

СУТОЧНАЯ ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ АДРЕНАЛИНА И НОРАДРЕНАЛИНА В КРОВИ У МОЛОДЫХ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРОЛИКОВ

Бондаренко Л. А., Горбач Т. В.¹, Козак В. А.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков;

¹Харьковский национальный медицинский университет

В настоящее время можно считать доказанным наличие суточного ритма, с максимумом утром и минимумом ночью, содержания адреналина (А) и норадреналина (НА) в крови и их экскреции с мочой у здоровых людей [1–3]. Данные изучения уровня катехоламинов (КА) у людей в дневное время неоднозначны и обнаруживают колебания, которые в значительной мере зависят от двигательной (физический труд, занятия спортом) и/или психоэмоциональной активности. Вместе с тем, в норме (исключая стрессовые ситуации) эти колебания, как правило, не выходят за рамки гормонального коридора, формируемого утренней акрофазой и ночной батифазой как для А, так и для НА.

Принимая во внимание значительную роль А и НА в регуляции функциональной активности различных органов и систем, белкового, жирового, углеводного и электролитного обменов [4], а также факт наличия выраженного суточного ритма для обоих КА у людей независимо от пола, назрела необходимость учитывать хронобиологические аспекты функционирования симпатoadrenalовой системы (САС) при проведении как клинических, так и экспериментальных исследований, особенно на доклиническом этапе изучения новых лекарственных средств. Вместе с тем, данные литературы относительно суточных ритмов А и НА

у экспериментальных животных ограничены и, в основном, касаются лабораторных крыс [5, 6]. Так, по данным С. С. Шаповаловой [7] у крыс наблюдается увеличение концентрации А в крови в 18 часов, а падение — в 6–9 часов. По данным В. П. Пишака с сотр. [8] у крыс пик повышения концентрации А и НА в крови приходится на дневное (14 ч), а не на утреннее (8 ч) время, как это имеет место у человека. Поэтому экстраполяция экспериментальных данных, полученных на крысах, на процессы, протекающие в организме человека, не совсем корректна, поскольку эти животные считаются «сумеречными» и у них суточный ритм катехоламинов существенно сдвинут во времени.

Достаточно часто в экспериментальных исследованиях используются кролики, ведущие «дневной» образ жизни, однако данные о суточных особенностях А и НА в крови у них крайне малочисленны. В исследовании, проведенном U. S. Euler еще в 1934 году [9], было установлено, что содержание А в надпочечниках и в крови у кроликов увеличивается дважды в течение суток, а именно в 4–10 часов утра и в 16–22 часа вечера. Впоследствии В. Е. Eleftheriou [10] при изучении особенностей суточных взаимоотношений между НА, циркулирующим в крови, и НА в различных структурах мозга у кроликов сделал заключение, что 2 часа ночи — это время, когда определяется наименьшая

активность НА, в то время как на рассвете (в 7 часов утра) обнаруживается повышение норадренергической активности. При этом параллельное содержание А не изучали.

Таким образом, несмотря на то, что определением катехоламинов, в том числе и у экспериментальных животных, в разных лабораториях мира занимались начи-

ная с 30-х годов XX столетия, составить четкую картину суточных изменений А и НА у кроликов еще и до настоящего времени не представляется возможным.

Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы явилось установление суточной динамики концентрации адреналина и норадреналина в крови у кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 14 молодых половозрелых кроликах-самцах, содержащихся в стандартных условиях вивария и обследованных в светлый фотопериод года (июнь-июль).

Кровь для гормональных исследований собирали из краевой вены уха в 2, 8, 14 и 20 часов. Концентрации А и НА в сыворотке крови определяли методом колоночной хроматографии на колонках с сильноокислой катионообменной смолой Dowex 500 w × 4, 200–400 mesh (натриевая форма) с последующим количественным флюориметрическим анализом. Количественные определения производили на спектрофлюориметре Hitachi-M (Япония) с использованием светофильтров с длиной волны 395 и 485 нм для НА, а также 380 и 505 нм для А.

В качестве дополнительного критерия

оценки состояния САС в разное время суток рассчитывали коэффициенты: K_I (А/НА), указывающий на преобладание гормонального либо медиаторного звена этой системы; K_{II} (НА/НА + А), отражающий интенсивность возможного превращения НА в А [11].

Статистическую обработку цифрового материала производили при помощи компьютерной программы «Statistika 5,0 for Windows» с использованием пакета прикладных программ фирмы Microsoft «EXEL 5,0». Проверка нормальности распределения данных в группах проведена при помощи метода Колмогорова-Смирнова. Для вычисления различия между группами использовали t-критерий Стьюдента. Данные представлены как $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показатели суточной динамики концентрации А и НА у молодых интактных кроликов репродуктивного возраста приведены в табл. 1.

Из табл. 1 следует, что у кроликов существует суточный ритм концентрации А и НА с максимумом утром (8 ч) и минимумом ночью (2 ч), аналогично тому, как это имеет место у человека. Дневные (14 ч) и вечерние (20 ч) уровни обоих катехоламинов в крови занимают промежуточное положение. При этом, если концентрация А постепенно снижается в течение дня ($P_{III-IV} < 0,001$), то уровень НА в дневное и вечернее время остается практически одинаковым ($P > 0,05$).

Если концентрацию А в крови утром (акрофаза) условно принять за 100%, то

днем она составляет 42%, вечером — 26,9%, а ночью — лишь 18,9% (батифаза). Для НА эти изменения оказываются однонаправленными, но не так ярко выраженными: по сравнению с утренними значениями днем уровень НА составляет 69,6%, вечером — 69,7%, а ночью — 51,0%. Изменения коэффициентов K_I (А/НА) и K_{II} (НА/НА + А) у интактных кроликов в течение суток представлены в табл. 2.

Обнаружено, что утром отмечается резкое увеличение K_I ($P < 0,001$). Эти результаты указывают на то, что, несмотря на утренние пики как А, так и НА, зарегистрированные нами у подопытных кроликов в 8 часов, в это время суток преобладает гормональное звено САС по сравнению

с медиаторным. Днем K_I значительно уменьшается по сравнению с утренним периодом ($P < 0,001$), но все еще остается существенно выше ночного ($P < 0,001$). И, наконец, в вечернее время соотношение А/НА падает до низких (ночных) значений, что свидетельствует, с нашей точки зрения, о преобладании медиаторного звена САС в темное время суток. С нашей точки зрения, физиологическая целесообразность зарегистрированных нами изменений соотношения между А и НА заключается в том, что с наступлением темноты в норме усиление норадренергической регуляции способствует ночному повышению мелатонинобразующей функции пинеальной железы и, соответственно, формированию ночного пика мелатонина [12–14].

Анализ суточных изменений коэффициента K_{II} , отражающего интенсивность возможного превращения НА в А, показал, что наименьшие значения этого показателя обнаруживаются утром. Этот факт вполне согласуется с предыдущими данными, указывающими на то, что в утренние часы, после ночного отдыха, мозговой слой надпочечников синтезирует и секретирует в кровь наибольшие количества А, необходимого для стимуляции многих физиологических функций и метаболических процессов. Днем показатель K_{II} заметно увеличивается по сравнению с утренними значениями ($P < 0,001$), а вечером достигает высокого (ночного) уровня.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что для кроликов характерно

Т а б л и ц а 1
Концентрации адреналина и норадреналина в крови у молодых половозрелых кроликов в разное время суток ($n = 14$)

Время взятия крови, часы	Адреналин, нмоль/л	Норадреналин, нмоль/л
I. 2 ⁰⁰	0,45 ± 0,02	4,06 ± 0,17
II. 8 ⁰⁰	2,38 ± 0,11 $P_{I-II} < 0,001$	7,96 ± 0,19 $P_{I-II} < 0,001$
III. 14 ⁰⁰	1,00 ± 0,06 $P_{I-III} < 0,001$ $P_{II-III} < 0,001$	5,54 ± 0,24 $P_{I-III} < 0,01$ $P_{II-III} < 0,001$
IV. 20 ⁰⁰	0,64 ± 0,03 $P_{I-IV} < 0,01$ $P_{II-IV} < 0,001$ $P_{III-IV} < 0,001$	5,55 ± 0,18 $P_{I-IV} < 0,001$ $P_{II-IV} < 0,001$ $P_{III-IV} > 0,05$

Т а б л и ц а 2
Коэффициенты K_I и K_{II} у молодых половозрелых кроликов в разное время суток ($n = 14$)

Время взятия крови, часы	Коэффициенты	
	K_I	K_{II}
I. 2 ⁰⁰	0,11 ± 0,01	0,90 ± 0,01
II. 8 ⁰⁰	0,30 ± 0,02 $P_{I-II} < 0,001$	0,77 ± 0,01 $P_{I-II} < 0,001$
III. 14 ⁰⁰	0,19 ± 0,01 $P_{I-III} < 0,001$ $P_{II-III} < 0,001$	0,84 ± 0,01 $P_{I-III} < 0,001$ $P_{II-III} < 0,001$
IV. 20 ⁰⁰	0,12 ± 0,01 $P_{I-IV} > 0,05$ $P_{II-IV} < 0,001$ $P_{III-IV} < 0,001$	0,90 ± 0,01 $P_{II-IV} < 0,001$ $P_{III-IV} < 0,001$

наличие суточной динамики концентрации в крови А и НА аналогичного имеющему место у человека. Именно поэтому при проведении хронобиологических и других экспериментов, предполагающих участие САС, с последующей экстраполяцией полученных данных на проблемы клинической физиологии и патофизиологии, наиболее предпочти-

тельным видом животных следует считать кролика.

Результаты проведенного исследования расширяют имеющиеся представления о хроноритмах САС у кроликов — одного из видов лабораторных животных, широко используемых в экспериментальной физиологии, патофизиологии и эндокринологии.

ВЫВОДЫ

1. У молодых половозрелых кроликов-самцов существует суточный ритм содержания в крови адреналина и норадреналина с максимумом утром и минимумом ночью; дневные и вечерние показатели занимают промежуточное положение.
2. В светлое время суток (утро, день) у кроликов преобладает гормональное звено симпато-адреналовой системы, а в темное время суток (вечер, ночь) — медиаторное.
3. Суточные ритмы уровня катехоламинов в крови у кроликов, в отличие от крыс, аналогичны имеющим место у человека.
4. Кролики являются наиболее предпочтительным видом лабораторных животных при проведении доклинических исследований лекарственных средств, предполагающих участие симпато-адреналовой системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Reinberg A. Rythmes circadiens du pouls, de la pression artérielle, des excrétiions urinaires en 17-hydroxycorticosteroides, catecholamines et potassium chez l'homme adulte sain, actif et au repos [Text] / A. Reinberg, J. Chata, F. Halberg [et al.] // Ann. endocrinol. — 1970. — Vol. 31. — № 2. — P. 277–287.
2. Матлина, Э. А. О суточных ритмах активности симпато-адреналовой системы у здорового человека [Текст] / Э. А. Матлина, В. Н. Васильев, С. Д. Галимов // Физиология человека. — 1976. — № 2. — С. 970–985.
3. Linsell, C. R. Circadian rhythms of epinephrine and norepinephrine in man [Text] / C. R. Linsell, S. L. Lightman, P. E. Mullen, M. J. Brown, R. C. Causon // J. Clin. Endocrinol. and Metab. — 1985. — Vol. 60. — № 6. — P. 1210–1215.
4. Андреев, С. В. Роль катехоламинов в здоровом и больном организме [Текст] / С. В. Андреев, И. Д. Кобкова. — М.: Медицина, 1970. — 295 с.
5. Гуралюк, В. М. Добові ритми концентрації адреналіну у плазмі крові білих щурів при дії іммобілізаційного стресу [Текст] / Гуралюк В. М. // Фізіол. Журнал. — 2006. — Т. 52. — № 2. — С. 121–122.
6. Комаров, Ф. И. Суточный ритм функциональной активности симпатико-адреналовой системы в норме и при патологии [Текст] / Ф. И. Комаров, В. А. Яковлев, С. Б. Шустов // Терапевт. арх. — 1989. — Т. 61, № 9. — С. 101–105.
7. Шаповалова, С. С. Суточные изменения концентрации катехоламинов при адаптации к условиям высокогорья [Текст] / С. С. Шаповалова // Циркадные ритмы человека и животных. — Фрунзе, 1975. — С. 166–168.
8. Пішак, В. П. Циркадні ритми секреції катехоламінів та кортикостерону в інтактних тварин [Текст] / В. П. Пішак, Р. Є. Булик, В. Г. Висоцька [та ін.] // Шишкоподібна залоза і хроноритми функції нирок. — Чернівці, 2008. — С. 303–306.
9. Euler, U. S. Jagesrhythmik der Adrenalin-Sekretion und des Kohlenhydrat-stoffwechsels beim Kaninchen und Igel [Text] / U. S. Euler, A. G. Holmquist // Pfluger's Arch. ges. Physiol. — 1934. — № 234. — P. 210–224.
10. Eleftheriou B. E. Circadian ryth in blood and brain biogenic amines and other biochemical changes in rabbits [Text] / B. E. Eleftheriou // Brain Res. — 1974. — Vol. 75, № 1. — P. 145–152.
11. Милку, Шт. М. Связь гормональных циркадных биоритмов с возрастом [Текст] / Шт. М. Милку, Г. И. Николау. — К.: Наук. Думка, 1982. — С. 227–246.
12. Balemans, M. G. M. Neural control of pineal indole metabolism [Text] / M. G. M. Balemans // Pineal Gland: Current State Pineal Res. Proc. 3rd Colloq.

- Eur. Pineal Study Group, Pecs, Aug. — 1985. — P. 125–136.
13. *Gonzalez-Brito, A.* β -adrenergic stimulation prior to darkness advance the nocturnal increase of Syrian hamster pineal melatonin synthesis [Text] / A. Gonzalez-Brito, R.I. Reiter, A. Menendez-Pelaez, I.M. Guerrero // Brain Res. — 1988. — Vol. 475. — P. 393–396.
14. *Sugden, D.* Melatonin biosynthesis in the mammalia pineal gland [Text] / D. Sugden // Experientia. — 1989. — Vol. 45, № 10. — P. 922–932.

ДОБОВА ДИНАМІКА КОНЦЕНТРАЦІЇ АДРЕНАЛІНУ ТА НОРАДРЕНАЛІНУ В КРОВІ У МОЛОДИХ СТАТЕВОЗРІЛИХ КРОЛІВ

Бондаренко Л. О., Горбач Т. В.¹, Козак В. А.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків;
¹ Харківський національний медичний університет

У молодих статевозрілих кролів-самців, яких утримували в умовах природної зміни дня і ночі, виявлено добовий ритм концентрації адреналіну і норадреналіну в крові з максимумом уранці і мінімумом уночі; денні та вечірні показники займають проміжне положення. Встановлено, що у кролів в світлий час доби переважає гормональна ланка симпато-адреналової системи, а в темний — медіаторна. Показано, що у кролів, на відміну від лабораторних щурів, добові ритми катехоламінів аналогічні таким, що притаманні людині. У зв'язку з цим кролям слід надавати перевагу при проведенні експериментальних досліджень, що передбачають участь симпато-адреналової системи.

К л ю ч о в і с л о в а: кролі-самці, адреналін, норадреналін, симпато-адреналова система, добові ритми.

СУТОЧНА ДИНАМІКА КОНЦЕНТРАЦІЇ АДРЕНАЛІНА І НОРАДРЕНАЛІНА В КРОВІ У МОЛОДИХ ПОЛОВОЗРЕЛИХ КРОЛИКІВ

Бондаренко Л. А., Горбач Т. В.¹, Козак В. А.

ГУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,
г. Харків;

¹ Харківський національний медичний університет

У молодих половозрелих кроликів-самців, що утримувалися в умовах естественной зміни дня і ночі, виявлен суточний ритм концентрації адреналіна і норадреналіна в крові з максимумом уранці і мінімумом уночі; денні та вечірні показники займають проміжне положення. Встановлено, що у кроликів в світлий час доби переважає гормональна ланка симпато-адреналової системи, а в темний — медіаторна. Показано, що у кроликів, на відміну від лабораторних щурів, суточні ритми катехоламінів аналогічні таким, що притаманні людині. У зв'язку з цим кролям слід надавати перевагу при проведенні експериментальних досліджень, що передбачають участь симпато-адреналової системи.

К л ю ч е в е с л о в а: кролики-самці, адреналін, норадреналін, симпато-адреналова система, суточні ритми.

**DAILY DYNAMICS IN THE CONCENTRATIONS OF EPINEPHRINE AND
NOREPINEPHRINE IN THE BLOOD OF SEXUALLY MATURE YOUNG RABBITS**

L. O. Bondarenko, V. T. Gorbach¹, V. A. Kozak

SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv;

¹Kharkiv National Medical University

Young adult male rabbits, which were kept under natural day-night, circadian rhythm identified epinephrine and norepinephrine levels in the morning, with a maximum and minimum at night, daytime and evening rates are intermediate. Found that rabbits in daylight is prevailing hormonal link symphatho-adrenal system, and in the dark is the mediator. It is shown that in rabbits, unlike laboratory rats, circadian rhythm of catecholamine similar to having a place in man. In connection with which rabbits is preferred in experimental studies that involve the symphatho-adrenal system.

К e y w o r d s: circadian rhythms, adrenaline, noradrenaline, the symphatho-adrenal system, male rabbits.