova K.V., Kolesnik N.V. CIRCADIAN RHYTHMS DEHYDROGENASE PENTOSE PHOSPHATE PATHWAY IN THE LIVER OF MICE AND RABBITS / Zaporizhzhya National University, Ukraine

In liver crude homogenates of mice and rabbits, which are containing in natural light may, without limiting the access to food and sampling from 6-7 animals every 6 hours and examined the effect of time of day, the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase.

Using cosinor analysis established that the activity of both enzymes in the liver of mice and rabbits is changed with a period close to 24 hours. Acrophase activity of enzymes in the liver of mice observed in the first half of the day with a maximum of 13-14 hours, and in the liver of rabbits - in the first half of the night with a maximum of 23-24 hours. The parameters of individual sine waves of activity of enzymes in the liver of inbred mice and rabbits have a wide range of differences.

*Key words: mice, rabbits, liver glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, circadian rhythm*

## ВВЕДЕНИЕ

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (G6PD) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6PGD) пентозофосфатного пути (ПФП) – ключевые ферменты, обеспечивающие гомеостаз НАДФН–зависимых редокс систем – цитохрома P 450 [1], тиоредоксина, глутаредоксина и глутатиона [2]. Определяющая роль структуры суточного ритма в направленности и степени выраженности ответа метаболического пути и организма в целом на то или иное воздействие [3] определяют актуальность сравнительного хронометрического анализа активности дегидрогеназ ПФП в печени ночных и дневных животных. По данным литературы, у ночных и дневных животных инвертированы суточные ритмы содержания кортикостероидов и ионов калия [4]. Сведений о суточных ритмах ферментов ПФП в печени мышей и кроликов мы не встретили. Изложенное определило цель нашего исследования: используя методологию макро- и микроанализа хронобиологии [5] определить суточную организацию активности G6PD и 6PGD в печени мышей и кроликов.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте использовали половозрелых нелинейных самцов белых мышей и белых калифорнийских кроликов. Животных содержали на обычном стандартном рационе, в условиях естественного освещения мая, доступ к пище и воде не ограничивали. Забой животных, отбор проб печени, приготовление гомогенатов и определение активности ферментов осуществляли, как описано ранее [6,7]. Макро- и микроанализ активности ферментов проводили в соответствии с [5] с использованием пакета прикладных программ SPSS v.15 (макроанализ) и программы косинор – микроанализ [6,7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты однофакторного дисперсионного анализа – влияние времени суток на активность дегидрогеназ в печени мышей (ANOVA) – отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Временя суток и активность дегидрогеназ ПФП в печени мышей (ANOVA)

Фермент	Сравнение	F	P
6PGD, мкмоль НАДФН/г/мин	Между группами	,701	,562
	Внутри групп	-	-
G6PD, мкмоль НАДФН/г/мин	Между группами	,274	,843
	Внутри групп	-	-
6PGD, мкмоль НАДФН /мг/мин	Между группами	,495	,690
	Внутри групп	-	-
G6PD, мкмоль НАДФН/мг/мин	Между группами	4,286	,017
	Внутри групп	-	-

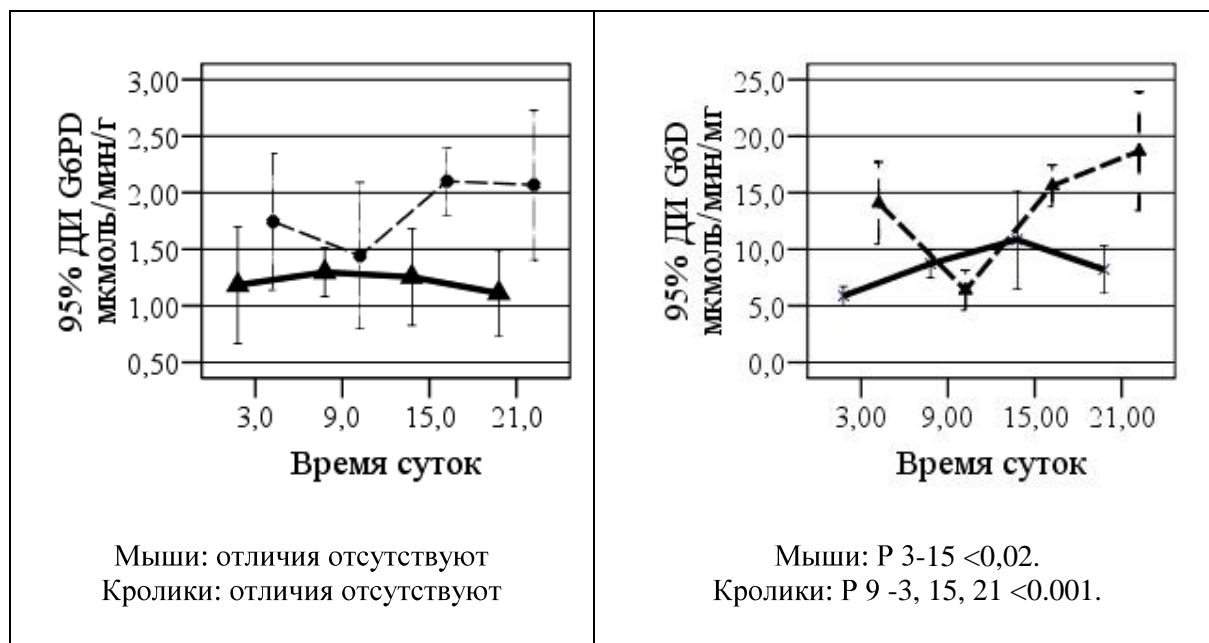
В соответствии с результатами ANOVA в условиях эксперимента в печени мышей истинное влияние времени суток проявляется только в отношении удельной активности G6PD (табл.1).

Результаты ANOVA влияния времени суток на активность дегидрогеназ в печени кроликов отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Фактор времени и активность дегидрогеназ ПФП в печени кроликов.

Фермент	Сравнение	F	P
6PGD, мкмоль НАДФН/мин/г	Между группами	3,786	,027
	Внутри групп	-	-
G6PD, мкмоль НАДФН/мин/г	Между группами	1,928	,158
	Внутри групп	-	-
6PGD, мкмоль НАДФН /мин/мг	Между группами	22,099	,000
	Внутри групп	-	-
G6PD, мкмоль НАДФН/мин/мг	Между группами	15,377	,000
	Внутри групп	-	-

Как следует из данных табл. 2 время суток достоверно влияет на активность обеих дегидрогеназ в печени кроликов. В случае G6PD только в расчете на 1 мг белка, в случае 6PGD при обоих способах расчета активности фермента. Суточный профиль активности ферментов в печени мышей и кроликов и результаты множественных апостериорных сравнений активности ферментов в часы отбора проб отражены на рис. 1.



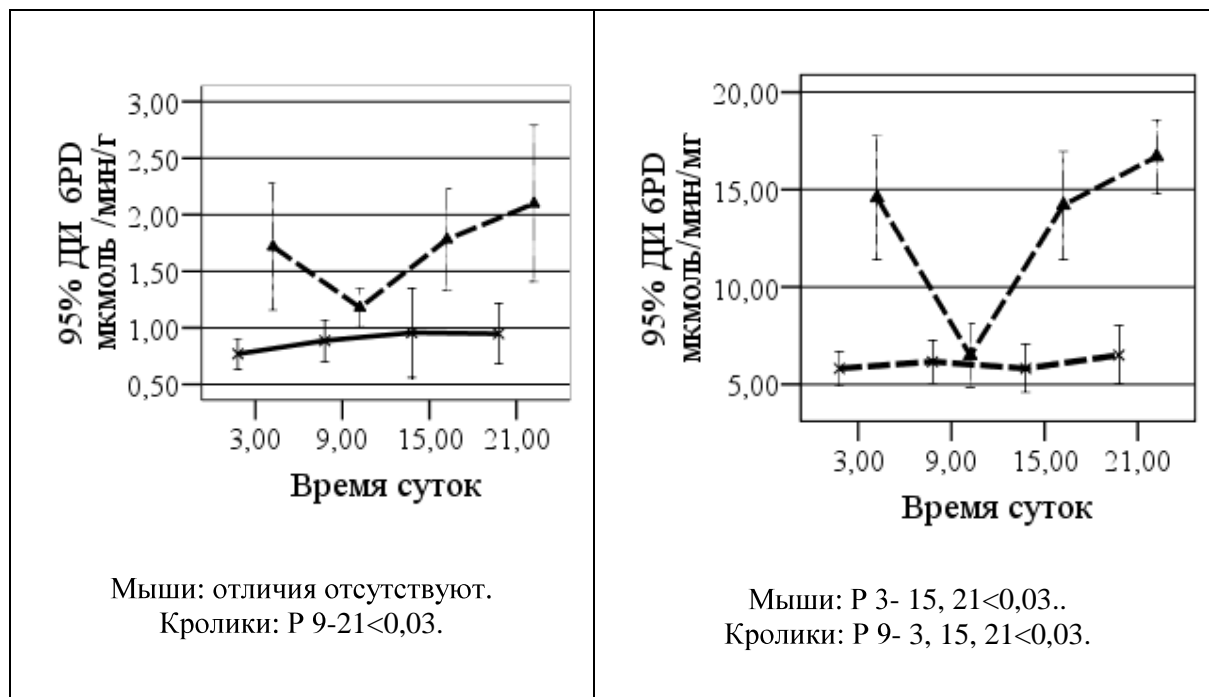


Рис. 1 Суточный профиль активности дегидрогеназ ПФП в печени мышей (----) и кроликов (---).

Данные графического анализа активности дегидрогеназ ПФП в печени животных – мышей и кролей – на протяжении суток (рис. 1) отражают разный профиль активности ферментов. Так, в 9 часов утра в печени кроликов активность как G6PD, так и 6PGD минимальна, в то время как у мышей наблюдается ее подъём.

С целью подтверждение или отрицания наличия 24 часового ритма активности дегидрогеназ ПФП в печени мышей и кроликов, а так же получения характеристик суточных гармоник мы провели косинор-анализ хронограмм активности ферментов. Результаты косинор-анализа активности дегидрогеназ ПФП в печени мышей отражены в табл. 3.

Таблица 3 – Параметры средних синусоид группового косинор-анализа хронограмм активности дегидрогеназ ПФП в печени мышей.

Период	Средние	x	y	h	A	Phi	Delta
<i>G6PD мкмоль НАДФ. Н/г/мин</i>							
24 ч	Средние	-0,095	0,042	1,212	0,104	10,396	0,000
	Эллипс	Sx	Sy	r	a	b	Teta
P = 95 %		0,128	0,121	-0,966	0,655	0,086	-43,241
<i>Параметры эллипса ошибок 24 часового периода активности</i>							
<i>G6PD мкмоль НАДФ. Н/г/мин</i>							
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоН/n	MinН	MaxН	Amin
0.05	0.75	0.01	24.00	0.16	0.83	2.01	0.05
<i>G6PD мкмоль НАДФ. Н/мг/мин</i>							
24 ч	Средние	-1,766	-1,737	8,372	2,477	14,968	0,000
	Эллипс	Sx	Sy	r	a	b	Teta
P = 95 %		1,412	0,540	-0,759	5,528	1,264	-17,113

Период	Средние	x	y	h	A	Phi	Delta
<i>Параметры эллипса ошибок 24 часового периода активности G6PD мкмоль НАДФ. Н/мг/мин</i>							
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоН/n	MinH	MaxH	Amin
0.59	7.47	12.47	22.51	0.79	6.07	11.67	0.59
<i>6PGD мкмоль НАДФ. Н/г/мин</i>							
24 ч	Средние	0,891	-0,862	0,847	1,240	-2,938	0,000
	Эллипс	Sx	Sy	r	a	b	Teta
P = 95 %		0,783	0,762	-0,998	4,096	0,133	-44,202
<i>Параметры эллипса ошибок 24 часового периода активности 6PGD мкмоль НАДФ. Н/г/мин</i>							
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоН/n	MinH	MaxH	
0.66	5.11	12.64	23.12	0.06	0.65	1.15	
<i>6PGD мкмоль НАДФ. Н/мг/мин</i>							
24 ч	Средние	0,302	-0,467	5,969	0,556	-3,805	0,000
	Эллипс	Sx	Sy	r	a	b	Teta
P = 95 %		0,585	0,376	-0,837	2,518	0,672	-30,678
<i>Параметры эллипса ошибок 24 часового периода активности 6PGD мкмоль НАДФ. Н/мг/мин</i>							
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоН/n	MinH	MaxH	Amin
0.22	2.88	0.00	24.00	0.33	4.62	7.13	0.22

Из данных табл. 3 следует, что в печени белых мышей 24-часовой суточный ритм определяется для удельной активности G6PD с минимумом в 12.47 и максимумом в 22.51, мезор активности фермента равен 8,4, амплитуда – 2,5 мкмоль НАДФ. Н /мин/мг; 24-часовой ритм имеет место и у 6PGD в расчете на 1 г ткани: минимум в 12.64 часа, максимум в 23.12 часа; мезор ритма активности равен 0,847, амплитуда – 1,240 мкмоль НАДФ. Н /г/мин.

Результаты косинор-анализа хронограмм активности дегидрогеназ ПФП в печени кроликов отражены в табл. 4.

Таблица 4 – Параметры средних синусоид группового косинор-анализа суточного профиля активности дегидрогеназ ПФП в печени кроликов.

Период	Средние	x	y	h	A	Phi	Delta
<i>G6PDG мкмоль НАДФ. Н/г/мин</i>							
24 ч	Средние	-0,071	-0,180	1,924	0,194	16,561	0,000
	Эллипс	Sx	Sy	r	a	b	Teta
P = 95 %		0,185	0,158	-0,761	0,859	0,311	-39,210
<i>Параметры эллипса средней синусоиды активности G6PDG мкмоль НАДФ. Н/г/мин</i>							
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоН/n	MinH	MaxH	Amin
0.13	0.94	0.00	24.00	0.13	1.42	2.50	0.13
<i>G6PDG мкмоль НАДФ. Н/мг/мин</i>							
24 ч	Средние	2,153	-2,948	15,059	3,650	-3,591	0,000
	Эллипс	Sx	Sy	r	a	b	Teta
P = 95 %		1,256	1,157	-0,735	5,969	2,322	-41,795

Параметры эллипса ошибок средней синусоиды активности G6PDG мкмоль НАДФ. Н /мг/мин							
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоН/n	MinH	MaxH	
0,64	8,84	13,71	23,2	0,61	12,85	17,92	
6PGDG мкмоль НАДФ. Н /г/мин							
24 ч	Средние	0,219	-0,269	1,754	0,347	-3,386	0,000
	Эллипс	Sx	Sy	r	a	b	Teta
P = 95 %		0,227	0,181	-0,622	0,988	0,457	-34,777
Параметры эллипса ошибок средней синусоиды активности 6PGDG мкмоль НАДФ. Н /г/мин							
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоН/n	MinH	MaxH	Amin
0,19	1,25	0	24	0,1	1,42	2,07	0,19
6PGDG мкмоль НАДФ. Н /мг/мин							
24 ч	Средние	2,008	-1,545	14,318	2,533	-2,504	0,000
	Эллипс	Sx	Sy	r	a	b	Teta
P = 95 %		0,789	1,054	-0,356	4,193	2,607	115,256
Параметры эллипса ошибок средней синусоиды активности 6PGDG мкмоль НАДФ. Н /мг/мин							
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоН/n	MinH	MaxH	Amin
0.46	6.27	0.00	24.00	0.54	11.50	15.39	0.46

В печени кроликов достоверный 24-часовой суточный ритм выявлен только для удельной активности G6PD. Его параметры: минимум **13,71**; максимум - **23,2 часа**, мезор – **15,05** мкмоль НАДФ. Н /мг/мин, амплитуда -3,65 мкмоль НАДФ. Н /мг/мин.

То обстоятельство, что результаты ANOVA, множественных апостериорных сравнений и косинор-анализа (табл. 1-2) не вполне согласуются, может отражать как разные хронотипы беспородных животных, так и наличие у дегидрогеназ печени экспериментальных животных ритмов, отличных от 24-часовых.

Как было показано нами ранее, разные хронотипы беспородных животных крыс определяют разные суточные профили активности ферментов в тканях их органов [7].

Результаты графических анализов расчетных 24-часовых синусоид удельной активности дегидрогеназ печени мышей и кроликов отражены на рис. 2 и 3.

Представленные на рис. 3 синусоиды активности ферментов отражают разное положение мини- и акрофаз, разное значение мезоров, разные амплитуды. Тем не менее, в пучке синусоид активности G6PD мы видим более выраженную согласованность фаз на протяжении суток, чем в случае 6PGD и, как следствие, достоверный суточный ритм активности фермента.

Параметры средней синусоиды удельной активности G6PDG отвечают 24-часовому ритму (рис. 2). Мы видим минимум активности фермента в 3-5 часов утра и максимум – в 15-17 часов.

Пучок синусоид хронограмм удельной активности G6PD и 6PGD печени кроликов представлен на рис. 3. Синусоиды активности ферментов также отражают разное положение мини - и акрофаз, разное значение мезоров, разные амплитуды. Тем не менее, в пучке синусоид активности G6PD согласованность фаз на протяжении суток более выражена, чем у 6PGD и, как следствие, параметры средней синусоиды характеризуют достоверный 24-часовой суточный ритм активности фермента; минимум активности фермента соответствует 9-11 часам утра, а максимум – 22-24 часам.

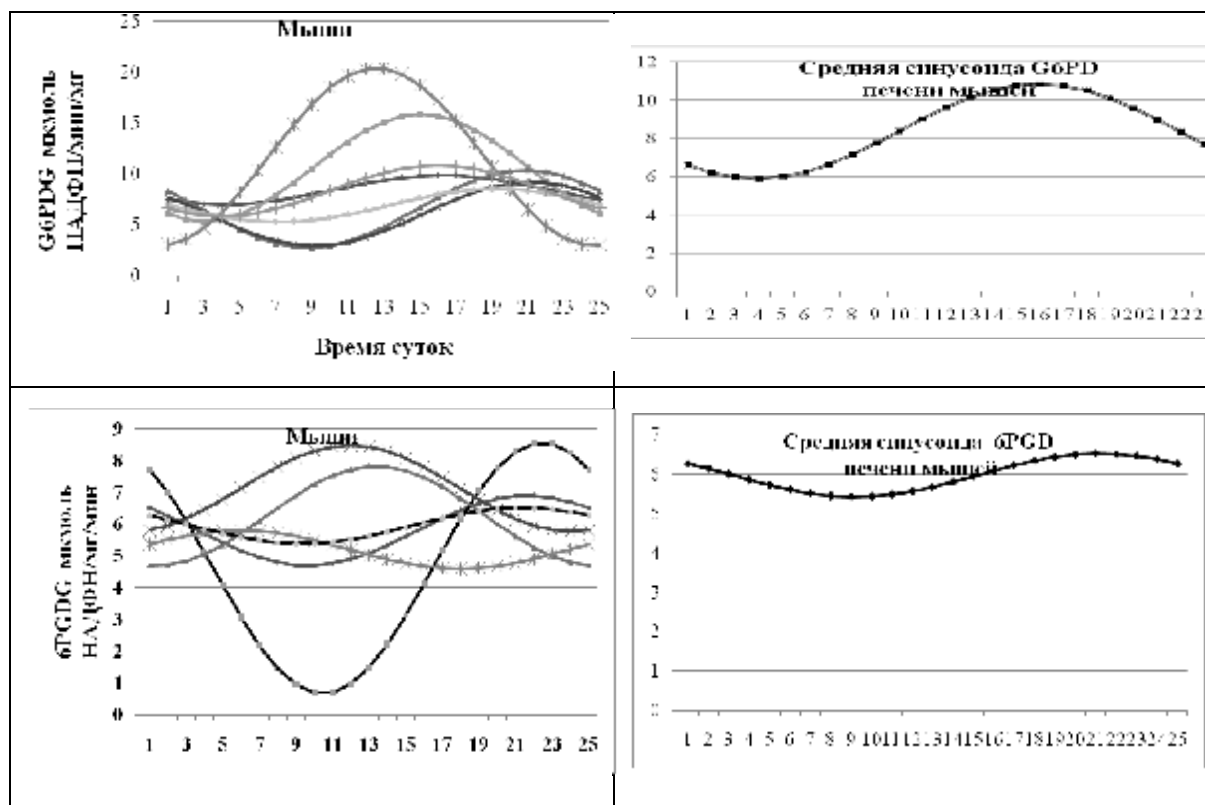


Рис. 2 – Пучок расчетных синусоид хронограмм удельной активности дегидрогеназ ПФП в печени мышей

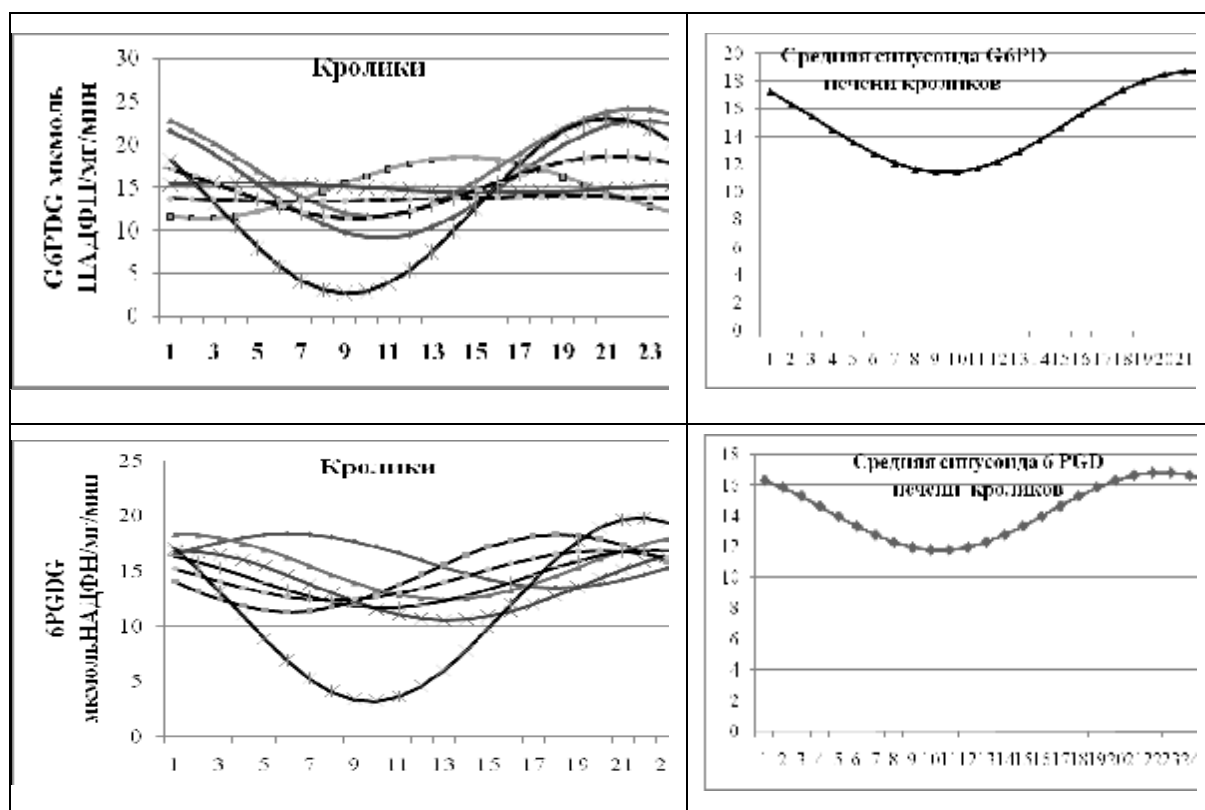


Рис. 3 – Пучок расчетных синусоид хронограмм удельной активности дегидрогеназ ПФП в печени кроликов.

Таким образом, результаты макро- и микроанализа состояния активности дегидрогеназ ПФП в печени мышей и кроликов свидетельствуют о присущих как G6PD, так и 6PGD суточным и околосоуточным ритмам. Параметры средних синусоид активности ферментов в печени мышей и кроликов свидетельствуют о близости показателей их мезоров, но разном положении акрофаз. У дневных животных – кроликов она соответствует практически полночи, у ночных животных – мышей – середине дня, минифаза активности ферментов у ночных животных также опережает таковую у дневных животных практически на 12 часов.

Обращает внимание более выраженная вариабельность расчетных синусоид состояния активности 6PGD как в печени мышей, так и кроликов (рис. 2 и 3). Вероятно, этот факт отражает разные регуляторные свойства G6PDG и 6PGD [8,9].

В пользу предположения о наличии у дегидрогеназ ПФП ритмов с 12–часовым периодом свидетельствуют данные о содержании в микросомах печени крыс линии Вистар цитохрома P-450 и активности НАДФН цитохром с редуктазы с пиками в 10 и 22 часа [1]. Отбор проб в эксперименте авторов осуществлялся через каждые 4 часа, крысы-самцы содержались в условиях искусственного освещения, 12:12-часовой цикл свет-темнота, доступ к корму не ограничивался.

Принимая во внимание ключевую роль структуры суточных ритмов в современной хронобиологии, хронотоксикологии и хронофармакологии [3], полученные нами данные об инвертированности суточных ритмов активности дегидрогеназ в печени и животных определяют актуальность дальнейшего исследования организации биоритмов метаболических систем в других органах и тканях животных с разной активностью в течение суток.

### ВЫВОДЫ

1. Активность G6PD и 6PGD печени нелинейных белых мышей и белых калифорнийский кроликов зависит от времени суток.
2. Максимум активности G6PDG в печени мышей соответствует 15-16 часам, в печени кроликов – 23-24 часам, минимум активности фермента в печени мышей соответствует 3-4 часам утра и 11-12 часам в печени кроликов, т.е. рассогласованность фаз активности фермента составляет около 8 часов.
3. Суточная активность 6PGD в печени мышей и кроликов более вариабельна, чем G6PD.
4. Беспородные белые мыши и белые калифорнийские кролики имеют разные хронотипы.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Wielgus-Serafińska E. Circadian variation of mitochondrial succinic dehydrogenase and microsomal cytochrome P-450 dependent monooxygenase activity in the liver of sexually immature and mature rats / E. Wielgus-Serafińska, A. Plewka, M. Kamiński // *J. Physiol. Pharmacol.* – 1993. – V.44, №1. – P. 55-63.
2. Калинина Е. В. Участие тио-, перокси- и глутаредоксинов в клеточных редокс-зависимых процессах / Калинина Е. В., Чернов Н. Н., Саприн А. Н. // *Успехи биологической химии.* – 2008. – Т. 48. – С. 319-331
3. Singh Rupali Review on Chronotherapeutics - A New Remedy in the Treatment of Various Diseases / Singh Rupali, Kumar Sharma Pramod and Malviy Rishabha // *European Journal of Biological Sciences.* – 2010. – V. 2, 3. – P. 67-76.



4. Рузак Б. Ритмы поведения позвоночных / Б. Рузак // Биологические ритмы [под ред. Ю. Ашоффа]. – Т.1. – С.200-228.
5. Cugini P. Chronobiology: Principles and Methods / P. Cugini // Annali Istituto Superiore di Sanità – 1993. – V. 29. – P. 483-500.
6. Колесник (Майданова) Н.В. Активность ключевых ферментов пентозофосфатного пути обмена углеводов в печени в условиях нормы и напряжения организма (Экспериментальное исследование): Дис. доктора биол. наук: 03.00.04 / Колесник (Майданова) Надежда Васильевна – Тюмень, 1980 – 309 с.
7. Омелянчик Л.А. Суточный ритм активности глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы и 6-фосфоглюконат дегидрогеназы в печени крыс / Омелянчик Л.А, Колесник Н.В., Бражко Е.А. // Актуальні питання біології, екології та хімії. Електронне наукове фахове видання // 2011. – Т.3, №1. – С.37-43.
8. Eckel-Mahan K. Metabolism and the Circadian Clock Converge / Kristin Eckel-Mahan, Paolo Sassone-Corsi // Physiol Rev. – 2013. – V. 93, № 1 – P. 107-135
9. Froy O. Metabolism and Circadian Rhythms—Implications for Obesity / O. Froy // Endocrine Reviews. – 2010. – V. 31, № 1. – P. 1-24.
10. In vitro effects of rosmarinic acid on glutathione reductase and glucose 6-phosphate dehydrogenase / [Tandogan B., Kuruüzüm-Uz A., Sengezer C. et al.] // Pharm Biol. – 2011. – V.49, №6. – P.587-594.

УДК [612.13 : 616.147.3] : 796.4 – 055.1

## ПОСТУРАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ И КРОВОТОКА ГОЛЕНИ У СПОРТСМЕНОВ-ЛЕГКОАТЛЕТОВ

Параева Е.Н., аспирант

*Запорожский национальный университет*

Работа посвящена изучению взаимоотношений между показателями центрального кровообращения и кровотока нижних конечностей при различной направленности постральных изменений у спортсменов. Полученные данные позволяют оценить вклад объемных показателей центральной гемодинамики в оптимизацию кровообращения нижних конечностей (голеней) и экстраполировать данные по кровообращению нижних конечностей на оценку общей и специальной работоспособности. Показатели кровотока нижних конечностей могут быть положены в основу диагностики функциональных нарушений или патологий как у спортсменов, так и неспортсменов.

*Ключевые слова: центральная и периферическая гемодинамика, режимы регуляции кровообращения, постральные воздействия.*

Параєва К.М. ПОСТУРАЛЬНІ ЗМІНИ ЦЕНТРАЛЬНОЇ ГЕМОДИНАМІКИ І КРОВОТОКУ ГОМІЛКИ В СПОРТСМЕНІВ-ЛЕГКОАТЛЕТІВ / Запорізький національний університет, Україна.

Робота присвячена вивченню взаємовідносин між показниками центрального кровообігу і кровотоку нижніх кінцівок при різній спрямованості постральних змін у спортсменів. Отримані дані дозволяють оцінити внесок об'ємних показників центральної гемодинаміки в оптимізацію кровообігу нижніх кінцівок (гомілок) та екстраполювати дані кровообігу нижніх кінцівок на оцінку загальної та спеціальної працездатності. Показники кровотоку нижніх кінцівок можуть бути покладені в основу діагностики функціональних порушень або патологій як у спортсменів, так і неспортсменів.

*Ключові слова: центральна та периферична гемодинаміка, режими регуляції кровообігу, постральні впливи.*