

УДК 612.112.9

doi: 10.17223/19988591/31/11

Е.С. Шилкина¹, Т.А. Замощина¹⁻²

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия

²Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Анализ ритмической организации функционального состояния печени интактных крыс с помощью различных модификаций программы «косинор-анализ»

Проведен сравнительный анализ результатов обработки первичных хронограмм некоторых показателей функционального состояния печени крыс с помощью трех модификаций «косинор-анализа». Исследования проведены в течение трех последовательных лет на половозрелых 288 крысах-самцах линии Вистар массой 250–350 г. Функциональное состояние печени крыс оценивали на второй неделе каждого месяца у 8 животных с 9 до 10 ч утра. В сыворотке крови определяли: активность аланин- и аспаратаминотрансфераз, уровень общих липидов и тимоловую пробу. Установлено, что не все программные продукты в одинаковой мере способны выявлять общие закономерности ритмической организации физиологических процессов в печени у интактных животных, проявляющиеся как доминирующими двенадцатимесячными гармониками, так и субдоминантными ритмами в годовой динамике изучаемых показателей. Вне зависимости от выбора программы значения уровня, амплитуд и акрофаз годовых или окологодных ритмов практически совпадали. Максимумы активности ферментов приходились на зимние месяцы, а максимумы содержания липидов и тимоловой пробы – на весенние. Проведенный анализ позволил заключить, что для биологических исследований, подобных нашим, наиболее оптимальными вариантами «косинор-анализа» являются программные продукты С.В. Нопина и соавт. и В.М. Ерошенко и соавт.

Ключевые слова: годовые ритмы; аланин- и аспаратаминотрансферазы; тимоловая проба; общие липиды крови; «косинор-анализ».

Введение

Биологические ритмы характерны для многих внутриклеточных процессов и физиологических функций. Для адаптации гомеостаза организма к окружающей среде требуется не однократная, а непрерывная перестройка интенсивности биосинтетических процессов. Постоянная сезонная изменчивость погодно-климатических условий приводит к сезонным адаптивным изменениям физиологических функций и предъявляет большие требования к системам поддержания гомеостаза [1–5]. При изучении ритмической ор-

организации физиологических процессов исследователь сталкивается с проблемой выбора инструментальных методов оценки временных рядов [6, 7]. Часто используемая для этих целей программа «косинор-анализ», впервые предложенная известным биоритмологом Ф. Халбергом [1, 8] и зарекомендовавшая себя как наиболее универсальная для биологических исследований [6], претерпела множество модификаций для облегчения работы с ней.

Цель исследования состояла в проведении сравнительного анализа результатов обработки первичных хронограмм некоторых показателей функционального состояния печени интактных животных с помощью трех доступных нам программных продуктов модифицированного «косинор-анализа» Ф. Халберга.

Материалы и методики исследования

Исследования проведены в течение трех последовательных лет на 288 интактных половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 250–350 г (к концу сезона единичные животные достигали массы 400 г), причем на каждый сезон каждого года использовалась отдельная популяция животных из питомника «Рассвет» (г. Томск). Экспериментальные животные находились в условиях вивария на стандартном рационе и режиме кормления; их содержание осуществлялось согласно соответствующим регламентам [9]. Исследования проводили в одно время суток (с 9 до 10 часов) после предварительной двухнедельной адаптации к условиям местного вивария [10–11]. Эксперименты не проводили в дни с резкими погодными колебаниями. Функциональное состояние печени крыс оценивали на второй неделе каждого месяца у 8 животных. В сыворотке крови определяли: активность аланин- (АлАТ) и аспартатаминотрансфераз (АсАТ), уровень общих липидов (ОЛ) и тимоловую пробу (ТП) общепринятыми методами с использованием стандартных наборов Biotest «Lachema» (Чехия) [12]. Измерения производили на фотометре КФК 3 УХЛ 4.2 (Россия).

Забор крови осуществляли путем декапитации животных под слабым эфирным наркозом (приказ Министерства здравоохранения № 755, приложение № 4 от 12.08.1977 г.) согласно рекомендациям [9]. Анализировалась свежая сыворотка крови (в день ее получения). Экспериментальные исследования прошли предварительную этическую экспертизу в Сибирском государственном медицинском университете (протокол № 2, октябрь 2005 г.). Статистическую обработку первичных хронограмм исследованных показателей осуществляли с помощью трех модификаций программы «косинор-анализ»: в модификации В.М. Ерошенко и А.А. Сорокина [13], в модификации И.А. Ходашинского и В.Б. Хона [14] и Cosinor-Analysis 2.4 for Excel 2000/XP с пакетом Cosinor Ellipse 2006 в модификации С.В. Нопина и Ю.В. Корягиной [15].

Результаты исследования и обсуждение

Использование генетического алгоритма модифицированного «косинор-анализа» И.А. Ходашинского и В.Б. Хона [14] позволяет быстро рассчитать статистически значимый период, исходя из которого определяются точечные акрофазы и амплитуды. С помощью этой программы нами установлено, что годовая динамика всех исследованных показателей функционального состояния печени интактных крыс изменялась ритмически (табл. 1). Определены двенадцати-, тринадцати- и шестнадцатимесячные периоды колебаний ТП, содержания в крови ОЛ и активности АсАТ, АлАТ соответственно. Следует подчеркнуть, что четкий двенадцатимесячный ритм выявлен только для годовой динамики ТП (см. табл. 1). Точечные акрофазы ритмов активности трансаминаз приходились на зимние месяцы, а содержания в крови общих липидов и тимоловой пробы – на конец весны – начало лета. Очевидным недостатком этой программы является отсутствие доверительных интервалов акрофаз и амплитуд, что значительно затрудняет в дальнейшем сравнительный анализ этих показателей в условиях воздействия на организм каких-либо экстремальных факторов или патогенных воздействий, которые неизменно ведут к нарушению амплитудно-фазовых взаимоотношений между ритмами [1].

Т а б л и ц а 1 [Table 1]

Ритмическая организация биохимических параметров сыворотки крови крыс, рассчитанная с помощью программы «Модифицированный «косинор-анализ» И.А. Ходашинского и В.Б. Хона»
[Rhythmic organization of biochemical parameters of liver function in rats, calculated using the “Modified cosinor-analysis of IA Khodashinskiy and VB Khon”]

Показатели [Parameters]	Период (в месяцах) (p < 0,05) [Period (in months) (p < 0.05)]	Уровень (в единицах показателя) [Level (in units of the parameter)]	Амплитуда (в единицах показателя) [Amplitude (in units of the parameter)]	Акрофаза (в месяцах) [Acrophase (in months)]
АсАТ (мкКат/л) [AST (mkKat/L)]	13	0,57	0,07	2
АлАТ (мкКат/л) [ALT (mkKat/L)]	16	0,42	0,03	1
ОЛ (г/л) [TL (g/L)]	13	1,92	0,5	6
ТП (у.е.) [TP (conventional units)]	12	0,76	0,2	5

Notes to the tables: AST - alaninaminotransferase; ALT - aspartataminotransferase; TL - the total lipids; TP - thymol test.

Этот недостаток преодолевается с помощью программного продукта «Analysis 2.4 for Excel 2000/XP» с пакетом «Cosinor Ellipse 2006» [15]. Анализ той же годовой динамики биохимических показателей функционального состояния печени крыс с помощью этого пакета [15] показал наличие двух-годового периода ритма активности АлАТ и содержания ОЛ, годового периода ритмической организации активности АсАТ и ТП (табл. 2). Несмотря на то, что акрофазы оцениваемых ритмов имели широкий диапазон значений, в целом они совпадали с аналогичными показателями, выявленными с помощью пакета И.А. Ходашинского и В.Б. Хона [14] и приходились на соответствующие зимние месяцы – для ферментов и весенне-летние – для ОЛ и ТП. Большим преимуществом этого программного продукта является возможность графического представления ритма определенного периода в виде эллипса по рассчитанным амплитуде, акрофазе и мезору, что дает возможность сравнительного анализа одноименных ритмов в последующем. Кроме того, использование данной программы [15] позволяет задавать период и производить расчеты, а также автоматически выбирать гармоники с наибольшей амплитудой. Преимуществами данной программы является также универсальность использования базы данных. Однако как в этой программе, так и в модифицированном «косинор-анализе» И.А. Ходашинского и В.Б. Хона [14] не все статистически значимые ритмические процессы выявляются, так как возможна потеря части ритмов вместе с шумом. Подобная проблема разрешается при использовании следующего программного продукта.

В аналитических исследованиях, проведенных с помощью программы «косинор-анализ» в модификации В.М. Ерошенко и А.А. Сорокина [13], для годовой динамики всех показателей интактных животных установлена ритмичность, которая не ограничивалась каким-то одним периодом, как выявлено ранее, а была множественной, причем годовые ритмы выявлены для всех показателей, но при разной степени доминирования, что, как нам кажется, наилучшим образом отражает состояние процессов внешней и внутренней синхронизации ритмов в популяции животных. Так, явное доминирование годового ритма отмечено для ферментативной активности, а двухгодового – для содержания в крови ОЛ и шестимесячного – для ТП (табл. 3). Акрофазы годовых ритмов трансаминаз приходились преимущественно на ранние зимние месяцы, а ТП и ОЛ – на поздние весенние. Таким образом, полученные результаты в целом совпадали с результатами предыдущих программ. Сложность использования данного пакета связана с необходимостью создавать базу данных непосредственно в программе и отсутствием возможности работать с созданной базой с помощью других пакетов статистической обработки. Наиболее вероятные значения периода приходится подбирать с помощью спектрального анализа, для которого необходимо большое количество наблюдений, не всегда возможное при медико-биологических исследованиях.

Т а б л и ц а 2 [Table 2]

Ритмическая организация биохимических параметров сыворотки крови крыс, рассчитанная с помощью программы «Cosinor-Analysis 2.4 for Excel 2000/XP и Cosinor Ellipse 2006 в модификации С.В. Нопина и Ю.В. Корягиной»
[Rhythmic organization of biochemical parameters of liver function in rats, calculated using the “Cosinor-Analysis 2.4 for Excel 2000/XP and Cosinor Ellipse 2006” in the modification of SV Nopin and YuV Koryagina”]

Показатели [Parameters]	Период (в месяцах) ($p < 0,05$) [Period (in months) ($p < 0.05$)]	Уровень (в единицах показателя) [Level (in units of the parameter)]	Амплитуда (в единицах показателя), среднее (минимум ÷ максимум) [Amplitude (in units of the parameter), average (min ÷ max)]	Акрофаза (в месяцах), среднее (минимум ÷ максимум) [Acrophase (in months), average (min ÷ max)]
АсАТ (мкКат/л) [AST (mkKat/L)]	12	0,60	0,06 (0,02 ÷ 0,10)	1,0 (0,1 ÷ 1,9)
АлАТ (мкКат/л) [ALT (mkKat/L)]	24	0,50	0,12 (0,10 ÷ 0,14)	21,8 (20,5 ÷ 21,9)
ОЛ (г/л) [TL (g/L)]	24	1,94	0,34 (0,15 ÷ 0,60)	3,9 (1,9 ÷ 7,5)
ТП (у.е.) [TP (conventional units)]	12	0,91	0,10 (0,00 ÷ 0,24)	4,8 (2,0 ÷ 6,7)

Однако последняя модификация дает наиболее цельную и всестороннюю картину ритмической организации функциональных показателей с выявлением доминирующих и субдоминирующих гармоник и возможностью представления полученного материала в графическом виде расчетных эллипсов.

Таким образом, несмотря на разные модификации программы «косинор-анализ», выявлены общие закономерности ритмической организации функционального состояния печени у интактных животных, проявляющиеся в разной степени выраженности двенадцатимесячными гармониками в годовой динамике изучаемых биохимических показателей. Однако не все программные продукты способны в полной мере выявлять доминирующие и субдоминантные гармоники. Вне зависимости от выбора программы значения уровня, амплитуд и акрофаз годовых или околгодовых ритмов практически не различались. Максимумы активности ферментов приходились на зимние месяцы, а максимумы содержания липидов и тимоловой пробы – на весенние. Однако в модификации И.А. Ходашинского и В.Б. Хона [14] значения уровня, амплитуды и акрофазы определяются без диапазона, два других программных пакета дают возможность восполнить этот пробел. Полученные нами данные указывают, с одной стороны, на необходимость использования разных методов статистической обработки временных рядов для повышения надежности получаемых результатов, а с другой стороны, обосновывают возможность использования оптимальной программы для реше-

ния конкретных задач с учетом особенностей и возможностей программно-продукта и особенностей собственного эксперимента или клинического наблюдения. Для биологических исследований, подобных нашим, наиболее оптимальными вариантами «косинор-анализа» оказались программные продукты С.В. Нопина и соавт. и В.М. Ерошенко и соавт., хорошо дополняющие друг друга и удовлетворяющие нашим задачам.

Т а б л и ц а 3 [Table 3]

Ритмическая организация биохимических параметров сыворотки крови крыс, рассчитанная с помощью программы «косинор-анализ» в модификации В.М. Ерошенко и А.А. Сорокина
Rhythmic organization of biochemical parameters of liver function in rats, calculated using the “cosinor-analysis” in the modification of VM Eroshenko and AA Sorokin]

Показатели [Parameters]	Период (в месяцах) ($p < 0,05$) [Period (in months) ($p < 0.05$)]	Уровень (в единицах показателя) [Level (in units of the parameter)]	Амплитуда (в единицах показателя), среднее (минимум ÷ максимум) [Amplitude (in units of the parameter), average (min ÷ max)]	Акрофаза (в месяцах), среднее (минимум ÷ максимум) [Acrophase (in months), average (min ÷ max)]
АсАТ (мкКат/л) [AST (mkKat/L)]	24	0,59	0,08 (0,05 ÷ 0,12)	20,3 (18,6 ÷ 21,6)
АсАТ (мкКат/л) [AST (mkKat/L)]	12	0,60	0,12 (0,08 ÷ 0,16)	0,4 (0,1 ÷ 1,3)
АсАТ (мкКат/л) [AST (mkKat/L)]	6	0,60	0,07 (0,05 ÷ 0,09)	1,1 (0,3 ÷ 1,4)
АлАТ (мкКат/л) [ALT (mkKat/L)]	24	0,48	0,12 (0,11 ÷ 0,13)	21,2 (20,2 ÷ 22,3)
АлАТ (мкКат/л) [ALT (mkKat/L)]	12	0,51	0,13 (0,10 ÷ 0,16)	0,3 (0,1 ÷ 1,1)
АлАТ (мкКат/л) [ALT (mkKat/L)]	9	0,50	0,06 (0,02 ÷ 0,10)	0,6 (0,1 ÷ 2,4)
АлАТ (мкКат/л) [ALT (mkKat/L)]	6	0,51	0,06 (0,04 ÷ 0,08)	2,1 (1,5 ÷ 2,3)
ОЛ (г/л) [TL (g/L)]	24	1,93	0,32 (0,21 ÷ 0,42)	4,2 (2,6 ÷ 5,5)
ОЛ (г/л) [TL (g/L)]	12	1,93	0,19 (0,02 ÷ 0,36)	4,6 (2,5 ÷ 6,1)
ТП (y.e.) [TP (conventional units)]	12	0,83	0,06 (0,01 ÷ 0,11)	5,2 (2,1 ÷ 7,4)
ТП (y.e.) [TP (conventional units)]	6	0,88	0,17 (0,03 ÷ 0,32)	2,3 (2,1 ÷ 3,2)

В эксперименте и клинике широко изучена суточная ритмичность желчеобразовательной и желчевыделительной функций печени, которая определяется пищеварительными суточными ритмами и контролируется со стороны супрахиазматического ядра гипоталамуса [10, 16–18]. Что касается годовой или сезонной ритмичности, то таковые сведения более скудны и затрагивают, в основном, сезонные особенности холеретической, холекинетической и дезинтоксикационной функций без анализа их ритмичности. Так, в эксперименте на крысах показано, что желчевыделение более интенсивно протекает летом и осенью и слабее – зимой и весной. Активность микросомальных ферментов печени, характеризующих дезинтоксикационную её функцию, повышается весной, но снижается осенью [5, 10]. С учетом вышеизложенного следует, что накопление агрессивных метаболитов в печени осенью может сопровождаться более выраженным повреждением печеночных клеток в этот сезон в сравнении с другими. Очевидно, по этой причине именно в этот сезон в наших экспериментах наблюдалось максимальное повышение активности печеночных ферментов в сравнении с другими сезонами года. Наоборот, весной дезинтоксикационная функция печени возрастала, снижалось повреждающее воздействие токсичных метаболитов на клетки печени, и в этих условиях возрастала её синтетическая функция в отношении белков и липидов, что продемонстрировано в наших экспериментах.

Таким образом, полученные нами результаты достаточно хорошо согласуются с другими исследованиями, выполненными на других популяциях крыс, в других регионах и в другие годы, и, очевидно, отражают общие закономерности ритмической организации печеночных функций у лабораторных крыс. Представленный материал в совокупности позволяет предполагать, что гепатотропные повреждающие воздействия будут наиболее агрессивны для печени крыс в осенне-зимний период и менее агрессивны – в весенне-летний сезон. Полученные нами данные о ритмической организации годовой динамики ферментативной активности печеночных ферментов, уровня липидов в крови и тимоловой пробы не только существенно расширяют имеющиеся представления о временной организации физиологических процессов в печени крыс, но могут иметь прогностическое значение в отношении сезонных особенностей гепатотоксичности некоторых гепатотропных ядов, что позволит исследователям существенно оптимизировать эксперимент.

Литература

1. *Хронобиология* и хрономедицина / под ред. Ф.И. Комарова, С.И. Рапопорта. М. : Триада-Х, 2000. 460 с.
2. *Левицкий Е.Ф., Шилкина Е.С., Мустафина Л.Р.* Изменения структурного состояния печени с моделью сс14-гепатита в разные фазы околородового цикла // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 149, № 5. С. 581–583.

3. Глушакова Е.С., Ходашинский И.А., Хон В.Б. Модифицированный косинор-анализ для исследования динамики биохимических показателей сыворотки крови интактных животных // Биомедицинские технологии в радиоэлектронике. 2004. № 5–6. С. 62–64.
4. Левицкий Е.Ф., Глушакова Е.С. Влияние геомагнитной обстановки на функциональное состояние печени в разные фазы окологодного цикла // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2005. № 4. С. 10–13.
5. Левицкий Е.Ф., Глушакова Е.С. Влияние переходных сезонов года на эффективность физиотерапевтической коррекции функционального состояния печени при токсическом гепатите в эксперименте // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2005. № 2. С. 17–19.
6. Refinetti R., Cornellissen G., Halberg F. Procedures for numerical analysis of circadian rhythms // Biol. Rhythm Res. 2007. № 38(4). P. 275–325.
7. Leise T.L. Wavelet analysis of circadian and ultradian behavioral rhythms // Journal of Circadian Rhythms. 2013. 11(5). doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1740-3391-11-5>.
8. Хронобиология и хрономедицина: Руководство / под ред. Ф. И. Комарова. М. : Медицина, 1989. 400 с.
9. РФ ГОСТ Р-53434-2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. М. : Стандартинформ, 2010. 16 с.
10. Романов Ю.А., Маргина В.В. О взаимосвязи пространственных и временных изменений метаболических процессов печени // Хронобиология и хрономедицина: тез. докл. 4-го симпози. СССР и ГДР. Астрахань, 1988. С. 14.
11. Замощина Т.А., Мелешко М.В., Логвинов С.В., Новицкая Л.Н., Матвеевко А.В. Деструкция супрахиазматических ядер переднего гипоталамуса и циркадные ритмы локомоторной активности, температуры тела и почечной экскреции натрия, калия, кальция и лития у крыс в период летнего солнцестояния // Бюллетень Сибирской медицины. 2011. № 5. С. 50–56.
12. Камышиников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник : в 2 т. М. : Интерпрессервис, 2003. 463 с.
13. Ерошенко В.М., Сорокин А.А. Пакет прикладных программ косинор-анализ и методические указания по его использованию // Алгоритмы и программы. Информатизационный бюллетень ГФАП СССР. 1980. № 70. 38 с.
14. Ходашинский И.А., Хон В.Б. Свидетельство об отраслевой регистрации разработки «Модифицированный косинор-анализ» № 3748 от 26.08.2004.
15. Нопин С.В., Корягина Ю.В. Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ «Cosinor Ellipse 2006» № 2006611345 от 20.04.2006.
16. Саратиков А.С., Скакун Н.П. Желчеобразование и желчегонные средства. Томск : Изд-во ТГУ, 1991. 260 с.
17. Поддубная О.А., Левицкий Е.Ф., Замощина Т.А. Хронобиологические особенности функционирования гепатобилиарной системы при хроническом холецистите с дисфункцией желчного пузыря // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014. Т. 108, № 8. С. 71–77.
18. Asher G., Reinke H., Altmeyer M., Gutierrez-Arcelus M., Hottiger M., Schibler U. Poly(ADP-Ribose)polymerase₁ participates in the phase entrainment of circadian clocks to feeding // Cell. 2010. Vol. 142. September 17. P. 943–953.

Поступила 14.01.2015 г.; повторно 16.04.2015 г.; принята 15.07.2015 г.

Авторский коллектив:

Шилкина Елена Сергеевна – канд. биол. наук, докторант кафедры физиологии человека и животных Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск, Россия).
E-mail: glualena@yandex.ru

Замощина Татьяна Алексеевна – д-р биол. наук, профессор кафедры физиологии человека и животных Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск, Россия); профессор кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск, Россия).
E-mail: beladona2015@yandex.ru

Shilkina ES, Zamoshchina TA. Analysis of rhythmic organization of the liver functional state in intact rats using various modifications of the programme “cosinor-analysis”. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;3(31):146-156. doi: 10.17223/19988591/31/11. In Russian, English summary

Elena S. Shilkina¹, Tat'yana A. Zamoshchina^{1,2}

¹ Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

² Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Analysis of rhythmic organization of the liver functional state in intact rats using various modifications of the programme “cosinor-analysis”

In the study of rhythmic organization of physiological processes we faced a choice of instrumental methods for assessing time series. “Cosinor analysis” (F. Halberg) programme, frequently used for this purpose, has undergone many modifications. In this paper, we demonstrate a comparative analysis of the results of processing the primary chronograms of some parameters of the liver functional state with the help of three authors of the available software products, i.e. modified “cosinor analysis”. We studied 288 male rats Wistar weighing 250-350 g for three consecutive years. The functional states of the liver were evaluated once a day at 9 to 10 h for the second week of each month in 8 animals. In blood serum, we determined the activity of alanine and aspartate aminotransferase, the level of total lipids and thymol. We performed statistical processing of primary chronograms using three versions of “cosinor-analysis”: a modification by VM Eroshenko and AA Sorokin, a modification by IA Khodashinskiy and VB Khon and a modification by SV Nopin and YuV Koryagina. We established that not all products are able to fully reveal the general laws of the rhythmic organization of physiological processes in the liver of intact animals, manifested both as dominant twelve harmonics and subdominant rhythms in the annual dynamics of the studied parameters. Regardless of the choice of the programme, the values of the level, amplitude and acrophase of annual or circumannual rhythms did not differ. The peak of enzyme activity occurs during winter months, and the maximum content of lipids and thymol - in spring. According to our analysis, for biological studies, like ours, the best options of “cosinor analysis” are VM Eroshenko et al.’s and SV Nopin et al.’s software which complement each other well and meet our objectives.

The article contains 3 Tables, 18 References.

Key words: annual rhythms; alanine and aspartate aminotransferase; thymol; total lipids blood; cosinor-analysis.

References

1. Khronobiologiya i khronomeditsina [Chronobiology and chronomedicine]. Komarova FI, Rapoport SI, editors. Moscow: Triada-Kh Publ.; 2000. 460 p. In Russian
2. Levitskii EF, Shilkina ES, Mustafina LR. Experimental biology: changes in liver structure in experimental ccl 4-induced hepatitis during different phases of circumannual cycle. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2010;149(5):581-583. In Russian

3. Glushakova ES, Khodashinskiy IA, Khon VB. Modifitsirovanny kosinor-analiz dlya issledovaniya dinamiki biokhimicheskikh pokazateley syvorotki krovi intaktnykh zhiivotnykh [Modified cosinor-analysis to study the dynamics of blood serum biochemical parameters of intact animals]. *Biomeditsinskie tekhnologii v radioelektronike*. 2004;5-6:62-64. In Russian
4. Levitskiy EF, Glushakova ES. Geomagnetic effects on hepatic function in different phases of annual cycle. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kul'tury*. 2005;4:10-13. In Russian
5. Levitskiy EF, Glushakova ES Impact of seasons on efficacy of physiotherapeutic correction of hepatic function in toxic hepatitis in experiment. *Issues of balneology, physiotherapy and therapeutical physical training*. 2005;2:17-19. In Russian
6. Refinetti R, Cornellissen G, Halberg F. Procedures for numerical analysis of circadian rhythms. *Biol. Rhythm Res*. 2007;38(4):275-325.
7. Leise TL. Wavelet analysis of circadian and ultradian behavioral rhythms. *Journal of Circadian Rhythms*. 2013;11:5. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1740-3391-11-5>.
8. Khronobiologiya i khronomeditsina [Chronobiology and chronomedicine]. Komarov FI, editor . Moscow: Medicine Publ.; 1989. 400 p. In Russian
9. RF GOST R-53434-2009. Principles of good laboratory practice Moscow.: Standartinform; 2010. 16 p. In Russian
10. Romanov YuA, Margina VV. O vzaimosvyazi prostranstvennykh i vremennykh izmeneniy metabolicheskikh protsessov pecheni [On the relationship between spatial and temporal changes in the liver metabolic processes]. In: *Khronobiologiya i khronomeditsina: tezisi dokladov 4-go simpoziuma* [Chronobiology and chronomedicine. Proc. of the 4th symposium of the USSR & GDR]. Astrakhan, 1988. pp. 14. In Russian
11. Zamoshchina TA, Meleshko MV, Logvinov SV, Matveyenko AV, Novitskaya LN, Ivanova YeV. The suprahiazmatic nucleus of the forward hypothalamus destruction and circadian rhythms of moving activity, body temperature and renal excretion of Na⁺, Ca²⁺, K⁺, Li⁺ in rats in summer. *Byulleten' Sibirskoy meditsiny*. 2011;10(5):50-56. In Russian
11. Kamyshnikov VS. Kliniko-biokhimicheskaya laboratornaya diagnostika: spravochnik [Clinical and biochemical laboratory diagnostics: reference book]. Vol. 2. Moscow: Interpressservis Publ.; 2003. 463 p. In Russian
12. Eroshenko VM, Sorokin AA. Paket prikladnykh programm kosinor-analiz i metodicheskie ukazaniya po ego ispol'zovaniyu [Package of applied cosinor-analysis programmes and guidance how to use it]. In: *Algoritmy i programmy. Informatizatsionny byulleten' GFAP SSSR* [Algorithms and programmes. Informatization newsletter of USSR SFAP]. 1980;70:38. In Russian
13. Khodashinskiy IA, Khon VB. Svidetel'stvo ob otraslevoy registratsii razrabotki "Modifitsirovanny kosinor-analiz" № 3748 ot 26.08.2004 [Certificate of branch registration of the development "Modified cosinor-analysis" № 3748 as of 26.08.2004]. In Russian
14. Nopin SV, Koryagina YuV. Svidetel'stvo ob ofitsial'noy registratsii programmy dlya EVM "Cosinor Ellipse 2006" № 2006611345 ot 20.04.2006. [Certificate of official registration of the programme for ECM "Cosinor Ellipse 2006" № 2006611345 as of 20.04.2006]. In Russian
15. Saratikov AS, Skakun NP. Zhelcheobrazovanie i zhelchegonnye sredstva [Choleopoiesis and cholagogues]. Tomsk: Tomsk State University Publ.; 1991. 260 p. In Russian
16. Poddubnaya OA, Levitskiy EF, Zamoshchina TA. The chronobiological peculiarities of function of hepatobiliary system in chronic cholecystitis with dysfunction of gallbladder. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya – Experimental and clinical gastroenterology*. 2014;108(8):71-77. In Russian

17. Asher G, Reinke H, Altmeyer M, Gutierrez-Arcelus M, Hottiger M, Schibler U. Poly(ADP-Ribose)polymerase₁ participates in the phase entrainment of circadian clocks to feeding. *Cell*. 2010 Sep 17;142(6):943-953. doi: [10.1016/j.cell.2010.08.016](https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.08.016).

Received 14 January 2015;

Revised 16 April 2015;

Accepted 15 July 2015

Author info:

Shilkina Elena S, Cand. Sci. (Biol.), Doctoral Student, Department of Human and Animal Physiology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Prospekt, Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: glualena@yandex.ru

Zamoshchina Tat'yana A, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Human and Animal Physiology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Prospekt, Tomsk 634050, Russian Federation; Department of Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Siberian State Medical University, 2 Moskovsky Trakt, Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: beladona2015@yandex.ru