

## REFERENCES

1. Zv'yazok fonovih ta reaktivnih znachen spektralnoyi potuzhnosti EEG lyudini pri vikonanni diyalnosti z riznim stupenem informatsiynoyi nasichenosti / Cherninskiy A.O., Krizhanovskiy S.A., Tukaev S.V. ta in. // Fizika zhivogo. – 2010.- №2. – S. 85-91.
2. Vzaemozv'yazok effektivnosti diyalnosti lyudini z EEG-harakteristikami yiyi vihidnogo stanu spokoyu. / I.G. Zima, S.A. Krizhanovskiy, S.V. Tukaev, A.O. Cherninskiy // Vcheni zapisi Tavriyskogo natsionalnogo universitetu im. V.I. Vernadskogo. Seriya «Biologiya, himiya». – 2009.- №1. – S. 50-58.
3. Ravich-Scherbo I. V. Psihogenetika. / Ravich-Scherbo I. V., Maryutina T.M., Grigorenko E.L. – M. : Aspekt-Press, 1999 – 447 s.

УДК 611.36:569.32.57.034.577.152.1

## ПАРАМЕТРЫ СУТОЧНЫХ РИТМОВ АКТИВНОСТИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ И БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ С РАЗНЫМИ ФАЗАМИ АКТИВНОСТИ

Омельянчик В.Н., Новосад Н.В., Колесник Н.В.

*Запорожский национальный университет  
69600, Украина, Запорожье, ул. Жуковского, 66*

kolesniknadvan@yandex.ru

В весенний период (май), в условиях естественного освещения и свободного доступа животных к корму активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БХЭ) в печени мышей и кроликов на протяжении суток изменяется периодически. Период ритмов – 24-часа, акрофаза биоритма АХЭ и БХЭ в печени мышей занимает вторую половину дня и первую половину ночи с максимумом в 23 часа, акрофаза биоритма в печени кроликов занимает вторую половину ночи и утро с максимумом в 10 часов. Как в печени мышей, так и кроликов среднесуточная активность БХЭ и амплитуда ее колебания более чем в 1,5 раза выше соответствующих параметров ритма активности АХЭ. Среднесуточная активность АХЭ и БХЭ в печени мышей в 2 раза выше, чем в печени кроликов, амплитуда колебания активности АХЭ в печени тех и других животных практически одинакова, но амплитуда биоритма БХЭ печени кроликов в 2 раза выше, чем у мышей.

*Ключевые слова: белые кролики, белые мыши, печень, суточный ритм, ацетилхолинэстераза, бутирилхолинэстераза.*

## ПАРАМЕТРИ ДОБОВИХ РИТМІВ АКТИВНОСТІ АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ ТА БУТИРИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ В ПЕЧІНЦІ ТВАРИН З РІЗНИМИ ФАЗАМИ АКТИВНОСТІ

Омельянчик В.Н., Новосад Н.В., Колісник Н.В.

*Запорізький національний університет  
69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66*

kolesniknadvan@yandex.ru

У весняний період (травень), в умовах природного освітлення та вільного доступу тварин до корму активність ацетилхолінестерази (АХЕ) і бутирилхолінестерази (БХЕ) в печінці мишей і кроликів протягом доби змінюється періодично. Період ритмів – 24 години, акрофаза біоритму АХЕ і БХЕ в печінці мишей займає другу половину дня і першу половину ночі з максимумом у 23 години, акрофаза біоритму в печінці кроликів займає другу половину ночі і ранок з максимумом в 10 годин. У печінці мишей і кроликів середньодобова активність БХЕ і амплітуда її коливання більш ніж в 1,5 рази вище відповідних параметрів ритму активності АХЕ. Середньодобова активність АХЕ і БХЕ в печінці мишей у 2 рази вище, ніж у печінці кроликів, амплітуда коливання активності АХЕ в печінці тих і інших тварин практично однакова, але амплітуда біоритму БХЕ печінки кроликів у 2 рази вища, ніж у мишей.

*Ключові слова: кролики, білі миші, печінка, добовий ритм, ацетилхолінестераза, бутирилхолінестераза.*

**CHARACTERISTICS CIRCADIAN RHYTHM OF BUTYRYLCHOLINESTERASE  
AND ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN THE LIVER OF ANIMALS  
WITH DIFFERENT PHASES ACTIVITY**

Omelyanchik V.N., Novosad N.V., Kolesnik N.V.

*Zaporizhzhya National University*

69600, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovsky str., 66

kolesniknadvas@yandex.ru

Objective: definition of the circadian organization of activity of soluble AChE and BChE in a liver of night animals (mouse) and twilight (rabbits) whom supported in conditions of natural lighting of May and a free access to water and food.

Studies conducted on albino male mice weighing 18-20 g, and California white male rabbits weighing 2.5-3.0 kg. Animals were kept under standard conditions of the vivarium on a standard diet, access to food and water is not limited. Throughout the day, every 6 hours under light chloroform anesthesia bled 6-7 animals destroyed by opening the jugular vein. Liver is washed in situ with a cold solution of 0.15 M KCl; excess wash solution was removed with filter paper. Weighed portion of tissue (200 mg) was homogenized in a glass homogenizer with a teflon pestle 30 s at 1000 rev / min to a cooled solution of 0.15 M KCl in relation 1:9. After 60 minutes extraction at 4 ° C homogenates was centrifuged for 20 minutes at 6000 g. Enzyme activity was determined in the supernatant by Hestrin, and expressed as mmol of substrate per minute loss per 1 g of tissue. Macroanalysis streak pictures AChE and BChE activity showed a marked effect on the time of day activity as AChE and BChE in the liver of mice and rabbits, and the same direction changes in the activity of AChE and BChE.

Microanalysis (cosinor analysis) array experimental streak pictures revealed that AChE activity in the liver of mice described biorhythm 24 hour period. Parameters average sinusoid 24 hour biorhythm AChE liver of mice were: mezor – 11.6 mmol / min / g, amplitude – 1.57; acrophase position – 12.0 - 23.01 hours. Circadian rhythm with a 24 hour period was typical for BChE activity. Options biorhythm BChE in mouse liver: mezor – 19.7 mmol / instant / g, amplitude – 2.8, acrophase position – 12.67 - 22.58 hours. Thus, fluctuations in the activity of AChE and BChE in mouse liver during the day were nearly synchronous, high cholinesterase activity corresponded to 23 hours; average BChE activity and the amplitude of its oscillations were more than 1.5 times higher than the corresponding parameters of AChE activity biorhythm.

In a liver of rabbits activity of AChE and BChE for days changes periodically, period length – 24 hours. Parameters of a biorhythm of AChE of a liver of rabbits: the mezor of -5,9 mmol/min., amplitude – 2,29, a locating акрофазы corresponds to 2.66 – 10.04 hours. Parameters of a biorhythm of activity of BChE: mezor of 11 mmol/min., amplitude – 6,3, a locating акрофазы 2,6 – 8,86 hours. Thus, activity of both cholinesterases in a liver of rabbits for days changes almost synchronously; the maximum of activity of enzymes corresponds to 9-10 o'clock in the morning; thus, average daily activity of BChE, as well as amplitude of fluctuation is twice higher than activity of AChE.

When comparing parameters of biorhythms of activity of cholinesterases in a liver of mice and rabbits it is obviously possible to note the following. Average daily activity of AChE and BChE in a liver of mice is twice higher, than in a liver of rabbits. Thus amplitude of fluctuation of activity of AChE in a liver of those and other animals are almost identical, but at BChE of rabbits it is twice higher, than at mice. The provision of a minimum of activity of enzymes in a liver of mice corresponds to a maximum of activity of enzymes in a liver of rabbits and vice versa.

Thus, for days as in a liver of mice, and rabbits of activity of AChE and BChE change in parallel and unidirectionally. Fluctuations of activity of enzymes 24 sentries are described by a daily rhythm. The maximum of activity of AChE and BChE in a liver of mice corresponds to 23 hours, and in a liver of rabbits to 10 hours. In a liver of mice average daily activity of BChE and amplitude of its fluctuation is more than 1,5 times higher than the corresponding parameters of a biorhythm at activity of AChE. In a liver of rabbits activity of BChE and amplitude of fluctuation is twice higher than the AChE corresponding parameters.

The results of research of activity of cholinesterases received by us in a liver of rabbits and mice will be compounded with ideas of a defining role of an active phase of animals in the circadian organization of components of cholinergic system. Represents theoretical and practical interest comparative research of activity of enzymes in other vital tissues of animals with different phases of activity.

*Key words: white rabbits, white mice, liver, circadian rhythm, acetylcholinesterase activity and butyrylcholinesterase.*

## ВВЕДЕНИЕ

Исследования последних лет определили присутствие ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БХЭ) в холинэргических и нехолинэргических тканях и проявление обеими ферментами как классических, так неклассических функций [1,2]. Классическая функция АХЭ – обеспечение передачи нервного импульса путем гидролиза ацетилхолина (АХ) на постсинаптической мембране холинэргических тканей; а БХЭ выполняет роль молекулярного экрана, защищающего АХЭ от действия ингибиторов [1]. Неклассические функции АХЭ и БХЭ – ускорение дифференцировки клеток всех типов тканей регуляция миграции клеток, контроль роста опухолей и контроль апоптоза [2]. Механизмы реализации неклассических функций ферментов неизвестны.

АХЭ – часть холинергической системы. Многочисленные данные литературы свидетельствуют о разнообразии структуры циркадных (суточных) колебаний компонентов холинэргической системы в тканях различных видов животных. Триггером циркадной организации холинергической системы является активная фаза животных [3]. Во время активной фазы повышена активность фермента синтеза АХ – холинацетилтрансферазы и снижена активность фермента гидролиза медиатора – АХЭ. Ранее мы охарактеризовали параметры суточного ритма холинэстераз в печени крыс [4]. Данные литературы о суточной организации активности БХЭ в нехолинэргических тканях животных с разной активной фазой мы не встретили.

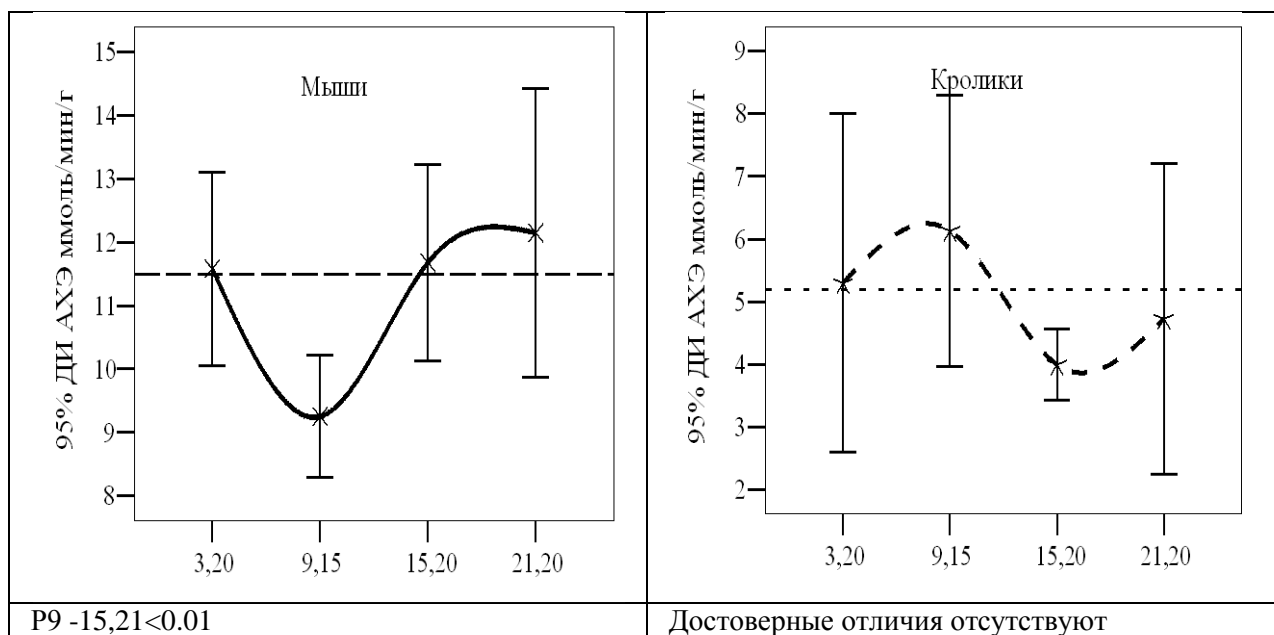
Цель исследования – определение циркадной организации активности растворимых АХЭ и БХЭ в печени ночных животных (мыши) и сумеречных (кролики), которых содержали в условиях естественного освещения мая и свободного доступа к воде и пище.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены в мае на белых беспородных мышках-самцах весом 18-20 г, и белых калифорнийских кроликах весом 2,5-3,0 кг, содержащихся в обычных условиях вивария, без ограничения доступа к корму и воде. Через каждые 6 часов под легким хлороформным наркозом 6-7 животных обескровливали путем вскрытия яремной вены. Все процедуры отбора проб, приготовление гомогената ткани, определение и расчет активности ферментов, статистический и хронометрический анализ данных проводили, как описано ранее [4].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 отражены результаты макроанализа показателей активности АХЭ и БХЭ в печени мышей и кроликов на протяжении суток.



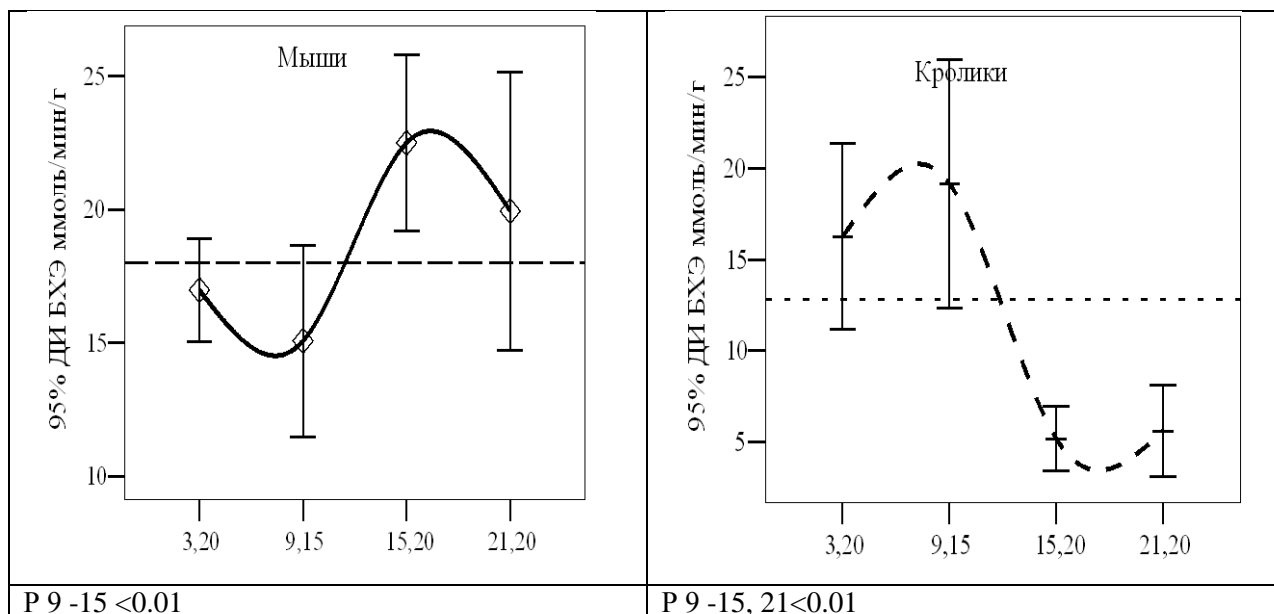


Рис. 1 Суточный профиль активности АХЭ и БХЭ в расчете на 1г ткани и 1 мг белка в печени мышей и кроликов.

Представленные на рис. 1 данные отражают выраженное влияние времени суток на активность обеих холинэстераз в печени как мышей, так и кроликов. Сравнение профиля суточной активности АХЭ и БХЭ в печени мышей и кроликов позволяет заключить, что в печени обеих групп экспериментальных животных АХЭ и БХЭ на протяжении суток изменяется практически синхронно. Акрофазы биоритма активности холинэстераз в печени мышей инвертированы к таковым в печени кроликов.

Результаты микроанализа экспериментальных данных (косинор-анализ) отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели косинор-анализа активности АХЭ и БХЭ в печени мышей и кроликов.

Период	Имя	x	y	H	A	Phi
<i>Параметры средней синусоиды АХЭ ммоль/мин/г в печени мышей</i>						
24 ч	Средние	0,401	-0,406	11,629	1,57	23.11
<i>Параметры эллипса ошибок АХЭ ммоль/мин/г в печени мышей</i>						
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоH/n	MinH	MaxH
0.97	2.99	12.0	23.01	0.48	10.46	14.19
<i>Параметры средней синусоиды БХЭ ммоль/мин/г в печени мышей</i>						
24 ч	Средние	-1,589	-2,276	19,730	2,776	15,672
<i>Параметры эллипса ошибок БХЭ ммоль/мин/г в печени мышей</i>						
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоH/n	MinH	MaxH
0.97	8.86	12.67	22.58	0.72	17.16	22.39
<i>Параметры средней синусоиды АХЭ ммоль/мин/г в печени кроликов</i>						
24 ч	Средние	0,257	2,277	5,868	2,291	5,571
<i>Параметры эллипса ошибок АХЭ ммоль/мин/г в печени кроликов</i>						
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоH/n	MinH	MaxH
1,17	4.32	2.66	10.04	0.28	4.83	6.44
<i>Параметры средней синусоиды БХЭ ммоль/мин/г в печени кроликов</i>						
24 ч	Средние	0,561	6,234	10,968	6,259	5,657
<i>Параметры эллипса ошибок БХЭ ммоль/мин/г в печени кроликов</i>						
Amin	Amax	PhiMin	PhiMax	СкоH/n	MinH	MaxH
2.48	10.06	2.60	8.86	1.13	6.65	13.48

В соответствии с результатами косинор-анализа массива экспериментальных хронограмм активности АХЭ в печени мышей ей присущ биоритм с 24-часовым периодом. Параметры средней синусоиды 24-часового биоритма АХЭ печени мышей: мезор – 11,6 ммоль/мин/г, амплитуда – 1,57; положение акрофазы – 12,0 – 23,01 часа. Суточный ритм с 24-часовым периодом характерен и для активности БХЭ: мезор – 19,7 ммоль/мин/г, амплитуда – 2,8, положение акрофазы – 12,67 – 22,58 часа. Следовательно, суточные колебания активности АХЭ и БХЭ в печени мышей практически синхронны, *максимум активности ферментов наблюдается около 23 часов вечера; среднесуточная активность БХЭ и амплитуда ее колебания более чем в 1,5 раза выше соответствующих параметров биоритма у активности АХЭ.*

В печени кроликов (табл. 2) активность АХЭ и БХЭ на протяжении суток изменяется периодически, длина периода – 24-часа. Параметры биоритма АХЭ печени кроликов: мезор – 5,9 ммоль/мин/г, амплитуда – 2,29, положение акрофазы – 2,66 – 10,04 часа. Параметры биоритма активности БХЭ: мезор 11 ммоль/мин/г, амплитуда – 6,3, положение акрофазы 2,6 – 8,86 часа. Таким образом, активность обеих холинэстераз в печени кроликов на протяжении суток изменяется практически синхронно; максимум активности ферментов гидролиза ацетилхолина и бутирилхолина выявляется в 9-10 часов утра; при этом среднесуточная активность БХЭ, как и амплитуда колебания в 2 раза выше активности АХЭ.

При сравнении параметров биоритмов активности холинэстераз в печени мышей и кроликов представляется возможным отметить следующее. Среднесуточная активность АХЭ и БХЭ в печени мышей в 2 раза выше, чем в печени кроликов. При этом амплитуды колебания активности АХЭ в печени тех и других животных практически одинаковы, но у БХЭ кроликов она в 2 раза выше, чем у мышей. Положение минимума активности ферментов в печени мышей (рис.1) соответствует максимуму активности ферментов в печени кроликов и наоборот, т.е. на протяжении суток ритмы активности холинэстераз в печени мышей и кроликов инвертированы.

Параметры суточного ритма холинэстераз в печени белых мышей практически соответствуют таким в печени белых крыс [4]. Определение суточной активности обеих холинэстераз в печени крыс мы проводили в зимний период. Тот факт, что положение акрофаз ферментов в печени мышей и крыс в зимний и весенний сезоны соответствует периоду времени суток с 12 до 24-часов свидетельствует о том, что триггером ритма холинэстераз является активная фаза животных.

Полученные нами характеристики параметров суточных ритмов активности холинэстераз в печени мышей и кроликов согласуются с представлениями об определяющей роли активной фазы животных в циркадной организации компонентов холинэргической системы [3]. Представляет теоретический и практический интерес сравнительное исследование циркадных ритмов активности ферментов в других периферических тканях животных с разными фазами активности.

## ВЫВОДЫ

1. На протяжении суток как в печени мышей, так и кроликов активности АХЭ и БХЭ изменяются периодически, параллельно и однонаправлено.
2. Период суточного ритма активности АХЭ и БХЭ в печени мышей и кроликов равняется 24 часам. Акрофаза ритма АХЭ и БХЭ в печени мышей охватывает вторую половину дня и первую половину ночи с максимумом в 23 часа. Акрофаза ритма АХЭ и БХЭ в печени кроликов охватывает вторую половину ночи и утро с максимумом в 10 часов.
3. В печени мышей мезор БХЭ и амплитуда колебания более чем в 1,5 раза выше соответствующих параметров биоритма активности АХЭ. В печени кроликов мезор БХЭ и амплитуда колебания в 2 раза выше соответствующих параметров АХЭ.

4. Среднесуточная активность АХЭ и БХЭ в печени мышей в 2 раза выше, чем в печени кроликов. При этом амплитуда колебания активности АХЭ в печени тех и других животных практически одинаковы, но у БХЭ кроликов амплитуда колебания в 2 раза выше, чем у мышей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Soreq H. Acetylcholinesterase – new roles for an old actor / Hermona Soreq, Shlomo Seidman // Nature Reviews Neuroscience. – 2001. – Vol.2. – P. 294-302.
2. Nese Cokugras A. Butyrylcholinesterase: Structure and Physiological Importance / A. Nese Cokugras // Turk Biyokimya Dergisi. – 2003. – Vol. 28, № 2. – P. 54-61.
3. Hut R.A. The cholinergic system, circadian rhythmicity, and time memory / R.A. Hut, E.A. Van Der Zee // Behav Brain Res. – 2011. – Vol.221, №2. – P. 466-480.
4. Колесник Н.В. Суточная вариабельность активности растворимых холинэстераз в печени крыс / Н.В. Колесник, К.В. Новикова// Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. – 2012. – №1. – С. 99-110.
5. Панюков А.Н. О применении метода Хестрина для отдельного измерения активности холинэстераз / А.Н. Панюков // Вопросы медицинской химии. – 1966. – Т.12, Вып. 1. – С. 88-95.

#### REFERENCES

1. Soreq H. Acetylcholinesterase – new roles for an old actor / Hermona Soreq, Shlomo Seidman // Nature Reviews Neuroscience. – 2001. – Vol.2. – P. 294-302.
2. Nese Cokugras A. Butyrylcholinesterase: Structure and Physiological Importance / A. Nese Cokugras // Turk Biyokimya Dergisi. – 2003. – Vol. 28, № 2. – P. 54-61.
3. Hut R.A. The cholinergic system, circadian rhythmicity, and time memory / R.A.Hut, E.A. Van Der Zee // Behav Brain Res. – 2011. – Vol.221, №2. – P. 466-480.
4. Kolesnik N.V. Sutochnaja variabel'nost' aktivnosti rastvorimyh holinjesteraz v pecheni krys / N.V. Kolesnik, K.V. Novikova// Visnik Zaporiz'kogo nacional'nogo universitetu. Biologichni nauki. – 2012. – №1. – S. 99-110.
5. Panjukov A.N. O primeneniі metoda Hestrina dlja razdel'nogo izmerenija aktivnosti holinjesteraz / A.N. Panjukov // Voprosy medicinskoj himii. – 1966. – T.12, Vyp. 1. – S. 88-95.

УДК [595.143.6:591.4]:615.811

### КЛЕТОЧНЫЕ И ТКАНЕВЫЕ РЕАКЦИИ *HIRUDO VERBANA* (CARENA, 1820) В ПОСТТРОФИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ

Фролов А. К., Литвиненко Р. А.

Запорожский национальный университет,  
69600, Украина, Запорожье, ул. Жуковского, 66

a\_frolov@ukr.net, r\_litvinenko@ukr.net

Анализовали морфофункциональные особенности тканей *Hirudo verbana* для выяснения возможных причин частичной их гибели после гирудотерапевтической процедуры. Для исследования взяты две группы пиявок: сытые (контроль) и погибшие. В кишечном эпителии погибших пиявок наблюдаются деструктивные процессы, сопровождающиеся уменьшением высоты эпителия, частичной его десквамацией. Ботриодная ткань сытых пиявок реагирует физиологическим усилением васкуляризации, активацией части ботриодных гранулоцитов на поступление продуктов пищеварения. Активация части ботриодных гранулоцитов, у погибших пиявок, с усилением инфильтрации прилегающей соединительной ткани лимфоцито-, макрофагоподобными клетками, амебоцитами и свободными гранулоцитами свидетельствует